

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202390780** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2023.06.28**

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 35/02** (2006.01)  
**C07K 16/28** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)

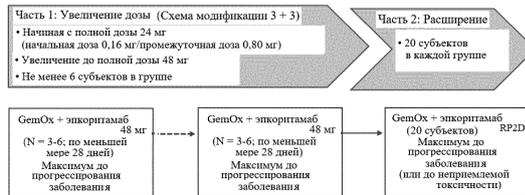
(22) Дата подачи заявки  
**2021.09.10**

**(54) БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ АНТИТЕЛО ПРОТИВ CD3 И CD20 В КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИФFUЗНОЙ КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ**

(31) **63/076,818; 63/164,255**  
(32) **2020.09.10; 2021.03.22**  
(33) **US**  
(86) **PCT/EP2021/075022**  
(87) **WO 2022/053658 2022.03.17**  
(71) Заявитель:  
**ГЕНМАБ А/С (DK)**

(72) Изобретатель:  
**Эллиотт Брайан, Ахмади Тахамтан (US), Гарридо Кастро Патрисия (NL)**  
(74) Представитель:  
**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)**

(57) В изобретении предложены способы клинического лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ДКВКЛ) (например, рецидивирующей и/или рефрактерной ДКВКЛ, непригодной для аутологичной трансплантации стволовых клеток) у человека с использованием биспецифического антитела, связывающегося с CD3 и CD20, в комбинации со стандартной схемой лечения гемцитабином и оксалиплатином (GemOx).



**A1**

**202390780**

**202390780**

**A1**

БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ АНТИТЕЛО ПРОТИВ CD3 И CD20 В  
КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИФФУЗНОЙ  
5 КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

Область техники

Настоящее изобретение относится к биспецифическим антителам, нацеленным как на CD3, так и на CD20 рецепторы, и к применению таких  
10 антител в сочетании со стандартной схемой лечения гемцитабином и оксалиплатином (GemOx – гемцитабин и оксалиплатин) для лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ДКВКЛ), например, рецидивирующей и/или рефрактерной (Р/Р) ДКВКЛ (например, Р/Р ДКВКЛ, при которой не подходит аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток  
15 (ТГСК) из-за возраста, общего состояния (ОС) или сопутствующей патологии). Также предусмотрены полезные схемы лечения.

Предшествующий уровень техники

ДКВКЛ является наиболее распространенной неходжкинской лимфомой (НХЛ), и стандартной терапией первой линии является R-CHOP. Уровень  
20 излечения этой комбинацией для общей популяции впервые диагностированных ДКВКЛ составляет от 60% до 70% (Sehn с соавт., *Blood* 2007;109:1867-1861). Попытки улучшить результаты терапии первой линии, включая усиление дозы и добавление других препаратов для усиления режима, не дали достаточных оснований для изменения стандарта лечения.

25 Факторы риска, влияющие на частоту излечений ПО – полного ответа) при первой линии лечения, рецидив заболевания и общая выживаемость (ОВ), включены в Международный прогностический индекс (IPI – International Prognostic Index) или пересмотренный IPI (R-IPI): возраст >60 лет, оценка по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG –  
30 Eastern Cooperative Oncology Group) >1 или оценка общего состояния по шкале KPS (Karnofsky Performance Status) <60, уровень лактатдегидрогеназы (LDH) превышает верхнюю границу нормы (ВГН); экстранодальное заболевание >1 (2 или более) и 3 или 4 стадия заболевания (Project с соавт., *N Engl J Med* 1993;329:987-994; Sehn с соавт., *supra*). В то время как у пациентов в группе

хорошего риска (1–2 фактора IPI) 4-летняя выживаемость без прогрессирования (ВБП) составляет 80% после стандартного режима химиотерапии R-CHOP первой линии, 45% пациентов в группе плохого риска (высокий риск) (3–5 факторы IPI) достигают только 4-летней ВБП и ОВ на уровне 55% (Sehn с соавт., *supra*).

5 Приблизительно 35% пациентов с ДКВКЛ либо первично рефрактерны, либо имеют рецидив после стандартной химиоиммунотерапии первой линии. В этой группе единственным вариантом для долгосрочного выживания является химиотерапия спасения, такая как ритуксимаб в сочетании с ДНАХ  
10 (дексаметазон, цитарабин и оксалиплатин), с последующей высокодозной терапией (ВДТ) с применением трансплантации аллогенных стволовых клеток (ТАСК) (Tixier с соавт., *Hematol Oncol* 2017;35:584-590). Однако только половина пациентов с рецидивирующей/рефрактерной (Р/Р) ДКВКЛ подходит для проведения высокодозной терапии путем ТАСК, а среди тех, кому показана  
15 трансплантация, некоторые нечувствительны к терапии спасения, что исключает процедуру ТАСК. Наконец, у значительной части пациентов после проведения высокодозной терапии ТАСК возникает рецидив, примерно у 45% прогрессирование происходит в течение 3 лет (Gisselbrecht с соавт., *J Clin Oncol* 2010;28:4184-4190). В целом менее 10% пациентов с Р/Р ДКВКЛ могут  
20 рассчитывать на излечение стандартными вторичными терапиями. Для пациентов, которые рецидивируют после высокодозной ТАСК или не подходят для нее, существуют варианты паллиативного лечения с целью достижения ремиссии и продления выживания. Однако единого золотого стандарта не существует, и пациентам обычно предлагается неинтенсивное (например, R-  
25 GemOx, BR) или другое паллиативное вмешательство (последовательная монокимиотерапия, локальная лучевая терапия при очаговых симптомах). Недавно одобренная терапия CAR-T-клетками демонстрирует стойкий ответ только у небольшой группы пациентов (Locke с соавт., *Lancet Oncol* 2019;20:31-42; Schuster с соавт., *N Engl J Med* 2019;380:45-56). Однако доступ к такому  
30 узкоспециализированному вмешательству ограничен.

Учитывая ограниченную эффективность и реакцию субъектов на доступные в настоящее время методы лечения, особенно у субъектов с рецидивом или невосприимчивостью к доступным в настоящее время методам лечения, необходимы новые и эффективные методы лечения.

### Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения людей с ДКВКЛ, например, рецидивирующей и/или рефрактерной (Р/Р) ДКВКЛ (например, Р/Р ДКВКЛ, при которой не подходит аутологичная ТГСК), путем введения биспецифического антитела, которое связывается с CD3 и CD20, такого как экспоритамаб, в сочетании со стандартной схемой лечения гемцитабином и оксалиплатином (GemOx), в частности, с предпочтительными схемами клинического лечения.

В одном объекте настоящего изобретения предложен способ лечения ДКВКЛ у человека, включающий введение субъекту комбинации эпоритамаба с гемцитабином и оксалиплатином, например, способ, включающий введение субъекту эффективного количества гемцитабина, оксалиплатина и эпоритамаба.

В одном из объектов настоящего изобретения предложен способ лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ДКВКЛ), включающий введение субъекту биспецифического антитела и эффективного количества гемцитабина и оксалиплатина, причем биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε человека (эпсилон) и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 6, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH и область VL, где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 13, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 14,

где биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг, и где гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят 28-дневными циклами.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе (или в примерной дозе) 24 мг. В

некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе (или в примерной дозе) 48 мг.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят один раз в неделю в дозе 24 мг или 48 мг (еженедельное введение), например, в течение двух с половиной 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят один раз каждые две недели после еженедельного введения (введение раз в две недели), например, в течение шести 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели после введения в режиме раз в две недели, например, в течение по меньшей мере двух 28-дневных циклов или до прогрессирования заболевания или до неприемлемой токсичности. В другом варианте осуществления настоящего изобретения начальную дозу (например, 0,16 мг или примерно 0,16 мг) биспецифического антитела вводят за две недели до введения первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения после введения первичной дозы и до введения еженедельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу (например, 0,8 мг или примерно 0,8 мг) биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения начальную дозу вводят за одну неделю до промежуточной дозы, а промежуточную дозу вводят за одну неделю до первой недельной дозы 24 мг или 48 мг.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят 28-дневными циклами один раз каждые две недели, например, в течение четырех 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления гемцитабин вводят в дозе 1000 мг/м<sup>2</sup>.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения оксалиплатин вводят 28-дневными циклами один раз каждые две недели, например, в течение четырех 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления оксалиплатин вводят в дозе 100 мг/м<sup>2</sup>.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят в один и тот же день (например, в 1-й и 15-й дни каждого из циклов с 1-го по 4-й), например, как показано в табл. 2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение осуществляют 28-дневными циклами, при этом

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й вводят дозу 24 мг в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 4-го по 9-й; и

в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение осуществляют 28-дневными циклами, при этом

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в цикле 1 начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) в циклах 2 и 3 дозу 48 мг вводят в дни 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах 4-9 вводят дозу 48 мг в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело эпоритамаб вводят в один и тот же день (например, в 1-й и 15-й дни каждого из циклов с 1-го по 4-й), например, как показано в табл. 2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение осуществляют 28-дневными циклами, причем

(а) биспецифическое антитело эпоритамаб вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

5 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение осуществляют 28-дневными циклами, причем

(а) биспецифическое антитело эпоритамаб вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

15 (б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й ; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят подкожно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения оксалиплатин вводят внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело, гемцитабин и оксалиплатин вводят последовательно. Например, при введении в один день гемцитабин вводят первым, оксалиплатин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения при введении в один день оксалиплатин вводят первым, гемцитабин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ДКВКЛ представляет собой ДКВКЛ с двойным или тройным воздействием (double-hit или triple-hit ДКВКЛ). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ДКВКЛ представляет собой фолликулярную лимфому Grade 3В. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта возник рецидив после по меньшей мере одного предшествующего лечения. В некоторых

вариантах осуществления настоящего изобретения невосприимчив по меньшей мере к одному предшествующему лечению. В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъект ранее не прошел аутологичную ТГСК. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения субъект не подходит для аутологичной ТГСК из-за возраста, общего состояния, сопутствующих заболеваний и/или недостаточного ответа на предшествующее лечение.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекта лечат путем профилактики СВЦ (синдрома выброса цитокинов). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактика включает введение кортикостероида (например, преднизолона в дозе, например, 100 мг, или его эквивалента, включая пероральную дозу), например, в тот же день, что и биспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кортикостероид дополнительно вводят на вторые, третьи и четвертые сутки после введения биспецифического антитела.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения осуществляют премедикацию субъекта, например, антигистаминную (например, вводят дифенилгидрамин внутривенно или перорально в дозе, например, 50 мг или эквивалентной) и/или жаропонижающую (например, вводят ацетаминофен в дозе, например, 560-1000 мг) для уменьшения реакции на инъекции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения осуществляют премедикацию в тот же день, когда вводят биспецифическое антитело.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактику и премедикацию проводят в течение 1-го цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактику проводят во время второго цикла, когда у субъекта наблюдают синдром выброса цитокинов (СВЦ) выше 1-й степени после последнего введения биспецифического антитела в 1-м цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактику продолжают в последующем цикле, когда при последнем введении биспецифического антитела в предыдущем цикле у субъекта наблюдают СВЦ выше 1-й степени. В другом варианте осуществления настоящего изобретения премедикацию проводят во время второго цикла. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения премедикацию проводится в течение последующих циклов.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается СВЦ 1-й степени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят вазопрессор, если у субъекта развивается СВЦ 2-й или 3-й степени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят по меньшей мере два вазопрессора, если у субъекта развивается СВЦ 4-й степени.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят тоцилизумаб, если у субъекта развивается СВЦ 2-й, 3-й или 4-й степени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту дополнительно вводят стероид (например, дексаметазон или метилпреднизолон). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения тоцилизумаб заменяют на анти-IL-6 антитело (например, силтуксимаб) или антагонист IL-1R (например, анакинру), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения осуществляют профилактику синдрома лизиса опухоли (СЛО) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактика СЛО включает введение одного или нескольких агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения расбуриказа и/или аллопуринол вводят в качестве агента, снижающего уровень мочевой кислоты. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения когда у субъекта проявляются признаки СЛО, можно использовать поддерживающую терапию, такую как применение расбуриказы.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъект, получающий лечение способами, описанными в настоящем изобретении, достигает полного ответа, частичного ответа или стабилизации заболевания, например, в соответствии с критериями Lugano или LYRIC.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела включает VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные ниже как SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные ниже как SEQ ID NO: 4, последовательность GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и вторая антигенсвязывающая область включает VHCDR1,

VHCDR2 и VHCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные ниже как SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные ниже как SEQ ID NO: 11, последовательность DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела включает область биспецифического антитела, содержащую область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и вторая антигенсвязывающая область включает область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое связывающее плечо биспецифического антитела является производным от гуманизированного антитела, предпочтительно антитела полной длины IgG1,  $\lambda$  (лямбда) (например, SEQ ID NO: 22). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения второе связывающее плечо биспецифического антитела является производным от антитела человека, предпочтительно антитела полной длины IgG1,  $\kappa$  (каппа) (например, SEQ ID NO: 23). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с константной областью IgG1 человека.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит инертную область Fc, например, область Fc, в которой аминокислотами, соответствующими положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15 являются F, E и A, соответственно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело включает замены, которые способствуют образованию биспецифических антител, например, где в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L и где во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет

собой R, или наоборот. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит инертную область Fc (например, замены в положениях L234, L235 и D265 (например, L234F, L235E и D265A)) и замены, которые способствуют формированию биспецифических антител (например, F405L и K409R). В другом варианте осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит константные области тяжелой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и первую легкую цепь, включающие (или состоящие из) аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и вторую тяжелую цепь и вторую легкую цепь, включающие (или состоящие из) аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическим антителом является экоритамаб или его биоаналог.

#### Краткое описание фигур

Фигура 1. Схема общей разработки клинического испытания.

Фигура 2. Схема повышения дозы.

Фигура 3. Экоритамаб (Ерсо)-индуцированная активация Т-клеток в присутствии гемцитабина (Gem), оксалиплатина (Ox), или их комбинации, или только одного экоритамаба. Т-клетки инкубируют с клетками Raji (левые панели) или SU-DHL-4 (правые панели) в присутствии только одного экоритамаба, или экоритамаба и гемцитабина, оксалиплатина, или комбинации. Представленные данные означают проценты активированных CD8<sup>+</sup> Т-клеток (фиг. 3А: CD69; фиг. 3Б: CD25; фиг. 3В: PD-1, фиг. 3Г: LAMP-1). Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение дубликатов от одного репрезентативного донора из 4 протестированных доноров.

Фигура 4. Экоритамаб (Ерсо)-индуцированная активация Т-клеток в присутствии гемцитабина (Gem), оксалиплатина (Ox), или комбинации, или только одного экоритамаба. Т-клетки инкубируют с клетками Raji (левые панели) или SU-DHL-4 (правые панели) в присутствии только одного экоритамаба, или экоритамаба и гемцитабина, оксалиплатина, или их комбинации. Представленные данные выражают процент опосредованной Т-

клетками цитотоксичности. Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение дубликатов от одного репрезентативного донора из 4 протестированных доноров.

#### Подробное описание изобретения

5 Используемый в настоящем изобретении термин «иммуноглобулин» относится к классу структурно родственных гликопротеинов, состоящих из двух пар полипептидных цепей – одной пары легких (L) цепей (низкой молекулярной массы) и одной пары тяжелых (H) цепей, причем все четыре соединены между собой дисульфидными связями. Структура иммуноглобулинов известна (см.,  
10 например, «Fundamental Immunology», 1989, глава 7 (под ред. Paul W., 2е изд., изд-во Raven Press, Нью-Йорк). Вкратце, каждая тяжелая цепь обычно состоит из переменной области тяжелой цепи (обозначаемой здесь V<sub>H</sub> или V<sub>H</sub>) и константной области тяжелой цепи (обозначаемой здесь C<sub>H</sub> или C<sub>H</sub>). Константная область тяжелой цепи обычно состоит из трех доменов: C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub> и  
15 C<sub>H3</sub>. Шарнирная область представляет собой область между доменами C<sub>H1</sub> и C<sub>H2</sub> тяжелой цепи и обладает высокой степенью гибкости. Дисульфидные связи в шарнирной области являются частью взаимодействия между двумя тяжелыми цепями в молекуле IgG. Каждая легкая цепь обычно состоит из переменной области легкой цепи (обозначаемой как V<sub>L</sub> или V<sub>L</sub>) и константной области легкой цепи (обозначаемой как C<sub>L</sub> или C<sub>L</sub>). Константная область легкой цепи  
20 обычно состоит из одного домена, C<sub>L</sub>. Области V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> могут быть дополнительно подразделены на области гиперпеременности (или гиперпеременные области, которые могут быть гиперпеременными по последовательности и/или форме структурно определенных петель), также  
25 называемые областями, определяющими комплементарность (CDR – complementarity determining region), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR – framework region). Каждая V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> обычно состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (см. также Chothia и Lesk *J Mol Biol* 1987;  
30 196:90117). Если не указано иное или нет противоречия контексту, последовательности CDR в настоящем изобретении идентифицируют в соответствии с правилами IMGT (Brochet X., *Nucl Acids Res* 2008;36:W503-508; Lefranc MP., *Nucl Acids Res* 1999;27:209-212; [www.imgt.org/](http://www.imgt.org/)). Если не указано

иное или нет противоречия контексту, ссылки на положения аминокислот в константных областях соответствуют нумерации ЕС (Edelman с соавт., *PNAS*. 1969; 63:78-85; Kabat с соавт., кн.: «Sequences of Proteins of Immunological Interest», 5е изд., 1991 NIH Publication No. 91-3242). Например, SEQ ID NO: 15  
5 содержит положения аминокислот 118-447 согласно нумерации ЕС константной области тяжелой цепи IgG1.

Термин «аминокислота, соответствующая положению...», используемый в настоящем изобретении, относится к номеру положения аминокислоты в тяжелой цепи IgG1 человека. Соответствующие положения аминокислот в  
10 других иммуноглобулинах могут быть найдены путем сопоставления с IgG1 человека. Таким образом, аминокислота или сегмент в одной последовательности, которая «соответствует» аминокислоте или сегменту в другой последовательности, представляет собой аминокислоту или сегмент, который выравнивается с другой аминокислотой или сегментом с  
15 использованием стандартной программы выравнивания последовательностей, такой как ALIGN, ClustalW или аналогичной, обычно в значения по умолчанию и имеет не менее 50%, не менее 80%, не менее 90% или не менее 95% идентичности с тяжелой цепью IgG1 человека. Специалист в данной области может выровнять последовательность или сегмент в последовательности и,  
20 таким образом, определить положение в последовательности, соответствующее положению аминокислоты согласно настоящему изобретению.

Термин «антитело» (Ab – antibody), используемый в настоящем изобретении, относится к молекуле иммуноглобулина, которая обладает способностью специфически связываться с антигеном в типичных  
25 физиологических условиях с периодом полужизни в течение значительных периодов времени, например, по меньшей мере примерно 30 мин, по меньшей мере примерно 45 мин, по меньшей мере примерно 1 часа, по меньшей мере примерно двух часов, по меньшей мере примерно четырех часов, по меньшей мере примерно 8 ч, по меньшей мере примерно 12 ч, примерно 24 ч или более,  
30 примерно 48 ч или более, примерно 3, 4, 5, 6, 7 или более дней и т.д., или любого другого соответствующего функционально определенного периода (например, времени, достаточного для индукции, стимуляции, усиления и/или модуляции физиологического ответа, связанного со связыванием антитела с антигеном и/или времени, достаточного для того, чтобы антитело приобрело эффекторную

активность). Вариабельные области тяжелой и легкой цепей молекулы иммуноглобулина содержат связывающий домен, взаимодействующий с антигеном. Термин антитело, если не указано иное, также включает поликлональные антитела, моноклональные антитела (mAb – monoclonal antibody), антителоподобные полипептиды, химерные антитела и гуманизированные антитела.

Термин «фрагмент антитела» или «антигенсвязывающий фрагмент», используемый в настоящем изобретении, относится к фрагменту молекулы иммуноглобулина, который сохраняет способность специфически связываться с антигеном и может быть получен любым известным методом, таким как ферментативное расщепление, синтез пептидов и рекомбинантные методики. Примеры фрагментов антител включают (i) фрагмент Fab' или Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1, или моновалентное антитело, как описано в WO2007059782 (фирма Genmab); (ii) фрагменты F(ab')<sub>2</sub>, бивалентные фрагменты, содержащие два фрагмента Fab, связанные дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий по существу из доменов VH и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий в основном из доменов VL и VH одного плеча антитела, (v) фрагмент dAb (Ward с соавт., *Nature* 1989; 341: 54446), который состоит в основном из домена VH и также называемые доменными антителами (Holt с соавт., *Trends Biotechnol* 2003; 21:484-490); (vi) верблюдовые или нанотела (Revets с соавт., *Expert Opin Biol Ther* 2005; 5:111-124) и (vii) выделенную область, определяющую комплементарность (CDR – complementarity determining region). Более того, хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH, кодируются отдельными генами, они могут быть соединены с помощью рекомбинантных методов синтетическим линкером, что позволяет сделать их единой белковой цепью, в которой VL и области VH соединяются, образуя моновалентные молекулы (известные как одноцепочечные антитела или одноцепочечные фрагменты Fv (scFv – single chain Fv), см., например, Bird с соавт., *Science* 1988;242:42326; Huston с соавт., *PNAS* 1988;85:587983. Такие одноцепочечные антитела обозначают термином «фрагмент антитела», если не указано иное или явно не указано в контексте.

Термин «область, связываемая антителом» или «антигенсвязывающая область», используемый в настоящем изобретении, относится к области, которая взаимодействует с антигеном и включает как области VH, так и области VL.

Термин «антитело», используемый в настоящем изобретении, относится не только к моноспецифическим антителам, но также и к мультиспецифическим антителам, которые содержат множество, например, два или более, например, три или более различных антигенсвязывающих областей. Термин «антигенсвязывающая область», если не указано иное или явно не противоречит контексту, включает фрагменты антитела, которые являются антигенсвязывающими фрагментами, т.е. сохраняют способность специфически связываться с антигеном.

В настоящем изобретении термин «изотип» относится к классу иммуноглобулинов (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE или IgM), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. Когда упоминают конкретный изотип, например, IgG1, термин не ограничивается конкретной последовательностью изотипа, например, конкретной последовательностью IgG1, но используется для обозначения того, что антитело ближе по своей последовательности к этому изотипу, например IgG1, чем к другим изотипам. Так, например, антитело IgG1 может представлять собой вариант последовательности встречающегося в природе антитела IgG1, который может включать вариации константных областей.

Термин «биспецифическое антитело (bispecific antibody)» или «bs» или «bsAb», используемый в настоящем изобретении, относится к антителу, имеющему две разные антигенсвязывающие области, определяемые разными последовательностями антител. Биспецифическое антитело может быть любого формата.

Термины «половина молекулы», «Fab-плечо» и «плечо» в настоящем изобретении относятся к одной паре тяжелая цепь-легкая цепь.

Когда биспецифическое антитело описывают как содержащее полумолекулярное антитело, «производное» от первого родительского антитела, и полумолекулярное антитело, «производное» от второго родительского антитела, термин «производное от» указывает на то, что биспецифическое антитело было получено путем рекомбинации любым известным способом, указанные половины каждого из указанных первого и второго родительских антител превращают в полученное биспецифическое антитело. В этом контексте «рекомбинация» не ограничивается каким-либо конкретным методом рекомбинации и, таким образом, включает все способы получения

биспецифических антител, описанные в настоящем изобретении, в том числе, например, рекомбинацию путем обмена половинными молекулами (также известную как «контролируемая Fab-плечевой обмен»), а также рекомбинации на уровне нуклеиновых кислот и/или посредством ко-экспрессии двух полумолекул в одних и тех же клетках.

Термин «полноразмерный» или «полной длины», используемый в настоящем изобретении применительно к антителам, указывает на то, что антитело не является фрагментом, а содержит все домены конкретного изотипа, обычно обнаруживаемые для этого изотипа в природе, например, домены VH, CH1, CH2, CH3, шарнирный, VL и CL для антитела IgG1. Полноразмерное антитело может быть сконструировано. Примером «полноразмерного» антитела является эпоритамаб.

Термин «область Fc», используемый в настоящем изобретении, относится к области антитела, состоящей из последовательностей Fc двух тяжелых цепей иммуноглобулина, где указанные последовательности Fc содержат по меньшей мере шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.

Термин «гетеродимерное взаимодействие между первой и второй областями CH3», используемый в настоящем изобретении, относится к взаимодействию между первой областью CH3 и второй областью CH3 в гетеродимерном белке первый-CH3/второй-CH3.

Термин «гомодимерные взаимодействия первой и второй областей CH3», используемый в настоящем изобретении, относится к взаимодействию между одним первым доменом CH3 и другим первым доменом CH3 в гомодимерном белке первый-CH3/первый-CH3, а также к взаимодействию между вторым доменом CH3 и другим вторым доменом CH3 в гомодимерном белке второй-CH3/второй-CH3.

Термин «выделенное антитело» в настоящем изобретении относится к антителу, которое практически не содержит других антител, обладающих другой антигенной специфичностью. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения выделенное биспецифическое антитело, которое специфически связывается с CD20 и CD3, кроме того практически не содержит моноспецифических антител, которые специфически связываются с CD20 или CD3.

В настоящем изобретении используемый термин «CD3» относится к белку 3 кластера дифференцировки человека, который является частью белкового комплекса ко-рецептора Т-клеток и состоит из четырех отдельных цепей. CD3 также обнаружен у других видов, поэтому термин «CD3» не ограничивается CD3 человека, если это не противоречит контексту. У млекопитающих комплекс 5 содержит цепь CD3 $\gamma$  (гамма) (цепь CD3 $\gamma$  человека UniProtKB/Swiss-Prot № P09693 или CD3 $\gamma$  яванского макака UniProtKB/Swiss-Prot № Q95LI7), цепь CD3 $\delta$  (дельта) (CD3 $\delta$  человека UniProtKB/Swiss-Prot No. Prot No P04234, или CD3 $\delta$  яванского макака UniProtKB/Swiss-Prot № Q95LI8), две цепи CD3 $\epsilon$  (эпсилон) 10 (CD3 $\epsilon$  человека UniProtKB/Swiss-Prot № P07766, SEQ ID NO: 28); CD3 $\epsilon$  яванского макака UniProtKB/Swiss-Prot No Q95LI5; или CD3 $\epsilon$  макака резус UniProtKB/Swiss-Prot № G7NCB9) и цепь CD3 $\zeta$  (дзета) (CD3 $\zeta$  человека UniProtKB/Swiss-Prot № P20963, CD3 $\zeta$  яванского макака UniProtKB/Swiss-Prot № Q09TK0). Эти цепи связываются с молекулой, известной как Т-клеточный 15 рецептор (TCR – T-cell receptor), и генерируют сигнал активации в Т-лимфоцитах. Молекулы TCR и CD3 вместе составляют комплекс TCR.

Термин «антитело к CD3» или «анти-CD3 антитело» в настоящем изобретении относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном CD3, в частности с CD3 $\epsilon$  (эпсилон) человека.

20 Термин «CD20 человека» или «CD20» относится к CD20 человека (UniProtKB/Swiss-Prot No P11836, SEQ ID NO: 29) и включает любые варианты, изоформы и видовые гомологи CD20, которые естественным образом экспрессируются клетками, включая опухолевые клетки, или экспрессируются на клетках, трансфицированных геном CD20 или кДНК. Гомологи видов включают 25 CD20 макака резус (*macaca mulatta*; UniProtKB/Swiss-Prot No H9YXP1) и CD20 яванского макака (*macaca fascicularis*; UniProtKB No G7PQ03).

Термин «антитело к CD20» или «анти-CD20 антитело» в настоящем изобретении относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном CD20, в частности, с CD20 человека.

30 Термин «антитело к CD3xCD20» или «анти-CD3xCD20 антитело», «антитело CD20xCD3» или «антитело анти-CD20xCD3», используемый в настоящем изобретении, относится к биспецифическому антителу, которое содержит две разные антигенсвязывающие области, одна из которых

специфически связывается с антигеном CD20 и другая специфически связывается с CD3.

Термин «DuoBody-CD3xCD20», используемый в настоящем изобретении, относится к биспецифическому антителу IgG1 CD3xCD20, содержащему первую 5 пару тяжелой и легкой цепей, представленных в SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 25, соответственно, и содержащему вторую пару тяжелой и легкой цепей, представленных в SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27. Первая пара тяжелой и легкой цепей содержит область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека, вторая пара тяжелой и легкой цепи содержит область, которая связывается с 10 CD20 человека. Первая область связывания содержит последовательности VH и VL, представленные в SEQ ID NO: 6 и 7, и вторая область связывания содержит последовательности VH и VL, представленных в SEQ ID NO: 13 и 14. Это биспецифическое антитело может быть получено, как описано в WO 2016/110576.

15 Антитела, содержащие функциональные варианты тяжелой цепи, легких цепей, областей VL, областей VH или одну или более CDR антител из примеров, также представленных в настоящем изобретении. Функциональный вариант тяжелой цепи, легкой цепи, VL, VH или CDR, используемых применительно к антителу, по-прежнему позволяет антителу сохранять по меньшей мере 20 существенную долю (по меньшей мере примерно 90%, 95% или более) функциональных свойств «эталонного» и/или «родительского» антитела, включая аффинность и/или специфичность/селективность в отношении конкретных эпитопов CD20 и/или CD3, инертность Fc и параметры ФК, такие как период полужизни, T<sub>max</sub>, C<sub>max</sub>. Такие функциональные варианты обычно 25 сохраняют значительную идентичность последовательности с родительским антителом и/или имеют по существу близкую длину тяжелой и легкой цепей. Процентная идентичность между двумя последовательностями является функцией числа идентичных положений, общих для последовательностей (т.е. % гомологии = число идентичных положений/общее число положений × 100), 30 принимая во внимание число пробелов и длину каждого пробел, который необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Процентная идентичность между двумя нуклеотидными или аминокислотными последовательностями, например, может быть определена по алгоритму E. Meyers и W. Miller (*Comput. Appl. Biosci* 1988, 4, 11-17), который включен в

программу ALIGN (версия 2.0) с использованием таблицы весовых остатков PAM120, штрафа за длину пробела 12 и штрафа за пробел 4. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями может быть определен с помощью алгоритма Needleman и Wunsch (*J Mol Biol* 1970;48:444-453). Примеры вариантов включают такие, которые отличаются от последовательностей тяжелых и/или легких цепей, VH и/или VL и/или последовательностей областей CDR родительского антитела, главным образом, консервативными заменами; например, заменами 10, например, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 в варианте могут представлять собой замены консервативных аминокислотных остатков.

Консервативные замены могут быть определены заменами внутри классов аминокислот, отраженных в табл. 1.

Таблица 1. Классы аминокислотных остатков для консервативных замен

Кислотные остатки	Asp (D) и Glu (E)
Основные остатки	Lys (K), Arg (R) и His (H)
Гидрофильные незаряженные остатки	Ser (S), Thr (T), Asn (N) и Gln (Q)
Алифатические незаряженные остатки	Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L) и Ile (I)
Неполярные незаряженные остатки	Cys (C), Met (M) и Pro (P)
Ароматические остатки	Phe (F), Tyr (Y) и Trp (W)

Если не указано иное, для описания мутации используют следующую номенклатуру: i) замена аминокислоты в данном положении записывают, например, как K409R, что означает замену лизина в положении 409 на аргинин; и ii) для конкретных вариантов используют конкретные трехбуквенные или однобуквенные коды, включая коды Хаа и X для обозначения любого аминокислотного остатка. Так, замена лизина на аргинин в положении 409 обозначают как: K409R, а замена лизина на любой аминокислотный остаток в положении 409 обозначают как K409X. Делецию лизина в положении 409 обозначают как K409\*.

Термин «гуманизованное антитело» в настоящем изобретении относится к генетически сконструированному антителу, не являющемуся антителом человека, которое содержит константные домены антитела человека и другие

вариабельные домены, модифицированные таким образом, чтобы обеспечить высокий уровень гомологии последовательностей с вариабельными доменами человека. Это можно быть получено путем переноса шести CDR антител, не являющихся антителами человека, которые вместе образуют сайт связывания антигена, на гомологичную акцепторную каркасную область человека (FR) (см. WO 92/22653 и EP0629240). Чтобы полностью восстановить аффинность связывания и специфичность исходного антитела, может потребоваться замена остатков каркаса исходного антитела (т.е. антитела, не являющегося антителом человека) каркасными областями человека (обратные мутации). Моделирование структурной гомологии может помочь идентифицировать аминокислотные остатки в каркасных областях, которые важны для связывающих свойств антитела. Таким образом, гуманизованное антитело может содержать последовательности CDR, не являющиеся последовательностями человека, главным образом каркасные области человека, необязательно содержащие одну или более аминокислотных обратных мутаций в аминокислотной последовательности, не являющейся последовательностью человека и полностью константные области человека. VH и VL плеча CD3, которые используют в настоящем изобретении в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой гуманизованную антигенсвязывающую область. Необязательно, для получения гуманизованного антитела с предпочтительными характеристиками, такими как аффинность и биохимические свойства, могут быть применены дополнительные аминокислотные модификации, которые не обязательно являются обратными мутациями.

Термин «антитело человека», используемый в настоящем изобретении, относится к антителам, имеющим вариабельные и константные области, происходящие из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Антитела человека могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*). Однако термин «антитело человека», используемый в настоящем изобретении, не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мыши, были пересажены к каркасным последовательностям человека. VH и VL плеча CD20,

используемого в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой антигенсвязывающую область человека. Моноклональные антитела человека по настоящему изобретению могут быть получены различными методами, включая обычную методику получения моноклональных антител, например, стандартную методику 5 гибридизации соматических клеток Kohler и Milstein (*Nature* 1975, 256: 495). Хотя методики гибридизации соматических клеток являются предпочтительными, в принципе, могут быть использованы другие методы получения моноклональных антител, например, вирусная или онкогенная трансформация В-лимфоцитов или методы фагового дисплея с использованием 10 библиотек генов антител человека. Подходящей животной системой для получения гибридом, секретирующих моноклональные антитела человека, является система грызунов. Получение гибридомы у мышей является хорошо отработанной процедурой. Протоколы иммунизации и способы выделения иммунизированных спленоцитов для слияния известны в данной области. Также 15 известны партнеры по слиянию (например, миеломные клетки мыши) и процедуры слияния. Таким образом, моноклональные антитела человека могут быть получены с использованием, например, трансгенных или трансхромосомных мышей или крыс, несущих части иммунной системы человека, а не системы мыши или крысы. Соответственно, в одном из вариантов 20 осуществления настоящего изобретения антитело человека получают от трансгенного животного, такого как мышь или крыса, несущего последовательности иммуноглобулинов зародышевой линии человека вместо последовательностей иммуноглобулинов животных. В таких вариантах осуществления настоящего изобретения антитело происходит из 25 последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека, введенных животному, но окончательная последовательность антител является результатом дальнейшей модификации указанных последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека за счет соматических гипермутаций и созревания аффинности эндогенным аппаратом антител животных (см., например, Mendez с соавт. *Nat Genet* 1997;15:146-156). Участки VH и VL плеча CD20, используемого 30 в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой антигенсвязывающий участок человека.

Термин «биоаналог» (например, применимый к утвержденному эталонному продукту/биологическому лекарственному средству), используемый в настоящем

изобретении, относится к биологическому продукту, сходному с эталонным продуктом на основании данных (а) аналитических исследований, демонстрирующих, что биологический продукт очень похож на эталонный продукт, несмотря на незначительные различия в клинически неактивных компонентах; (б) исследованиях на животных (включая оценку токсичности); и/или (в) клинического исследования или исследований (включая оценку иммуногенности и фармакокинетики или фармакодинамики), которые достаточны для демонстрации безопасности, чистоты и активности в одном или нескольких подходящих условиях применения, для которых эталонный продукт одобрен и предназначен для использования и для которого запрашивают одобрение (например, отсутствие клинически значимых различий между биологическим продуктом и эталонным продуктом с точки зрения безопасности, чистоты и эффективности продукта). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биологический продукт-биоаналог и эталонный продукт используют один и тот же механизм или механизмы действия для состояния или состояний использования, предписанных, рекомендованных или предложенных в предлагаемом вкладыше, но только в той мере, в какой механизм или механизмы действия известны для эталонного продукта. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения условие или условия использования, предписанные, рекомендованные или предложенные во вкладыше для биологического продукта, были ранее одобрены для эталонного продукта. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения способ введения, лекарственная форма и/или сила действия биологического продукта такие же, как у эталонного продукта. Биоаналогом может быть, например, известное в настоящее время антитело, имеющее ту же первичную аминокислотную последовательность, что и продаваемое антитело, но оно может быть получено в разных типах клеток или с помощью других методов получения, очистки или компоновки продукта.

Термин «условия восстановления» или «восстановительная среда», используемый в настоящем изобретении, относится условиям или среде, при которых субстрат, в данном случае остаток цистеина в шарнирной области антитела, с большей вероятностью восстанавливается, чем окисляется.

Термин «рекомбинантная клетка-хозяин» (или просто «клетка-хозяин»), используемый в настоящем изобретении, предназначен для обозначения клетки,

в которую введен вектор экспрессии, например, вектор экспрессии, кодирующий антитело, описанное в настоящем изобретении. Рекомбинантные клетки-хозяева включают, например, трансфектомы, такие как клетки CHO, CHO-S, НЕК, НЕК293, НЕК-293F, Expi293F, PER.C6 или NS0 и лимфоцитарные клетки.

5 Термин «диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома» или «ДКВКЛ», используемый в настоящем изобретении, относится к новообразованию В-лимфоцитов зародышевого центра с диффузным характером роста и высоким промежуточным индексом пролиферации. ДКВКЛ составляют примерно 30% всех лимфом. Подтипы ДКВКЛ, по-видимому, имеют разные прогнозы и реакцию на лечение. ДКВКЛ может поражать любую возрастную группу, но в основном встречается у пожилых людей (средний возраст около 60 лет). «Двойное воздействие» и «тройное воздействие» ДКВКЛ относится к ДКВКЛ с транслокациями с транслокациями MYC и BCL2 и/или BCL6, подпадающим под категорию В-клеточной лимфомы высокой степени злокачественности (HGBCL – high-grade B cell lymphoma) с транслокациями MYC и BCL2 и/или BCL6, в соответствии с классификацией ВОЗ 2016 года (Swerdlow S.H. с соавт., в кн.: «WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues», пересмотренное 4е издание, Лион, Франция, изд-во IARC Press, 2017, которая включена в настоящий документ в качестве ссылки).

10

15

20 Фолликулярная лимфома степени 3В также часто рассматривают как эквивалентную ДКВКЛ и, следовательно, соответственно лечат.

Термин «рецидивирующая ДКВКЛ», используемый в настоящем изобретении, относится к ДКВКЛ, которая прогрессировала после достижения частичного ответа (ЧО) или полного ответа (ПО) на предшествующее противоопухолевое лечение.

25

Термин «рецидивирующая ДКВКЛ», используемый в настоящем изобретении, относится к ДКВКЛ, который лечили по меньшей мере в соответствии с одной предшествующей противоопухолевой терапией, но не достигли по меньшей мере частичного ответа на терапию.

30 Термин «Р/Р ДКВКЛ», используемый в настоящем изобретении, если не указано иное, предназначен для обозначения рецидивирующей и/или рефрактерной ДКВКЛ.

Используемый в настоящем изобретении термин «GemOx» относится к комбинации гемцитабина и оксалиплатина.

Гемцитабин – аналог нуклеозида с противоопухолевой активностью, относящийся к общей группе химиотерапевтических препаратов, известных как антиметаболиты. Гемцитабин предотвращает синтез ДНК, ингибируя тимидилатсинтетазу, что приводит к гибели клеток. Гемцитабин может упоминаться, например, по его названию «IUPAC»: 4-амино-1-[3,3-дифтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)оксолан-2-ил]-1,2-дигидропиримидин-2-он, или как цитидин, 2'-дезокси-2',2'-дифтор-и имеет химическую формулу  $C_9H_{11}F_2N_3O_4$  и номер CAS 95058-81-4. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин представляет собой гидрохлорид гемцитабина (CAS № 122111-03-9). Гемцитабин коммерчески доступен, например, под торговыми названиями GEMZAR® и INFUGEM®, а также другими названиями. Термин «гемцитабин» также охватывает фирменные и непатентованные варианты (генерические эквиваленты) гемцитабина, а также фармацевтически приемлемые соли, изомеры, рацематы, сольваты, комплексы и гидраты, его ангидридные формы и любые его полиморфные или их аморфные формы или комбинации.

«Оксалиплатин» относится к лекарственному средству на основе платины, которое действует как агент сшивания ДНК, эффективно ингибируя репликацию и транскрипцию ДНК, что приводит к цитотоксичности, неспецифичной для клеточного цикла. Оксалиплатин может называться, например, [SP-4-2-(1R-транс)]-(1,2-циклогександиамин-N,N')[этандиоата(2--)-O,O']платина; [(1R,2R)-циклогексан-1,2-диамин](этандиоат-O,O')платина(II). Оксалиплатин имеет химическую формулу  $C_8H_{14}N_2O_4Pt$  (CAS No. 61825-94-3) и коммерчески доступен, например, под торговыми названиями Eloxatin® и Оксалиплатин Novaplus®®, а также другими названиями. Термин «оксалиплатин» также предназначен для обозначения фирменных и непатентованных версий (генерических эквивалентов) оксалиплатина, а также фармацевтически приемлемых солей оксалиплатина, изомеров, рацематов, сольватов, комплексов и гидратов, его ангидридных форм и любых его полиморфных или аморфных форм или их комбинации.

Термин «трансплантация аутологических стволовых клеток» или «ТАСК», используемый в настоящем изобретении, относится к стволовым клеткам, которые берут у индивидуума и возвращают этому индивидууму.

Термин «лечение» относится к введению эффективного количества терапевтически активного антитела, описанного в настоящем изобретении, с

целью облегчения, улучшения, купирования или устранения (лечения) симптомов или болезненных состояний, таких как ДКВКЛ. Лечение может привести к полному ответу (ПО), частичному ответу (ЧО) или стабильному заболеванию (СЗ), например, как определено критериями Lugano и/или LYRIC.

5 Лечение можно продолжать, например, до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности.

Термин «введение», используемый в настоящем изобретении, относится к физическому введению композиции (или состава), содержащей терапевтический агент, субъекту с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Предпочтительные способы введения антител, описанные в настоящем документе, включают внутривенный, внутривентриальный, внутримышечный, подкожный, спинальный или другие парентеральные способы введения, например, путем инъекции или инфузии. Понятие «парентеральное введение», используемое в настоящем изобретении, означает способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно осуществляемые путем инъекции и включает, но ими не ограничивается, внутривенное, внутривентриальное, внутримышечное, внутриартериальное, подоболочечное, внутрилимфатическое введение, введение внутрь очага поражения, введение внутрикапсульное, внутриглазное, внутрисердечное, внутрикожное, транстрахеальное, подкожное, субкутикулярное, внутрисуставное, субкапсулярное, субарахноидальное, интраспинальное, эпидуральное и интрастернальное путем инъекции и инфузии, а также электропорация *in vivo*. В другом варианте терапевтическое средство, описанное в настоящем изобретении, можно вводить не парентеральным путем, таким как местное, эпидермальное или слизистое введение, например, интраназальное, пероральное, вагинальное, ректальное, сублингвальное или местное. Введение также может выполняться, например, один раз, множество раз и/или в течение одного или более длительных периодов времени. В описанных в настоящем изобретении способах биспецифическое антитело (например, эпоритамаб) вводят подкожно. Другие агенты, используемые в сочетании с биспецифическим антителом, такие как GemOx, агенты профилактики синдрома высвобождения цитокинов и/или профилактики синдрома лизиса опухоли (СЛО – tumor lysis syndrome), могут вводиться другими путями, такими как внутривенное или пероральное введение.

Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Например, дозы, как определено в настоящем изобретении, для

5 биспецифического антитела (например, эпоритамаба), т.е. 24 мг или 48 мг, вводимых подкожно, могут быть определены как такое «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество». Терапевтически эффективное количество антитела может варьировать в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса индивидуума и

10 способность антитела вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективным количеством также является такое количество, при котором любые токсические или вредные эффекты антитела или части антитела перевешиваются терапевтически полезными эффектами. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у пациентов, получавших лечение способами,

15 описанными в настоящем изобретении, будет наблюдаться улучшение функционального состояния в соответствии с ECOG. Терапевтически эффективное количество или дозировка лекарственного средства включает «профилактически эффективное количество» или «профилактически эффективную дозировку», означает любое количество лекарственного средства,

20 которое при введении отдельно или в комбинации с другим терапевтическим средством субъекту с риском развития заболевания или нарушения (например, синдрома высвобождения цитокинов) или страдания от рецидива заболевания, ингибирует развитие или рецидив заболевания.

Термин «ингибирует рост» опухоли, используемый в настоящем

25 изобретении, означает любое измеримое снижение роста опухоли, например, ингибирование роста опухоли по меньшей мере примерно на 10%, например, по меньшей мере примерно на 20%, по меньшей мере примерно на 30%, по меньшей мере примерно на 40%, по меньшей мере примерно на 50%, по меньшей мере примерно на 60%, по меньшей мере примерно на 70%, по

30 меньшей мере примерно на 80%, по меньшей мере примерно на 90%, по меньшей мере примерно на 99% или 100%.

Используемый в настоящем изобретении термин «субъект» относится к пациенту-человеку, например, пациенту-человеку с ДКВКЛ. Термины «субъект» и «пациент» используют в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

Термин «буфер», используемый в настоящем изобретении, обозначает фармацевтически приемлемый буфер. Термин «буфер» охватывает те агенты, которые поддерживают значение рН раствора, например, в приемлемом диапазоне, и включает, но не ограничивается ими, ацетат, гистидин, ТРИС® (трис(гидроксиметил)аминометан), цитрат, сукцинат, гликолят и другие подобные соединения. Как правило, используемый в настоящем изобретении «буфер» имеет рКа и буферную емкость, подходящие для диапазона рН от примерно 5 до примерно 6, что составляет примерно 5,5.

«Прогрессирование заболевания» или «ПЗ» в настоящем изобретении относится к ситуации, в которой один или несколько показателей ДКВКЛ означают, что заболевание прогрессирует, несмотря на лечение. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения прогрессирование заболевания определяют на основе критериев ответа Lugano для злокачественной лимфомы («критерии Lugano») и/или Критериев ответа лимфомы на иммуномодулирующую терапию (LYRIC – Lymphoma Response to Immunomodulatory Therapy Criteria). Подробная информация о критериях/классификационной системе Lugano, включая определения полного ответа (ПО), частичного ответа (ЧО), отсутствия ответа/стабильного заболевания (ОО/СЗ) и прогрессирующего заболевания (ПЗ), представлена в публикации Cheson с соавт. *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068, содержание которого включено в настоящее изобретение посредством ссылки (см., в частности, табл. 3 в публикации Cheson с соавт., 2014). Подробная информация о LYRIC представлена в табл. 8.

«Поверхностно-активное вещество», используемое в настоящем изобретении, представляет собой соединение, которое обычно используют в фармацевтических составах для предотвращения адсорбции лекарственного средства на поверхности и/или агрегации. Кроме того, поверхностно-активные вещества снижают поверхностное натяжение (или межфазное натяжение) между двумя жидкостями или между жидкостью и твердым телом. Например, поверхностно-активное вещество может значительно снизить поверхностное натяжение, если оно присутствует в очень низких концентрациях (например, 5% по массе или менее, например, 3% по массе или менее, например 1% по массе или менее, например 0,4 мас./об.% или менее, например, менее 0,1 мас./об.% или менее, например 0,04 мас./об. %). Поверхностно-активные вещества являются

амфифильными, что означает, что они обычно состоят как из гидрофильных, так и из гидрофобных или липофильных групп, таким образом, они способны образовывать мицеллы или подобные самособирающиеся структуры в водных растворах. Известные поверхностно-активные вещества для фармацевтического применения включают моноолеат глицерина, хлорид бензетония, докузат натрия, фосфолипиды, полиэтиленалкиловые эфиры, лаурилсульфат натрия и трикаприлин (анионные поверхностно-активные вещества); хлорид бензалкония, цитримид, хлорид цетилпиридиния и фосфолипиды (катионные поверхностно-активные вещества); альфа-токоферол, моноолеат глицерина, миристиловый спирт, фосфолипиды, полочсамеры, алкиловые эфиры полиоксиэтилена, производные полиоксиэтиленового касторового масла, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитана и жирных кислот, полиоксиэтиленстерараты, полиоксилгидроксистеарат, полиоксиглицериды, полисорбаты, такие как полисорбат 20 или полисорбат 80, дилаурат пропиленгликоля, монолаурат пропиленгликоля, сложные эфиры сорбитана, пальмитат сахарозы, стеарат сахарозы, трикаприлин и неионогенные и цвиттерионные поверхностно-активные вещества.

Используемый в настоящем изобретении термин «разбавитель» является фармацевтически приемлемым (безопасным и нетоксичным для введения человеку) и пригодным для приготовления разведений фармацевтической композиции или фармацевтического состава (термины «композиция» и «препарат» используют взаимозаменяемо). Желательно, такие разведения композиции разбавляют только концентрацию антителей, но не буфер и стабилизатор. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения разбавитель содержит те же концентрации буфера и стабилизатора, что и в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Другие примеры разбавителей включают стерильную воду, бактериостатическую воду для инъекций (BWFI – bacteriostatic water for injection), pH-буферный раствор, который представляет собой ацетатный буфер, стерильный физиологический раствор, такой как вода для инъекций, раствор Рингера или раствор декстрозы. В одном варианте осуществления настоящего изобретения разбавитель содержит или состоит по существу из ацетатного буфера и сорбита.

Используемый в настоящем изобретении термин «примерно» относится к значению, которое не более чем на 10% выше и не более чем на 10% ниже определенного значения.

#### Режимы лечения ДКВКЛ

5 В настоящем изобретении предусматривают способы лечения ДКВКЛ у человека с использованием биспецифического антитела, которое связывается с CD3 и CD20 («анти-CD3xCD20 антитела»), например, выделенного анти-CD3xCD20 антитела, такого как эпоритамаб, которое связывается с CD3 и CD20 человека, в сочетании со стандартной схемой лечения гемцитабином и оксалиплатином (также называемым здесь «GemOx»). Методы полезны для 10 лечения, например, рецидивирующей и/или рефрактерной (Р/Р) ДКВКЛ (например, Р/Р ДКВКЛ, не подходящей для аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК)). Очевидно, что способы лечения ДКВКЛ (например, таких Р/Р ДКВКЛ, неприемлемых для аутологичной ТГСК) 15 биспецифическим антителом, которое связывается как с CD3, так и с CD20, описанным в настоящем изобретении, также охватывают соответствующие применения биспецифического антитела для лечения ДКВКЛ у человека (например, такой как Р/Р ДКВКЛ, неприемлемой для аутологичной ТГСК).

Соответственно, в одном из объектов по настоящему изобретению 20 предусматривают способ лечения ДКВКЛ у субъекта-человека, который включает введение биспецифического антитела и эффективного количества гемцитабина и оксалиплатина, в котором биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит 25 переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 6, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 7; и

30 (ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH и область VL, где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 13, и область VL

содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 14;

5 в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг, причем гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят в 28-дневных циклах.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе (или в примерной дозе) 24 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе (или в примерной дозе) 48 мг.

10 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело является антителом полной длины (полноразмерным). В других вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело представляет собой антитело с инертной областью Fc. В других вариантах осуществления настоящего изобретения  
15 биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с инертной областью Fc.

Что касается дозы (или примерной дозы) 24 мг или 48 мг биспецифического антитела, которая должна быть введена, или любой другой определенной дозы, следует учитывать, что это количество относится к количеству  
20 биспецифического антитела, соответствующему количеству полноразмерного антитела, такого как эпоритамаб, как определено в разделе «Примеры». Следовательно, введение дозы биспецифического антитела 24 мг можно рассматривать как введение дозы биспецифического антитела, описанного в настоящем изобретении, при этом доза соответствует дозе эпоритамаба 24 мг.  
25 Специалист в данной области может легко определить количество вводимого антитела, когда, например, применяемое антитело существенно отличается по молекулярной массе от молекулярной массы полноразмерного антитела, такого как эпоритамаб. Например, количество антитела можно рассчитать путем деления молекулярной массы антитела на массу полноразмерного антитела,  
30 такого как эпоритамаб, и умножения полученного результата на указанную дозу, как описано в настоящем изобретении. Поскольку биспецифическое антитело (например, функциональный вариант DuoBody CD3xCD20) имеет очень схожие характеристики с DuoBody CD3xCD20 в отношении времени полу-жизни в плазме, инертности Fc и/или свойств связывания для CD3 и CD20, т.е. в

отношении CDR и связывания эпитопа, такие антитела подходят для использования в способах, предусмотренных в настоящем изобретении в дозе, описанной для полноразмерного антитела, такого как эпоритамаб.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дозу биспецифического антитела вводят один раз в неделю (еженедельное введение) в циклах по 28 дней. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения недельную дозу 24 мг или 48 мг вводят в течение 2,5 циклов длительностью 28 дней (т.е. 10 раз: в 15-й и 22-й дни первого цикла и 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни 2-го и 3-го циклов). В других вариантах осуществления настоящего изобретения после еженедельного введения можно сократить интервал введения до одного раза в две недели (введение раз в две недели). В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения введение раз в две недели осуществляют в течение шести 28-дневных циклов (т.е. 12 раз). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения после введения раз в две недели можно сократить интервал введения до одного раза в четыре недели. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения введение один раз каждые четыре недели может осуществляться в течение длительного периода, например, в течение по меньшей мере 1 цикла, по меньшей мере 2 циклов, по меньшей мере 3 циклов, по меньшей мере 4 циклов, по меньшей мере 5 циклов, по меньшей мере 6 циклов, по меньшей мере 7 циклов, не менее 8 циклов, не менее 9 циклов, не менее 10 циклов, не менее 11 циклов, не менее 12 циклов, не менее 13 циклов, не менее 14 циклов, не менее 15 циклов, не менее 16 циклов, не менее 17 циклов, например, между 1-20 циклами, 1-19 циклами, 1-18 циклами, 1-17 циклами, 1-16 циклами, 1-15 циклами, 1-14 циклами, 1-13 циклами, 1-12 циклами, 1-10 циклами, 1-5 циклами, 5-20 циклами, 5-15 циклами или 5-10 циклами из 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения эпоритамаб вводят в виде монотерапии (т.е. без GemOx) с 10-го цикла из 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения эпоритамаб вводят в виде монотерапии с 10-го по 26-й цикл из 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения эпоритамаб вводят в виде монотерапии с 7-го цикла из 28-дневных циклов до прогрессирования заболевания (например, по критериям Lugano или LYRIC) или из-за неприемлемой токсичности.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения недельную дозу биспецифического антитела вводят в 28-дневных циклах в циклах с 1-го по 3-й (которые могут включать начальную и промежуточную дозы, как описано ниже), двухнедельную дозу биспецифического антитела вводят в циклах с 4-го по 9-й, и дозу один раз в течение четырех недель вводят с 10-го цикла и далее, например, в циклы с 10-го по 15-й, циклы с 10-го по 20-й, циклы с 10-го по 25-й, циклы с 10-го по 30-й или более циклов, например, до тех пор, пока у субъекта не будет наблюдаться прогрессирование заболевания или неприемлемая токсичность. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дозу вводят один раз в четыре недели в циклы с 10-го по 26-й.

Следует отметить, что приводимые в настоящем изобретении дозы можно также назвать полными или фиксированными дозами в описанных выше вариантах, где, например, еженедельная доза, доза раз в две недели и/или доза, вводимая каждые четыре недели, находятся на одном уровне. Соответственно, когда выбрана доза 48 мг, предпочтительно последовательно при каждом еженедельном введении, при каждом введении раз в две недели и при каждом введении каждые четыре недели вводить такую же дозу 48 мг. Перед введением дозы можно вводить начальную или начальную и последующую промежуточную (вторую начальную) дозу. Это может быть полезным, поскольку может способствовать снижению риска и тяжести синдрома высвобождения цитокинов (СВЦ), побочного эффекта, который может возникнуть во время лечения биспецифическим анти-CD3хCD20-антителом, описанным в настоящем изобретении. Такие первичные или первичные и промежуточные дозы ниже по сравнению с фиксированной или полной дозой.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения перед введением недельной дозы 24 мг или 48 мг первичная доза биспецифического антитела может быть введена. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения начальную дозу вводят за две недели до введения первой недельной дозы 24 мг или 48 мг в 1-м цикле. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения первичная доза составляет 0,16 мг (или примерно 0,16 мг) биспецифического антитела полной длины.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения после введения начальной дозы и перед введением недельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу указанного биспецифического антитела. В одном из

вариантов осуществления настоящего изобретения начальную дозу вводят за неделю до промежуточной дозы (т.е. в первый день 1-го цикла) и промежуточную дозу вводят за неделю до первой недельной дозы 24 мг или 48 мг (т.е. в 8-й день 1-го цикла). В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения промежуточная доза составляет 800 мкг (0,8 мг) или примерно 800 мкг (0,8 мг) биспецифического антитела полной длины.

10        Описанные в настоящем изобретении способы включают лечение людей с ДКВКЛ биспецифическим антителом, которое связывается с CD3 и CD20, в сочетании со стандартной схемой лечения гемцитабином и оксалиплатином (GemOx).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин и оксалиплатин вводят в стандартных дозах GemOx, например, согласно клиническим исследованиям, в соответствии с местными рекомендациями и/или в соответствии с соответствующими местными инструкциями.

15        В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят в соответствии с этикеткой препарата или краткими характеристиками препарата (см., например, рекомендацию по препарату GEMZAR® о назначении инъекций, доступную на [www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2014/020509s0771bl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/020509s0771bl.pdf); доступно по адресу [www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2018/208313Orig1s0001bl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/208313Orig1s0001bl.pdf)). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин представляет собой гидрохлорид гемцитабина.

25        В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения оксалиплатин вводят в соответствии с этикетками препарата или краткими характеристиками препарата (см., например, информацию по препарату ELOXATIN®, доступную на [www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/021759s0231bl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/021759s0231bl.pdf)).

30        В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят в соответствии с местными рекомендациями и местными инструкциями. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят в дозе (или в примерной дозе) 1000 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят внутривенно.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят один раз каждый две недели в 28-дневных циклах. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение гемцитабина проводят один раз каждые две недели в течение четырех 28-дневных циклов (т.е. 8 раз).

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения оксалиплатин вводят в соответствии с местными рекомендациями и местными инструкциями. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения оксалиплатин вводят в дозе (или в примерной дозе)  $100 \text{ мг/м}^2$ . В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения оксалиплатин вводят  
10 внутривенно.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения оксалиплатин вводят один раз каждый две недели в 28-дневных циклах. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения оксалиплатин проводят один раз каждые две недели в течение четырех 28-дневных циклов (т.е.  
15 8 раз).

Дозу оксалиплатина можно уменьшить, если у субъекта развилась невропатия (ухудшение по сравнению с исходным уровнем). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения прием оксалиплатина прекращают, если у субъекта обнаруживают аномальные результаты  
20 неврологического обследования или если у субъекта наблюдают значительные парестезии, продолжающиеся 14 дней или более. Применение оксалиплатина можно возобновить в дозе  $75 \text{ мг/м}^2$  после улучшения симптомов.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят одновременно.

25 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят последовательно (например, в один и тот же день). Например, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят первым, оксалиплатин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним,  
30 когда гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения оксалиплатин вводят первым, гемцитабин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним, когда гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят в один и тот же день.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекта подвергают премедикации или профилактике СВЦ перед введением гемцитабина, оксалиплатина и биспецифического антитела.

5 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят гемцитабин (например, внутривенно), оксалиплатин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

10 (i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

15 (iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й, циклах с 10-го по 30-й или большем числе циклов) дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

20 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят гемцитабин (например, внутривенно), оксалиплатин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело (например, подкожно) в 28-дневные циклы, причем:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

25 (i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в 4-9 циклы дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

30 (iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, циклах с 10-го по 15-й, циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й ; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят гемцитабин (например, внутривенно), оксалиплатин (например, внутривенно) и

биспецифическое антитело эпоритамаб (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело эпоритамаб вводят следующим образом:

5 (i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклы с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

10 (iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, циклах с 10-го по 15-й, циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 30-й или большем числе циклов) дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

15 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят гемцитабин (например, внутривенно), оксалиплатин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело эпоритамаб (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело эпоритамаб вводят следующим образом:

20 (i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2 и 3 циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в 4-9 циклы дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

25 (iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, циклах с 10-го по 15-й, циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

30 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят гемцитабин (например, внутривенно), оксалиплатин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело (например, подкожно) в 28-дневных циклах, причем:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

5 (iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, циклах с 10-го по 20-й, в циклах с 10-го по 25-й, в циклах с 10-го по 30-й или большем числе циклов) дозу 24 мг вводят в 1-й день;

10 (б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й в дозе 1000 мг/м<sup>2</sup>; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й в дозе 100 мг/м<sup>2</sup>.

15 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят гемцитабин (например, внутривенно), оксалиплатин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело (например, подкожно) в 28-дневных циклах, причем:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в день 8-й и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

20 (ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 48 мг вводят в 1-й день;

25 (б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й в дозе 1000 мг/м<sup>2</sup>; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й в дозе 100 мг/м<sup>2</sup>.

30 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят гемцитабин (например, внутривенно), оксалиплатин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело эпкоритамаб (например, подкожно) в 28-дневные циклы, причем:

(а) биспецифическое антитело эпоритамаб вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

5 (ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклы с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й, циклах с 10-го по 30-й или большем числе циклов) дозу 24 мг вводят в 1-й день;

10 (б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й в дозе 1000 мг/м<sup>2</sup>; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й в дозе 100 мг/м<sup>2</sup>.

15 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят гемцитабин (например, внутривенно), оксалиплатин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело эпоритамаб (например, подкожно) в 28-дневные циклы, причем:

(а) биспецифическое антитело эпоритамаб вводят следующим образом:

20 (i) в 1-м цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) в циклы 2-й и 3-й дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклы с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

25 (iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклы с 10-го по 15-й, циклы с 10-го по 20-й, циклы с 10-го по 25-й или более циклов) дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й в дозе 1000 мг/м<sup>2</sup>; и

30 (в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й в дозе 100 мг/м<sup>2</sup>.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения у субъекта, проходящего лечение способами, описанными в настоящем изобретении, задокументирована ДКВКЛ (*de novo* или гистологически трансформированная из индолентных лимфом, за исключением хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) в

соответствии с классификацией ВОЗ 2016 г. (Swerdlow S.H. с соавт., в кн.: «WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues», пересмотренное 4-е издание, Лион, Франция, изд-во IARC Press, 2017, которая включена в настоящее изобретение в качестве ссылки). В некоторых вариантах

5 осуществления настоящего изобретения у субъекта имеется ДКВКЛ, если иное не указано (NOS – diffuse large B-cell lymphoma not otherwise specified). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта ДКВКЛ «двойного воздействия» или «тройного воздействия», которые согласно WHO

10 2016 классифицируют как В-клеточная лимфома высокой степени (HGBCL – High-Grade B-Cell Lymphoma) с транслокациями MYC и BCL2 и/или BCL6. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта имеется фолликулярная лимфома степени 3В. В другом варианте осуществления

настоящего изобретения у субъекта возник впоследствии рецидив или он невосприимчив к по меньшей мере одному предшествующему лечению. В еще

15 одном варианте осуществления настоящего изобретения субъект не прошел предварительную аутологичную ТГСК. В еще одном другом варианте осуществления настоящего изобретения субъект не имеет права на получение аутологичной ТГСК, например, из-за возраста, функционального состояния, сопутствующих заболеваний и/или недостаточного ответа на предшествующее

20 лечение.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения статус общего состояния субъекта по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group) составляет 0, 1, или 2. Информацию по оценке общего состояния по шкале ECOG можно найти,

25 например, в публикации Окен с соавт., *Am J Clin Oncol* 1982 Dec;5(6):649-655).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта имеется поддающееся измерению заболевание, определяемое как (а)  $\geq 1$  поддающееся измерению узловое поражение (длинная ось  $>1,5$  см и короткая ось  $>1,0$  см) или  $\geq 1$  поддающееся измерению экстранодальное поражение (длинная

30 ось  $>1$  см) на КТ или МРТ.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъект имеет приемлемую функцию органов, определяемую как: (а) абсолютное число нейтрофилов (АЧН)  $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$ , (б) количество тромбоцитов  $>75 \times 10^9/\text{л}$  или  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  при инфильтрации костного мозга или спленомегалии, (в) уровень

ALT в 2,5 раза ниже верхней границы нормы (ВГН), (г) уровень общего билирубина ниже или равен  $2 \times \text{ВГН}$ , (д)  $\text{eGFR} > 50$  мл/мин (по формуле Кокрофта-Голта) и (е) PT, INR и aPTT в полтора раза ниже или равны ВГН (если не принимается антикоагулянт).

5 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта нет тяжелых аллергических или анафилактических реакций на терапию анти-CD20 антителами, гемцитабином, оксалиплатином или биспецифическим антителом, или выявленной аллергии или непереносимости в отношении любого компонента из числа гемцитабина, оксалиплатина и/или биспецифического  
10 антитела.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта нет клинически значимого сердечного заболевания, включая (а) инфаркт миокарда в течение одного года до первой дозы биспецифического антитела, или нестабильное или неконтролируемое заболевание/состояние, связанное или  
15 влияющее на сердечную функцию (например, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность, NYHA класс III-IV), сердечная аритмия (СТСАЕ версия 4, степень 2 или выше) или клинически значимые отклонения ЭКГ и/или (б) ЭКГ в 12 отведениях, показывающая исходный QTcF  $> 470$  мсек.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта  
20 нет противопоказаний в отношении оксалиплатина или гемцитабина.

Субъект-человек, получающий лечение, описанное в настоящем изобретении, может быть пациентом, имеющим один или несколько критериев включения, изложенных в примере 1, или не имеющим одного или нескольких критериев исключения, изложенных в примере 1.

25 Описанные в настоящем изобретении способы полезны для лечения ДКВКЛ, таких как Р/Р ДКВКЛ (например, Р/Р ДКВКЛ, неприемлемую для аутологичной ТГСК). Лечение продолжают непрерывно с использованием, например, схем лечения, описанных в настоящем изобретении, до тех пор, пока не разовьется прогрессирующее заболевание или не возникнет неприемлемая  
30 токсичность.

Ответ субъектов с ДКВКЛ на лечение способами, описанными в настоящем изобретении, можно оценить в соответствии с критериями ответов Lugano для злокачественной лимфомы (также называемыми здесь «критериями Lugano») и/или Критериями ответа лимфомы на иммуномодулирующую терапию (также

называемыми в настоящем изобретении «LYRIC»), как описано в примере 1. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения полный ответ (ПО), частичный ответ (ЧО) и стабильность заболевания (СЗ) оценивают по критериям Lugano. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения

5 пациенты, у которых наблюдается прогрессирование заболевания (ПЗ) в соответствии с критериями Lugano, дополнительно оценивают в соответствии со шкалой LYRIC. Подробная информация о критериях/классификационной системе Lugano, включая определения полного ответа, частичного ответа, отсутствия ответа/стабильного заболевания и прогрессирующего заболевания,

10 представлена в публикации Cheson с соавт. *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068 (в частности, см. табл. 3 в публикации Cheson с соавт., 2014). Подробности, касающиеся LYRIC, показаны в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъектов лечат способами, описанными в настоящем изобретении, до тех пор, пока у них

15 не проявится прогрессирование заболевания (ПЗ), например, по оценке Lugano и/или LYRIC. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения субъектов лечат способами, описанными в настоящем изобретении, до тех пор, пока у них не проявится прогрессирование заболевания (ПЗ), как определено как критериями Lugano, так и LYRIC.

20 У субъектов, получавших лечение в соответствии с описанными в настоящем изобретении способами, наблюдают улучшение по крайней мере одного признака ДКВКЛ. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения улучшение измеряют по уменьшению количества и/или размера измеримых опухолевых поражений. В некоторых вариантах осуществления

25 настоящего изобретения поражения можно измерять на пленках КТ, ПЭТ-КТ или МРТ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения для оценки реакции на терапию можно использовать цитологию или гистологию. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аспирация костного мозга и биопсия костного мозга могут быть использованы для оценки

30 ответа на терапию.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения субъект, получивший лечение, демонстрирует полный ответ (ПО), частичный ответ (ЧО) или стабильное течение заболевания (СЗ) согласно критериям Lugano или LYRIC (см., например, табл. 8). В некоторых вариантах осуществления настоящего

изобретения способы, описанные в настоящем изобретении, обеспечивают по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из продолжительной выживаемости, такой как выживаемость без прогрессирования или общая выживаемость, необязательно по сравнению с другой терапией или плацебо.

5 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения активность Т-клеток (например, активность CD4+ и/или CD8+ Т-клеток) повышена у субъектов, которых лечили комбинацией биспецифического антитела, гемцитабина и оксалиплатина. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения экспрессия CD69, CD25, PD-1 и/или LAMP-1 повышена  
10 в CD4+ и/или CD8+ Т-клетках субъектов, которых лечили комбинацией биспецифического антитела, гемцитабина и оксалиплатина.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения противоопухолевая активность (например, В-клеточная цитотоксичность) увеличивается у субъектов, получавших комбинацию биспецифического  
15 антитела, гемцитабина и оксалиплатина, например, по сравнению с субъектами, получавших только биспецифическое антитело или комбинацию биспецифического антитела с гемцитабином или оксалиплатином.

Синдром выброса цитокинов (СВЦ) может возникать, когда к людям применяют методы, в которых используются подходы на основе иммунных  
20 клеток и биспецифических антител, которые функционируют за счет активации иммунных эффекторных клеток, например, за счет вовлечения CD3 (Lee с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25:625-638, публикация включена в настоящее описание в виде ссылки). Следовательно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения снижение СВЦ выполняется вместе с  
25 методами, описанными в настоящем изобретении. Как часть смягчения СВЦ, выбор первичной дозы и/или промежуточной дозы осуществляют до введения полной дозы (например, 24 или 48 мг), как описано в настоящем изобретении. СВЦ можно классифицировать в соответствии со стандартной практикой (например, как описано в работе Lee с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant*  
30 2019;25:625-638, включенной в настоящее описание в виде ссылки). СВЦ может включать чрезмерное высвобождение цитокинов, например, провоспалительных цитокинов, например, IL-6, TNF-альфа или IL-8, что может привести к таким побочным эффектам, как лихорадка, тошнота, рвота и озноб. Таким образом, несмотря на уникальную противоопухолевую активность биспецифических

антител, таких как экоритамаб, их иммунологический механизм действия может вызывать нежелательные «побочные» эффекты, т.е. индукцию нежелательных воспалительных реакций. Следовательно, пациенты могут дополнительно подвергаться сопутствующему лечению, профилактике и/или премедикации, например, анальгетиками, жаропонижающими средствами и/или 5 противовоспалительными препаратами для смягчения возможных симптомов СВЦ.

Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения люди-субъекты лечат методами, описанными в настоящем 10 изобретении, для профилактики СВЦ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактика включает введение кортикостероида. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения профилактику проводят в том же день, когда вводят биспецифическое антитело. Профилактическое введение можно проводить также на последующие сутки, 15 более предпочтительно в последующие 2-й, 3-й и 4-й дни. Очевидно, что во 2-й, 3-й и 4-й дни, когда речь идет о дальнейшем лечении, таком как профилактическое, оно связано с введением биспецифического антитела, которое вводят в первый день. Например, если в цикле антитело вводят в 15-й день и одновременно проводят профилактику, она приходится на 16-й, 17-й и 18-й дни 20 цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения проводят профилактику в тот день, когда вводят биспецифическое антитело и в последующие 2-4 дня. Если указанную профилактику проводят в тот же день, что и введение биспецифического антитела, предпочтительно профилактическое введение проводят за 30-120 мин до введения биспецифического антитела. 25 Примером кортикостероида, подходящего для применения в способах и применениях по настоящему изобретению, является преднизолон. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения преднизолон вводят внутривенно в дозе 100 мг или в эквивалентной ей дозе, включая дозу для перорального введения. Примеры кортикостероидных эквивалентов 30 преднизолона вместе с эквивалентными дозами, которые можно использовать для профилактики СВЦ, показаны в табл. 5.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекты-люди в способах, изложенных в настоящем описании, получают премедикацию для уменьшения реакции на инъекции. В одном из вариантов

осуществления настоящего изобретения премедикация включает введение антигистаминов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикация включает введение жаропонижающих средств. В другом варианте осуществления настоящего изобретения премедикация включает системное  
5 введение антигистамнов и жаропонижающих средств.

Типичным антигистаминным средством, пригодным для премедикации, является дифенилгидрамин. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дифенилгидрамин вводят внутривенно или перорально в дозе 50 мг или в эквивалентной дозе. Примером жаропонижающего средства, примененного  
10 для применения в премедикации, является ацетаминофен. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения ацетаминофен вводят перорально в дозе 650-1000 мг или в эквивалентной дозе. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикацию проводят в тот же день, что и введение биспецифического антитела, например, перед инъекцией биспецифического  
15 антитела, например, за 30-120 мин до введения биспецифического антитела.

Премедикацию и/или профилактику СВЦ можно проводить, по крайней мере, на начальном этапе лечения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикацию и/или профилактику проводят в течение первых четырех введений биспецифического антитела. Например, профилактику  
20 можно проводить, как описано в настоящем изобретении, в течение первого 28-дневного цикла введения биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикацию вводят во время указанного первого цикла.

Обычно риск развития реакций при начальном лечении снижается после нескольких введений, например, после первых четырех введений (первый цикл). Следовательно, когда у субъекта-человека не возникает СВЦ при четвертом введении, профилактика СВЦ может быть прекращена. Тем не менее, профилактика СВЦ может продолжаться, особенно когда у субъекта-человека наблюдают СВЦ выше 1-й степени. Аналогичным образом, премедикация также  
30 необязательно может продолжаться. Оценка СВЦ может быть выполнена, как описано в табл. 6 и 7.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения в методах по настоящему изобретению профилактику СВЦ проводят во время второго 28-дневного цикла, когда у субъекта-человека наблюдают СВЦ выше 1-й степени

после четвертого введения биспецифического антитела в 1-м цикле. Кроме того, профилактика может быть продолжена в течение последующего цикла, когда при последнем введении биспецифического антитела предыдущего цикла у субъекта-человека возникает СВЦ более высокой степени, чем 1-я. Любая премедикация может быть необязательно введена во время второго цикла. Дополнительная премедикация также может быть назначена во время последующих циклов.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения проводят премедикацию и профилактику СВЦ, включая введение антигистаминного препарата, такого как дифенилгидрамин (например, внутривенно или перорально в дозе 50 мг или ее эквиваленте), жаропонижающее средство, такое как ацетаминофен (например, в пероральной дозе 650-1000 мг или ее эквиваленте) и кортикостероид, такой как преднизолон (например, в дозе 100 мг внутривенно или ее эквиваленте). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикацию и профилактику осуществляют за 30-120 мин до введения биспецифического антитела. В последующие 2-й, 3-й и, необязательно, 4-й день проводят дополнительную профилактику, включающую системное введение кортикостероида, такого как преднизолон (например, внутривенно в дозе 100 мг или ее эквивалента). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения схему премедикации и профилактики предпочтительно проводят во время первых четырех введений биспецифического антитела, например, в течение первого 28-дневного цикла введения биспецифического антитела, описанного в настоящем изобретении. Кроме того, последующие циклы, в случае, например, СВЦ более высокой степени, чем 1-я, возникающего во время последнего введения предыдущего цикла, могут применять тот же график введения, при этом премедикация как часть графика введения не является обязательной.

Во время лечения человека с ДКВКЛ с использованием доз и схем лечения, описанных в настоящем изобретении, СВЦ можно хорошо контролировать, в то же время эффективно контролируя и/или проводя лечение ДКВКЛ. Как описано в примерах, у субъектов, получавших лечение описанными в настоящем изобретении способами, может наблюдаться управляемый СВЦ. В некоторых случаях у субъектов, получающих лечение, описанное в настоящем изобретении, может развиваться СВЦ 1-й степени, как определено в соответствии со стандартной практикой. В других случаях у субъектов может развиваться

управляемый СВЦ 2-го уровня, как это определено в соответствии со стандартной практикой. Следовательно, субъекты, получающие лечение, описанное в настоящем изобретении, могут иметь управляемый СВЦ 1-й степени или 2-й степени в течение времени в соответствии со стандартной практикой. В соответствии со стандартной классификацией СВЦ, СВЦ 1-й степени включает лихорадку не ниже 38°C, отсутствие гипотензии, отсутствие гипоксии, и СВЦ 2-й степени включает лихорадку не менее 38°C плюс гипотензию, не требующую применения вазопрессоров, и/или гипоксию, требующую кислорода с помощью назальной канюли с низким потоком или продувки. Такой управляемый СВЦ может возникать во время 1-го цикла. Субъекты-люди, получающие лечение, описанное в настоящем изобретении, также могут иметь СВЦ выше 2-й степени во время лечения, как определено в соответствии со стандартной практикой. Следовательно, люди, получающие лечение, описанное в настоящем изобретении, также могут иметь СВЦ 3-й степени во время указанного лечения, как определено в соответствии со стандартной практикой. Такой управляемый СВЦ также может быть во время первого и последующих циклов.

Субъекты-люди, получавшие лечение в соответствии со способами, описанными в настоящем изобретении, также могут испытывать лихорадку, усталость и реакции в месте инъекции. Они также могут испытывать нейротоксичность, парциальные припадки, аграфию, связанную с СВЦ, или спутанность сознания, связанную с СВЦ.

Как упоминалось выше, у субъектов может развиваться СВЦ во время лечения способами, описанными в настоящем изобретении, несмотря на то, что они получали профилактику СВЦ. Критерии оценки СВЦ описаны в табл. 6 и 7.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения субъектов, у которых развивается СВЦ 1-й степени, лечат антибиотиками, если у них есть инфекция. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения прием антибиотиков продолжают до исчезновения нейтропении, если она присутствует. В некоторых вариантах осуществления субъекты с СВЦ 1-й степени, у которых проявляются конституциональные симптомы, получают лечение нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения субъекты, у которых развивается СВЦ 2й степени, лечат внутривенно болюсами жидкости и/или обогащением кислородом. В некоторых вариантах осуществления

настоящего изобретения субъектов, у которых развивается СВЦ 2-й степени, лечат вазопрессорами. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекты с СВЦ 2-й степени и сопутствующими заболеваниями лечат тоцилизумабом (гуманизированное антитело против рецептора IL-6, коммерчески доступное, например, как продукт АСТЕМРА®) и/или стероидами (например, дексаметазоном или его эквивалентом метилпреднизолон). В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъекту с одновременным синдромом нейротоксичности, связанным с иммунными эффекторными клетками (ICANS – immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome), вводят дексаметазон. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения если у субъекта не наблюдают улучшения симптомов СВЦ в течение, например, 6 ч, или если состояние субъекта начинает ухудшаться после первоначального улучшения, то вводят вторую дозу тоцилизумаба вместе с дозой кортикостероидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, если субъект невосприимчив к тоцилизумабу после трех введений, то ему проводят дополнительную цитокиновую терапию, например, анти-IL-6 антителом (например, силтуксимаб) или антагонистом IL-1R (например, анакинром).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения субъектов, у которых развивается СВЦ 3-й степени, лечат вазопрессорами (например, норэпинефрином) и/или дополнительным кислородом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъектов с СВЦ 3-й степени лечат тоцилизумабом или тоцилизумабом в комбинации со стероидами (например, дексаметазоном или его эквивалентом метилпреднизолоном). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту с одновременным ICANS вводят дексаметазон. В другом варианте осуществления настоящего изобретения если субъект невосприимчив к тоцилизумабу после трех введений, то субъекту проводят дополнительную цитокиновую терапию, например, введением анти-IL-6 антитела (например, силтуксимаба) или антагониста IL-1R (например, анакинра).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения субъектов с развившейся 4-й степенью СВЦ лечат вазопрессором и/или обогащением кислородом (например, через вентиляцию с положительным давлением, такую как СРАР, ВiРАР, интубацию или механическую вентиляцию). В некоторых

вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят не менее двух вазопрессоров. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят тоцилизумаб и стероид. В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъекту с сопутствующим ICANS вводят дексаметазон. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения если субъект невосприимчив к тоцилизумабу после трех введений, ему проводят дополнительную цитокиновую терапию, например, введением анти-IL-6 антитела (например, силтуксимаба) или антагониста IL-1R (например, анакинра).

10 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъект-человек получает профилактическое лечение синдрома лизиса опухоли (СЛО). Классификацию и оценку синдрома лизиса опухоли можно проводить с использованием методов, известных в данной области, например, как описано в публикации Howard с соавт. *N Engl J Med* 2011;364:1844-1854 и Coiffier с соавт.,  
15 *J Clin Oncol* 2008;26:2767-2778. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактическое лечение СЛО включает введение агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, до введения биспецифического антитела. Примеры агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, включают расбуриказу и аллопуринол. Соответственно, в одном из вариантов  
20 осуществления настоящего изобретения профилактическое лечение СЛО включает введение расбуриказы перед введением биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, когда у субъекта проявляются признаки СЛО, может быть использована поддерживающая терапия, такая как расбуриказа.

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят подкожно и таким образом, изготавливают в виде фармацевтической композиции, которая совместима с подкожным (п/к) введением, т.е. имеет состав и/или концентрацию, которая обеспечивает фармацевтически приемлемое п/к введение в дозах, описанных в  
30 настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения подкожно введение осуществляют инъекцией. Например, составы для DuoBody CD3xCD20, которые совместимы с подкожным составом и могут быть использованы в выше описанных в настоящем изобретении способах (см., например, WO2019155008, который включен в настоящее изобретение в виде

ссылки). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело может быть приготовлено с использованием тригидрата ацетата натрия, уксусной кислоты, гидроксида натрия, сорбита, полисорбата 80 и воды для инъекций и может иметь рН 5,5 или примерно 5,5. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело предусматривают в виде 5 мг/мл или концентрата 60 мг/мл. В других вариантах осуществления настоящего изобретения требуемая доза биспецифического антитела восстанавливается до объема около 1 мл для подкожной инъекции.

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения подходящая фармацевтическая композиция для биспецифического антитела может содержать биспецифическое антитело, 20-40 мМ ацетата, 140-160 мМ сорбита и поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 80, и имеет рН 5,3-5,6. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фармацевтический состав может содержать антитело в концентрации в диапазоне 5-100 мг/мл, например, 48 или 60 мг/мл биспецифического антитела, 30 мМ ацетата, 150 мМ сорбита, 0,04 % (мас./об.) полисорбата 80 и рН 5,5. Такой состав может быть разбавлен, например, буфером для обеспечения надлежащего дозирования и подкожного введения.

20 Объем фармацевтической композиции выбирают соответствующим образом для обеспечения подкожного введения антитела. Например, вводимый объем находится в диапазоне от примерно 0,3 мл до примерно 3 мл, например, от 0,3 мл до 3 мл. Вводимый объем может составлять 0,5 мл, 0,8 мл, 1 мл, 1,2 мл, 1,5 мл, 1,7 мл, 2 мл или 2,5 мл, или примерно 0,5 мл, примерно 0,8 мл, примерно 1 мл, примерно 1,2 мл, примерно 1,5 мл, примерно 1,7 мл, примерно 2 мл или примерно 2,5 мл. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 0,5 мл или примерно 0,5 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 0,8 мл или примерно 0,8 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 1 мл или примерно 1 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 1,2 мл или примерно 1,2 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 1,5 мл или примерно 1,5 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем

составляет 1,7 мл или примерно 1,7 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 2 мл или примерно 2 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 2,5 мл или примерно 2,5 мл.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения гемцитабин и оксалиплатин готовят индивидуально в виде фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества для введения (например, внутривенного введения) в соответствии с местными стандартами медицинской помощи, например, как указано в местных  
10 руководствах или в местных этикетках продуктов производителем. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин и оксалиплатин разводят из исходного раствора или восстанавливают, если они находятся в лиофилизированной форме, в соответствии, например, с инструкциями на этикетке продукта (например, в 0,9% солевом растворе).

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело, применяемое в способах по настоящему изобретению, содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит  
20 переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 6, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 7; и

25 (ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH и область VL, где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 13, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в  
30 последовательности области VL SEQ ID NO: 14.

Области CDR1, CDR2 и CDR3 могут быть идентифицированы из переменных областей тяжелой и легкой цепи с использованием методов, известных в данной области. Области CDR из указанных переменных областей тяжелой и легкой цепи могут быть аннотированы в соответствии с IMGT (см.

Lefranc с соавт., *Nucleic Acids Research* 1999;27:209-212] и Brochet. *Nucl Acids Res* 2008;36:W503-508).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит:

5 (i) первое связывающее плечо, содержащее первую антиген-связывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит аминокислотные последовательности VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и аминокислотные последовательности VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, указанные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и

10 (ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антиген-связывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, указанные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит:

20 (i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и

25 (ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело является антителом полной длины и может иметь инертную область Fc. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое связывающее плечо для CD3 происходит от гуманизированного антитела, например, антитела полной длины IgG1,λ (лямбда), такого как H1L1, описанного в WO2015001085, которое включено в настоящее изобретение посредством ссылки, и/или второе связывающее плечо для CD20 производное от антитела человека, например, от антитела полной длины IgG1,κ (каппа), такого как клон 7D8, описанный в WO2004035607,

который включен в настоящее изобретение в качестве ссылки. Биспецифическое антитело может быть получено из двух половинок молекул антител. Каждая из двух половинок молекул антител (полуантител), содержащих, например, соответствующие первое и второе связывающие плечи, представлены в SEQ ID NO: 24 и 25 и SEQ ID NO: 26 и 27. Полуантитела могут быть получены в клетках CHO и биспецифические антитела образуются, например, путем замены плеча Fab. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело представляет собой функциональный вариант Duobody CD3xCD20.

10 Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело включает:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 6, или область VH, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот), и область VL, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 7, или область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот); и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO : 13, или область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, замены аминокислот), и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая составляет не менее 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 14 или области VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25;

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 24, или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 25, или область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот); и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO : 26, или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 27, или область легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот).

В биспецифическом антителе можно использовать различные константные области или их варианты. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антитело содержит константную область IgG, такую как константная

область IgG1 человека, например, константную область IgG1 человека, представленную в SEQ ID NO: 15, или любой другой подходящей аллотип IgG1. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения первое связывающее плечо биспецифического антитела происходит от гуманизованного антитела, например, от полноразмерного антитела IgG1, $\lambda$  (лямбда) и, таким образом, содержит константную область легкой цепи  $\lambda$ . В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое связывающее плечо содержит константную область легкой цепи  $\lambda$ , представленную в SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения второе связывающее плечо биспецифического антитела получено из антитела человека, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, $\kappa$  (каппа), и, таким образом, может содержать константную область легкой цепи  $\kappa$ . В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения второе связывающее плечо содержит константную область легкой цепи  $\kappa$ , представленную в SEQ ID NO: 23.

Известно, что часть константной области биспецифического антитела может содержать модификации, которые обеспечивают эффективное образование/продукцию биспецифических антител и/или обеспечивают инертную область Fc. Такие модификации хорошо известны в данной области техники.

Различные форматы биспецифических антител известны в данной области (обзор Kontermann, *Drug Discov Today* 2015;20:838-847; *MAbs*, 2012;4:182-197). Таким образом, биспецифическое антитело, используемое в способах и применениях, описанных в настоящем изобретении, не ограничиваются каким-либо конкретным биспецифическим форматом или способом его получения. Например, биспецифические антитела могут включать, но не ограничиваться ими, биспецифические антитела с комплементарными доменами CH3 для форсирования гетеродимеризации, молекулы выступ-во-впадину (фирма Genentech, WO9850431), CrossMAb (фирма Roche, WO2011117329) или электростатически соединенные молекулы (фирма Amgen, EP1870459 и WO2009089004; фирма Chugai, US201000155133; фирма Oncomed, WO2010129304).

Предпочтительно биспецифическое антитело содержит область Fc, включающую первую тяжелую цепь с первой последовательностью Fc,

включающую первую область СНЗ, и вторую тяжелую цепь со второй последовательностью Fc, включающую вторую область СНЗ, причем последовательности первой и второй областей СНЗ различаются и являются такими, что гетеродимерное взаимодействие между указанными первой и второй областями СНЗ сильнее, чем каждое из гомодимерных взаимодействий указанных первой и второй областей СНЗ. Более подробная информация об этих взаимодействиях и о том, как их можно достичь, представлена, например, в WO 2011131746 и WO 2013060867 (фирма Genmab), которые включены в настоящее описание в качестве ссылки. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит в первой тяжелой цепи (i) аминокислоту L в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, и содержит во второй тяжелой цепи аминокислоту R в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, или наоборот.

Биспецифические антитела могут содержать модификации в области Fc, чтобы сделать область Fc инертной или неактивирующей. Таким образом, в описанных в настоящем изобретении биспецифических антителах одна или обе тяжелые цепи могут быть модифицированы таким образом, что антитело индуцирует Fc-опосредованную эффекторную функцию в меньшей степени по сравнению с биспецифическим антителом, которое не имеет модификации. Fc-опосредованную эффекторную функцию можно измерить путем определения Fc-опосредованной экспрессии CD69 на Т-клетках (т.е. экспрессии CD69 в результате перекрестного связывания CD3, опосредованного антителами к CD3 и зависимо от рецептора Fc $\gamma$ ), путем связывания с рецепторами Fc $\gamma$ , путем связывания с C1q, или путем индукции Fc-опосредованного перекрестного связывания Fc $\gamma$ R. В частности, последовательность константной области тяжелой цепи может быть модифицирована таким образом, чтобы Fc-опосредованная экспрессия CD69 снижалась по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 99% или на 100% по сравнению с антителом дикого типа (немодифицированным), в котором указанная Fc-опосредованная экспрессия CD69 определяется в функциональном анализе на основе мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), например, как описано в примере 3 в WO 2015001085. Модификации последовательностей

константных областей тяжелой и легкой цепей также могут приводить к уменьшению связывания C1q с указанным антителом. По сравнению с немодифицированным антителом снижение может составлять не менее 70 %, не менее 80 %, не менее 90 %, не менее 95 %, не менее 97 % или 100 %, и связывание C1q можно определить, например, методом ELISA. Кроме того, область Fc, которая может быть модифицирована таким образом, чтобы антитело опосредовало снижение Fc-опосредованной пролиферации Т-клеток по сравнению с немодифицированным антителом по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 99% или на 100%, когда указанную Т-клеточную пролиферацию измеряют в функциональном анализе на основе МКПК. Примеры положений аминокислот, которые могут быть модифицированы, например, в антителе изотипа IgG1, включают положения L234 и L235. Таким образом, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело может содержать первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, а также как в первой тяжелой цепи, так и во второй тяжелой цепи аминокислотные остатки в положениях, соответствующих положениям L234 и L235 в тяжелой цепи IgG1 человека в соответствии с нумерацией ЕС, являются F и E, соответственно. Кроме того, аминокислотная замена D265A может снижать связывание со всеми рецепторами Fcγ и предотвращать ADCC (Shields с соавт., JBC 2001; 276:6591-6604). Таким образом, биспецифическое антитело может содержать первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, при этом как в первой тяжелой цепи, так и во второй тяжелой цепи аминокислотный остаток в положении, соответствующем положению D265 в тяжелой цепи IgG1 человека согласно нумерация ЕС, представлен А.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения в первой тяжелой цепи и второй тяжелой цепи биспецифического антитела аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи IgG1 человека, представляют собой F, E и A, соответственно. Антитело, имеющее эти аминокислоты в указанных положениях, является примером антитела, имеющего инертную область Fc или неактивирующую область Fc.

Что касается биспецифических антител, описанных в настоящем изобретении, те, которые имеют комбинацию трех аминокислотных замен L234F,

L235E и D265A и, кроме того, мутацию K409R или F405L, как описано выше, могут обозначаться с суффиксом «FEAR» или «FEAL», соответственно.

Аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG1 дикого типа может быть идентифицирована в настоящем изобретении как  
5 SEQ ID NO: 15. В соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, описанными выше, биспецифическое антитело может содержать константную область тяжелой цепи IgG1, несущую замену F405L, и может иметь аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17, и/или  
10 константную область тяжелой цепи IgG1, содержащую замену K409R, и может иметь аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 18, и дополнительные замены, которые делают область Fc инертной или неактивной. Следовательно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит комбинацию константных областей тяжелой цепи IgG1 с аминокислотной последовательностью одной из  
15 константных областей тяжелой цепи IgG1, несущей замены L234F, L235E, D265A и F405L (например, как указано в SEQ ID NO: 19), и аминокислотной последовательности другой константной области тяжелой цепи IgG1, несущей замены L234F, L235E, D265A и K409R (например, как указано в SEQ ID NO: 20).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения  
20 биспецифическое антитело, используемое в способах и применениях, описанных в настоящем изобретении, содержит первое связывающее плечо, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, как представлено в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и второе связывающее плечо, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, как представлено в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно. Такое  
25 антитело упоминается в настоящем изобретении как DuoBody CD3xCD20. Кроме того, предполагается использование вариантов таких антител в способах и применениях, описанных в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическим антителом является эпоритамаб (CAS 2134641-34-0) или его биоаналог.

### 30 Наборы

Также в настоящем изобретении предусматривают наборы, включающие фармацевтическую композицию, содержащую биспецифическое антитело, которое связывается с CD3 и CD20 в соответствии с настоящим изобретением, такое как DuoBody CD3xCD20 или эпоритамаб, и фармацевтически приемлемый

носитель в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для использования в описанных способах. Наборы могут также включать фармацевтическую композицию, содержащую гемцитабин (например, для внутривенного введения), и отдельную фармацевтическую композицию, содержащую оксалиплатин (например, для внутривенного введения). Наборы необязательно также могут включать инструкции, например, содержащие схемы введения, позволяющие практикующему врачу (например, врачу, медсестре или пациенту) вводить композицию или композиции, содержащиеся в них, пациенту с ДКВКЛ. В комплект также может входить шприц или шприцы.

10 Необязательно, наборы включают несколько упаковок однодозовых фармацевтических композиций, каждая из которых содержит эффективное количество биспецифического антитела для однократного введения в соответствии с описанными в настоящем изобретении способами. Они также могут включать несколько упаковок фармацевтических композиций с разовой 15 дозой, содержащих дозу гемцитабина и/или оксалиплатина, в соответствии со стандартной схемой лечения. Инструменты или устройства, необходимые для введения фармацевтической композиции (или композиций), также могут быть включены в наборы.

#### Другие варианты осуществления настоящего изобретения

20 1. Биспецифическое антитело, содержащее:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3 $\epsilon$  человека (эпсилон) и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, 25 которые находятся в области VH последовательности SEQ ID NO: 6, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH и область 30 VL, где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 13 и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 14;

для применения в лечении диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ДКВКЛ) у субъекта-человека, где лечение включает введение биспецифического антитела и эффективного количества гемцитабина и оксалиплатина субъекту-человеку, причем биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг, при этом биспецифические антитела, гемцитабин и оксалиплатин вводят 28-дневными циклами.

2. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 1, причем биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг.

3. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 1, причем биспецифическое антитело вводят в дозе 48 мг.

4. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-3, причем биспецифическое антитело вводят один раз каждую неделю (еженедельное введение).

5. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 4, причем еженедельное введение 24 мг или 48 мг осуществляют в течение 2,5 28-дневных циклов.

6. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 4 или 5, причем после еженедельного введения биспецифическое антитело вводят один раз в две недели (двухнедельное введение).

7. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 6, причем введение раз в две недели осуществляют в течение шести 28-дневных циклов.

8. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 6 или 7, причем после введения раз в две недели биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели.

9. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 8, причем введение раз в четыре недели осуществляют в течение по меньшей мере двух 28-дневных циклов.

10. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 4-9, причем перед еженедельным введением 24 мг или 48 мг начальную дозу биспецифического антитела вводят в первом цикле 28-дневных циклов.

11. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 10, причем начальную дозу вводят за две недели до введения первой недельной дозы 24 мг или 48 мг.

5 12. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 10 или 11, причем первичная доза составляет 0,16 мг.

13. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 10-12, причем после введения начальной дозы и до введения первой недельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

10 14. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 13, причем начальную дозу вводят в 1-й день и промежуточную дозу вводят в 8-й день до первой недельной дозы 24 мг или 48 мг в 15-й и 22-й дни первого цикла.

15 15. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 13 или 14, причем промежуточная доза составляет 0,8 мг.

16. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-15, причем гемцитабин вводят один раз каждые две недели.

20 17. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 16, где введение гемцитабина один раз каждые две недели осуществляют в течение четырех 28-дневных циклов.

18. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-17, причем гемцитабин вводят в дозе 1000 мг/м<sup>2</sup> или в эквивалентной дозе.

25 19. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-18, причем оксалиплатин вводят один раз каждые две недели.

30 20. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-19, причем введение оксалиплатина один раз в две недели проводят в течение четырех 28-дневных циклов.

21. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-20, причем оксалиплатин вводят в дозе 100 мг/м<sup>2</sup>.

22. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-21, причем гемцитабин, оксалиплатин и

биспецифическое антитело вводят в один и тот же день (например, в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й).

23. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-22, причем схема дозирования гемцитабина, оксалиплатина и биспецифического антитела показана в табл. 2.

24. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1, 2 и 4-23, в которых введение осуществляют 28-дневными циклами и где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклы с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

25. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1 и 3-23, в которых введение осуществляют 28-дневными циклами и где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2 и 3 циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в 4-9 циклы дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10 цикле и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

26. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-25, причем биспецифическое антитело вводят подкожно.

27. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-26, причем гемцитабин вводят внутривенно.

28. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-27, причем оксалиплатин вводят внутривенно.

5 29. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-28, причем биспецифическое антитело, гемцитабин и оксалиплатин вводят последовательно.

10 30. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-29, причем сначала вводят гемцитабин, вторым вводят оксалиплатин и последним вводят биспецифическое антитело, где гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят в один и тот же день.

31. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-30, причем ДКВКЛ характеризуется двумя или тремя воздействиями (транслокациями).

15 32. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-31, причем ДКВКЛ является фолликулярной лимфомой степени 3В.

20 33. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-32, причем у субъекта возник рецидив после по меньшей мере одной предшествующей терапии.

34. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-33, причем субъект невосприимчив по крайней мере к одному предшествующему лечению.

25 35. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-34, причем у субъекта была неудачная предшествующая трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток.

30 36. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-35, причем субъект не подходит для аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток из-за возраста, общего состояния (ОС), сопутствующих заболеваний и/или недостаточного ответа на предшествующее лечение.

37. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-36, причем субъекта лечат путем профилактики синдрома высвобождения цитокинов.

5 38. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 37, причем профилактика включает введение субъекту кортикостероида.

39. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 38, причем кортикостероид вводят в один и тот же день, что и биспецифическое антитело.

10 40. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 39, причем кортикостероид дополнительно вводят на вторые, третьи и четвертые сутки после введения биспецифического антитела.

15 41. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 38-40, причем кортикостероид представляет собой преднизолон.

42. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 41, причем преднизолон вводят внутривенно в дозе 100 мг или эквивалентной ей дозе, включая пероральную дозу.

20 43. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-42, причем субъекту проводят премедикацию для уменьшения реакции на инъекции.

44. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 43, причем премедикация включает антигистаминный препарат.

25 45. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 44, причем антигистаминный препарат представляет собой дифенгидрамин.

46. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 45, причем дифенгидрамин вводят внутривенно или перорально в дозе 50 мг или ее эквиваленте.

30 47. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 43-46, причем премедикация включает жаропонижающее средство.

48. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 47, причем жаропонижающее средство представляет собой ацетаминофен.

5 49. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 48, причем ацетаминофен вводят перорально в дозе от 650 мг до 1000 мг или ее эквиваленте.

50. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 43-49, причем премедикацию осуществляют в тот же день, в который вводят биспецифическое антитело.

10 51. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 37-50, причем профилактику осуществляют в 1-м цикле 28-дневных циклов.

15 52. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 43-51, причем премедикацию осуществляют в 1-м цикле 28-дневных циклов.

20 53. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 37-52, причем профилактику осуществляют во 2-м цикле 28-дневных циклов, когда субъект испытывает синдрома выброса цитокинов (СВЦ) выше 1-й степени после последнего введения биспецифического антитела в 1-м цикле 28-дневных циклов.

25 54. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 53, причем профилактику осуществляют в последующем цикле, при этом профилактику продолжают в последующем цикле, когда при последнем введении биспецифического антитела предыдущего цикла у субъекта наблюдают синдром выброса цитокинов СВЦ более высокой степени, чем 1-я.

55. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 43-54, причем премедикацию осуществляют во 2-м цикле 28-дневных циклов.

30 56. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 55, причем премедикацию осуществляют в течение последующих циклов.

57. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-56, в котором субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается синдром выброса цитокинов (СВЦ) 1-й степени.

58. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-56, в котором субъекту вводят вазопрессор если у субъекта развивается СВЦ 2-й или 3-й степени.

5 59. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-56, в которых субъекту вводят по меньшей мере два вазопрессора если у субъекта развивается СВЦ 4-й степени.

60. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-59, в котором субъекту вводят толицизумаб если у субъекта развивается СВЦ 2-й, 3-й или 4-й степени.

10 61. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 60, в котором субъекту дополнительно вводят стероид.

62. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 61, в котором субъекту дополнительно вводят стероид дексаметазон.

15 63. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 61, в котором стероид является метилпреднизолоном.

64. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 60-63, в котором тоцилизумаб заменяют на анти-IL-6 антитело (например, силтуксимаб), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

20 65. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 60-63, в котором тоцилизумаб заменяют на антагониста IL-1R (например, анакинра), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

66. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-65, в котором субъекта подвергают профилактике синдрома лизиса опухоли (СЛО – tumor lysis syndrome).

25 67. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 66, в котором профилактика СЛО включает введение одного или нескольких агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела.

30 68. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 67, в котором один или несколько агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, включают расбуриказу и/или аллопуринол.

69. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-68, в котором субъект достигает полного ответа, частичного ответа или стабилизации заболевания.

70. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-69, в котором:

5 (i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и

10 (ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

15 71. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-70, в котором:

(i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и

20 (ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

25 72. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-71, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела происходит от гуманизированного антитела, предпочтительно антитела полной длины IgG1,  $\lambda$  (лямбда).

30 73. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 72, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой цепи  $\lambda$ , содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22.

74. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-73, в котором второе связывающее плечо

биспецифического антитела происходит от антитела человека, предпочтительно антитела полной длины IgG1, κ (каппа).

75. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 74, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой цепи κ, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23.

76. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-75, в котором биспецифическое антитело представляет собой антитело полной длины с константной областью IgG1 человека.

77. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-76, в котором биспецифическое антитело содержит инертную область Fc.

78. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-77, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем как в первой, так и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляют собой F, E и A, соответственно.

79. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-78, где биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и где во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15 представляет собой R, или наоборот.

80. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-79, где биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, где

(i) как в первой, так и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляют собой F, E и A, соответственно, и

(ii) в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константная область тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

81. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 80, где биспецифическое антитело содержит константные области тяжелой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

82. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-81, где биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

83. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-82, причем биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

84. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-83, где биспецифическое антитело является эпоритамабом или биоаналогом.

1а. Способ лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ДКВКЛ) у субъекта-человека, включающий введение субъекту биспецифического антитела и эффективного количества гемцитабина и оксалиплатина, причем биспецифическое антитело включает:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 6, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH и область VL, где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 13, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 14;

где биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг и где гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят 28-дневными циклами.

10 2а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 1а, в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг.

3а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 1а, в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 48 мг.

15 4а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-3а, в котором биспецифическое антитело вводят один раз каждую неделю (еженедельное введение).

5а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 4а, в котором еженедельное введение 24 мг или 48 мг вводят в течение 2,5 циклов из 28-дневных циклов.

20 6а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 4а или 5а, в котором после еженедельного введения биспецифическое антитело вводят один раз каждые две недели (введение раз в две недели).

25 7а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 6а, в котором введение раз в две недели осуществляют на протяжении шести 28-дневных циклов.

8а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 6а или 7а, в котором после введения раз в две недели биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели.

30 9а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 8а, в котором введение один раз каждые четыре недели осуществляют на протяжении по меньшей мере двух 28-дневных циклов.

10а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 4а-9а, в котором перед еженедельным введением 24 мг или 48 мг,

начальную дозу биспецифического антитела вводят в 1-м цикле 28-дневных циклов.

5 11а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 10а, в котором начальную дозу вводят за две недели до введения первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг.

12а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 10а или 11а, в котором начальная доза составляет 0,16 мг.

10 13а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 10а-12а, в котором после введения начальной дозы и перед введением первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

14а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 13а, в котором начальную дозу вводят в 1 день и промежуточную дозу вводят в 8 день перед первой недельной дозой 24 мг или 48 мг в 15-й и 22-й дни первого цикла.

15 15а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 13а или 14а, в котором промежуточная доза составляет 0,8 мг.

16а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-15а, в котором гемцитабин вводят один раз каждые две недели.

20 17а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 16а, в котором введение гемцитабина осуществляют раз в две недели на протяжении четырех 28-дневных циклов.

18а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-17а, в котором гемцитабин вводят в дозе 1000 мг/м<sup>2</sup> или в эквивалентной дозе.

25 19а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-18а, в котором оксалиплатин вводят один раз каждые две недели.

20а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-19а, в котором введение оксалиплатина один раз каждые две недели осуществляют в течение четырех 28-дневных циклов.

30 21а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-20а, в котором оксалиплатин вводят в дозе 100 мг/м<sup>2</sup>.

22а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-21а, в котором гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое

антитело вводят в один и тот же день (например, в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й).

23а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-22а, причем схема дозирования гемцитабина, оксалиплатина и биспецифического антитела показана в табл. 2.

24а. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1, 2 и 4-23, в которых введение осуществляют 28-дневными циклами и где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

10 (i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

15 (iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

20 25а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1 и 3а-23а, в которых введение осуществляют 28-дневными циклами и где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

25 (i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8 день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2 и 3 циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

30 (б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

26а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-25а, в котором биспецифическое антитело вводят подкожно.

27а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-26а, в котором гемцитабин вводят внутривенно.

28а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-27, в котором оксалиплатин вводят внутривенно.

5 29а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-28а, в котором биспецифическое антитело, гемцитабин и оксалиплатин вводят последовательно.

10 30а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-29а, в котором гемцитабин вводят первым, оксалиплатин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним, причем гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят в один и тот же день.

31а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-30а, в котором ДКВКЛ характеризуется двумя или тремя воздействиями (транслокациями).

15 32а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-31а, в котором ДКВКЛ является фолликулярной лимфомой степени 3В.

20 33а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-32а, в котором у субъекта возникает рецидив после по меньшей мере одной предшествующей терапии.

34а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-33а, в котором субъект невосприимчив по меньшей мере к одному предшествующему лечению.

25 35а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-34а, в котором у субъекта была неудачная предшествующая трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток.

30 36а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-35а, в котором субъект не подходит для аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток из-за возраста, общего состояния, сопутствующих заболеваний и/или недостаточного ответа на предшествующее лечение.

37а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-36а, в котором субъекта лечат путем профилактики синдрома высвобождения цитокинов.

38а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 37а, в котором профилактика включает введение субъекту кортикостероида.

39а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 38а, в котором кортикостероид вводят в тот же день, что и биспецифическое антитело.

5 40а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 39а, в котором кортикостероид дополнительно вводят на вторые, третьи и четвертые сутки после введения биспецифического антитела.

41а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 38а-40а, в котором кортикостероидом является преднизолон.

10 42а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 41а, в котором преднизолон вводят внутривенно в дозе 100 мг или в эквивалентной дозе, включая пероральную дозу.

43а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-42а, в котором субъекту проводят премедикацию для снижения реакций на инъекции.

44а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 43а, в котором премедикация включает применение антигистамина.

45а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 44а, в котором антигистаминным препаратом является дифенгидрамин.

20 46а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 45а, в котором дифенгидрамин вводят в дозе 50 мг или в эквивалентной дозе внутривенно или перорально.

47а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 43а-46а, в котором премедикация включает применение жаропонижающего препарата.

48а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 47а, в котором жаропонижающим препаратом является ацетаминофен.

30 49а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 48а, в котором ацетаминофен вводят перорально в дозе от 650 мг до 1000 мг или в эквивалентной дозе.

50а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 43а-49а, в котором премедикацию осуществляют в тот же день, что и введение биспецифического антитела.

51а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 37а-50а, в котором профилактику осуществляют в первом цикле 28-дневных циклов.

5 52а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 43а-51а, в котором премедикацию осуществляют в первом цикле 28-дневных циклов.

10 53а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 37а-52а, в котором премедикацию осуществляют во время 2-го цикла 28-дневных циклов, когда субъект испытывает синдром выброса цитокинов (СВЦ) выше 1-й степени после последнего введения биспецифического антитела в первом цикле 28-дневных циклов.

15 54а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 53а, в котором профилактика продолжается в последующем цикле, когда при последнем введении биспецифического антитела в предыдущем цикле у субъекта наблюдают СВЦ выше 1-й степени.

55а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 43а-54а, в котором премедикацию осуществляют во время 2-го цикла 28-дневных циклов.

20 56а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 55а, в котором премедикацию осуществляют во время последующих циклов.

57а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-56а, в котором субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается СВЦ 1-й степени.

25 58а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-56а, в котором субъекту вводят вазопрессор, если у субъекта развивается СВЦ 2-й или 3-й степени.

59а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-56а, в котором субъекту вводят не менее двух вазопрессоров, если у субъекта развивается СВЦ 4-й степени.

30 60а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-59а, в котором субъекту вводят тоцилизумаб, если у субъекта развивается СВЦ 2-й, 3-й или 4-й степени.

61а. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 60а, в котором субъекту дополнительно вводят стероид.

62a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 61a, в котором стероидом является дексаметазон.

63a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 61a, в котором стероидом является метилпреднизолон.

5 64a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 60a-63a, в котором тоцилизумаб заменяют на анти-IL-6 антитело (например, силтуксимаб), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

10 65a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 60a-63a, в котором тоцилизумаб заменяют на антагонист IL-1R (например, на анакинру), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

66a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-65a, в котором субъекта подвергают профилактике синдрома лизиса опухоли (СЛО).

15 67a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 66a, в котором профилактика СЛО включает введение одного или нескольких агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела.

20 68a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 67a, в котором один или несколько агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, включают расбуриказу и/или аллопуринол.

69a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-68a, в котором у субъекта достигают полного ответа, частичного ответа или стабильности заболевания.

25 70a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-69a, в котором:

30 (i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и

(ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и

VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие указанные аминокислотные последовательности в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

5 71a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-70a, в котором:

(i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и

10 (ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

15 72a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-71a, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела происходит от гуманизированного антитела, предпочтительно от антитела полной длины IgG1, $\lambda$  (лямбда).

20 73a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 72a, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой цепи  $\lambda$ , содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22.

25 74a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-73a, в котором второе связывающее плечо биспецифического антитела происходит от антитела человека, предпочтительно от антитела полной длины IgG1, $\kappa$  (каппа).

75a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 74a, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой цепи  $\kappa$ , содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23.

30 76a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-75a, в котором биспецифическое антитело является антителом полной длины с константной областью IgG1 человека.

77a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-76a, в котором биспецифическое антитело содержит инертную область Fc.

5 78a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-77a, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем в обеих первая и вторая тяжелые цепи, аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляют собой F, E и A, соответственно.

10 79a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-78a, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и где во  
15 второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

80a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-79a, в котором биспецифическое антитело содержит первую  
20 тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем

(i) как в первой, так и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляют собой F, E и A, соответственно, и

25 (ii) в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и где во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

30 81a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 80a, в котором биспецифическое антитело содержит константные области тяжелой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

82a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-81a, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую

цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: №№: 26 и 27, соответственно.

5 83а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1а-82а, где биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, состоящие из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, состоящие из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

10 84а. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-83, где биспецифическое антитело является эпоритамабом или его аналогом.

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано приводимыми ниже примерами, которые не следует рассматривать как варианты, ограничивающие область его охвата. Сущность всех фигур и ссылок, последовательностей Genbank, журнальных публикаций, патентов и опубликованных патентных заявок, цитируемых в настоящем описании, прямо включена в него в виде ссылок.

#### Примеры

##### 20 DuoBody-CD3xCD20

DuoBody-CD3xCD20 является биспецифическим антителом (bsAb), распознающим Т-клеточный антиген CD3 и В-клеточный антиген CD20. DuoBody-CD3xCD20 запускает мощное опосредованное Т-клетками уничтожение клеток, экспрессирующих CD20. DuoBody-CD3xCD20 имеет 25 обычную структуру IgG1.

30 Два родительских антитела, IgG1-CD3-FEAL, гуманизированное IgG1 $\lambda$ , CD3 $\epsilon$ -специфическое антитело, имеющее последовательности тяжелой и легкой цепей, как указано в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и IgG1-CD20-FEAR, полученное из человеческого IgG1к CD20-специфического антитела 7D8, имеющего последовательности тяжелой и легкой цепей, указанных в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно, получали как отдельные биологические промежуточные продукты. Каждое родительское антитело содержит одну из комплементарных мутаций в домене CH3, необходимых для образования молекул DuoBody (F405L и K409R, соответственно). Родительские антитела содержали три

дополнительные мутации в области Fc (L234F, L235E и D265A; FEA).

Родительские антитела получены в клеточных линиях млекопитающего, а именно яичника китайского хомячка (CHO), с использованием стандартных технологий культивирования и очистки суспензионных клеток. Впоследствии DuoBody-CD3xCD20 получают с помощью процесса контролируемого обмена Fab-плеча (сFAE) (Labrijn с соавт. 2013, Labrijn с соавт. 2014, Gramer с соавт. 2013). Исходные антитела смешивают и помещают в контролируемые восстанавливающие условия. Это приводит к разделению исходных антител, которые при повторном окислении вновь собираются. Таким образом получены препараты DuoBody-CD3xCD20 высокой очистки (~93-95%). После дополнительной полировки/очистки получен конечный продукт с чистотой близкой к 100%. Концентрацию DuoBody-CD3xCD20 измеряют по поглощению при 280 нм, используя теоретический коэффициент экстинкции  $\epsilon = 1,597 \text{ мл} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ . Конечный продукт хранили при 4°C. Продукт имеет международное патентованное название эпкоритамаб.

Эпкоритамаб готовят (5 мг/мл или 60 мг/мл) в виде стерильного прозрачного раствора от бесцветного до слегка желтоватого цвета, поставляемого в виде концентрата для приготовления раствора для подкожной инъекции (п/к). Эпкоритамаб содержит буферные и тонизирующие агенты. Все эксципиенты и их количества в лекарственном препарате являются фармацевтически приемлемыми для инъекционных подкожных препаратов. Соответствующие дозы разводят до объема около 1 мл для подкожной инъекции.

Пример 1. Фаза 1б, открытое исследование безопасности и эффективности эпкоритамаба в комбинации со стандартным применением GemOx для лечения рецидивирующей или рефрактерной (Р/Р) ДКВКЛ, если не подходит трансплантация аутологичных стволовых клеток (ТАСК)

Открытое многонациональное многоцентровое интервенционное исследование, состоящее из 2 частей (дозы увеличения и расширения), проводят для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики, фармакодинамики/биомаркеров, иммуногенности и предварительной эффективности эпкоритамаба в комбинации со стандартной схемой лечения гемцитабином и оксалиплатином (GemOx) у субъектов с Р/Р ДКВКЛ, не подходящих для трансплантации аллогенных стволовых клеток (ТАСКиз-за возраста, общего состояния или сопутствующей патологии).

### Основные положения текущих клинических испытаний эпкоритамаба

Эпкоритамаб в качестве монотерапии в настоящее время проходит клиническое испытание для лечения рецидивирующей/рефрактерной (P/P) В-НХЛ (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03625037). Предварительные данные свидетельствуют о том, что препарат хорошо переносится в дозах не менее 48 мг, включая 60 мг, у пациентов с P/P В-НХЛ, при этом не сообщалось о дозолимитирующей токсичности.

#### Задачи

##### *Увеличение дозы*

10 Основная задача, касающаяся повышения дозы, состоит в том, чтобы оценить безопасность и переносимость эпкоритамаба в комбинации с GemOx (конечные точки: частота дозолимитирующей токсичности (ДЛТ), частота и тяжесть нежелательных явлений (НЯ), частота и тяжесть изменений лабораторных значений и частота перерывов и задержек дозирования).

15 Вторичные задачи, касающиеся повышения дозы, включают описание фармакокинетических свойств эпкоритамаба (конечные точки: фармакокинетические параметры, включая клиренс, объем распределения, AUC<sub>0-last</sub>, AUC<sub>0-x</sub>, C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub>, значения до введения дозы и период полувыведения), оценку фармакодинамических маркеров, связанных с эффективностью и механизмом действия эпкоритамаба (конечные точки: фармакодинамические маркеры в образцах крови и в опухоли), оценкой иммуногенности (конечная точка: частота анти-лекарственных антител (АЛА) к эпкоритамабу) и оценкой предварительной противоопухолевой активности эпкоритамаба в комбинации с GemOx (конечные точки: частота объективного ответа (ЧОО) по критериям Lugano и LYRIC, продолжительность ответа (ПО) по критериям Lugano и LYRIC, время до ответа (ВДО) по критериям Lugano и LYRIC, выживаемость без прогрессирования (ВБП) по критериям Lugano и LYRIC, общая выживаемость (ОВ), время до следующей антилимфомной терапии (BCAT) и частота и продолжительность отрицательной реакции минимальной остаточной болезни (МОБ).

Исследовательские задачи, касающиеся повышения дозы, включают оценку потенциальных биомаркеров, предсказывающих клинический ответ на эпкоритамаб (конечные точки: CD3, CD20 и другие

молекулярные/фенотипические маркеры до лечения и во время лечения, статус мутации ДНК и генный профиль).

### *Расширение*

5 Основной задачей расширенной части является оценка предварительной противоопухолевой активности экоритамаба в сочетании с GemOx (конечная точка: ЧОО – частота объективного ответа по критериям Lugano).

10 Вторичные цели расширенной части включают оценку предварительной противоопухолевой активности экоритамаба в комбинации с GemOx (конечные точки: длительность ответа (ДО) по критериям Lugano и LYRIC, ВДО по критериям Lugano и LYRIC, ВБП по критериям Lugano и LYRIC, ЧОО по критериям LYRIC, ОБ, ВСАТ, а также частота и продолжительность отрицательного результата минимальной остаточной болезни (МОБ), дальнейшая оценка безопасности и переносимости экоритамаба в комбинации с GemOx (конечные точки: частота и тяжесть изменений лабораторных показателей и частота перерывов и задержек введения дозы), характеризующих

15 фармакокинетические свойства экоритамаба (фармакокинетические параметры, включая клиренс, объем распределения, AUC<sub>0-last</sub>, AUC<sub>0-x</sub>, C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub>, значения до введения дозы и период полу-жизни), оценку фармакодинамических маркеров, связанных с эффективностью и механизмом действия экоритамаба (конечные точки : фармакодинамические маркеры в образцах крови и внутри

20 опухоли) и оценка иммуногенности (конечная точка: частота антител к лекарственному препарату (ADA – anti-drug antibodies) к экоритамабу).

Исследовательские цели расширенной части включают оценку

25 потенциальных биомаркеров, предсказывающих клинический ответ на экоритамаб (конечные точки: экспрессия CD20 в опухолях, оценка молекулярных и генетических опухолевых маркеров, иммунных популяций, фенотипа и функции в опухолях и крови, статус мутаций ДНК и генный профиль) и оценка результатов по мнению пациентов (конечная точка: изменения симптомов лимфомы и общего состояния здоровья по оценке FACT-Lym).

### 30 Обзор схемы исследования

Испытание проводят в двух частях: увеличение дозы (часть 1) и расширение участников исследования (часть 2). Испытуемые участвуют только в одной части. Схема общего дизайна исследования показана на фиг. 1. Обе части

состоят из периода скрининга, периода лечения, периода наблюдения за безопасностью и периода наблюдения за выживаемостью.

Повышение дозы (часть 1) и расширение (часть 2)

В 1-й части повышения дозы оценивают первоначальную безопасность, переносимость и клиническую активность эпоритамаба в комбинации с GemOx. Эпоритамаб первоначально вводят в комбинации с GemOx в группе из трех субъектов. Дозолимитирующую токсичность (ДЛТ) оценивают в течение первых 28 дней. В зависимости от количества ДЛТ, наблюдаемых у первых 3 субъектов, введение эпоритамаба (полная доза: 48 мг или 24 мг) в сочетании с GemOx проводят еще у дополнительных 3 субъектов, как показано на фиг. 2.

Во 2-й части вводят эпоритамаб (с режимом дозирования, установленным в части повышения дозы) в комбинации с GemOx. Расширение может включать 20 субъектов для оценки предварительной клинической активности комбинации, в дополнение к данным по безопасности, переносимости, фармакокинетики, фармакодинамическим и иммуногенным данным.

Как в 1-й части 1, так и во 2-й части эпоритамаб вводят в виде подкожной (п/к) инъекции (24 мг или 48 мг; ступенчатая доза) в комбинации с GemOx до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности следующим образом:

Таблица 2. Схема дозирования

Номера 28-дневных циклов	Эпоритамаб	Гемцитабин	Оксалиплатин
1	Раз в неделю, ступенчатое дозирование	Раз в две недели	Раз в две недели
2-3	Раз в неделю	Раз в две недели	Раз в две недели
4	Раз в две недели	Раз в две недели	Раз в две недели
5-9	Раз в две недели	-	-
10+	Раз в четыре недели	-	-

Раз в неделю (в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й день); раз в две недели (в 1-й и 8-й день); раз в четыре недели (в 1-й день).

Для эпоритамаба используют метод ступенчатого дозирования для снижения потенциала СВЦ: начальная доза (0,16 мг) в 1-й день 1-го цикла, затем промежуточная доза (0,8 мг) в 1-й день 8-го цикла, полная доза (24 мг или 48 мг) на 15-й и 22-й день 1-го цикла; полную дозу вводят в последующих циклах

(еженедельно для 2-го и 3-го циклов, раз в две недели для циклов с 4-го по 9-й и раз в четыре недели для последующих циклов). Гемцитабин ( $1000 \text{ мг/м}^2$ ) вводят внутривенно один раз в две недели в течение циклов с 1-го по 4-й. Оксалиплатин ( $100 \text{ мг/м}^2$ ) вводят внутривенно один раз в две недели в течение циклов с 1-го по 4-й.

Гемцитабин ( $1000 \text{ мг/м}^2$ ) вводят внутривенно один раз в две недели в циклы с 1-го по 4-й. Оксалиплатин ( $100 \text{ мг/м}^2$ ) вводят внутривенно один раз в две недели в циклы с 1-го по 4-й.

Порядок лечения следующий:

Таблица 3. Порядок применения препаратов

Порядок дозирования	Лечение	Доза
1	Гемцитабин	$1000 \text{ мг/м}^2$
2	Оксалиплатин	$100 \text{ мг/м}^2$
Премедикаменты	Премедикация	Как описано в табл. 4
3	Эпкоритамаб	24 мг или 48 мг

Критерии включения пациентов в схему лечения

1. Субъекту должно быть не менее 18 лет.

2. Оценка общего состояния ECOG составляет 0, 1 или 2.

3. CD20-положительные НХЛ при репрезентативной биопсии опухоли.

4. Поддающееся измерению заболевание, определяемое как  $\geq 1$  измеримое узловое поражение (длинная ось  $>1,5 \text{ см}$  и короткая ось  $>1,0 \text{ см}$ ) или  $\geq 1$  измеримое экстранодальное поражение (длинная ось  $>1,0 \text{ см}$ ) на КТ или МРТ.

5. Приемлемую функцию органов при скрининге определяют как:

а. Абсолютное число нейтрофилов (АЧН)  $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$  (разрешено использование фактора роста)

б. Число тромбоцитов  $>75 \times 10^9/\text{л}$ , или  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  при инфильтрации в костный мозг или спленомегалии

в. Уровень ALT равен или менее в 2,5 раза чем ВГН

г. Общий уровень билирубина  $\leq 2 \times \text{ВГН}$

д. eGFR  $>50 \text{ мл/мин}$  (по формуле Cockcroft-Gault)

е. PT, INR и aPTT  $\leq 1,5 \times \text{ВГН}$ , если нет приема антикоагулянтов

6. Документально подтвержденные ДКВКЛ (*de novo* или гистологически трансформированные из индолентных лимфом, кроме ХЛЛ (хронического лимфолейкоза) по классификации ВОЗ 2016 г., в том числе:

а. ДКВКЛ, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома без дополнительных уточнений (NOS – diffuse large B-cell lymphoma not otherwise specified)

5 б. ДКВКЛ «двойного воздействия» и «тройного воздействия» (технически классифицируют как В-клеточные лимфомы высокой степени злокачественности (HGBCL – high-grade B cell lymphoma) с транслокациями MYC и BCL2 и/или BCL6, в соответствии с классификацией ВОЗ 2016 года); другие лимфомы с двойным/тройным воздействием не подходят.

10 в. Фолликулярная лимфома (ФЛ) степени 3В.  
«Двойной» или «тройной» ДКВКЛ (еьмый ВОЗ 2016 как HGBCL, с транслокациями MYC и BCL2 и/или BCL6) —

7. Рецидив или рефрактерность по крайней мере к одному предшествующему лечению

15 8. Либо неудачная предшествующая аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), либо непригодность для аутологичной ТГСК из-за возраста, общего состояния, сопутствующих заболеваний и/или недостаточного ответа на предшествующее лечение.

9. Право на получение GemOx.

20 Критерии, не допускающие включения пациентов в схему лечения

1. Противопоказания к применению любого из отдельных препаратов схемы GemOx.

25 2. История тяжелых аллергических или анафилактических реакций на терапию анти-CD20 mAb или известная аллергия или непереносимость любого компонента или эксципиента эпкоритамаба.

3. Предварительное лечение биспецифическим антителом, нацеленным на CD3 и CD20.

4. Химиотерапия, лучевая терапия или обширное хирургическое вмешательство в течение 4 недель до первой дозы эпкоритамаба.

30 5. Лечение исследуемым препаратом в течение 4 недель или 5 периодов полужизни, в зависимости от того, что дольше, до первой дозы эпкоритамаба.

6. Терапия CAR-T в течение 30 дней до первой дозы эпкоритамаба.

7. Кумулятивная доза кортикостероидов  $\geq 140$  мг преднизолона или эквивалента в течение 2-недельного периода до первой дозы эпкоритамаба.

8. Вакцинация живыми вакцинами в течение 28 дней до введения первой дозы эпкоритамаба.

9. Клинически значимое заболевание сердца, в том числе:

5 а. Инфаркт миокарда в течение одного года до введения первой дозы эпкоритамаба или нестабильное или неконтролируемое заболевание/состояние, связанное с функцией сердца или влияющее на нее (например, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность класса III-IV согласно Нью-Йоркской кардиологической ассоциации), сердечная аритмия (СТСАЕ версия 4, степень 2 или выше) или  
10 клинически значимые отклонения на ЭКГ.

б. Скрининг ЭКГ в 12 отведениях, показывающий исходный QTcF >470 мсек.

10. Доказательства значительных, неконтролируемых сопутствующих заболеваний, которые могут повлиять на соблюдение протокола или  
15 интерпретацию результатов.

11. Известная активная бактериальная, вирусная, грибковая, микобактериальная, паразитарная или другая инфекция (за исключением грибковых инфекций ногтевых лож) при включении в исследование или серьезные инфекции в течение 2 недель до первой дозы эпкоритамаба.

20 12. Лимфома ЦНС или известное поражение ЦНС лимфомой при скрининге, подтвержденное МРТ/КТ головного мозга и, при наличии клинических показаний, люмбальной пункцией.

13. Активные положительные тесты на вирус гепатита В или вирус гепатита С, указывающие на острую или хроническую инфекцию.

25 14. Положительный результат на антитела к ВИЧ в анамнезе или положительный результат теста на ВИЧ при скрининге.

15. Положительные результаты теста на вирус Т-клеточной лимфомы взрослых (ТЛВЧ-1).

16. Подозрение на активный или скрытый туберкулез.

30 17. Прошрое или текущее злокачественное новообразование, отличное от диагноза включения, кроме:

а. Рак шейки матки стадии 1В или менее.

б. Неинвазивная базальноклеточная или плоскоклеточная карцинома кожи.

- в. Неинвазивный, поверхностный рак мочевого пузыря
  - г. Рак предстательной железы с текущим уровнем простатического антигена (PSA) < 0,1 нг/мл
  - д. Любой излечимый рак с полным ответом (ПО)
- 5 продолжительностью > 2 лет

18. Невропатия >1 степени

19. Женщина, которая беременна, кормит грудью или планирует забеременеть во время участия в этом исследовании или в течение 12 месяцев после последней дозы эпоритамаба.

10 20. Мужчина, который планирует стать отцом во время участия в этом испытании или в течение 12 месяцев после последней дозы эпоритамаба.

21. Субъект, у которого есть какое-либо состояние, участие в котором не отвечает интересам субъекта (например, ставит под угрозу благополучие) или которое может помешать, ограничить или исказить оценки, указанные в протоколе.

15

#### Профилактика СВЦ

Введение кортикостероидов в течение четырех дней проводят для уменьшения/предупреждения тяжести симптомов потенциального СВЦ для каждой дозы эпоритамаба. При применении эпоритамаба во 2-ом цикле и далее профилактика СВЦ кортикостероидами необязательна. Введение кортикостероидов может осуществляться как внутривенно, так и перорально в рекомендуемой дозе или ее эквиваленте.

20

Таблица 4. Премедикация и профилактика СВЦ

			Кортикостероиды	Антигистамины	Жаропонижающие
1 цикл	1 <sup>o</sup> введение эпоритамаба (начальная доза)	День 01*	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)	Дифенгидрамин 50 мг в/в или перорально (п/о) (или эквивалентную дозу)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг п/о (или эквивалентную дозу)
		День 02	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 03	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		

		Кортикостероиды	Антигистамины	Жаропонижающие
	День 04	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
2° введение эпкоритамаба (промежуточная доза)	День 08*	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)	Дифенилгидрамин 50 мг в/в или перорально (п/о) (или эквивалентную дозу)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг п/о (или эквивалентную дозу)
	День 09	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
	День 10	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
	День 11	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
	3° введение эпкоритамаба (полная доза)	День 15*	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)	Дифенилгидрамин 50 мг в/в или перорально (п/о) (или эквивалентную дозу)
	День 16	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
	День 17	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
	День 18	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		

		Кортикостероиды	Антигистамины	Жаропонижающие	
1 цикл	4 <sup>е</sup> введение эпкоритамаба (полная доза)	День 22	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)	Дифенилгидрамин 50 мг в/в или перорально (п/о) (или эквивалентную дозу)	Парацетамол (ацетаминофен) 650 to 1000 мг п/о (или эквивалентную дозу)
		День 23	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 24	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 25	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
2 цикл	5 <sup>е</sup> введение эпкоритамаба (полная доза)	29й день*	Если после 4-го введения эпкоритамаба СВЦ выше 1 степени, 4-дневное последовательное введение кортикостероидов продолжают во 2 цикле до регресса СВЦ	Необязательно	Необязательно
		30й день			

\*от 30 мин до 2 ч до введения эпкоритамаба

Примечание: если дозу эпкоритамаба вводят более чем через 24 ч после начала применения GemOx, премедикацию проводят перед дозой эпкоритамаба, а профилактика кортикостероидами продолжается в течение 3 дней после введения эпкоритамаба.

Таблица 5. Эквиваленты доз кортикостероидов – таблица преобразования

Кортикостероид	Примерная равноценная доза (мг)
Короткого действия	
Кортизон (п/о)	500
Гидрокортизон (в/в или п/о)	400
Средней продолжительности действия	
Метилпреднизолон (в/в или п/о)	80

Кортикостероид	Примерная равноценная доза (мг)
Преднизолон (п/о)	100
Преднизон (в/в или п/о)	100
Триамцинолон (в/в)	80
Пролонгированного действия	
Бетаметазон (в/в)	15
Дексаметазон (в/в или п/о)	15

#### Поддерживающая терапия при синдроме выброса цитокинов

Синдром выброса цитокинов классифицируют в соответствии с системой ASTCT для СВЦ (табл. 6 и 7) и для лечения СВЦ, в соответствии с которой субъекты должны получать поддерживающую терапию. Поддерживающая терапия должна включать, но ими не ограничивается:

- Инфузию физиологического раствора
- Системное применение глюкокортикостероида, антигистаминного препарата, жаропонижающего средства
- Поддержку артериального давления (вазопрессин, вазопрессоры)
- Поддержку низкопоточной и высокопоточной вентиляции кислородом и вентиляции с положительным давлением
- Применение моноклонального анти-IL-6R антитела, например, в/в введение тоцилизумаба
- Применение моноклонального анти-IL-6R антитела, например Моноклональные антитела против ИЛ-6, например, в/в силтуксимаба, если нет ответа на повторное введение тоцилизумаба.

#### Таблица 6. Классификация и лечение синдрома выброса цитокинов

Ниже представлены согласованные определения и критерии классификации СВЦ согласно Американскому обществу трансплантологии и клеточной терапии (ASTCT – American Society for Transplantation and Cellular Therapy), ранее известному как Американское общество трансплантации крови и костного мозга (ASBMT – American Society for Blood and Marrow Transplantation).

#### Степени синдрома высвобождения цитокинов:

Параметры СВЦ	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Лихорадка <sup>1</sup>	≥38,0°C	≥38,0°C	≥38,0°C	≥38,0°C	Смерть от

Параметры СВЦ	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
С гипотензией	Нет	Не требует вазопрессоров	Требуется 1 вазопрессор с вазопрессином или без него	Требуется $\geq 2$ вазопрессоров (за исключением вазопрессина)	СВЦ, при которой другая причина не является основным фактором, приведшим к данному исходу
И/или гипоксия <sup>2</sup>	Нет	Требуется назальная канюля с низким потоком ( $\leq 6$ л/мин) или продувка	Требуется назальная канюля с высоким потоком ( $> 6$ л/мин), лицевая маска, маска без дыхательной системы или маска Вентури	Требование вентиляции с положительным давлением <sup>3</sup> (например, CPAP, BiPAP, интубация и механическая вентиляция)	

Аббревиатуры: BiPAP – Bilevel positive airway pressure (двухуровневое положительное давление в дыхательных путях); CPAP – continuous positive airway pressure (постоянное положительное давление в дыхательных путях); СВЦ – синдром высвобождения цитокина; в/в – внутривенно.

Примечание: органная токсичность или конституциональные симптомы, связанные с СВЦ, могут быть классифицированы в соответствии с СТСАЕ, но они не влияют на классификацию СВЦ.

1. Лихорадку определяют как температуру тела  $\geq 38,0^\circ\text{C}$ , не связанную с какой-либо другой причиной, с конституциональными симптомами или без них (например, миалгия, артралгия, недомогание). У субъектов с СВЦ, получающих жаропонижающие, антицитокиновую терапию и/или кортикостероиды, лихорадка больше не требуется для оценки тяжести последующего СВЦ. В этом случае классификация СВЦ обусловлена гипотензией и/или гипоксией.

2. Степень СВЦ определяется более тяжелым событием: гипотензией или гипоксией, не связанной с какой-либо другой причиной. Например, субъект с температурой  $39,5^\circ\text{C}$ , гипотензией, требующей 1 вазопрессора, и гипоксией, требующей назальной канюли с низким потоком, классифицируется как СВЦ 3 степени. Для измерения артериального давления приемлемы как систолическое артериальное давление, так и среднее артериальное давление. Никаких конкретных ограничений не требуется, но гипотонию следует определять в каждом конкретном случае с учетом возраста и индивидуального исходного уровня субъекта, то есть артериального давления, которое ниже нормального, ожидаемого для человека в данной среде.

3. Интубация субъекта без гипоксии по поводу возможного неврологического нарушения проходимости дыхательных путей отдельно или для процедуры по определению не является СВЦ 4 степени.

Источник: адаптировано по Lee с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2019;25:625-638.

Таблица 7. Классификация и лечение синдрома выброса цитокинов

Степень СВЦ	Лечение
1	Лихорадка: пациенты с новой лихорадкой должны быть госпитализированы, если это еще не сделано. Проведите исследование на наличие инфекции и быстро начните лечение антибиотиками широкого спектра действия. Продолжение антибактериальной терапии рекомендуется до тех пор, пока потенциальная нейтропения не исчезнет. Конституциональным симптомам могут помочь нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП).

	<p>Тоцилизумаб: Нет*. Стероиды: Нет.</p>
2	<p>Лихорадка: как при 1й степени. Гипотензия: требуется немедленная клиническая оценка и вмешательство. При первом подтвержденном снижении систолического, диастолического или среднего артериального давления на <math>\geq 20\%</math> от исходного уровня или признаках ухудшения перфузии вводят болюсно в/в жидкость (от 20 мл/кг до 1 л). Следует рассмотреть возможность назначения вазопрессора и вводить его не позднее, чем после 3-го болюсного в/в введения жидкости из-за вазодилатации и капиллярной утечки, связанной с СВЦ. Гипоксия: при гипоксии и/или тахипноэ рассмотрите рентгенографию или компьютерную томографию. Дайте кислород через назальную канюлю с низким расходом (<math>\leq 6</math> л/мин) или продувку. Тоцилизумаб: Нет* (да, если у пациента есть сопутствующие заболевания†). Стероиды: Нет (следует рассмотреть, есть ли у пациента сопутствующие заболевания‡).</p>
3	<p>Лихорадка: как при 1й степени. Гипотензия: требуется немедленная клиническая оценка и вмешательство. Следует назначить вазопрессор (норэпинефрин) с вазопрессином или без него, поскольку у большинства пациентов с СВЦ наблюдают периферическую вазодилатацию. Гипоксия: следует ввести кислород через назальную канюлю с высоким расходом (<math>&gt; 6</math> л/мин), лицевую маску, маску без дыхания или маску Вентури. Тоцилизумаб: Да†. Стероиды: рассмотреть‡.</p>
4	<p>Гипоксия: Положительное давление (например, CPAP, BiPAP, интубация и искусственная вентиляция легких). Тоцилизумаб: Да†. Стероиды: Да‡.</p>

\* Сначала рассмотрите возможность вмешательства в конкретных случаях. Например, пожилой пациент с длительной лихорадкой ( $> 72$  ч) или очень высокой лихорадкой ( $> 40,5^{\circ}\text{C}/104,9^{\circ}\text{F}$ ) может не перенести возникающую в результате синусовую тахикардию, это же может относиться также к более молодому пациенту, поэтому может быть показан тоцилизумаб.

† Тоцилизумаб (анти-IL-6R антитело) остается единственным препаратом первой линии антицитокиновой терапии, одобренным для СВЦ. При отсутствии улучшения симптомов в течение 6 ч или если состояние пациента начинает ухудшаться после первоначального улучшения, следует ввести вторую дозу тоцилизумаба вместе с дозой кортикостероидов. Для пациентов, невосприимчивых к тоцилизумабу (3 введения), можно рассмотреть возможность дополнительной антицитокиновой терапии, такой как силтуксимаб (анти-IL-6R антитело) или анакинра (анти-IL-6R-1P антитело). Однако такое использование является полностью анекдотичным и, как таковое, полностью остается на усмотрение лечащего врача.

‡ Рассмотрите возможность применения дексаметазона вместо

метилпреднизолона из-за улучшенного проникновения в ЦНС даже при отсутствии нейротоксичности, так как высокий уровень СВИЦ коррелирует с риском одновременного или последующего синдрома нейротоксичности, связанного с иммунными эффекторными клетками (ICANS – immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome). Если наблюдается одновременная ICANS, следует отдать предпочтение дексаметазону.

Источник: (Varadarajan I. С соавт., Management of cytokine release syndrome. В кн.: Chimeric antigen receptor T-cell therapies for cancer (глава 5). Изд-во Elsevier, 2020)

### Предупреждение и лечение синдрома лизиса опухоли

Для профилактического лечения синдрома лизиса опухоли субъекты получают гидратацию и средства, снижающие уровень мочевой кислоты, до введения эпоритамаба. При появлении признаков синдрома лизиса опухоли (СЛЮ) применяют поддерживающую терапию, включающую расбуриказу.

### Руководство по изменению дозы и контролю безопасности

Модификации дозы эпоритамаба не будет (см. фиг. 2 для исключений в группах увеличения дозы), хотя его можно оставить или отменить в зависимости от токсичности (и степени токсичности), которая развивается у субъектов во время их применения.

Для снижения дозы оксалиплатина при невропатии (ухудшение по сравнению с исходным уровнем):

- Отсутствие снижения дозы при парестезии, длящейся от 1 до 6 дней после каждого введения.
- Снижайте дозу до  $75 \text{ мг/м}^2$  в случае значительной парестезии (увеличение тяжести по сравнению с исходным уровнем), продолжающейся от 7 до 13 дней после каждого введения. В случае аномальных результатов при неврологическом обследовании или если у субъекта наблюдается выраженная парестезия, продолжающаяся 14 дней и более, прием оксалиплатина следует прекратить до улучшения симптомов, а затем возобновить прием в дозе  $75 \text{ мг/м}^2$ . В случае дизестезии глотки продолжительность инфузии оксалиплатина следует увеличить с 2 до 6 ч.

### Анализ исследования

#### Демография и базовые оценки

Собирают демографические данные об субъектах, а также информация, такая как дата постановки диагноза лимфомы, стадия Анн-Арбора при постановке диагноза, включая конституциональные симптомы (симптомы В) и

предшествующие доказательства положительности CD20. Также собирают историю болезни, информацию о предшествующих и сопутствующих лекарствах, сопутствующих процедурах и предшествующих противораковых терапиях и операциях (включая предшествующую противораковую терапию НХЛ, такую как хирургия, лучевая терапия, химиолучевая терапия и схемы системного лечения).

#### Оценка эффективности

Подходящие субъекты имеют по крайней мере 1 измеримый участок заболевания (как указано в критериях включения) для оценки заболевания. Поддающиеся измерению участки лимфомы определяются как лимфатические узлы, массы лимфатических узлов или экстранодальные участки. Измерения определяются путем оценки изображения, при этом до 6 измеримых участков следуют в качестве целевых поражений для каждого субъекта. Участки, не поддающиеся измерению, как определено выше, считаются поддающимися оценке на основании объективных признаков заболевания (т.е. рентгенографического изображения, медицинского осмотра или других процедур). Примеры поддающихся оценке заболеваний включают, например, поражение костного мозга, поражение костей, выпот или утолщение стенки кишечника.

#### Биопсия опухоли и костного мозга

Две свежие биопсии центральной опухоли берут до лечения эпоритамабом (в период скрининга) и 2 свежие биопсии центральной опухоли в начале 2-го цикла в 15-й день ( $\pm 1$  неделя) для всех субъектов с доступными опухолями. Архивная биопсия опухоли, взятая в течение 3 месяцев до включения в исследование, приемлема, если при скрининге невозможно собрать свежую биопсию. Биопсия может представлять собой цельный лимфатический узел или пункционную биопсию. Биопсия опухоли должна быть зафиксирована формалином и залита парафином (FFPE). Биопсию опухоли исследуют для оценки минимальной остаточной болезни (МОБ) и поисковых биомаркеров.

#### Рентгенологические оценки

Сканирование методом ПЭТ-КТ с ФДГ (позитронно-эмиссионная томография с использованием радиофармпрепарата фтордезоксиглюкозы) (или КТ/МРТ и ПЭТ с ФДГ, если сканирование ПЭТ-КТ недоступно) выполняют во время скрининга. Для субъектов с опухолями FDGavid при скрининге все последующие оценки заболевания включают ПЭТ с ФДГ с использованием 5-

балльной шкалы, описанной в Barrington с соавт. (*J Clin Oncol* 2014; 32:3048-3058; 1 балл: поглощение отсутствует; 2 балла: поглощение  $\leq$  средостения; 3 балла: обновление  $>$  средостения, но  $\leq$  печени; 4 балла: поглощение умеренно выше, чем в печени; 5 баллов: поглощение заметно выше чем печень и/или новые поражения; оценка X: новые области обновления вряд ли связаны с лимфомой). Для субъектов с неавидными или варьируемо авидными по ФДГ опухолями может быть выполнена КТ с в/в контрастированием шеи/грудной клетки/живота/таза/дополнительных известных поражений. Компонент КТ ПЭТ-КТ может использоваться вместо отдельной КТ/МРТ, если компонент КТ имеет такое же диагностическое качество, что и КТ с контрастным усилением, выполненное без ПЭТ. Если ПЭТ КТ с контрастным усилением недоступна, выполняется отдельная диагностическая КТ/МРТ и стандартная ФДГ ПЭТ. Субъектам с непереносимостью в/в контрастных веществ для КТ проводят КТ с пероральным контрастом.

МРТ можно использовать для оценки участков заболевания, которые не могут быть адекватно визуализированы с помощью КТ, или для пациентов, не переносящих контрастные вещества для КТ. В тех случаях, когда МРТ является предпочтительным методом визуализации, МРТ проводят при скрининге и при всех последующих оценках ответа.

#### Оценка костного мозга

Биопсию костного мозга (архивная или свежая) с аспиратом или без него берут при скрининге у всех пациентов для подтверждения поражения костного мозга лимфомой. Биопсия костного мозга, полученная в качестве рутинного начала исследования (SOC – Start Of Care), может быть использована, если она сделана за 42 дня до первой дозы эпоритамаба. При получении аспирата костного мозга определение поражения костного мозга можно подтвердить с помощью проточной цитометрии. Биопсию костного мозга берут (1) при скрининге; (2) для субъектов с поражением костного мозга при скрининге, которые позже достигают ПО с помощью визуализации – оценка костного мозга включает морфологическое исследование и либо проточную цитометрию, либо иммуногистохимию (ИГХ), если это оправдано, для подтверждения наличия или отсутствия (полная ремиссия) лимфомы; (3) для субъектов с поражением костного мозга, документально подтвержденным при скрининге, которые позже достигают ПО с помощью визуализации — часть аспирата, собранного для

подтверждения ПО, будет использоваться для оценки минимальной остаточной болезни (МОБ).

Оценка минимальной остаточной болезни (МОБ)

5 МОБ оценивают путем отслеживания наличия ДНК, кодирующей В-клеточный рецептор (BCR – B-cell receptor), специфически экспрессируемый раковыми клетками. Последовательность ДНК этого BCR идентифицируют с помощью биопсии опухоли, представленной при скрининге. После начала лечения образцы крови берут в фиксированные моменты времени и во время ПО, чтобы оценить, снижается ли количество раковой ДНК, как потенциальная мера (раннего) ответа и для оценки МОБ. В качестве исследовательского анализа, когда субъект достигает по метаболической/рентгенологической оценке ПО и у него во время скрининга задокументировано поражение костного мозга, часть аспирата, собранного для подтверждения ПО, используют для оценки МОБ.

Реакция на заболевание и оценка прогрессирующего заболевания

15 Реакцию на заболевание оценивают в соответствии с обоими критериями Lugano (оценивают в публикации Cheson с соавт., *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068; см., в частности, табл. 3) и LYRIC (табл. 8) для информирования решения о продолжении лечения.

Определения конечной точки следующие:

20 Частоту объективного ответа (ЧОО) определяют как долю субъектов, достигших частичного ответа (ЧО) или полного ответа (ПО) до начала последующей терапии.

25 Время до ответа (ВДО) определяют среди респондеров как время между первой дозой (с 1-го дня 1-го цикла) эпоритамаба и начальной документации ЧО или ПО.

Выживаемость без прогрессирования (ВБП) определяют как время от даты первого введения дозы (с 1-го дня 1-го цикла) эпоритамаба до даты прогрессирования заболевания или смерти, в зависимости от того, что наступит раньше.

30 Общую выживаемость (ОВ) определяют как время от даты первого введения дозы (с 1-го дня 1-го цикла) эпоритамаба до даты смерти.

Время до следующей антилимфомной терапии (ВСАТ) определяют как количество дней от 1-го дня 1-го цикла до первого задокументированного проведения последующей антилимфомной терапии.

Частоту отрицательных результатов минимальной остаточной болезни (МОБ) определяют как долю субъектов по меньшей мере с 1 неопределяемым результатом МОБ в соответствии с определенным порогом до начала последующей терапии.

5        Критерии Lugano (см., например, Cheson с соавт., *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068, для определений полного ответа, частичного ответа, отсутствия ответа/стабильного заболевания и прогрессирующего заболевания)

*(а) Целевые и нецелевые поражения*

10        Целевые поражения для критериев Lugano включают до 6 крупнейших доминантных узлов, узловых образований или других лимфоматозных поражений, которые можно измерить по двум диаметрам и которые обнаруживаются в разных областях тела, репрезентативных для общего бремени заболевания субъекта, включая медиастинальное и забрюшинное заболевание, где это применимо. На исходном уровне поддающийся измерению узел имеет  
15        наибольшую длину >15 мм (LDi – наибольший диаметр). Поддающееся измерению экстранодальное заболевание может быть включено в шесть репрезентативных поражений-мишеней. На исходном уровне поддающиеся измерению экстранодальные поражения должны быть >10 мм в LDi.

20        Все другие поражения (в том числе узловые, экстранодальные и поддающиеся оценке) могут рассматриваться как нецелевые поражения (например, кожные, желудочно-кишечные, кости, селезенка, печень, почки, плевральный или перикардиальный выпот, асцит, кости, костный мозг).

*(б) Раздельные поражения и слитые поражения*

25        Поражения могут разделяться или сливаться со временем. В случае расщепленных поражений индивидуальное произведение перпендикулярных диаметров (ППД) узлов должно быть суммировано, чтобы представить ППД расщепленного поражения; этот ППД добавляется к сумме ППД оставшихся поражений для измерения ответа. Если происходит последующий рост любого или всех этих дискретных узлов, для определения прогрессирования  
30        используется надир каждого отдельного узла. В случае сливных поражений, ППД сливающегося образования следует сравнивать с суммой ППД отдельных узлов, при этом увеличение ППД более чем на 50% сливного образования по сравнению с суммой отдельных узлов необходимо для указания на

прогрессирование заболевания (ПЗ). LD<sub>i</sub> и наименьший диаметр (SD<sub>i</sub> – smallest diameter) больше не нужны для определения прогрессирования.

### LYRIC

Клинические исследования показывают, что иммунотерапия рака может  
5 привести к раннему очевидному рентгенологическому прогрессированию  
(включая появление новых поражений) с последующим отсроченным ответом.  
Поскольку это первоначальное увеличение размера опухоли может быть вызвано  
инфильтрацией иммунных клеток в условиях Т-клеточного ответа, это  
прогрессирование может не свидетельствовать об истинном прогрессировании  
10 заболевания и поэтому называется «псевдопрогрессированием» (Wolchok с  
соавт., *Clin Cancer Res* 2009;15:7412-7420).

Текущие критерии оценки ответа Lugano criteria (Cheson с соавт., *J Clin  
Oncol* 2014;32:3059-3068) не принимают во внимание псевдопрогрессирование, и  
существует значительный риск преждевременного прекращения приема  
15 потенциально эффективного иммуномодулирующего препарата после  
наблюдения атипичного ответа. Атипичные ответы характеризуются либо  
ранним прогрессированием существующих поражений с последующим ответом,  
либо развитием новых поражений со сморщиванием опухоли в другом месте или  
без него.

20 LYRIC – это модификация критериев оценки Lugano, которая была  
адаптирована для иммунотерапии и вводит новую категорию смягчающего  
ответа: обозначение «неопределенный ответ» (НО) (Cheson с соавт., *Blood*  
2016;128:2489-2496). Обозначение «НО» введено для потенциальной  
идентификации случаев «атипичного ответа» до тех пор, пока не будет  
25 подтверждено как обострение/псевдопрогрессирование или истинное  
прогрессирование заболевания (ПЗ) либо биопсией, либо последующей  
визуализацией.

Субъекта, у которого обнаруживается ПЗ в соответствии с  
критериями/классификацией Lugano, считают имеющим неопределенный ответ  
30 (НО) в 1 или более из 3 следующих обстоятельств:

НО (1): Увеличение общей опухолевой массы (по оценке произведения  
диаметров [ОПД]) на  $\geq 50\%$  до 6 поражений-мишеней в течение первых 12  
недель терапии без клинического ухудшения.

НО (2): Появление новых поражений или рост одного или нескольких существующих поражений  $\geq 50\%$  в любое время во время лечения; происходящие в контексте отсутствия общего прогрессирования (увеличение СПД  $< 50\%$ ) общей опухолевой массы, измеряемой по сумме произведений диаметров (СПД) до 6  
5 очагов в любое время во время лечения

Последующий неопределенный ответ НО(3): Увеличение потребления FDG одной или несколькими повреждениями без увеличения контаминации, выраженной в увеличении размера или числа повреждений.

10 Возможно, что в один момент времени субъект может соответствовать критериям как для НО(1), так и для НО(2) и НО(3): например, может быть новое поражение, связанное с FDG, при отсутствии общего прогрессирования (НО[2]), и, в то же время, увеличение поглощения FDG отдельным очагом (НО[3]). В таких случаях назначение НО(1) или НО(2) должно иметь приоритет (например, НО[2] в приведенном выше примере).

15 Субъекты, классифицированные как имеющие любой из типов НО, получают повторную визуализацию через дополнительные 12 недель (или раньше, если это клинически показано). В это время реакцию следует переоценить, и следует считать, что субъект имеет истинное прогрессирование заболевания (ПЗ) с учетом следующего:

20 Последующий неопределенный ответ НО(1): В случае НО(1) следует провести сравнение между первым НО(1) и текущим ОПД. НО(1) станет ПЗ, если: (а) ОПД увеличивается на  $\geq 10\%$  от первого НО(1) и (б) увеличение  $\geq 5$  мм (в любом измерении)  $\geq 1$  поражения для поражений  $\leq 2$  см и  $\geq 10$  мм для поражений  $> 2$  см, чтобы соответствовать критериям Lugano.

25 Последующий неопределенный ответ НО(2): В случае НО(2) новое или растущее поражение(я) добавляют к целевому поражению, до общего количества не более 6 поражений. НО(2) станет прогрессирующим заболеванием (ПЗ), если: (а)  $\geq 50\%$  увеличение ОПД (новый определенный набор целевых поражений) от надирного значения.

30 Последующий неопределенный ответ НО(3): НО(3) станет ПЗ, если поражение с повышенным поглощением FDG также показывает увеличение размера.

Таблица 8. LYRIC

LYRIC	Полный ответ (ПО)	Частичный ответ (ЧО)	Стабилизация заболевания (СЗ)	Прогрессирование заболевания (ПЗ)
	То же, что и классификация Lugano	То же, что и классификация Lugano	То же, что и классификация Lugano	

#### Клинические оценки безопасности

Безопасность оценивают путем измерения нежелательных явлений, результатов лабораторных анализов, ЭКГ, измерений основных показателей жизнедеятельности, результатов медицинского осмотра и состояния работоспособности по шкале ECOG. Также оцениваются синдром нейротоксичности, связанный с иммунными эффекторными клетками (например, как описано Lee с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25:625-638), конституциональные симптомы (В-симптомы), реакция вспышки опухоли и выживаемость.

#### Результаты, о которых сообщают пациенты

Исходы, сообщаемые пациентами, оцениваются с использованием опросника FACT-Lym, связанного со здоровьем, для оценки качества жизни (QOL) у пациентов с лимфомой.

#### Дальнейший анализ

Пациентов лечили максимальной дозой 24 мг или 48 мг элкоритамаба и GemOx, как указано выше, при этом у некоторых пациентов наблюдались признаки ответа на комбинированное лечение.

### Предварительные результаты

По состоянию на 8 сентября 2021 года дозу получили 26 пациентов. Фаза расширения 48 мг была открыта 09.03.21. 5 респондентов наблюдали в фазе эскалации и 9 в фазе расширения. Наиболее частыми связанными  
 5 нежелательными явлениями (НЯ) были СВЦ, тромбоцитопения, утомляемость и анемия. Все СВЦ были степени 1/2. Сообщалось об одном эпизоде синдрома нейротоксичности, связанного с иммунными эффекторными клетками (ICANS) 3 степени, когда пациент выздоровел.

### 10 Пример 2. Противоопухолевая активность эпкоритамаба в комбинации с гемцитабином/оксалиплатином *in vitro*

Комбинацию гемцитабина (антиметаблита) и оксалиплатина (алкилирующий агент на основе платины) применяют для лечения пациентов пожилого возраста и/или пациентов с В- НХЛ, которым нельзя применить трансплантацию (Sarkozy с соавт., *Annals of Lymphoma* 2019;3). Чтобы  
 15 определить, влияет ли такой режим химиотерапии на противоопухолевую активность эпкоритамаба, проведены анализы активации Т-клеток и цитотоксичности *in vitro*.

Вкратце, линии клеток лимфомы Буркита человека (клетки Raji) и ДКВКЛ (SU-DHL-4) применяют в качестве клеток-мишеней. Клетки культивируют в культуральной среде (RPMI 1640 с HEPES и L-глутамином с добавлением 10% термоинактивированной донорской бычьей сыворотки с железом и 1% [об./об.] пенициллина/стрептомицина), к которой добавляют 2 мМ L-глутамин и 1 мМ пирувата натрия, при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Используют Т-клетки, выделенные из  
 20 лейкоцитарных пленок здорового человека-донора (фирма Sanquin) путем отрицательного отбора с использованием коктейля для обогащения Т-клеток человека RosetteSep™ (фирма Stemcell Technologies) с последующим центрифугированием в градиенте плотности фиколла в соответствии с инструкциями производителя, в качестве эффекторных клеток. Выделенные клетки дважды промывают в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) и подсчитывают с  
 25 использованием раствора для окрашивания жизнеспособности акридинового оранжевого/пропидия йодида (АО/ПИ) (фирма Nexcelom Bioscience) в счетчике жизнеспособных клеток Cellometer® Auto 2000. Т-клетки (100000 клеток/лунку) инкубируют с клетками Raji или клетками SU-DHL-4 (50000 клеток/лунку) в культуральной среде в присутствии эпкоритамаба (0,01 пг/мл - 100 нг/мл),  
 30

гемцитабина (1 нМ) и оксалиплатина (0,3 мкМ) при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 48 ч. Жизнеспособность В-клеток и активацию Т-клеток измеряют методом жидкостной цитометрии (количество CD22-положительных клеток, экспрессия маркеров активации Т-клеток CD69, CD25, белка программируемой гибели клеток 1 (PD-1) и CD107 [ассоциированный с лизосомами мембранный белок 1 (lysosomal associated membrane protein 1 – LAMP-1)] на CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетках). Применяемые антитела показаны в табл. 9). Абсолютное число клеток определяют добавлением гранул Accucheck Counting beads (100 мкл/лунку) (фирма Thermofisher) и подсчитывают следующим образом:

10 Поправочный коэффициент =  $([\text{количество гранул}_1 + \text{количество гранул}_2] / \text{среднее количество гранул на пластине для подсчета})$

Абсолютное число клеток =  $[\text{количество клеток в образце} / \text{поправочный коэффициент}]$

Процент цитотоксичности рассчитывают следующим образом:

15 % цитотоксичности =  $100 - ([\text{абсолютное количество клеток в образце} / \text{абсолютное количество клеток без антител}] \times 100\%)$

20 Как показано на рисунках 3А-3Г, эпкоритамаб индуцирует зависимость от концентрации активацию как CD4<sup>+</sup> (данные не показаны), так и CD8<sup>+</sup> Т-клеток, о чем свидетельствует активация экспрессии CD69, CD25, PD-1 и LAMP-1 (левые панели: Raji; правые панели: SU-DHL-4). Эпкоритамаб-индуцированная активация Т-клеток не влияет в присутствии гемцитабина, оксалиплатина или их комбинации во всех исследованных концентрациях. Эпкоритамаб также индуцирует зависящую от концентрации Т-клеточно-опосредованную цитотоксичность клеток Raji и SU-DHL-4, о чем свидетельствует снижение числа жизнеспособных В-клеток (фиг. 4, левые панели: Raji; правые панели: SU-DHL-4). Инкубация только с гемцитабином или оксалиплатином (при концентрациях EC<sub>30</sub>, которые определены для каждого лекарственного средства на каждой клеточной линии) индуцирует цитотоксичность В-клеток (незаштрихованные символы на фиг. 4).

30 Комбинация гемцитабина и оксалиплатина вызывает большую цитотоксичность, чем отдельные препараты. Добавление гемцитабина и оксалиплатина к эпкоритамабу усиливает цитотоксичность В-клеток по сравнению с таковой, индуцированной эпкоритамабом или гемцитабином и оксалиплатином по отдельности. Таким образом, эти данные *in vitro* показывают,

что комбинация эпоритамаба с гемцитабином и оксалиплатином может привести к улучшению цитотоксичности В-клеток по сравнению с монотерапией эпоритамабом или гемцитабином/оксалиплатином. Комбинация эпоритамаба и GemOx проходит клиническое исследование (NCT04663347). Зарегистрированы и пролечены первые пациенты.

Таблица 9. Антитела, применяемые для жидкостной цитометрии.

Антитело	Флуорохром <sup>1</sup>	Фирма	Номер в каталоге
CD4	APC-E780	Invitrogen	47-0048-2
CD8	AlexaFluor700	Biolgend	301028
CD22	PE	BD Bioscience	337899
CD25	PE-Cy7	eBioscience	25-0259-42
CD69	FITC	BD Bioscience	555530
CD279/PD-1	BV605	Biolgend	329924
CD107a (LAMP-1)	PE-Cy5	Invitrogen	15-1079-42

<sup>1</sup>APC: аллофикоцианин; PE: фикоэритрин; Cy: цианиновый краситель;

FITC: изотиоцианат флуоресцеина; BV: бриллиантовый фиолетовый

Таблица 10. Перечень последовательностей

SEQ ID	Описание	Последовательность
1	huCD3 VH CDR1	GFTFNTYA
2	huCD3 VH CDR2	IRSKYNNYAT
3	huCD3 VH CDR3	VRHGNFGNSYVSWFAY
4	huCD3 VL CDR1	TGAVTTSNY
-	huCD3 VL CDR2	GTN
5	huCD3 VL CDR3	ALWYSNLWV
6	huCD3 VH1	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVVRQAPGK GLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKSSLYLQMNN LKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTLTVSS
7	huCD3 VL1	QAVVTQEPSFSVSPGGT <sup>1</sup> VTLCRSSTGAVTTSNYANWVQQT <sup>2</sup> PGQ AFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQADDESIYF CALWYSNLWVFGGGTKLTVL
8	VH CD20 – 7D8 CDR1	GFTFH <sup>3</sup> DYA
9	VH CD20 – 7D8 CDR2	ISWNSGTI
10	VH CD20 – 7D8 CDR3	AKDIQYGNYYYGMDV
11	VL CD20 – 7D8 CDR1	QSVSSY
-	VL CD20 – 7D8 CDR2	DAS
12	VL CD20 – 7D8 CDR3	QQRSNWPIT
13	VH CD20 – 7D8	EVQLVESGGGLVQPD <sup>4</sup> SLRLSCAASGFTFH <sup>3</sup> DYAMHWVVRQAPGK GLEWVSTISWNSGTIGYADSVKGRFTISRDN <sup>5</sup> AKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGT <sup>6</sup> TVTVSS
14	VL CD20 – 7D8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT <sup>7</sup> ISSLEPEDFAVYYCQQR

		<u>SNWPITFGQGTRLEIK</u>
15	IgG1 константная область тяжелой цепи – WT (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации ЕС) Область CH3 показана курсивом	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
16	IgG1-LFLEDA константная область тяжелой цепи (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации ЕС)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVV <u>A</u> VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
17	IgG1 F405L (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации ЕС)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF <u>LL</u> YSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	IgG1-K409R (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации ЕС)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS <u>RL</u> TVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
19	IgG1 -LFLEDA-F405L (FEAL) (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации ЕС)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVV <u>A</u> VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF <u>LL</u> YSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	IgG1 -LFLEDA-K409R (FEAR) (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации ЕС)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVV <u>A</u> VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS <u>RL</u> TVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
21	CH3 область IgG1	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	Константная область LC человека лямбда	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSQC VTHEGSTVEKTVAPTECS
23	Константная область LC человека каппа	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC
24	huCD3-LFLEDA-	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGK

	F405L (FEAL) тяжелая цепь	GLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKSSLYLQMNN LKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVA <u>V</u> SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSF <u>L</u> LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
25	huCD3 VL+CL легкая цепь	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQ AFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQADDESIYF CALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANK ATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
26	CD20-7D8-LFLEDA- K409R (FEAR) тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVQPDRSLRLSCAASGFTTFHDYAMHWVRQAPGK GLEWVSTISWNSGTIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTALYYC <u>AK</u> DIOYGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP VTCVVVA <u>V</u> SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS <u>R</u> LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG
27	CD20 – 7D8 VL+CL легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQR SNWPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
28	CD3 (эпсилон) человека	MQSGTHWRVVLGCLLSVGVWGDGNEEMGGITQTPYKVSISG TTVILTCQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEF SELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMS VATIVIVDICITGLLLLVYYWSKNRKAAPVTRGAGAGGRQR GQNKERPPVPPNDYEPYRIRKQQRDLYSGLNQRRI
29	CD20 человека	MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPAMQSGPKPLFRMSSLVGPQSF FMRESKTLGAVQIMNGLFHIALGGLLMIPAGIYAPICVTVWYPL WGGIMYIISGSLLAATEKNSRKCLVKGKMIMNSLSLFAAISGMIL SIMDILNIKISHFLKMESLNFIRAHTPYINIYNCEPANPSEKNSPST QYCYSIQSLFLGILSVMLIFAFFQELVIAGIVENEWKRTCSRPKSN IVLLSAEEKKEQTIEIKEEVGLTETSSQPKNEEDIEIPIQEEEEEE TETNFPEPPQDQESSPIENDSSP

Выделены жирным шрифтом и подчеркнуты FE; A; L и R, соответствующие положениям 234 и 235; 265; 405 и 409 по нумерации ЕС. В переменных областях подчеркнуты указанные области CDR, которые были аннотированы в соответствии с определениями IMGT.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ДКВКЛ) у субъекта-человека, включающий введение субъекту биспецифического антитела и эффективного количества гемцитабина и оксалиплатина, причем биспецифическое антитело включает:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 6, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH и область VL, где область VH содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 13, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 14,

где биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг, и где гемцитабин, оксалиплатина и биспецифическое антитело вводят 28-дневными циклами.

2. Способ по п. 1, в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг.

3. Способ по п. 1, в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 48 мг.

4. Способ по любому из п.п. 1-3, в котором биспецифическое антитело вводят один раз каждую неделю (еженедельное введение).

5. Способ по п. 4, в котором еженедельное введение 24 мг или 48 мг осуществляют в течение двух с половиной 28-дневных циклов.

6. Способ по п.п. 4 или 5, в котором после недельного введения биспецифическое антитело вводят один раз каждые две недели (введение раз в две недели).

5 7. Способ по п. 6, в котором введение раз в две недели осуществляют в течение шести 28-дневных циклов.

8. Способ по п.п. 6 или 7, в котором после введения один раз в две недели биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели.

10

9. Способ по п. 8, в котором введение один раз каждые четыре недели осуществляют в течение по меньшей мере двух 28-дневных циклов.

15 10. Способ по любому из п.п. 4-9, в котором перед еженедельным введением 24 мг или 48 мг вводят начальную дозу биспецифического антитела в первом цикле 28-дневных циклов.

11. Способ по п. 10, в котором начальную дозу вводят за две недели перед введением первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг.

20

12. Способ по п.п. 10 или 11, в котором начальная доза составляет 0,16 мг.

25 13. Способ по любому из п.п. 10-12, в котором после введения начальной дозы и до введения первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

30 14. Способ по п. 13, в котором начальную дозу вводят в 1й день и промежуточную дозу вводят в 8й день перед первой еженедельной дозой 24 мг или 48 мг в 15й и 22й день первого цикла.

15. Способ по п.п. 13 или 14, в котором промежуточная доза составляет 0,8 мг.

16. Способ по любому из п.п. 1-15, в котором гемцитабин вводят один раз каждые две недели.

5 17. Способ по п. 16, в котором введение гемцитабина один раз каждые две недели осуществляют в течение четырех 28-дневных циклов.

18. Способ по любому из п.п. 1-17, в котором гемцитабин вводят в дозе  $1000 \text{ мг/м}^2$  или в эквивалентной ей дозе.

10 19. Способ по любому из п.п. 1-18, в котором оксалиплатин вводят один раз каждые две недели.

20. Способ по любому из п.п. 1-19, в котором введение оксалиплатина один раз каждые две недели осуществляют в течение четырех 28-дневных циклов.

15 21. Способ по любому из п.п. 1-20, в котором оксалиплатин вводят в дозе  $100 \text{ мг/м}^2$ .

20 22. Способ по любому из п.п. 1-21, в котором гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й и 5-й день в циклах с 1-го по 4-й).

25 23. Способ по любому из п.п. 1-22, в котором схема дозирования гемцитабина, оксалиплатина и биспецифического антитела представлены в табл. 2.

24. Способ по любому из п.п. 1, 2 и 4-23, в котором введение осуществляют 28-дневными циклами, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

30 (i) в первом цикле начальную дозу  $0,16 \text{ мг}$  вводят в 1й день, промежуточную дозу  $0,8 \text{ мг}$  вводят в 8й день и дозу  $24 \text{ мг}$  вводят в 15-й и 22-й день;

(ii) во втором и третьем циклах дозу  $24 \text{ мг}$  вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й день;

- (iii) в 4-9 циклы дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и
- (iv) в десятом и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;
- (б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й; и
- (в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й дни в циклах с 1-го по 4-й.

5

25. Способ по любому из п.п. 1 и 3-23, в котором введение осуществляют 28-дневными циклами, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

10 (i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во втором и третьем циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й день;

(iii) в 4-9 циклы дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

15 (iv) в десятом и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) гемцитабин вводят в 1-й и 15-й день в циклах с 1-го по 4-й; и

(в) оксалиплатин вводят в 1-й и 15-й день в циклах с 1-го по 4-й.

20 26. Способ по любому из п.п. 1-25, в котором биспецифическое антитело вводят подкожно.

27. Способ по любому из п.п. 1-26, в котором гемцитабин вводят внутривенно.

25 28. Способ по любому из п.п. 1-27, в котором оксалиплатин вводят внутривенно.

29. Способ по любому из п.п. 1-28, в котором биспецифическое антитело, гемцитабин и оксалиплатин вводят последовательно.

30

30. Способ по любому из п.п. 1-29, в котором гемцитабин вводят первым, оксалиплатин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним, когда гемцитабин, оксалиплатин и биспецифическое антитело вводят в один день.

31. Способ по любому из п.п. 1-30, в котором ДКВКЛ характеризуется двумя или тремя воздействиями ДКВКЛ.

5 32. Способ по любому из п.п. 1-31, в котором ДКВКЛ является фолликулярной лимфомой степени 3В.

33. Способ по любому из п.п. 1-32, в котором у субъекта был рецидив после по меньшей мере одной предшествующей терапии.

10 34. Способ по любому из п.п. 1-33, в котором субъект невосприимчив по меньшей мере к одной предшествующей терапии.

15 35. Способ по любому из п.п. 1-34, в котором у субъекта была неудачная предшествующая трансплантация аутологичных гематopoэтических стволовых клеток.

20 36. Способ по любому из п.п. 1-35, в котором субъект не подходит для аутологичной трансплантации гематopoэтических стволовых клеток из-за возраста, общего состояния, сопутствующих заболеваний и/или недостаточного ответа на предшествующее лечение.

37. Способ по любому из п.п. 1-36, в котором:

25 (i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и

30 (ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные

последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

38. Способ по любому из п.п. 1-37, в котором:

5 (i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и

10 (ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

15 39. Способ по любому из п.п. 1-38, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела происходит от гуманизированного антитела, предпочтительно от антитела полной длины IgG1,  $\lambda$  (лямбда).

20 40. Способ по п. 39, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой цепи  $\lambda$ , содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22.

25 41. Способ по любому из п.п. 1-40, в котором второе связывающее плечо биспецифического антитела происходит от антитела человека, предпочтительно от антитела полной длины IgG1,  $\kappa$  (каппа).

30 42. Способ по п. 41, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 23.

43. Способ по любому из п.п. 1-42, в котором биспецифическое антитело представляет собой антитело полной длины с константной областью IgG1 человека.

44. Способ по любому из п.п. 1-43, в котором биспецифическое антитело содержит инертную область Fc.

5 45. Способ по любому из п.п. 1-44, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем в обеих, первой и второй, тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15 являются F, E и A, соответственно.

10 46. Способ по любому из п.п. 1-46, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в  
15 константная область тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

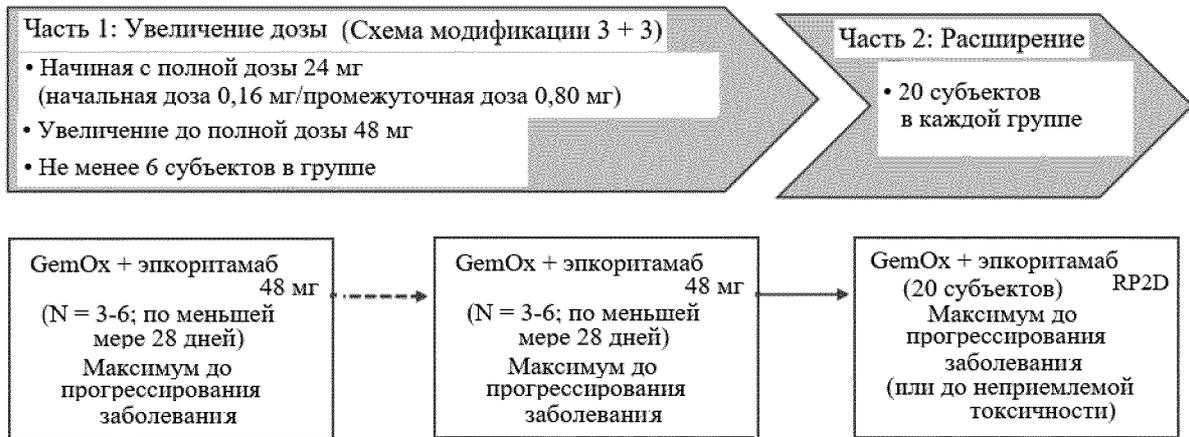
47. Способ по любому из п.п. 1-46, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем  
20 (i) в обеих, первой и второй, тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15 являются F, E и A, соответственно, и  
(ii) в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15,  
25 представляет собой L, и во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека в SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

48. Способ по п. 47, в котором биспецифическое антитело содержит  
30 константные области тяжелой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

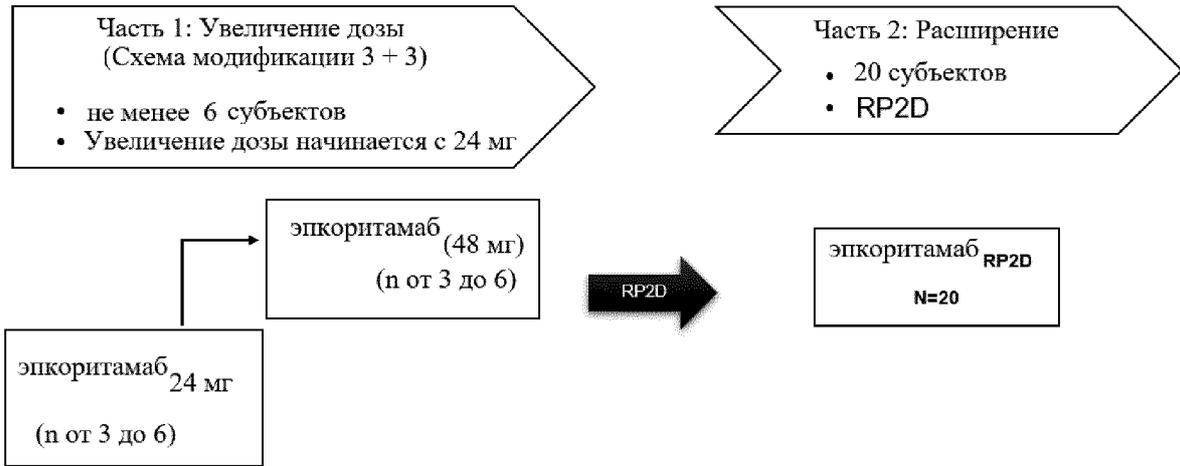
49. Способ по любому из п.п. 1-48, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, включающие аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

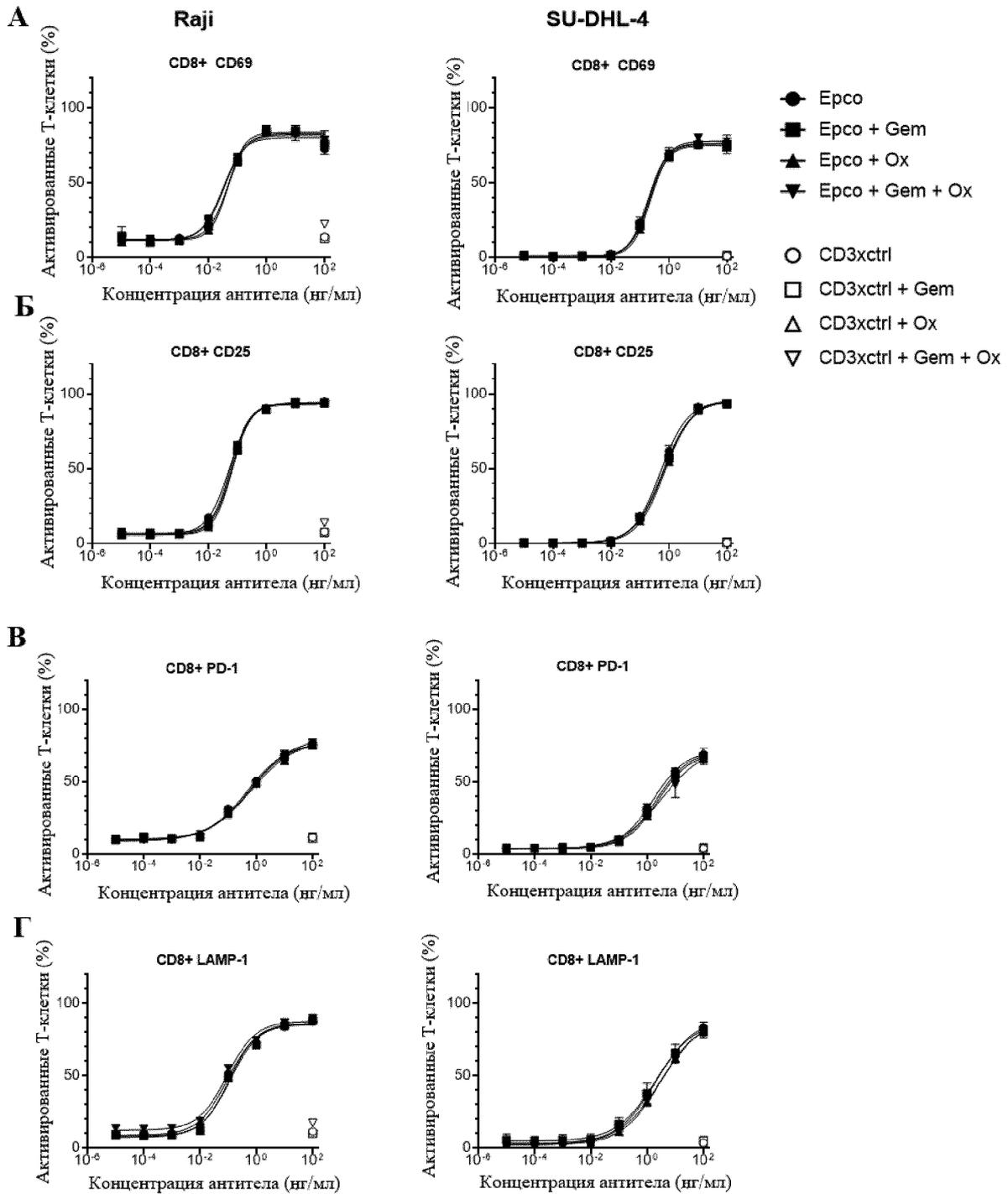
- 5            51. Способ по любому из п.п. 1-50, в котором биспецифическим антителом является эпкоритамаб или его биоаналог.



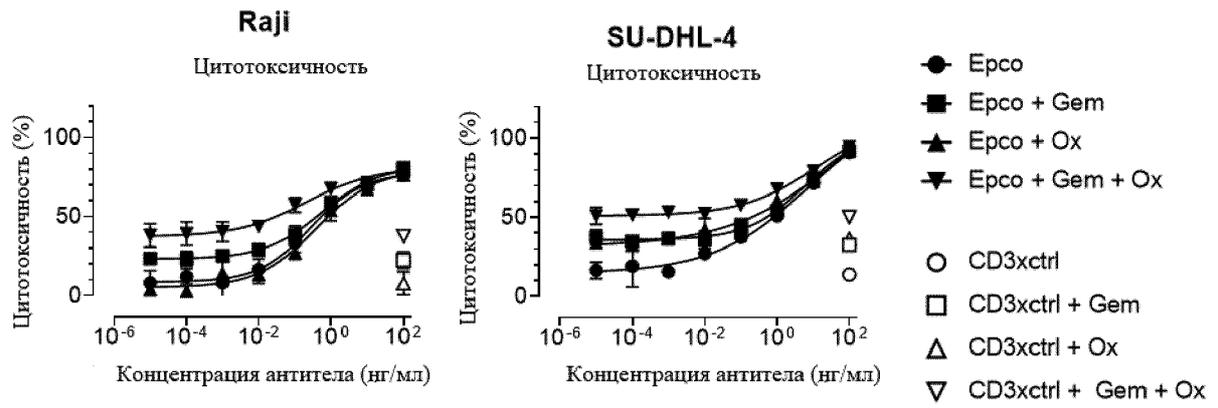
Фигура 1.



Фигура 2.



Фигура 3.



Фигура 4.