



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2024.01.29

(21) Номер заявки

202091539

(22) Дата подачи заявки

2018.12.21

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

**(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ПРОТИВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ
АНТАГОНИСТОМ IAP И МОЛЕКУЛОЙ ПРОТИВ PD-1**

(31) PCT/IB2017/001595

(32) 2017.12.21

(33) IB

(43) 2020.09.17

(86) PCT/EP2018/086606

(87) WO 2019/122337 2019.06.27

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЕБИОФАРМ ИНТЕРНЭШНЛ С.А.
(CH)

(72) Изобретатель:
Воньо Грегуар, Видеманн Норберт
(CH), Гавилле Бруно (FR),
Шильдергемайн Альтман Серхио
Адриан (CH)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) Anonymous: "A Dose-Finding Study of the Second Mitochondrial Activator of Caspases (SMAC) Mimetic Debio 1143 When Given in Combination With Avelumab to Participants With Advanced Solid Malignancies and to Participants With Advanced or Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) After Platinum-Based Therapy", clinical trials.gov, 18 December 2017 (2017-12-18), pages 1-8, XP055502607, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/history / NCT03270176?V_7=View#StudyPageTop [retrieved on 2018-08-28] the whole document page 4, line 1 - last line

Anonymous: "NCT02587962:Dose-escalation Study of Birinapant and Pembrolizumab in Solid Tumors", 8 November 2017 (2017-11-08),

pages 1-8, XP055503207, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/history / NCT02587962?V_4=View#StudyPageTop [retrieved on 2018-08-29] the whole document page 3 - page 5

Anonymous: "NCT02890069: Phase Ib, Open-label, Multi-center Study to Characterize the Safety, Tolerability and Pharmacodynamics (PD) of PDR001 in Combination With LCL161, Everolimus (RAD001) or Panobinostat (LBH589)", clinical trials.gov, 1 December 2017 (2017-12-01), pages 1-9, XP055502777, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/history / NCT02890069?V_8=View#StudyPageTop [retrieved on 2018-08-28] page 2, paragraph 1 page 4, paragraph 1 - paragraph 3

SHAWN T. BEUG ET AL: "Smac mimetics synergize with immune checkpoint inhibitors to promote tumour immunity against glioblastoma", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 8, 15 February 2017 (2017-02-15), XP055482024, DOI: 10.1038/ncomms14278 page 5, left-hand column, paragraph 2 - right-hand column, paragraph 3; figures 4,5 the whole document

Yvonne Bo: "Role of Smac in Lung Carcinogenesis and Therapy", 1 July 2017 (2017-07-01), page e107165, XP055502783, United States DOI: 10.1371/journal.pone.0107165 Retrieved from the Internet: URL:http://www.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u 2/1050348.pdf [retrieved on 2018-08-28] page 3, last paragraph CONOR J KEARNEY ET AL: "PD-L1 and IAPs co-operate to protect tumors from cytotoxic lymphocyte-derived TNF", CELL DEATH AND DIFFERENTIATION., vol. 24, no. 10, 30 June 2017 (2017-06-30), pages 1705-1716, XP055502801, GB ISSN: 1350-9047, DOI: 10.1038/cdd.2017.94 page 1710; figure 6 page 1714, left-hand column

(57) Описано применение антагониста IAP для предварительного лечения человека, у которого диагностирована злокачественная опухоль, для повышения вероятности того, что последующее лечение молекулой против PD-1 приведет к противораковому ответу или к повышению способности злокачественной опухоли индивидуума отвечать на последующее лечение молекулой против PD-1. Также предусматриваются способы лечения злокачественной опухоли индивидуума, причем способы включают предварительное лечение индивидуума антагонистом IAP и последующее лечение индивидуума молекулой против PD-1.

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к применению антагониста IAP для повышения иммуногенности микроокружения злокачественной опухоли индивидуума перед лечением индивидуума молекулой, направленной против PD-1.

Уровень техники, к которому относится изобретение

Ряд типов злокачественных опухолей включает случаи, в которых компоненты внешнего или внутреннего каскадов клеточной смерти генетически изменены. Это может вовлекать сверхэкспрессию Fas-ассоциированного белка с доменом смерти (FADD) или ингибитора белков апоптоза (IAP), или недостаточность экспрессии функциональных каспаз. Результатом может быть устойчивость к клеточной смерти, являющаяся отличительным признаком злокачественной опухоли. Hoadley et al. (2014) *Cell* 158: 929-44; *The Cancer Genome Atlas Network* (2015) *Nat* 517: 576-82; Eytan et al. (2016) *Cancer Res* 76: 5442-54; Hanahan and Weinberg (2011) *Cell* 144: 646-74.

Краткое описание внешнего и внутреннего каскадов смерти представлено в Derakhshan et al. (2017) *Clin Cancer Res* 23: 1379-87. В кратком изложении, внешний каскад начинается на рецепторе клеточной поверхности. Он запускается связыванием лигандов смерти, таких как Fas-лиганд (FasL), TNF α или TRAIL, с их соответствующими рецепторами (т.е. Fas, TNFR1, TRAILR1/DR4, TRAIL2/DR5) на внеклеточной стороне. Вследствие этого FADD связывается с рецепторами на внутриклеточной стороне и про-каспаза 8 связывается со связанным с рецептором FADD, образуя индуцирующий смерть сигнальный комплекс (DISC). После этого следует активация каспазы 8, а затем каспазы 3, ведущая к апоптозу. Внешний каскад также может вызывать некроптическую смерть, вовлекающую FADD, RIP-киназы и подобный киназному домену белок смешанного происхождения (MLKL).

Внутренний каскад начинается с повреждения митохондрий, которое приводит к высвобождению в цитоплазму проапоптотических белков, таких как цитохром c, и второго активатора каспаз митохондриального происхождения (SMAC). Цитохром c связывает фактор, активирующий апоптотическую протеазу (APAF1), формируя апоптосомный комплекс. Этот комплекс связывается с прокаспазой 9, которая активируется и в свою очередь активирует прокаспазу 3. SMAC связывается с и вызывает деградацию или ингибирование белков семейства IAP, включая клеточный IAP1 (cIAP1), клеточный IAP2 (cIAP2) и X-связанный IAP (XIAP).

IAP представляют собой белки, которые определяются присутствием от одного до трех бакуловирусных доменов повторов IAP (BIR). Клетки человека экспрессируют 8 различных IAP, среди которых XIAP, cIAP1 и cIAP2, как показано, ингибируют индуцируемый каспазой апоптоз и индуцируемый RIP-киназой некроптоз. Salvesen and Duckett (2002) *Nat Rev Mol Cell Biol* 3: 401-10. Среди этих последних IAP только XIAP способен прямо связываться с каспазами и ингибировать их функцию. Derakhshan et al. (*Clin Cancer Res*. 2017 Mar 15;23(6):1379-1387. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2172. Epub 2016 Dec 30). cIAP1, cIAP2 и XIAP содержат так называемый RING-домен, который обладает активностью убиквитинлигазы E3. Антиапоптотический эффект cIAP1 и cIAP2 опосредуется их активностью убиквитинлигазы.

SMAC представляет собой димерный белок, который содержит на его N-конце пептидную последовательность Ala-Val-Pro-Ile (AVPI), которая опосредует связывание белка с BIR-доменами IAP. Были разработаны пептидомиметики, которые имитируют эту пептидную последовательность, тем самым дублируя способность SMAC связывать XIAP, cIAP1 и cIAP2 (обозначаемые в настоящем описании как "миметики SMAC"). Миметики SMAC препятствуют взаимодействию XIAP с каспазами. Что касается cIAP1 и cIAP2, миметики SMAC активируют активность убиквитинлигазы E3 IAP, вызывая их аутоубиквитинилирование и устранение посредством протеасомной деградации.

В дополнение к их эффектам ингибирования апоптоза, IAP также влияют на множество других клеточных процессов, таких как события убиквитин-зависимой передачи сигнала, которые регулируют активацию фактора транскрипции NF- κ B, который запускает экспрессию генов, важных для воспаления, иммунитета, миграции клеток и выживания клеток. Gyrd-Hansen and Meier (2010) *Nat Rev Cancer* 10: 561-74. Клеточные IAP имеют ключевое значение в каноническом каскаде активации NF- κ B. Derakhshan et al. (2017). Связывание TNF α с TNFR1 приводит к привлечению ассоциированного с рецептором 1 TNF белка с доменом смерти (TRADD) и ассоциированного с рецептором TNF фактора 2 (TRAF2) к TNFR1. Затем к активному комплексу привлекаются RIP1 и cIAP1/2. Опосредуемое клеточным IAP убиквитинилирование RIP1 в конечном итоге приводит к фосфорилированию ингибитора NF- κ B-киназы IKK β , которая фосфорилирует ингибиторную субъединицу NF- κ B I κ B. I κ B затем деградирует, высвобождая субъединицы NF- κ B p50 и RELA, которые объединяются, формируя активный фактор транскрипции NF- κ B. Это связывание TNFR1 препятствует его апоптотической или некроптической передаче сигнала. Зависимая от IAP регуляция каскадов передачи сигнала NF- κ B оказывает значительное влияние на функцию иммунной системы, влияя как на врожденный, так и на адаптивный иммунитет. Beug et al. (2012) *Trends Immunol* 33: 535-45. Таким образом, было продемонстрировано, что IAP регулируют функцию нескольких типов иммунных клеток, связанных с противоопухолевым иммунным ответом, включая антигенпредставляющие клетки, лимфоциты и натуральные киллеры.

Клеточные IAP также ответственны за убиквитинилирование NF- κ B-индуцирующей киназы NIK,

которое приводит к ее протеасомной деградации. Derakhshan et al. (2017). В отсутствие IAP, т.е. в присутствии антагониста IAP, такого как миметик SMAC, NIK накапливается и фосфорилирует ИКК α , которая фосфорилирует неактивную субъединицу p100 NF- κ B. Субъединица расщепляется до активной субъединицы p52, которая объединяется с RELB, образуя активный фактор транскрипции NF- κ B. Эта неканоническая активация NF- κ B является ключевой для модулирования врожденного и адаптивного иммунитета посредством продуцирования цитокинов. Chesì et al. (2016) *Nat Med*, 22:1411-20, и ссылки, цитированные в ней. Было показано, что ингибитор IAP LBW242 повышает противоопухолевый иммунный ответ путем индукции пролиферации Т-клеток и костимуляции в контексте первичного стимула Т-клеточного рецептора, что приводит к повышению активации Т-клеток и усилению эффективности в модели профилактической вакцины против злокачественной опухоли. Dougan et al. (2010) *J Exp Med* 207: 2195-206. Было показано, что ингибиторы IAP BV6 и биринанант модулируют функцию антигенпредставляющих клеток, например, посредством индукции созревания дендритных клеток или посредством конвертирования проопухолевых макрофагов типа II в провоспалительные макрофаги типа I. Muller-Sienerth et al. (2011) *PLoS One* 6: e21556; Knights et al. (2013) *Cancer Immunol Immunother* 62: 321-35; Le-cis et al. (2013) *Cell Death Dis* 4: e920. Более того, ингибирование IAP повышает чувствительность опухолевых клеток в отношении опосредуемых натуральными киллерами или Т-клетками эффекторных механизмов гранзима В и перфорина. Brinkmann et al. (2014) *Leuk Lymphoma* 55: 645-51; Nachmias et al. (2007) *Eur J Immunol* 37: 3467-76. Кроме того, ингибиторы IAP также могут участвовать в регуляции иммунной системы посредством модулирования экспрессии молекул иммунной точки контроля на иммунных клетках. Knights et al. (2013); Pinzon-Ortiz et al. (2016) *Cancer Res* 76 (14 Suppl): abstract 2343. Отмечается, что в отсутствие IAP, т.е. в присутствии антагониста IAP, такого как миметик SMAC, TNFR1 более не участвует в канонической активации NF- κ B, что делает клетки чувствительными к TNF α -опосредуемому апоптозу.

Как правило, иммунное разрушение опухолевых клеток является неэффективным. В настоящее время выяснено, что это является следствием того, что пациенты со злокачественной опухолью не имеют значительного резервуара Т-клеток, способного разрушать опухоль, и/или следствием того, что клетки адаптивной или врожденной иммунной системы удерживаются под контролем или нейтрализуются посредством каскадов, которые ингибируют их активацию или их эффекторные функции. Инструментарием этого подавления являются так называемые молекулы иммунной точки контроля. За последние двадцать лет было идентифицировано несколько таких молекул точки контроля. Прототипной молекулой этого типа является антиген 4 цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA-4). Было обнаружено, что блокирование этой молекулы приводит к регрессии опухоли в моделях на мышах. Leach et al. (1996) *Science* 271: 1734-36. CTLA-4 экспрессируется на активированных Т-клетках, преимущественно на CD4-клетках, и ограничивает Т-клеточные ответы путем препятствования активности мастер-костимулятора Т-клеток CD28. CTLA-4 и CD28 имеют общие лиганды CD80 и CD86, причем CTLA-4 превосходит CD28 вследствие его более высокой аффинности в отношении последних указанных лигандов. Linsley et al. (1994) *Immunity* 1: 793-801.

Подобно CTLA-4, молекула иммунной точки контроля PD-1 экспрессируется на активированных Т-клетках. Parry et al. (2005) *Mol Cell Biol* 25: 9543-53. Она также активирует фосфатазы SHP2 и PP2A. Полагают, что вовлечение PD-1 прямо препятствует опосредуемым TCR эффекторным функциям и усиливает миграцию Т-клеток. Полагают, что молекула иммунной точки контроля демонстрирует ее функцию в основном в микроокружении опухоли, в то время как CTLA-4 действует в основном во вторичных лимфоидных тканях. Wing et al. (2008) *Science* 322: 271-5; Peggs et al. (2009) *J Exp Med* 206: 1717-1725. Двумя известными лигандами PD-1 являются PD-L1 и PD-L2. Dong et al. (1999) *Nat Med* 5: 1365-9; Latchman et al. (2001) *Nat Immunol* 2: 616-21; Tseng et al. (2001) *J Exp Med* 193: 839-46. Молекулы лигандов обладают гомологией, но регулируются по-разному. PD-L1 индуцируется в активированных гемопоэтических и эпителиальных клетках посредством IFN γ (продуцируемого активированными Т-клетками и натуральными киллерами). Индукция PD-L2 обнаружена в активированных дендритных клетках и некоторых макрофагах. Индукция в основном может осуществляться посредством IL-4. Мыши с нокаутом PD-1 демонстрируют орган-специфическое воспаление с поздним началом. Nishimura et al. (1999) *Immunity* 11: 141-51; *Science* 291: 319-22 (2001). Этот фенотип является значительно менее тяжелым, чем фенотип, наблюдаемый у мышей с нокаутом CTLA-4. Соответственно, клинические иммуноопосредуемые эффекты терапии против PD-1 имеют тенденцию быть мягче, чем эффекты, ассоциированные с терапией, направленной против CTLA-4. PD-L1 экспрессируется во многих солидных опухолях, а PD-L2 - в определенных подгруппах В-клеточных лимфом. PD-1 экспрессируется на высоком уровне в инфильтрирующих опухоль лимфоцитах. Dong et al. (2002) *Nat Med* 8: 793-800; Ansell et al. (2015) *N Engl J Med* 372: 311-9; Amadzadeh et al. (2009) *Blood* 114: 1537-44; Sfanos et al. (2009) *Prostate* 69: 1694-1703.

В первом испытании у человека терапии, направленной против PD-1, использовали моноклональное антитело Ниволумаб, полностью человеческое IgG4-антитело от Bristol-Myers Squibb/Ono Pharmaceuticals. Была зарегистрирована частота объективного ответа 17% для развернутой рефрактерной к лечению NSCLC, 20% для RCC и 31% для меланомы. Многие из этих ответов были длительными. Общая

выживаемость составляла 9,9, 22,4 и 16,8 месяцев, соответственно. Topalian et al. (2012) *N Engl J Med* 366: 2443-54; *J Clin Oncol* 32: 1020-30 (2014). На сегодняшний день Ниволумаб одобрен в США, Японии и Европе для лечения нерезектабельной или метастазирующей меланомы, карциномы почки (RCC), метастазирующей или рецидивирующей плоскоклеточной карциномы головы и шеи (SCCHN), метастазирующей немелкоклеточной карциномы легких (NSCLC) и лимфомы Ходжкина. Iwai et al. (2017) *J Biomed Science* 24: 36; Balar and Weber (2017) *Cancer Immunol Immunother* 66: 551-64. Также было получено одобрение FDA для рака уротелия. Моноклональное антитело против PD-1 Пембролизумаб, гуманизированное IgG4-антитело от Merck, также было одобрено против метастазирующей меланомы, метастазирующего NSCLC (США, Япония и Европа), а также против рака головы и шеи и опухолей с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI) из неизвестной первичной области (США). Атезолизумаб, другое антитело IgG1-типа от Roche/Genentech, ингибирует лиганд PD-L1. Он получил одобрение FDA против рака уротелия (рак мочевого пузыря) и метастазирующего NSCLC. Недавно в продаже появилось два дополнительных антитела против PD-L1. Дурвалумаб представляет собой IgG1k-антитело человека антитело от Medimmune/AstraZeneca, которое одобрено FDA для лечения локально развернутого или метастазирующего рака уротелия. Авелумаб представляет собой IgG1-антитело человека от Merck Serono/Pfizer, одобренное FDA для лечения метастазирующей карциномы из клеток Меркеля и рака уротелия/мочевого пузыря. В настоящее время проходят клинические испытания дополнительные молекулы, направленные на PD-1. Они включают гуманизированное IgG4-антитело PDR001 от Novartis, моноклональное антитело IBI-308 от Innovent Biologies, полностью гуманизированное моноклональное антитело цемиплимаб (REGN-2810) от Regeneron, гуманизированное моноклональное IgG4-антитело камрелизумаб (SHR-1210) от Jiangsu Hengrui Medicine, моноклональное гуманизированное антитело BGB-A317 от BeiGene, моноклональное антитело BCD-100 от Biocad, гуманизированное рекомбинантное IgG4K-антитело JS-001 от Shanghai Junshi Biosciences, JNJ-3283 (JNJ-63723283) моноклональное антитело от Johnson & Johnson, моноклональное антитело AMP-514 (в настоящее время называемое "MEDI0680") от Amplimmune (в настоящее время Medimmune [AstraZeneca]), AGEN-2034 от Agenus, гуманизированное моноклональное антитело TSR-042 от AnaptysBio и Tesaro, гуманизированное моноклональное антитело Sym-021 от Symphogen, антитело PF-06801591 от Pfizer, биспецифическую четырехвалентную гуманизованную молекулу DART (с двойной аффинностью перенацеливающая) MGD-013 от MacroGenics, гуманизированное моноклональное антитело MGA-012 от MacroGenics, рекомбинантное гуманизированное антитело LZM-009 от Livzon Pharmaceutical, рекомбинантное моноклональное антитело человека GLS-010 (AB-122) от Gloria Pharmaceuticals, гуманизированное моноклональное IgG4-антитело генолимзумаб (CBT-501) от Walvax Biotechnology, моноклональное антитело BI 754091 от Boehringer Ingelheim и биспецифическое моноклональное антитело AK-104 от Akeso Biopharma. Также проходят клинические испытания дополнительные молекулы, направленные на PD-L1. Они включают моноклональное антитело CX-072 от CytomX Therapeutics, полностью гуманизированное рекомбинантное моноклональное IgG-антитело WBP3155 (CS-1001) от CStone Pharmaceuticals, гуманизованное моноклональное IgG4-антитело SFIR-1316 от Atridia, ингибиторную миламолекулу против PD-L1 от Bristol-Myers Squibb, IgG4-антитело человека BMS-936559 (MDX1105) от Bristol-Myers Squibb, бифункциональный слитый белок на основе нацеленного на PD-L1 моноклонального антитела и TGFβ M-7824 (MSB0011359C) от Merck KGaA, моноклональное антитело LY-3300054 от Eli Lilly, наноантитело KN-035 от Alphamab, моноклональное антитело FAZ-053 от Novartis, IgG1-антитело CK-301 от TG Therapeutics, пероральное низкомолекулярное соединение CA-170, нацеленное на PD-L1 и супрессор Ig активации Т-клеток с V-доменом (VISTA) от Aurigene Discovery. На 2015 год была описана частота объективного ответа для терапии, направленной против PD-1/PD-L1, составляющая 17-40% для меланомы, 10-30% для рака легкого, 12-29% для рака почки, 25% для рака мочевого пузыря, 6-23% для рака яичника, 14-20% для рака головы и шеи, 22% для рака желудка, 24% для рака ободочной и прямой кишки, 18% для тройного негативного рака молочной железы, 24% для мезотелиомы и 87% для лимфомы Ходжкина. Lejeune (2015) *Melanoma Res* 25: 373-375. Для более поздней информации о частотах ответа для Ниволумаба, Пембролизумаба, Атезолизумаба и Дурвалумаба см. Balar and Weber (2017) и Iwai et al. (2017).

Как показывают цитированные выше данные, терапия, направленная против PD-1/PD-L1, не вызывает выраженных объективных ответов у большинства пациентов. Был предложен ряд комбинированных способов терапии путем комбинирования иммуномодулирующего средства (например, активатор костимулирующей молекулы или ингибитор молекулы иммунной точки контроля) со вторым средством, таким как ингибитор IAP, ингибитор TOR-киназы, ингибитор HDM2-лигазы, ингибитор PIM-киназы, ингибитор HER3-киназы, ингибитор деацетилазы гистонов (HDAC), ингибитор Janus-киназы, ингибитор рецептора FGF, ингибитор рецептора EGF, ингибитор c-MET, ингибитор ALK, ингибитор CDK4/6, ингибитор PI3K, ингибитор BRAF, CAR Т-клетки (например, CAR Т-клетки, нацеленные на CD19), ингибитор MEK или ингибитор BCR-ABL (WO 2016/054555). Последние данные показали, что ингибиторы IAP усиливают эффекты ингибитора иммунной точки контроля, направленного против PD-1, в сингенных моделях злокачественной опухоли на иммунокомпетентных мышах, что указывает на то, что они являются хорошими кандидатами для комбинирования с иммунотерапией для лечения злокачественной опухоли. Chesl et al. (2016); Pinzon-Ortiz et al. (2016); Beug et al. (2017) *Nat Commun.* Feb 15; 8. doi:

10.1038/ncomms14278.

Аналогично, было предложено лечение злокачественной опухоли посредством введения антагониста IAP, однако введение такого антагониста IAP, по-видимому, является недостаточным для лечения определенных злокачественных опухолей. Был предложен принцип комбинирования соединения-миметика SMAC с иммуностимулирующим или иммуномодулирующим средством с целью повышения эффективности миметиков SMAC при лечении злокачественной опухоли (WO 2017/143449).

В настоящее время проходят клинические испытания, вовлекающие Debio 1143 в комбинации с авелумабом (идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT03270176), Биринапантом в комбинации с пембролизумабом (идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT02587962) и LCL-161 в комбинации с PDR001 (идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT02890069). Кроме того, в Bo (2017) "Role of Smac in Lung Carcinogenesis and Therapy" doi: 10.1371/journal.pone.0107165 описано одновременное введение Debio1143 и антитела против PD-1. Однако ни один из способов лечения уровня техники не связан с применением индукционной терапии, как описано в настоящем описании.

Все еще существует потребность в усовершенствовании комбинированной терапии для повышения эффективности лечения злокачественной опухоли или для обеспечения пригодности некоторых пациентов со злокачественной опухолью для включения в такое лечение злокачественной опухоли.

Сущность изобретения

Авторы настоящего изобретения предположили, что пациента, имеющего опухоль, можно предварительно лечить антагонистом IAP, таким как миметик SMAC, для повышения иммуногенности микроокружения опухоли пациента. Предварительное лечение повышает эффективность лечения молекулой против PD-1, вызывая иммунный ответ против опухоли.

Таким образом, в одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения злокачественной опухоли у человека, причем способ включает (i) введение антагониста IAP в ходе периода индукции, за которым следует (ii) введение молекулы против PD-1 после окончания периода индукции.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к антагонисту IAP для применения в способе лечения злокачественной опухоли у человека, причем способ включает (i) введение антагониста IAP в ходе периода индукции, за которым следует (ii) введение молекулы против PD-1 после окончания периода индукции.

В следующем аспекте настоящее изобретение относится молекуле против PD-1 для применения в способе лечения злокачественной опухоли у человека, причем способ включает (i) введение антагониста IAP в ходе периода индукции, за которым следует (ii) введение молекулы против PD-1 после окончания периода индукции.

В другом аспекте настоящее изобретение относится антагонисту IAP и молекуле против PD-1 для применения в способе лечения злокачественной опухоли у человека, причем способ включает (i) введение антагониста IAP в ходе периода индукции, за которым следует (ii) введение молекулы против PD-1 после окончания периода индукции.

Пояснения, варианты осуществления и аспекты, описанные ниже, применимы к любому из описанных выше аспектов.

Ожидается, что предварительное лечение антагонистом IAP, будет иметь несколько очевидных преимуществ над одновременным введением с молекулой против PD-1. Предварительное лечение изменяет микроокружение опухоли, что делает опухоль восприимчивой к молекуле против PD-1 даже перед первым введением молекулы против PD-1. Это может повышать эффективность лечения молекулой против PD-1 по сравнению с одновременным лечением антагонистом IAP и молекулой против PD-1. Предварительное лечение также может сокращать время, требуемое для наблюдения обусловленного лечением молекулой против PD-1 ответа. Поскольку эффективность молекулы против PD-1 может увеличиваться посредством предварительного лечения, пациенту может потребоваться введение меньшего количества молекулы против PD-1 на протяжении более короткого периода времени.

Таким образом, настоящее изобретение относится к индукционной терапии, состоящей из (применения) антагониста IAP для предварительного лечения индивидуума, у которого диагностирована злокачественная опухоль, для повышения вероятности того, что последующее лечение молекулой против PD-1 приведет к ответу, направленному против злокачественной опухоли. Дополнительно или альтернативно, применение антагониста IAP, т.е. индукционной терапии, предназначено для повышения способности злокачественной опухоли индивидуума отвечать на последующее лечение молекулой против PD-1. Хотя заявитель не желает быть связанным какой-либо теорией, вероятно, что усиливающий эффект антагониста IAP является следствием способности молекулы повышать иммуногенность микроокружения опухоли индивидуума.

В конкретном варианте осуществления индивидуума, страдающего злокачественной опухолью, предварительно лечат антагонистом IAP в ходе периода индукции или предварительного лечения, состоящего 1-48 суток, предпочтительно 1-28 суток, более предпочтительно 5-28 суток, за которым следует инициация последующего лечения посредством молекулы против PD-1. Безусловно, это означает, что в ходе индукции периода не вводят молекулу против PD-1. Период индукции может включать один или несколько дней без введения антагониста IAP (выходные дни). Например, может быть один или

несколько выходных дней между последним введением антагониста IAP в ходе периода индукции и первым введением молекулы против PD-1. Если используют антагонист IAP, который вводят каждые сутки, период индукции может включать одни или несколько суток без введения антагониста IAP.

В принципе, в индукционной терапии можно использовать любой антагонист IAP. Однако предпочтительные антагонисты IAP включают Debio 1143, GDC-917/CUDC-427, LCL161, GDC-0152, TL-32711/Биринапант, HGS-1029/AEG-40826, BI 891065, ASTX-660 и APG-1387. Предпочтительно, антагонист IAP представляет собой миметик SMAC, наиболее предпочтительным является Debio 1143.

В периоде индукции для выбранного антагониста IAP используют различные дозы и схемы. Выбранная доза и схема может зависеть от различных факторов, таких как тип злокачественной опухоли, характеристики пациента и другие способы терапии, которые может проходить индивидуум, и она может зависеть от оценки и опыта клинициста. Например, для LCL-161 можно использовать пероральные дозы от 500 до 1800 мг один раз в неделю, включая 500 мг перорально один раз в неделю, 1200 мг перорально один раз в неделю, 1500 мг перорально один раз в неделю, 1800 мг перорально один раз в неделю. Биринапант можно использовать в дозах от 13 до 47 мг/м², например 47 мг/м², в 1, 8 и 15 дни курса из 28 дней (дни 2-7, 9-14 и 16-28 являются выходными днями без Биринапанта) или 13 мг/м² два раза в неделю в течение 3 недель из 4. Debio 1143 вводят в суточном количестве от приблизительно 100 до приблизительно 1000 мг, предпочтительно от приблизительно 100 до приблизительно 500 мг, наиболее предпочтительно от приблизительно 100 до приблизительно 250 мг, либо каждый день в ходе периода вплоть до 28 дней или курсами, включающими от 5 до 14 последовательных дней введения, за которыми следует от 16 до 5 дней без Debio 1143, такие как 5 последовательных дней введения каждый 21 день, 14 последовательных дней введения каждый 21 день или 7-10 последовательных суток введения каждые 14 дней.

В другом варианте осуществления пациенту со злокачественной опухолью антагонист IAP вводят не только до, но также и одновременно с лечением молекулой против PD-1. Лечение антагонистом IAP можно продолжать в ходе всего периода, в ходе которого вводят молекулу против PD-1. Альтернативно совместное введение антагониста IAP может оканчиваться перед завершением лечения молекулой против PD-1, или введение антагониста IAP может продолжаться после завершения лечения молекулой против PD-1.

Индукционная терапия, т.е. применение антагониста IAP для предварительного лечения пациента со злокачественной опухолью перед лечением молекулой против PD-1, не ограничивается типом злокачественной опухоли, от которой страдает пациент. В конкретном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой опухоль типа, о котором известно, что он отвечает на лечение молекулой против PD-1, у значительной части подвергаемых лечению пациентов. Он включает, но не ограничивается ими, типы злокачественных опухолей, для которых лицензирована или рекомендована молекула против PD-1, выбранная для лечения. В конкретном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак головы и шеи, меланому, рак уротелия, немелкоклеточный рак легкого, опухоли с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI) из неизвестной первичной области или рак почки. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль, для которой доля отвечающих на лечение молекулой против PD-1 составляет 10% или более, предпочтительно 20% или более, и более предпочтительно 30% или более. В другом варианте осуществления злокачественная опухоль относится к типу, для которого показано, что низкий процент пациентов (например, 5% или менее) отвечают на лечение молекулой против PD-1, и в случае которого индукционная терапия в соответствии с настоящим изобретением может улучшить частоту ответа. Это включает, но не ограничивается этим, типы злокачественных опухолей, для которых (еще) не лицензирована или рекомендована молекула против PD-1, выбранная для лечения. В конкретном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки, множественную миелому, мелкоклеточный рак легкого, гепатокарциному или рак яичника.

В принципе можно использовать любой антагонист IAP. Однако предпочтительные антагонисты IAP включают Debio 1143, GDC-917/CUDC-427, LCL161, GDC-0152, TL-32711/Биринапант, HGS-1029/AEG-40826, BI 891065, ASTX-660 и APG-1387. Предпочтительно, антагонист IAP представляет собой миметик SMAC, наиболее предпочтительно Debio 1143.

В случаях, когда введение антагониста IAP продолжают в ходе лечения молекулой PD-1, можно использовать тот же или отличающийся антагонист IAP, что и в период индукции, предпочтительно тот же. Предпочтительные примеры антагонистов IAP включают Debio 1143, GDC-917/CUDC-427, LCL161, GDC-0152, TL-32711/Биринапант, HGS-1029/AEG-40826, BI 891065, ASTX-660 и APG-1387. Предпочтительно, антагонист IAP представляет собой миметик SMAC, наиболее предпочтительно Debio 1143. Дозы и схемы (курсы) также могут быть одинаковыми или могут отличаться от периода индукции в зависимости от оценки и опыта клинициста. Курсы могут быть повторяющимися при условии, что наблюдается клиническая польза в виде отсутствия ухудшения симптомов, отсутствия прогрессирования заболевания, объективно оцениваемого в соответствии с руководствами RECIST/iRECIST, и отсутствия неприемлемой токсичности, или могут длиться до тех пор, пока не возникнет клиническая потребность изменить терапевтический подход.

Молекула против PD-1, вводимая после периода индукции, может представлять собой любую моле-

кулу против PD-1. Конкретные молекулы против PD-1, которые можно использовать, включают Ниволумаб, Пембролизумаб, Атезолизумаб, Дурвалумаб, Авелумаб, PDR001, IBI-308, Цемиплимаб, Камрелизумаб, BGB-A317, BCD-100, JS-001, JNJ-3283, MEDI0680, AGEN-2034, TSR-042, Sym-021, PF-06801591, MGD-013, MGA-012, LZM-009, GLS-010, Генолимзумаб, BI 754091, AK-104, CX-072, WBP3155, SHR-1316, ингибиторную миламолекулу против PD-L1, BMS-936559, M-7824, LY-3300054, KN-035, FAZ-053, SK-301 и CA-170. Предпочтительными молекулами являются антитела против PD-1 или PD-L1. Молекулу антитела против PD-1, выбранную для лечения после периода индукции, вводят в количестве и по схеме дозирования, часто используемым в клинической практике. В конкретном варианте осуществления молекулу против PD-1, вводимую после периода индукции, можно комбинировать с одним или несколькими другими способами терапии злокачественной опухоли, включая, но не ограничиваясь ими, другие способы иммунотерапии (такие как другие ингибиторы иммунной точки контроля, включая, но не ограничиваясь ими, антитела против CTLA4, ингибиторы IDO, клеточную терапию, вакцину против злокачественной опухоли, другие иммуномодуляторы), лучевую терапию, химиотерапию, химиорадиотерапию, онколитические вирусы, антиангиогенную терапию (такую как ингибиторы VEGFR), и/или направленные способы терапии злокачественной опухоли.

В конкретном варианте осуществления индукционная терапия по настоящему изобретению является возможной только в случае или рекомендуется только после оценки, что микроокружение опухоли является слабоиммуногенным. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления пациент считается пригодным для индукционной терапии после оценки его злокачественной опухоли как слабоиммуногенная. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль оценена как слабоиммуногенная. Например, в некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль может быть оценена как имеющая низкую иммуногенность в соответствии с одним из определений, приведенных в настоящем описании ниже. Оценка, как правило, вовлекает анализ маркера иммуногенности в биологическом образце пациента, таком как биоптат злокачественной опухоли (включая жидкостной биоптат), взятый перед предварительным лечением антагонистом IAP, и выявление того, что присутствие, уровень экспрессии или установленный показатель оценки маркера, не достигает заданного порогового уровня. Предпочтительным маркером является PD-L1, экспрессируемый на злокачественных клетках и/или иммунных клетках. Другие предпочтительные маркеры включают инфильтрирующие опухоль лимфоциты и/или мутационную нагрузку опухоли.

В конкретном варианте осуществления лечение молекулой против PD-1 является возможным только в случае или рекомендуется только после оценки того, что злокачественная опухоль является иммуногенной в конце периода индукции, т.е. предварительного лечения антагонистом IAP. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль в конце периода индукции может быть оценена как имеющая высокую иммуногенность в соответствии с одним из определений, приведенных в настоящем описании ниже. Оценка, как правило, вовлекает анализ маркера иммуногенности в биологическом образце от пациента, таком как биоптат злокачественной опухоли (включая жидкостную биопсию), взятый после предварительного лечения пациента антагонистом IAP и выявления, что присутствие, уровень экспрессии или установленный показатель оценки маркера превышает заданный пороговый уровень. Предпочтительным маркером является PD-L1, экспрессируемый на злокачественных клетках и/или иммунных клетках. Другие предпочтительные маркеры включают инфильтрирующие опухоль лимфоциты и/или мутационную нагрузку опухоли.

В другом конкретном варианте осуществления в ходе индукционного лечения можно использовать одно или несколько других терапевтических средств против злокачественной опухоли, таких как лучевая терапия, химиотерапия, онколитические вирусы, направленные способы терапии злокачественной опухоли, вакцина против злокачественной опухоли, клеточная терапия и/или антиангиогенная терапия. В ходе периода индукции можно использовать любую дополнительную терапию злокачественной опухоли за исключением терапии молекулой против PD-1. Таким образом, молекулу против PD-1 не вводят в ходе периода индукции.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения злокачественной опухоли индивидуума, включающему предварительное лечение индивидуума антагонистом IAP и последующее лечение индивидуума молекулой против PD-1.

В индукционном периоде для выбранного антагониста IAP используют различные дозы и схемы. Выбранная доза и схема может зависеть от различных факторов, таких как тип злокачественной опухоли, характеристики пациента и другие способы терапии, которые может проходить индивидуум, и она может зависеть от оценки и опыта клинициста. Например, для LCL-161 можно использовать пероральные дозы от 500 до 1800 мг один раз в неделю, включая 500 мг перорально один раз в неделю, 1200 мг перорально один раз в неделю, 1500 мг перорально один раз в неделю, 1800 мг перорально один раз в неделю. Биринапант можно использовать в дозах от 13 до 47 мг/м², например 47 мг/м², в 1, 8 и 15 дни курса из 28 дней (дни 2-7, 9-14 и 16-28 являются выходными днями без Биринанпанта) или 13 мг/м² два раза в неделю в течение 3 недель из 4. Debio 1143 вводят в суточном количестве от приблизительно 100 до приблизительно 1000 мг, предпочтительно от приблизительно 100 до приблизительно 500 мг, наиболее предпочтительно от приблизительно 100 до приблизительно 250 мг, либо каждый день в ходе периода вплоть до

28 дней или курсами, включающими от 5 до 14 последовательных дней введения, за которыми следует от 16 до 5 дней без Debio 1143, такие как 5 последовательных дней введения каждый 21 день, 14 последовательных дней введения каждый 21 день или 7-10 последовательных дней введения каждые 14 дней.

В случаях, когда введение антагониста IAP продолжают в ходе лечения молекулой PD-1, можно использовать тот же или отличающийся антагонист IAP, что и в период индукции, предпочтительно тот же. Предпочтительные примеры антагонистов IAP включают Debio 1143, GDC-917/CUDC-427, LCL161, GDC-0152, TL-32711/Биринапант, HGS-1029/AEG-40826, BI 891065, ASTX-660 и APG-1387. Предпочтительно, антагонист IAP представляет собой миметик SMAC, наиболее предпочтительно Debio 1143. Дозы и схемы также могут быть одинаковыми или могут отличаться от периода индукции в зависимости от оценки и опыта клинициста. Курсы могут быть повторяющимися при условии, что наблюдается клиническая польза в виде отсутствия ухудшения симптомов, отсутствия прогрессирования заболевания, объективно оцениваемого в соответствии с руководствами RECIST/iRECIST, и отсутствия неприемлемой токсичности, или могут длиться до тех пор, пока не возникнет клиническая потребность изменить терапевтический подход.

Молекула против PD-1, вводимая после периода индукции, может представлять собой любую молекулу против PD-1. Конкретные молекулы против PD-1, которые можно использовать, включают Ниволумаб, Пембролизумаб, Атезолизумаб, Дурвалумаб, Авелумаб, PDR001, IBI-308, Цемиплимаб, Камрелизумаб, BGB-A317, BCD-100, JS-001, JNJ-3283, MEDI0680, AGEN-2034, TSR-042, Sym-021, PF-06801591, MGD-013, MGA-012, LZM-009, GLS-010, Генолимзумаб, BI 754091, AK-104, CX-072, WBP3155, SHR-1316, ингибиторную милламолекулу против PD-L1, BMS-936559, M-7824, LY-3300054, KN-035, FAZ-053, SK-301 и CA-170. Предпочтительными молекулами являются антитела против PD-1 или PD-L1. Молекулу антитела против PD-1, выбранную для лечения после периода индукции, вводят в количестве и по схеме дозирования, часто используемым в клинической практике. В конкретном варианте осуществления молекулу против PD-1, вводимую после периода индукции, можно комбинировать с одним или несколькими другими способами терапии злокачественной опухоли, включая, но не ограничиваясь ими, другие способы иммунотерапии (такие как другие ингибиторы иммунной точки контроля, включая, но не ограничиваясь ими, антитела против CTLA4, ингибиторы IDO, клеточную терапию, вакцину против злокачественной опухоли, другие иммуномодуляторы), лучевую терапию, химиотерапию, химиорадиотерапию, онколитические вирусы, антиангиогенную терапию (такую как ингибиторы VEGFR), и/или направленные способы терапии злокачественной опухоли.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения, Debio 1143 используют в период индукции (или в качестве предварительного лечения), а также в ходе последующего лечения молекулой против PD-1. В ходе указанного последующего лечения предпочтительной молекулой против PD-1 является Ниволумаб, Пембролизумаб, Атезолизумаб, Дурвалумаб, Авелумаб, PDR 001 или BI-754091. В особенно предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения Debio 1143 используют для лечения рака головы и шеи, меланомы, рака уротелия, немелкоклеточного рака легкого, опухолей с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI) из неизвестной первичной области, рака почки, рака поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки, множественной миеломы, мелкоклеточного рака легкого, гепатокарциномы или рака яичника, в ходе периода индукции (или в качестве предварительного лечения) в течение 5-28 суток, а также в ходе последующего лечения молекулой против PD-1. В ходе указанного последующего лечения предпочтительной молекулой против PD-1 является Ниволумаб, Пембролизумаб, Атезолизумаб, Дурвалумаб, Авелумаб, PDR 001 или BI-754091.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлен график, демонстрирующий, что лечение посредством Debio 1143 индуцирует деградацию cIAP1 в опухолях у пациентов-людей с раком головы и шеи (n=12 пациенты), в соответствии с примером 1. В статистическом анализе использовали парный t-критерий и значение $P=0,045$.

На фиг. 2 представлен график, демонстрирующий, что лечение посредством Debio 1143, увеличивает количество CD4+ (A) и CD8+ (B) Т-лимфоцитов в опухоли пациентов с раком головы и шеи (n=12 пациентов), в соответствии с примером 1. В статистическом анализе использовали парный t-критерий. Значение P для фиг. 2(A) = 0,511 и значение P для фиг. 2(B) = 0,020.

На фиг. 3 приведен график, показывающий, что Debio 1143 увеличивает количество PD-1+ иммунных клеток (A) и PD-L1+ иммунных (B) и опухолевых (C) клеток в опухоли пациентов с раком головы и шеи (n=12 пациентов), в соответствии с примером 1. В статистическом анализе использовали парный t-критерий. Значение P для фиг. 3(A) = 0,002, значение P для фиг. 3(B) = 0,004 и значение P для фиг. 3(C) = 0,129.

На фиг. 4 представлен график, демонстрирующий, что предварительное лечение Debio 1143 sensibilizes опухоли MC38 к последующему лечению антителом против PD-L1 при определении по среднему объему опухоли. В момент оптимального T/C (сутки 18): $p<0,05$ (*) для предварительного лечения Debio 1143 только против носителей; $p<0,0001$ (**) для предварительного лечения Debio 1143, а затем PD-L1, против носителей; $p<0,0001$ (**) для предварительного лечения Debio 1143, а затем комбинацией, против носителей; при определении с использованием t-критерия Стьюдента (двухсторонний, непарный, равные дисперсии). N=8 мышей на группу, за исключением того, что n=6 для носителей на

18 сутки. Примечание: комбо=Debio 1143+антитело против PD-L1.

На фиг. 5 представлен график, демонстрирующий, что предварительное лечение биринапантом сенсibiliзирует опухоли MC38 к последующему лечению антителом против PD-L1 при определении по срединному объему опухоли. В день оптимального Т/С (сутки 15): $p > 0,05$ для предварительного лечения только биринапантом против носителей; $p < 0,05$ (*) для предварительного лечения биринапантом, а затем PD-L1, против носителей; $p < 0,001$ (**) для предварительного лечения биринапантом, а затем комбинацией, против носителей; при определении с использованием t-критерия Стьюдента (двухсторонний, непарный, равные дисперсии). N=8 мышей на группу. Примечание: комбо=биринапант+антитело против PD-L1.

На фиг. 6 представлен график, демонстрирующий, что предварительное лечение LCL161 сенсibiliзирует опухоли MC38 к последующему лечению антителом против PD-L1 при определении по срединному объему опухоли. В день оптимального Т/С (сутки 15): $p < 0,05$ (*) для предварительного лечения только LCL161 против носителей; $p < 0,05$ (*) для предварительного лечения LCL161, затем PD-L1, против носителей; $p < 0,001$ (**) для предварительного лечения LCL161, затем комбо, против носителей; при определении с использованием t-критерия Стьюдента (двухсторонний, непарный, равные дисперсии). N=8 мышей на группу. Примечание: комбинация=LCL161+антитело против PD-L1.

На фиг. 7 представлен график, показывающий, что предварительное лечение Debio 1143 сенсibiliзирует опухоли CT26 к последующему лечению антителом против PD-1 при определении по срединному объему опухоли. В день оптимального Т/С (сутки 17): $p > 0,05$ для предварительного лечения только Debio 1143 против носителей; $p < 0,05$ (*) для предварительного лечения Debio 1143, затем PD-1 против носителей; $p < 0,0001$ (**) для предварительного лечения 1143, затем комбинацией, против носителей; при определении с использованием t-критерия Стьюдента (двухсторонний, непарный, равные дисперсии). N=8 мышей на группу, за исключением n=7 для носителей на 17 сутки. Примечание: комбинация=Debio 1143+антитело против PD-1.

Подробное описание изобретения

Определения.

Термины "антагонист" и "ингибитор" используют взаимозаменяемо, и они относятся к веществу, которое препятствует или ингибирует физиологическое действие другого. В некоторых вариантах осуществления термины "антагонист" и "ингибитор" имеют то же значение, которое подразумевали специалисты в данной области на момент первой даты приоритета, т.е. на 21 декабря 2017 года, учитывая распространенное общее знание специалистов в данной области на момент первой даты приоритета.

Термин "антитело" относится к молекуле, содержащей по меньшей мере один домен иммуноглобулина, который связывается или является иммунологически реактивным в отношении конкретного антигена. Термин включает целые антитела и любую их антигенсвязывающую часть или отдельные цепи и их комбинации. Термин "антитело", в частности, включает биспецифические антитела.

Типичный тип антитела включает по меньшей мере две тяжелых цепи ("HC") и две легких цепи ("LC"), соединенных дисульфидными связями.

Каждая "тяжелая цепь" содержит "вариабельный домен тяжелой цепи" (сокращенно обозначаемый в настоящем описании как "VH") и "константный домен тяжелой цепи" (сокращенно обозначаемый в настоящем описании как "CH"). Константный домен тяжелой цепи, как правило, содержит три константных домена: CH1, CH2 и CH3.

Каждая "легкая цепь" содержит "вариабельный домен легкой цепи" (сокращенно обозначаемый в настоящем описании как "VL") и "константный домен легкой цепи" ("CL"). Константный домен легкой цепи (CL) может представлять собой константный домен типа каппа или типа лямбда. Домены VH и VL могут быть далее подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями ("CDR"), между которыми находятся области, которые являются более консервативными, называемые "каркасными областями" ("FW").

Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FW, расположенных от N-конца к C-концу в следующем порядке: FW1, CDR1, FW2, CDR2, FW3, CDR3, FW4. В настоящем описании, среди прочего, описаны последовательности VH и VL, а также подпоследовательности, соответствующие CDR1, CDR2 и CDR3.

Таким образом, специалисту в данной области будет понятно, что последовательности FW1, FW2, FW3 и FW4 раскрыты в равной степени. Для конкретной VH, FW1 представляет собой подпоследовательность между N-концом VH и N-концом H-CDR1, FW2 представляет собой подпоследовательность между C-концом H-CDR1 и N-концом H-CDR2, FW3 представляет собой подпоследовательность между C-концом H-CDR2 и N-концом H-CDR3, и FW4 представляет собой подпоследовательность между C-концом H-CDR3 и C-концом VH. Аналогично, для конкретной VL, FW1 представляет собой подпоследовательность между N-концом VL и N-концом L-CDR1, FW2 представляет собой подпоследовательность между C-концом L-CDR1 и N-концом L-CDR2, FW3 представляет собой подпоследовательность между C-концом L-CDR2 и N-концом L-CDR3, и FW4 представляет собой подпоследовательность между C-концом L-CDR3 и C-концом VL.

Вариабельные домены тяжелой и легкой цепей содержат область, которая взаимодействует с анти-

геном, и эту область, взаимодействующую с антигеном, также называют в настоящем описании "антигенсвязывающим центром" или "антигенсвязывающим участком". Константные домены антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами организма-хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Иллюстративные антитела по настоящему изобретению включают типичные антитела, а также их фрагменты и варианты, такие как scFv, и их комбинации, где, например, scFv ковалентно связан (например, через пептидные связи или через химический линкер) с N-концом либо тяжелой цепи и/либо легкой цепи типичного антитела, или встроено в тяжелую цепь и/или легкую цепь типичного антитела. Кроме того, иллюстративные антитела по настоящему изобретению включают биспецифические антитела.

Как используют в рамках изобретения, термин "антитело" охватывает интактные поликлональные антитела, интактные моноклональные антитела, фрагменты антител (такие как Fab-, Fab'-, F(ab')₂- и Fv-фрагменты), одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), стабилизированные дисульфидными связями scFv, мультиспецифические антитела, такие как биспецифические антитела, химерные антитела, гуманизированные антитела, антитела человека, слитые белки, содержащие антиген-определяющую область антитела, и любую другую модифицированную молекулу иммуноглобулина, содержащую антигенсвязывающий центр.

Антитело может относиться к любому из пяти основных классов (изотипов) иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, или их подклассов (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2), исходя из идентичности их константных доменов тяжелой цепи, обозначаемых как альфа, дельта, эпсилон, гамма и мю, соответственно. Различные классы иммуноглобулинов имеют различные и хорошо известные субъединичные структуры и трехмерные конфигурации. Антитела могут быть простыми или могут быть конъюгированы с другими молекулами, такими как терапевтические средства или диагностические средства, с образованием иммуноконъюгатов. В некоторых вариантах осуществления термин "антитело" имеет то же значение, которое подразумевали специалисты в данной области на момент первой даты приоритета, т.е. на 21 декабря 2017 года, учитывая распространенное общее знание специалистов в данной области на момент первой даты приоритета.

Термины "ответ против злокачественной опухоли", "ответ" или "способность отвечать" относятся к объективному радиологическому и клиническому улучшению, оцениваемому с использованием критериев RECIST v1.1 (Eur. J. Cancer 45; 2009: 228-247). RECIST представляет собой свод опубликованных правил, которые объективно определяют, когда у пациента происходит улучшение ("ответ"), сохранение на том же уровне ("стабильный") или ухудшение ("прогрессирование") в ходе лечения. RECIST 1.1 недавно были адаптированы для оценки иммунотерапевтических средств, iRECIST 1.1. (Seymour, L., et al., iRECIST: Guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. Lancet Oncol, 2017. 18(3): p. e143-e152). В рамках настоящего изобретения пациента считают отвечающим на данное лечение, если существует какая-либо клиническая польза для пациента в соответствии с RECIST v1.1, оцениваемая как полный ответ (CR), частичный ответ (PR) или стабильное заболевание (SD) или как наличие увеличенной длительности ответа или стабилизации заболевания при определении по выживаемости без прогрессирования или статуса общей выживаемости.

Термин "молекула против PD-1" относится к ингибиторам PD-1 и ингибиторам PD-L1. Эти ингибиторы включают, но не ограничиваются ими, антитела, нацеленные на PD-1 или PD-L1. Молекула против PD-1 может представлять собой низкомолекулярное соединение, такое как CA-170 (AUPM-170, Curis, Aurigene, описанные, например, в J.J. Lee et al., Journal of Clinical Oncology 35, no. 15_suppl, DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.TPS3099). Дополнительные низкомолекулярные ингибиторы взаимодействия PD-1/PD-L1, которые являются пригодными в рамках настоящего изобретения, описаны в WO 2018/195321 A.

"Злокачественная опухоль", главным образом, относится к злокачественному новообразованию, которое может быть метастазирующим или не метастазирующим. Например, неограничивающие примеры злокачественной опухоли, которая развивается из эпителиальных тканей, таких как желудочно-кишечный тракт и кожа, включают немеланомный рак кожи, рак головы и шеи, рак пищевода, рак легкого, рак желудка, рак двенадцатиперстной кишки, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак шейки матки, рак эндометрия тела матки, рак поджелудочной железы, рак печени, холангиокарциному, рак желчного пузыря, рак ободочной и прямой кишки, рак толстого кишечника, рак мочевого пузыря и рак яичника. Неограничивающие примеры саркомы, которая развивается из неэпителиальных тканей, имеющих мезодермальное происхождение (стромы), таких как мышцы, включают остеосаркому, хондросаркому, рабдомиосаркому, лейомиосаркому, липосаркому, желудочно-кишечные стромальные опухоли (GIST) и ангиосаркому. Неограничивающие примеры опухолей из эктодермы (онтогенез нервного гребня) включают опухоли головного мозга, нейроэндокринные опухоли и т.д. Более того, неограничивающие примеры гематологической злокачественной опухоли, происходящей из гемопоэтических органов, включают злокачественную лимфому, включая лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, лейкоз, включая острый миелоцитарный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз и множественную миелому. Последние из примеров злока-

чественной опухоли также обозначаются в настоящем описании как типы злокачественной опухоли.

Термины "рак" и "опухоль" (в значении злокачественной опухоли) используются в настоящем описании взаимозаменяемо.

Термин "сопутствующая терапия", "сопутствующее лечение" или "солечение" относятся к совпадающему во времени или одновременному введению как антагониста IAP, так и молекулы против PD-1. В некоторых вариантах осуществления "сопутствующая терапия" или "сопутствующее лечение" относится к лечению, где антагонист IAP не вводят в течение достаточного периода времени для повышения иммуногенной эффективности микроокружения опухоли перед введением молекулы против PD-1. В некоторых вариантах осуществления термины "сопутствующее лечение", "солечение" и "сопутствующая терапия" имеют то же значение, которое подразумевали специалисты в данной области на момент первой даты приоритета, т.е. на 21 декабря 2017 года, учитывая распространенное общее знание специалистов в данной области на момент первой даты приоритета.

"Эффективное количество" антагониста IAP или молекулы против PD-1 означает количество соединения, которое будет индуцировать биологический или медицинский ответ против злокачественной опухоли, которого хочет достигнуть клиницист.

Выражение "усиливать иммуногенную эффективность микроокружения опухоли" относится к стимуляции иммунной системы в микроокружении опухоли, которая приводит к усилению иммунного ответа по сравнению с нестимулированной иммунной системой. В случае настоящего изобретения, иммунная система может стимулироваться антагонистом IAP. Стимуляция может повышать иммуногенность злокачественной опухоли, стимуляция может увеличивать количество эффекторных клеток в микроокружении опухоли и/или стимуляция может повышать чувствительность иммунных эффекторных клеток, присутствующих в микроокружении опухоли, в отношении злокачественных клеток. В некоторых вариантах осуществления выражение "усиливать иммуногенность микроокружения опухоли" имеет то же значение, которое подразумевали специалисты в данной области на момент первой даты приоритета, т.е. на 21 декабря 2017 года, учитывая распространенное общее знание специалистов в данной области на момент первой даты приоритета.

Термин "первое введение" молекулы против PD-1, как используют в рамках изобретения, указывает на то, что молекулу против PD-1 вводят пациенту впервые. В некоторых вариантах осуществления пациента никогда ранее не лечили молекулой против PD-1. В некоторых вариантах осуществления пациента лечили молекулой против PD-1, но у пациента возник рецидив или терапия молекулой против PD-1 была неэффективной. В этих вариантах осуществления ранее вводимый уровень молекулы против PD-1 в сыворотке достаточно снижается, например, на 95%, перед началом индукционной терапии по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления время между последним введением ранее вводимой молекулы против PD-1 и началом индукционной терапии по настоящему изобретению соответствует по меньшей мере одному или двум интервалам дозирования (время между повторяющимися введениями), как одобрено регуляторными органами или принято медицинским сообществом. В некоторых вариантах осуществления индивидууму не вводят молекулу против PD-1 в течение по меньшей мере, 1, 2, 3, 4 или даже 6 недель перед началом индукционного периода.

Термины "иммуногенный" и "иммуногенность", как используют в рамках изобретения в отношении микроокружения опухоли, означает обеспечение или достижение иммунного ответа. В некоторых вариантах осуществления иммуногенность оценивают путем определения уровня экспрессии PD-L1, выявляемого посредством иммунного окрашивания злокачественных клеток пациента.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенность оценивают, рассматривая уровень CD8+ клеток в образце злокачественной опухоли в качестве маркера. Эту оценку можно проводить с использованием материалов и способов, описанных в примере 1 ниже.

В некоторых вариантах осуществления образцы злокачественной опухоли можно оценивать и классифицировать как имеющие низкую и высокую иммуногенность, рассматривая вышеупомянутые маркеры в комбинации. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления иммуногенность оценивают, рассматривая комбинацию уровней экспрессии маркера PD-L1 вместе с уровнем CD8+ клеток в образце злокачественной опухоли. Если, в некоторых вариантах осуществления лечение антагонистом IAP в ходе периода индукции повышает уровень экспрессии PD-L1 на злокачественных клетках пациента, например, по меньшей мере на 1, 2, 3 или 4% в значениях доли клеток в образце злокачественной опухоли, демонстрирующей окрашивание на PD-L1 (при любой интенсивности) в иммуногистохимическом анализе с использованием подходящего антитела, например, антитела 22c3 pharmDx (Dako, Inc.), лечение антагонистом IAP считается повышающим иммуногенную эффективность микроокружения опухоли. Аналогично, в некоторых вариантах осуществления повышение иммуногенной эффективности можно идентифицировать путем повышения уровня CD8+ клеток в образце злокачественной опухоли по меньшей мере на 1, 2, 3 или 4%, при определении с использованием материалов и способов согласно примеру 1 ниже.

Антагонист или ингибитор IAP, как используют в рамках изобретения, означает соединение, обладающее аффинностью в отношении ингибитора белков апоптоза (сокращенно обозначаемого как IAP). Соединение представляет собой ингибитор или антагонист IAP. В некоторых вариантах осуществления антагонист IAP демонстрирует характеристику, состоящую в том, что взаимодействие между антаго-

нистом IAP и cIAP1 и/или cIAP2 приводит к деградации этих белков и последующему модулированию NF-κB. В некоторых вариантах осуществления этот эффект можно использовать для тестирования соединения в отношении активности ингибирования IAP: при контактировании потенциального антагониста IAP с cIAP1 и/или cIAP2 *in vitro* и анализе эффекта с использованием подходящего способа, включая, но не ограничиваясь ими, анализ с использованием вестерн-блоттинга, для ингибитора IAP, эффект на cIAP1 должен наблюдаться в концентрациях ниже 10 мкМ, предпочтительно, <1 мкМ. В некоторых вариантах осуществления термин "ингибитор IAP" и "антагонист IAP" имеет то же значение, которое подразумевали специалисты в данной области на момент первой даты приоритета, т.е. на 21 декабря 2017 года, учитывая распространенное общее знание специалистов в данной области на момент первой даты приоритета.

Как правило, термин "индукционная терапия" относится к типу лечения, где лекарственное средство вводят пациенту для индукции ответа у пациента, который усиливает эффективность другого лекарственного средства, которое вводят позднее. В контексте настоящего изобретения индукционная терапия вовлекает "предварительное лечение". "Предварительное лечение" или "индукция" относится к введению антагониста IAP в течение определенного периода времени перед первым введением молекулы против PD-1. Период, в течение которого вводят антагонист IAP, называют "периодом индукции" или "периодом предварительного лечения". Период индукции конкретно не ограничен при условии, что иммуногенная эффективность микроокружения опухоли повышается. В некоторых вариантах осуществления период индукции имеет длительность, выбранную из диапазона 1-48 суток, предпочтительно 1-28 суток, более предпочтительно 5-28 суток. В некоторых вариантах осуществления период индукции является достаточно длинным для повышения иммуногенной эффективности микроокружения опухоли. В некоторых вариантах осуществления эффективность лечения молекулой против PD-1 возрастает по сравнению с сопутствующим лечением без индукционной терапии антагонистом IAP. Затем после периода индукции, т.е. после повышения иммуногенной эффективности микроокружения опухоли, вводят молекулу PD-1. Это приводит к повышению эффективности молекулы против PD-1, поскольку иммунная система подготовлена антагонистом IAP. В некоторых вариантах осуществления термины "индукционная терапия", "предварительное лечение", "индукция", "период индукции" и "период предварительного лечения" имеют то же значение, которое подразумевали специалисты в данной области на момент первой даты приоритета, т.е. на 21 декабря 2017 года, учитывая распространенное общее знание специалистов в данной области на момент первой даты приоритета.

"Миметик SMAC" означает низкомолекулярный ингибитор для терапевтического ингибирования IAP, причем этот низкомолекулярный ингибитор имитирует N-концевой участок из четырех аминокислот эндогенной последовательности SMAC и по меньшей мере частично состоит из непептидных элементов. N-концевая последовательность эндогенного SMAC представляет собой Ala-Val-Pro-Ile (AVPI) и требуется для связывания с IAP.

Термин "индивидуум" относится к млекопитающему и, предпочтительно, к человеку. Человека также называют "пациентом".

Индукционная терапия.

Авторы изобретения предположили, что пациента, имеющего опухоль, можно предварительно лечить антагонистом IAP, таким как миметик SMAC, для повышения иммуногенности микроокружения опухоли пациента. Затем пациента лечат молекулой, направленной против PD-1. Предварительное лечение увеличивает вероятность того, что опухоль пациента будет отвечать на лечение молекулой против PD-1 и/или будет повышать эффективность ответа опухоли на молекулу против PD-1. Антагонист IAP можно выбирать из антагонистов, которые уже (на 21 декабря 2017 года) одобрены или которые в настоящее время проходят клиническую разработку, в частности, среди следующих: Debio 1143 (Debiopharm, CAS RN: 1071992-99-8), GDC-917/CUDC-427 (Curis/Genentech, CAS RN: 1446182-94-0), LCL161 (Novartis, CAS RN: 1005342-46-0), GDC-0152 (Genentech, CAS RN: 873652-48-3), TL-32711/Биринанпант (Medivir, CAS RN: 1260251-31-7), HGS-1029/AEG-408268 (Aegera, CAS RN: 1107664-44-7), BI 891065 (Boehringer Ingelheim), ASTX-660 (Astex/Otsuka, CAS RN: 1605584-14-2), APG-1387 (Ascentage, CAS RN: 1802293-83-9), или любые из их фармацевтически приемлемых солей. Предпочтительно, антагонист IAP представляет собой миметик SMAC, причем наиболее предпочтительным является Debio 1143.

Предварительное лечение антагонистом IAP можно проводить при обнаружении, что микроокружение опухоли пациента является слабоиммуногенным. Иммуногенность можно оценивать в биологическом образце пациента, таком как биоптат опухоли (включая жидкостной биоптат), взятый перед предварительным лечением. Критерии иммуногенности, которые можно использовать, включают уровень PD-L1, экспрессируемого в злокачественных клетках или во всех клетках присутствующих в биоптате злокачественной опухоли. Также они могут представлять собой процент опухолевых клеток и/или иммунных клеток, экспрессирующих поддающиеся обнаружению количества PD-L1. Пороговое значение для иммуногенности может определяться медицинским сообществом, производителем/распространителем молекулы против PD-1, подлежащей применению для анализа, или лечащим врачом. Например, пороговый уровень для лечения Пембролизумабом определяется производителем (Merck) как более 50% клеток злокачественной опухоли, окрашивающихся на PD-L1 (при любой интенсивности) в иммуногистохими-

ческом анализе с использованием антитела 22c3 pharmDx (Dako, Inc.) для терапии первой линии и более 1% клеток, окрашивающихся на PD-L1, для терапии второй линии. Таким образом, в этом примере пациенты со злокачественными опухолями, имеющими более низкие частоты клеток, экспрессирующих PD-L1, могут считаться пригодными для предварительного лечения антагонистом IAP. В некоторых вариантах осуществления предварительное лечение антагонистом IAP можно проводить до тех пор, пока частота экспрессирующих PD-L1 клеток и/или CD8+ клеток не превысит вышеупомянутые пороговые уровни для высокой иммуногенности. Дополнительные критерии могут включать процент лимфоцитов, или CD8+ Т-клеток, или CD4+ Т-клеток, присутствующих в исходном биоптате или образце. Другие подходящие критерии иммуногенности могут получить признание медицинским сообществом (например, количество/процент дендритных клеток, соотношение CD8+ Т-клеток и регуляторных Т-клеток, мутационная нагрузка опухоли и т.д.). Пригодность также можно оценивать, исходя из множества критериев.

Без связи с теорией, полагают, что повышение экспрессии маркера PD-L1 на злокачественных клетках после периода индукции является признаком того, что иммуногенная эффективность микроокружения опухоли повысилась. Это является следствием того, что иммуногенная эффективность должна быть ассоциирована с увеличением потребности у злокачественных клеток в ускользании от иммунной системы, чтобы выжить. Полагают, что сверхэкспрессия PD-L1 является механизмом, посредством которого злокачественная клетка может скрываться от иммунной системы. Таким образом, увеличенный уровень экспрессии PD-L1 является признаком того, что опухолевая клетка противостоит иммунной системе в микроокружении опухоли.

Также способ может быть адаптирован для выбора пациентов для лечения молекулой против PD-1, исходя из иммуногенности их микроокружения опухоли в конце предварительного лечения антагонистом IAP. Иммуногенность можно оценивать в биологическом образце пациента, таком как биоптат опухоли (включая жидкостной биоптат), взятый после окончания предварительного лечения. Критерии оценки иммуногенности и определения пороговых значения могут быть сходными с критериями, которые описаны в предыдущем разделе. Пациентов со злокачественными опухолями, для которых выбранный маркер иммуногенности превышает заданное пороговое значение, можно выбирать для лечения молекулой против PD-1.

Способы оценки иммуногенности в биоптатах злокачественных опухолей.

В принципе, можно использовать любой подходящий способ. Наиболее часто используемыми являются методики на основе иммуногистохимии и проточной цитометрии.

Иммуногистохимия: Иммуногистохимия (ИНС) представляет собой способ, способный продемонстрировать присутствие и положение белков в срезах тканей. Он позволяет наблюдение процессов в контексте интактной ткани. Основные стадии протокола ИНС являются следующими: фиксация и заливка ткани, нарезание на срезы и заливка среза, депарафинизация и регидратация среза, применение процесса демаскировки антигена, иммуногистохимическое окрашивание и изучение окрашивания под микроскопом. В иллюстративном протоколе иммунное окрашивание проводили на 4-мкм залитых парафином срезах тканей. В кратком изложении, предметные стекла депарафинизировали в ксилоле и дегидратировали с использованием серии ступенчатых разведений этанола, и эндогенную пероксидазу блокировали 3% пероксидом водорода. После демаскировки эпитопов предметные стекла промывали и блокировали TRIS-буферным солевым раствором с 0,1% (об.) Tween 20/5% (об.) нормальной сывороткой козы. Инкубацию с первичным антителом проводили в течение ночи при 4°C с последующей инкубацией с вторичным антителом в течение 30 мин при комнатной температуре. Срезы промывали три раза TRIS-буферным солевым раствором с 0,1% (об.) Tween 20, окрашивали диаминобензидином (DAB) и контрастно окрашивали гематоксилином. Guancial et al. (2014); Redler, A. et al. (2013) PLoS One. 8: e72224. Методики можно проводить вручную, или они могут быть частично или полностью автоматизированными. Конкретный способ ИНС также описан в разделе примеров ниже.

Проточная цитометрия: Проточная цитометрия представляет собой биофизическую технологию на лазерной основе, используемую для подсчета клеток, детекции биомаркеров и инженерии белков, вовлекающую суспендирование клеток в потоке жидкости и пропускание их через электронное устройство для детекции. Она позволяет одновременный мультипараметрический анализ физических и химических характеристик вплоть до тысяч частиц в секунду. С использованием антитела, специфичного к белку, проточная цитометрия может предоставить информацию, касающуюся экспрессии маркеров клеточной поверхности и, в некоторых случаях, цитоплазматических или ядерных маркеров, которую используют для понимания комплексных клеточных популяций или процессов. Yan, D. et al. (2011) Arthritis Res. Ther. 13: R130.

Фармацевтические композиции, содержащие антагонист IAP, и их введение.

Фармацевтические композиции, содержащие антагонист IAP, можно вводить перорально, парентерально, посредством ингаляционного спрея, местным путем, ректально, назальным путем, буккальным путем, вагинально или через имплантируемый резервуар, предпочтительно посредством перорального введения или инъекционного введения. Однако следует отметить, что димерные миметики SMAC, как правило, вводят внутривенным путем. Фармацевтические композиции могут содержать любые общепринятые нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или наполнители. В некоторых

случаях, рН состава можно корректировать с использованием фармацевтически приемлемых кислот, оснований или буферов для повышения стабильности активного вещества или его доставляемой формы. Стандартные фармацевтические носители и их составы описаны неограничивающим образом в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 19th ed. 1995. Термин "парентеральный", как используют в рамках изобретения, включает подкожный, внутрикожный, внутривенный, внутримышечный, внутрисуставной, внутриартериальный, интрасиновиальный, внутригрудинный, интратекальный, проводимый внутрь очага повреждения и или внутрочерепной способ инъекции или инфузии.

Жидкие дозированные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к активному веществу (антагонист IAP, такой как миметик SMAC), жидкие дозированные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области, такие как, например, вода или другие эмульгаторы, солюбилизаторы и растворители, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, из зародышей, оливковое, касторовое и кунжутное масло), глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбитана, и их смеси. Помимо инертных разбавителей пероральные композиции также могут включать адъюванты, такие как смачивающие вещества, эмульгаторы и суспендирующие вещества, подсластители, вкусовые добавки и отдушки.

Инъекционные препараты, например, стерильные инъекционные водные или масляные суспензии, можно составлять способами, известными в данной области, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих веществ и суспендирующих веществ. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор, суспензию или эмульсию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе, например, в качестве раствора в 1,3-бутандиоле. Среди приемлемых носителей и растворителей, которые можно использовать, находятся вода, раствор Рингера, U.S.P. и изотонический раствор хлорида натрия и раствор декстрозы. Кроме того, традиционно в качестве растворителя или суспендирующей среды используют стерильные жирные масла. Для этой цели можно использовать любое легкое жирное масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, для получения инъекционных препаратов используют жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

Инъекционные составы можно стерилизовать, например, посредством фильтрации через задерживающий бактерии фильтр, ионизирующего излучения или путем включения активного вещества в форме стерильной твердой композиции, которая может быть растворена или диспергирована в стерильной воде или другой стерильной инъекционной среде перед применением. В зависимости от химической природы конкретного используемого антагониста IAP, стерилизацию также можно проводить посредством автоклавирования или сухого жара.

Для пролонгирования эффекта активного вещества, часто является желательным замедление всасывания активного вещества после подкожной или внутримышечной инъекции. Этого можно достигать с использованием жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала с низкой растворимостью в воде. Затем скорость всасывания активного вещества зависит от скорости его растворения, которая в свою очередь может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. Альтернативно замедленного всасывания парентерально вводимой лекарственной формы достигают путем растворения или суспендирования активного вещества в масляном носителе. Инъекционные депо-формы получают путем инкапсулирования активного вещества в биodeградируемые полимеры, такие как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения активного вещества и полимера и природы конкретного используемого полимера можно контролировать скорость высвобождения активного вещества. Примеры других биodeградируемых полимеров включают сложные поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды). Инъекционные депо-составы получают путем заключения активного вещества в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканями организма.

Твердые дозированные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых дозированных формах активное вещество смешано по меньшей мере с одним инертным фармацевтически приемлемым эксципиентом или носителем, таким как цитрат натрия или дикальций фосфат и/или: а) наполнителями или сухими разбавителями, такими как крахмалы, лактоза, целлюлоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота, б) связующими веществами, такими как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и гуммиарабик, в) увлажнителями, такими как глицерин, д) дезинтегрирующими веществами, такими как агар-агар, карбонат кальция, кроскармеллоза, кросповидон, карбоксиметилцеллюлоза, картофельный или маниоковый крахмал, альгиновая кислота, определенные силикаты и карбонат натрия, е) замедляющими растворение веществами, такими как парафин, ф) ускоряющими всасывание веществами, такими как четвертичные соединения аммония, г) смачивающими веществами, такими как, например, цетиловый спирт, лаурилсульфат натрия и глицерин моностеарат, h) поглотителями, такими как каолин и бентонитовая глина, и/или i) смазывающими веществами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси. В случае капсул, таблеток и пилюль, дозирован-

ная форма также может содержать буферные средства.

Твердые композиции сходного типа также можно использовать в качестве наполнителей в мягких и твердых заполненных желатиновых капсулах с использованием таких эксципиентов, как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и т.п.

Твердые дозированные формы в виде таблеток, драже, капсул, пилюль и гранул можно получать с покрытиями и оболочками, такими как кишечнорастворимые покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области составления фармацевтических препаратов. Они необязательно могут содержать замутнители и также могут иметь такую композицию, что они высвобождают активное вещество только или предпочтительно в определенной части кишечника, необязательно, замедленным образом. Примеры композиций для заключения в оболочки, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски.

Количество активного вещества, которое можно комбинировать с фармацевтически приемлемыми эксципиентами или носителями для получения единичной дозированной формы, варьируется в зависимости от конкретного выбранного антагониста IAP, конкретного способа введения и, возможно, подвергнутого лечению индивидуума. Типичный препарат может содержать от 1% до 95% активного вещества (масс/масс). Альтернативно такие препараты могут содержать от 20% до 80% активного вещества. Могут потребоваться более низкие или более высокие дозы, чем дозы, указанные выше. Конкретная дозировка и способы лечения для любого конкретного индивидуума зависят от различных факторов, включая возраст, массу тела, площадь поверхности тела, общее состояние здоровья, пол, режим питания, время введения, скорость выведения, антагонист IAP, комбинацию лекарственных средств, тяжесть и течение заболевания, состояние или симптомы, предрасположенность индивидуума к заболеванию, состояние или симптомы, и мнение лечащего врача.

Фармацевтические композиции, содержащие молекулу антитела против PD-1, и их введение.

Молекулы против PD-1, как правило, вводят посредством внутривенной инфузии.

Ниволумаб распространяют под торговым наименованием "OPDIVO". Он имеет форму раствора 10 мг/мл, который содержит антителом Ниволумаб, маннит, диэтилтриамин-пентауксусную кислоту, полисорбат 80, хлорид натрия, дигидрат цитрата натрия и воду. Для введения его разбавляют в 0,9% растворе хлорида натрия или 5% растворе декстрозы. Пембролизумаб продают под торговым наименованием "KEYTRUDA". Его доставляют в качестве твердой композиции, содержащей 50 мг антитела и неактивные ингредиенты L-гистидин, полисорбат-80 и сахароза. Для введения композицию суспендируют в 0,9% растворе хлорида натрия. Атезолизумаб (торговое наименование: "TECENTRIQ") предоставляют в качестве в/в раствора (1200 мг активного вещества/20 мл), содержащего ледяную уксусную кислоту, гистидин, сахарозу и полисорбат 20. Для введения раствор разбавляют 0,9% NaCl. Дурвалумаб ("IMFINZI") имеет форму растворов 500 мг/10 мл или 120 мг/2,4 мл в L-гистидине, моногидрате гидрохлорида L-гистидина, дигидрате а,а-трегалозы, полисорбате 80 и воде для инъекций, USP. Авелумаб ("BAVENCIO") выпускают в продажу в качестве раствора 200 мг (активное вещество)/10 мл для инъекций, который содержит маннит, уксусную кислоту, полисорбат 20, гидроксид натрия и воду. После разбавления в 0,45% или 0,9% NaCl, подходящую дозу вводят посредством инфузии в течение 60 мин.

Подходящие дозы ингибиторов иммунной точки контроля представляют собой дозы, используемые в клинике. Подходящая доза Ниволумаба составляет 3 мг/кг массы тела. Эту дозу вводят посредством внутривенной инфузии в течение 60 мин. Подходящая доза Пембролизумаба составляет 2 мг/кг массы тела. Эту дозу вводят посредством внутривенной инфузии в течение 30 мин. Доза Атезолизумаба для взрослых составляет 1200 мг, инфузируемые в течение 60 мин. Рекомендованная доза для Дурвалумаба составляет 10 мг/кг массы тела, вводимые посредством внутривенной инфузии в течение 60 мин. Подходящая доза для Авелумаба составляет 10 мг/кг массы тела. Эти дозы можно адаптировать параллельно с адаптациями, принятыми в клинической практике. Дозирование Ниволумаба, как правило, повторяют каждые две недели, Пембролизумаба - каждые три недели, Атезолизумаба - каждые три недели, Дурвалумаба - каждые две недели и Авелумаба - каждые две недели.

Дозировки и схемы (включая интервалы между введениями) введения молекул против PD-1 являются такими, как одобрено регламентирующими органами. Также для терапии, описанной в настоящем описании, применима любая модификация доз и схем, принятая медицинским сообществом.

В одном аспекте настоящее изобретение включает положения, приведенные ниже. Эти положения можно комбинировать с любым из описанных выше аспектов или вариантов осуществления.

1. Антагонист IAP для предварительного лечения человека со злокачественной опухолью для повышения вероятности того, что последующее лечение молекулой против PD-1 приведет к ответу против злокачественной опухоли или к усилению способности злокачественной опухоли индивидуума отвечать на лечение молекулой против PD-1.

2. Антагонист IAP согласно положению 1, где человека предварительно лечат антагонистом IAP в ходе периода предварительного лечения от 1 до 28 дней, предпочтительно от 5 до 28 дней, причем после указанного предварительного лечения следует начала указанного последующего лечения молекулой против PD-1.

3. Антагонист IAP согласно положению 2, где указанный период предварительного лечения вклю-

чает один или несколько дней без введения антагониста IAP.

4. Антагонист IAP согласно любому из предшествующих положений, где указанный антагонист IAP или отличающийся антагонист IAP также вводят в ходе указанного последующего лечения молекулой против PD-1.

5. Антагонист IAP согласно положению 4, где введение указанного антагониста IAP продолжается в ходе всего периода указанного последующего лечения молекулой против PD-1, или завершается перед завершением указанного последующего лечения молекулой против PD-1, или продолжается после завершения указанного последующего лечения молекулой против PD-1.

6. Антагонист IAP согласно любому из предшествующих положений, где указанная злокачественная опухоль относится к типу, о котором известно, что он отвечает на лечение молекулой против PD-1 у значительной части подвергаемых лечению пациентов.

7. Антагонист IAP согласно положению 6, где указанная злокачественная опухоль представляет собой рак головы и шеи, меланому, рак уротелия, мелкоклеточный рак легкого, опухоли с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI) из неизвестной первичной области или рак почки.

8. Антагонист IAP согласно любому из положений 1-5, где указанная злокачественная опухоль относится к типу, для которого показано, что низкий процент пациентов (например, 5% или менее) отвечают на лечение молекулой против PD-1.

9. Антагонист IAP согласно положению 8, где указанная злокачественная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки, множественную миелому, мелкоклеточный рак легкого, гепатокарциному или рак яичника.

10. Антагонист IAP согласно любому из предшествующих положений, где указанное предварительное лечение возможно только в случае оценки того, что злокачественная опухоль является слабо иммуногенной.

11. Антагонист IAP согласно положению 10, где указанная оценка состоит из анализа маркера иммуногенности в биологическом образце пациента, взятом перед предварительным лечением, и обнаружения того, что присутствие, уровень экспрессии или установленный показатель оценки маркера не соответствует заданному пороговому значению.

12. Антагонист IAP согласно положению 11, где указанный маркер представляет собой PD-L1, экспрессируемый на злокачественных клетках и/или иммунных клетках.

13. Антагонист IAP согласно положениям 11, где указанный маркер представляет собой инфильтрирующие опухоль лимфоциты или мутационную нагрузку опухоли.

14. Антагонист IAP согласно любому из предшествующих положений, где начало указанного последующего лечения молекулой против PD-1 возможно только в случае оценки того, что злокачественная опухоль является иммуногенной, в конце предварительного лечения.

15. Антагонист IAP согласно положению 14, где указанная оценка состоит в анализе маркера иммуногенности в биологическом образце пациента, взятом после предварительного лечения ингибитором IAP и обнаружения того, что присутствие, уровень экспрессии или установленный показатель оценки маркера превышает заданное пороговое значение.

16. Антагонист IAP согласно положению 15, где указанный маркер представляет собой PD-L1, экспрессируемый на злокачественных клетках и/или иммунных клетках.

17. Антагонист IAP согласно положению 15, где указанный маркер представляет собой инфильтрирующие опухоль лимфоциты или мутационную нагрузку опухоли.

18. Антагонист IAP согласно любому из положений 11-13 и 15-17, где указанный биологический образец пациента представляет собой биоптат опухоли или жидкостной биоптат.

19. Антагонист IAP согласно любому из предшествующих положений, где указанная молекула против PD-1 представляет собой Ниволумаб, Пембролизумаб, Атезолизумаб, Дурвалумаб, Авелумаб, PDR001, IBI-308, Цемиплимаб, Камрелизумаб, BGB-A317, BCD-100, JS-001, JNJ-3283, MEDI0680, AGEN-2034, TSR-042, Sym-021, PF-06801591, MGD-013, MGA-012, LZM-009, GLS-010, Генолимзумаб, BI 754091, AK-104, CX-072, WBP3155, SHR-1316, ингибиторную миламолекулу против PD-L1, BMS-936559, M-7824, LY-3300054, KN-035, FAZ-053, CK-301 или CA-170.

20. Антагонист IAP согласно положению 19, где молекула против PD-1 представляет собой Ниволумаб, Пембролизумаб, Атезолизумаб, Дурвалумаб, Авелумаб, PDR001 или BI 754091.

21. Антагонист IAP согласно любому из положений 1-19, где указанная молекула против PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или PD-L1.

22. Антагонист IAP согласно любому из предшествующих положений, где указанное последующее лечение посредством молекулы против PD-1 комбинировано с одним или несколькими другими способами терапии злокачественной опухоли, включая другую иммунотерапию, лучевую терапию, химиотерапию, химиорадикотерапию, онколитические вирусы, антиангиогенные способы терапии, направленные способы терапии злокачественной опухоли.

23. Антагонист IAP согласно любому из предшествующих положений, где один или несколько других способов терапии злокачественной опухоли используют в ходе указанного периода предварительного лечения, за исключением лечения молекулой против PD-1.

24. Антагонист IAP согласно любому из предшествующих положений, где указанный антагонист IAP представляет собой Debio 1143, GDC-917/CUDC-427, LCL161, GDC-0152, TL-32711/Биринпант, HGS-1029/AEG-40826, BI 891065, ASTX-660 или APG-1387.

25. Антагонист IAP согласно положению 24, где указанный антагонист IAP представляет собой миметик SMAC.

26. Антагонист IAP согласно положению 25, где указанный антагонист IAP представляет собой Debio 1143.

Примеры

Пример 1: Исследование предоперационного окна возможностей для Debio 1143 с цисплатином или без него (CDDP) у пациентов с резектабельной плоскоклеточной карциномой головы и шеи (EUDRACT 2014-004655-31).

Для этого клинического испытания Debio 1143 использовали в форме его свободного основания, и составляли с крахмалом, и заполняли им твердые желатиновые капсулы.

Основной задачей этого клинического испытания было исследование фармакодинамической активности Debio 1143, отдельно или в комбинации с цисплатином, у пациентов с плоскоклеточной карциномой головы и шеи. Среди многочисленных вторичных задач также исследовали потенциальные эффекты на иммунную передачу сигнала.

В исследование были включены взрослые пациенты с вновь диагностированной гистологически доказанной плоскоклеточной карциномой полости рта, ротоглотки, гортаноглотки или гортани. В ходе скринингового периода, составившего две недели (сутки с -14 по -1), проводили взятие и анализ биоптата опухоли. Лечение проводили с 1 суток по 15 сутки (± 2 суток) и состояло (в одной группе) из ежедневного п/о введения 200 мг Debio 1143. В конце этого периода лечения проводили взятие и анализ второго биоптата опухоли, и пациентам проводили хирургическую операцию.

Биоптаты анализировали иммуногистохимическими способами. Окрашивание cIAP1 проводили с использованием устройства для автоматического окрашивания Dako (Agilent). mAb мыши EPR4673 (Abcam) использовали в разведении 1/100, и срезы тканей подвергали воздействию антитела в течение 20 мин. Предварительную обработку предметных стекол проводили с использованием раствора для демаскировки EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH; для визуализации сигнала использовали систему EnVision FLEX (хромоген: DAB). Система EnVision Flex и реагент были от Agilent. Тот же протокол применяли для окрашивания на PD-L1. mAb кролика E1L3N (Cell Signaling Technology) использовали в разведении 1/500.

T-клетки идентифицировали с использованием mAb кролика против CD3 2GV6 от Ventana Roche (предоставленного в качестве готового для применения раствора). Предметные стекла обрабатывали на автоматическом устройстве Ventana Benchmark Ultra. Воздействие антитела проводили в течение 20 мин. Предварительную обработку предметных стекол (64 мин) проводили с использованием раствора для кондиционирования клеток CC1 (Ventana); систему Optiview (Ventana) (хромоген: DAB) использовали для визуализации сигнала. Окрашивание CD8 и CD4 T-клеток проводили с использованием того же протокола. Антитело против CD8 представляло собой mAb кролика SP57, и антитело против CD4 представляло собой mAb кролика SP35. Оба антитела были от Ventana Roche и были предоставлены в качестве готовых для применения растворов. Антитело, выбранное для детекции PD-1, представляло собой mAb мыши NAT105, которое также было предоставлено в качестве готового для применения раствора (Cell Marque). Протокол для детекции PD-1 был таким же, который использовали для окрашивания CD3, за исключением того, что время воздействия антитела и предварительной обработки в каждом случае составляло 16 мин.

Описаны данные, полученные для 12 подвергаемых оценке пациентов. Как можно видеть на фиг. 1, лечение посредством Debio 1143 снижало уровни cIAP1 в опухолях большинства пациентов (значение $p < 0,045$ с использованием парного t-критерия), демонстрируя, что была достигнута эффективная концентрация в опухоли миметика SMAC. Лечение также приводило к значительному повышению уровня инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, на что указывали данные о том, что количества CD4+ и CD8+ T-клеток в микроокружении опухоли было повышено вследствие лечения (фиг. 2). Статистический анализ данных показал, что возрастали средние количества как CD8+, так и CD4+ T-клеток, причем повышение количества CD8+ T-клеток было значимым (значение $p < 0,020$ при использовании парного t-критерия) (фиг. 2(B)). Проценты иммунных клеток, экспрессирующих PD-1 или PD-L1, значимо возрастали в подвергнутых лечению опухолях (фиг. 3(A), значение $p < 0,002$ и (B), значение $p < 0,004$). В большинстве опухолей также возрастала частота PD-L1-экспрессирующих клеток (фиг. 3(C)). В целом, данные дают веское основание полагать, что лечение посредством Debio 1143 повышает иммуногенность микроокружения опухоли у пациентов-людей.

Пример 2: Исследования на животных с использованием ингибитора IAP Debio 1143.

Пяти группам ($n=8$) взрослых самок мышей C57BL/6J (полученных от Shanghai Lingchang Biotechnology Co.) инокулировали в нижнюю область правого бока 1×10^6 клеток сингенной клеточной линии карциномы толстого кишечника MC38. Когда средний размер опухоли достигал приблизительно

50 мм³ (1 сутки), животным проводили предварительное лечение, состоящее либо из п/о миметика SMAC Debio 1143 (Debiopharm) в дозе 100 мг/кг, либо из носителя, как указано в табл. 1. Дозирование повторяли каждые сутки в течение 7 суток (сутки 1-7). В последующий день (сутки 8), животным в группе, в которой вводили носитель, и в группе, в которой проводили предварительное лечение Debio 1143, в/б вводили 10 мг/кг контрольного антитела rIgG2b (клон: LTF-2, BioXcell). Контрольное антитело вводили два раза в неделю до конца исследования. В другой выборке из двух групп (животные, которым предварительно вводили носитель и Debio 1143), в/б вводили 10 мг/кг антитела против PD-L1 (суррогатное антитело мыши против PD-L1 мыши, клон: 10F.9G2, BioXcell). Введение повторяли два раза еженедельно, как и для контрольного антитела. В последней группе животных, которых предварительно лечили посредством Debio 1143, вводили как антитело против PD-L1, а также продолжали ежедневно вводить Debio 1143. Объемы опухоли и массу тела оценивали три раза в неделю. Размер опухоли определяли в двух измерениях с использованием толщиномера и объем выражали в мм³ с использованием формулы: $V=0,5 \times a \times b^2$, где а и b представляют собой длинный и короткий диаметры опухоли, соответственно.

Результаты эксперимента представлены на фиг. 4. Предварительное лечение посредством Debio 1143 отдельно (т.е. с последующим введением контрольного антитела) имело умеренный эффект против злокачественной опухоли (группа 2). Лечение антителом против PD-L1 в отсутствие предварительного лечения посредством Debio 1143 по существу не замедляло рост опухоли (группа 3). Комбинация предварительного лечения посредством Debio 1143, за которым следовало лечение антителом против PD-L1 имело выраженный противораковый эффект (группа 4). Продолжение лечения посредством Debio 1143 в ходе периода лечения, как оказалось, обеспечило небольшую дополнительную пользу (группа 5).

Таблица 1

Схема эксперимента

Группа	n	Лечение							
		Стадия 1 (когда средний TV ~50 мм ³ , дозирование с 1 суток по 7 сутки)				Стадия 2 (от 8 суток до окончания исследования)			
		Изделия	Доза (мг/кг)	Путь дозирования	Схема	Изделия	Доза (мг/кг)	Путь дозирования	Схема
1	8	Носитель от Debio1143	-	п/о	QD	rIgG2b	10	в/б	BIW x 3 недели
2	8	Debio1143	100	п/о	QD	rIgG2b	10	в/б	BIW x 3 недели
3	8	Носитель от Debio1143	-	п/о	QD	Антитело против PD-L1	10	в/б	BIW x 3 недели
4	8	Debio1143	100	п/о	QD	Антитело против PD-L1	10	в/б	BIW x 3 недели
5	8	Debio1143	100	п/о	QD	Антитело против PD-L1	10	в/б	BIW x 3 недели
						Debio1143	100	п/о	QD x 21 сутки

п/о: перорально; в/б: внутривенно; QD: ежедневно; BIW: два раза в неделю.

Эти исследования на животных обеспечивают прямое доказательство эффективности предварительного лечения антагонистом IAP для повышения вероятности и/или величины противоопухолевого ответа на последующее лечение молекулой против PD-L1.

Пример 3: Предварительное лечение ингибиторами IAP биринапантом и LCL161 повышает эффективность против PD-L1 в модели MC38.

72 взрослым самкам мышей C57BL/6J (полученным от Shanghai Lingchang Bio-Technology Co.) инокулировали подкожно в нижнюю область правого бока 1×10^6 клеток сингенной клеточной линии карциномы толстого кишечника MC-38 в 0,1 мл PBS. Объемы опухолей измеряли три раза в неделю в двух измерениях с использованием толщиномера, и объем выражали в мм³ с использованием формулы: $V = (L \times W \times W)/2$, где V представляет собой объем опухоли, L представляет собой длину опухоли (наиболее длинный размер опухоли) и W представляет собой ширину опухоли (наиболее длинный размер опухоли, перпендикулярный L). Всех животных случайным образом распределяли на 9 различных исследуемых групп со средним размером опухоли 52 мм³ на основе способа рандомизации "распределение с подбором" (программное обеспечение StudyDirector™, версия 3.1.399.19) и начинали лечение (обозначаемое как сутки 1). Дозирование, а также измерение опухоли и массы тела проводили в шкафу с ламинарным потоком воздуха.

На 1 сутки части животных проводили либо предварительное лечение в течение 1 недели, состоящее в в/в введении миметика SMAC биринапанта в дозе 30 мг/кг, или его носителя, по схеме два раза в неделю, как указано в табл. 2. Другой части животных проводили либо предварительное лечение в течение 1 недели, состоящее из п/о введения миметика SMAC LCL161 в дозе 75 мг/кг, или его носителя, по

схеме два раза в неделю, как указано в табл. 2.

На 8 сутки животных, которым предварительно вводили носитель или миметик SMAC, далее лечили до окончания исследования либо в/б введением два раза в неделю 10 мг/кг контрольного антитела rIgG2b (клон: LTF-2, BioXcell), либо в/б введением два раза в неделю 10 мг/кг антитела против PD-L1 (заместительное антитело мыши, антитело против PD-L1 мыши, клон: 10F.9G2, BioXcell). В 1 группе животных, в которой проводили предварительное лечение биринапантом в течение 1 недели, и в 1 группе животных, в которой проводили предварительное лечение LCL161 в течение 1 недели, в каждом случае продолжали введение соответствующего миметика SMAC в ходе периода лечения антителом против PD-L1 до конца испытания.

Результаты эксперимента представлены на фиг. 5 для биринапанта, и на фиг. 6 для LCL161.

Предварительное лечение биринапантом отдельно (т.е. с последующим введением контрольного антитела) имело умеренный противораковый эффект (группа 2). Лечение антителом против PD-L1 в отсуствии предварительного лечения биринапантом по существу не замедляло рост опухоли (группа 3). Комбинация предварительного лечения биринапантом, за которым следовало лечение антителом PD-L1 имело значительный эффект, направленный против злокачественной опухоли (группа 4). Оказалось, что продолжение лечения биринапантом в ходе периода лечения обеспечивает небольшую дополнительную пользу (группа 5).

Предварительное лечение посредством LCL161 отдельно (т.е. с последующим введением контрольного антитела) имело умеренный эффект против злокачественной опухоли (группа 7). Оказалось, что комбинация предварительного лечения LCL161 с последующим лечением антителом против PD-L1 обеспечила небольшую дополнительную пользу для предварительного лечения LCL161 отдельно (группа 8), в то время как продолжение лечения LCL161 в ходе периода лечения обеспечило значительную дополнительную пользу (группа 9).

Эти испытания на животных обеспечивают прямое доказательство эффективности предварительного лечения любым антагонистом IAP для повышения вероятности и/или величины противоопухолевого ответа на последующее лечение молекулой против PD-L1.

Таблица 2

Схема эксперимента

Группа	N	Лечение							
		Стадия 1 (когда средний TV ~50 мм3, начало дозирования с 1 по 7 сутки, одна неделя)				Стадия 2 (от 8 суток до окончания исследования)			
		Изделия	Доза (мг/кг)	Путь дозирования	Схема	Изделия	Доза (мг/кг)	Путь дозирования	Схема
1	8	Носитель биринапанта	-	в/б	BIW	rIgG2b	10	в/б	BIW×3 недели
2	8	Биринанпант	30	в/б	BIW	rIgG2b	10	в/б	BIW×3 недели
3	8	Носитель биринапанта	-	в/б	BIW	Антитело против PD-L1	10	в/б	BIW×3 недели
4	8	Биринанпант	30	в/б	BIW	Антитело против PD-L1	10	в/б	BIW×3 недели
5	8	Биринанпант	30	в/б	BIW	Антитело против PD-L1	10	в/б	BIW×3 недели
						Биринанпант	30	в/б	BIW×3 недели
6	8	Носитель LCL161	-	п/о	BIW	rIgG2b	10	в/б	BIW×3 недели
7	8	LCL161	75	п/о	BIW	rIgG2b	10	в/б	BIW×3 недели
8	8	LCL161	75	п/о	BIW	Антитело против PD-L1	10	в/б	BIW×3 недели
9	8	LCL161	75	п/о	BIW	Антитело против PD-L1	10	в/б	BIW×3 недели
						LCL161	75	п/о	BIW×3 недели

п/о: перорально; в/б: внутривенно; QD: ежедневно; BIW: два раза в неделю.

Пример 4: Индукция посредством Debio 1143 повышает эффективность антитела против PD-1 в модели на СТ26.

Пяти группам (n=8) взрослых самок мышей BALB/c (полученных от Shanghai Lingchang Bio-Technology Co.) инокулировали в нижнюю область правого бока $0,5 \times 10^6$ клеток сингенной клеточной линии карциномы толстого кишечника СТ26. Когда средний размер опухоли достигал приблизительно 50 мм^3 (1 сутки), животным проводили либо предварительное лечение, состоящее из п/о миметика SMAC Debio 1143 (Debiopharm) в дозе 100 мг/кг, либо носителя, как указано в табл. 3а. Дозирование повторяли каждые сутки в течение 7 суток (сутки 1-7). Как указано в табл. 3б, на следующий день (сутки 8) животным в группе, в которой проводили введение носителя, и в группе, в которой проводили предварительное лечение Debio 1143, начинали вводить каждые сутки перорально носитель до конца исследования. В другой выборке из двух групп (животные, которым проводили предварительное лечение носителем и Debio 1143) вводили два раза в неделю в/б 10 мг/кг антитела против PD-1 (заместительное антитело мыши, антитело против PD-1 мыши, клон: RMP1-14, BioXcell). В последней группе животных, в которой проводили предварительное лечение Debio 1143, вводили антитело против PD-1, а также продолжали ежедневное введение Debio 1143. Объемы опухолей и массу тела оценивали три раза в неделю. Размер опухоли определяли в двух измерениях с использованием толщиномера и объем опухоли выражали в мм^3 с использованием формулы: $V=0,5 \times a \times b^2$, где a и b представляют собой длинный и короткий диаметры опухоли, соответственно.

Результаты эксперимента представлены на фиг. 7. Лечение антителом против PD-1 в отсутствие предварительного лечения посредством Debio 1143 по существу не замедляло рост опухоли (группа 2). Только предварительное лечение Debio 1143 (т.е. с последующим введением перорального носителя) имело умеренный противораковый эффект (группа 3). Комбинация предварительного лечения Debio 1143 с последующим лечением антителом против PD-1, как оказалось, обеспечила небольшую дополнительную пользу для предварительного лечения посредством Debio 1143 отдельно (группа 4). Продолжение введения Debio 1143 в ходе периода лечения обеспечивало значительную дополнительную пользу (группа 5).

Эти исследования на животных обеспечили прямое подтверждение эффективности предварительного лечения антагонистом IAP для повышения вероятности и/или величины противоопухолевого ответа на последующее лечение молекулой против PD-1.

Эти исследования на животных обеспечили прямое подтверждение эффективности предварительного лечения каким-либо антагонистом IAP для повышения вероятности и/или величины противоопухолевого ответа на последующее лечение любой молекулой ICI, в частности, молекулами против PD-1 или молекулами против PD-L1.

Таблица 3а

План предварительного лечения в сингенной модели подкожного рака толстого кишечника СТ26 у самок мышей BALB/c

Группа	N	Лечение	Уровень	Вводимый	Дозируемый объем	Путь введения	Частота введения	Схема
			дозы (мг/кг)	раствор (мкг/мл)	(мкл/г)	я	я	
1	8	Носитель	N/A	N/A	10	п/о	QD	Сутки 1-7
2	8	Носитель	N/A	N/A	10	п/о	QD	Сутки 1-7
3	8	Debio 1143	100	10	10	п/о	QD	Сутки 1-7
4	8	Debio 1143	100	10	10	п/о	QD	Сутки 1-7
5	8	Debio 1143	100	10	10	п/о	QD	Сутки 1-7

п/о: перорально; в/б: внутривенно; QD: ежедневно; BIW: два раза в неделю.

Продолжение плана лечения в сингенной модели подкожного рака толстого кишечника CT26 у самок мышей BALB/c

Группа	N	Лечение	Уровень дозы (мг/кг)	Вводимый раствор (мкг/мл)	Дозировочный объем (мл/г)	Путь введения	Частота введения	Схема
1	8	Носитель	N/A	N/A	10	п/о	QD	С 8 суток
2	8	Антитело против PD-1	10	1	10	в/б	BIW	С 8 суток
3	8	Носитель	N/A	N/A	10	п/о	QD	С 8 суток
4	8	Антитело против PD-1	10	1	10	в/б	BIW	С 8 суток
5	8	Debio 1143	100	10	10	п/о	QD	С 8 суток
		Антитело против PD-1	10	1	10	в/б	BIW	С 8 суток

п/о: перорально; в/б: внутривенно; QD: ежедневно; BIW: два раза в неделю.

Объем и эквивалентность.

Перечисление в настоящем описании диапазонов величин предназначено только для сокращенного способа указания индивидуально на каждую отдельную величину, входящую в этот диапазон, если в настоящем описании нет иных указаний, и каждая отдельная величина включена в описания, как если бы она индивидуально была указана в настоящем описании. Если нет иных указаний, все точные величины, описанные в настоящем описании, являются репрезентативными для соответствующих приблизительных величин (например, все точные иллюстративные величины, предоставленные в отношении конкретного фактора или показателя, можно считать также обеспечивающими соответствующий приблизительный показатель, определенный посредством "приблизительно", когда это целесообразно).

Использование любых и всех примеров или иллюстративной формулировки (например, "такой как"), приведенной в настоящем описании, предназначено только для лучшего раскрытия изобретения и не ограничивает объем изобретения, если нет иных указаний.

Цитирование и включение патентных документов в настоящее описание приведено только для удобства и не отражает никоим образом достоверность, патентоспособность и/или правовую обеспеченность таких патентных документов. Описание в настоящем описании какого-либо аспекта или варианта осуществления изобретения с использованием терминов, таких как указание на элемент или элементы, предназначено для предоставления обоснования для сходного аспекта или варианта осуществления изобретения, который "состоит из", "по существу состоит из" или "по существу содержит" этот конкретный элемент или элементы, если нет иных указаний или если этому явно не противоречит контекст (например, следует понимать, что композиция, описанная как содержащая конкретный элемент, также описывает композицию, состоящую из этого элемента, если нет иных указаний или если контекст этому явно не противоречит).

Это изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта, описанного в аспектах или пунктах формулы изобретения, приведенных в настоящем описании, в максимальной степени, допустимой законодательством, подлежащим применению.

Все публикации и патентные документы, цитированные в настоящем описании, включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме, как если бы было конкретно и индивидуально указано, что каждая индивидуальная публикация или патентный документ включен в качестве ссылок.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение антагониста ингибитора белка апоптоза (IAP) в способе лечения злокачественной опухоли у человека, причем способ включает:

(i) введение антагониста IAP в ходе периода индукции, где длительность периода индукции выбрана из диапазоне от 1 до 48 суток перед первым введением молекулы против PD-1; с последующим

(ii) введением молекулы против PD-1 после окончания периода индукции, где антагонист IAP представляет собой Debio 1143 и молекула против PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или PD-L1.

2. Применение по п.1, где человеку вводят антагонист IAP в ходе периода индукции из 1-28 суток с последующим введением молекулы против PD-1.

3. Применение по п.1 или 2, где человеку вводят антагонист IAP в ходе периода индукции из 5-28 суток с последующим введением молекулы антитела против PD-1.

4. Применение по любому из предшествующих пунктов, где антагонист IAP не вводят в один или несколько дней в ходе периода индукции.

5. Применение по любому из предшествующих пунктов, где введение антагониста IAP продолжают после начала введения молекулы против PD-1; или

другой антагонист IAP вводят одновременно с молекулой против PD-1.

6. Применение по любому из предшествующих пунктов, где злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль, о которой известно, что она отвечает на лечение молекулой против PD-1 у 10% или более поддаваемых лечению пациентов.

7. Применение по любому из пп.1-5, где злокачественная опухоль представляет собой рак головы и шеи, меланому, рак уротелия, немелкоклеточный рак легкого, опухоли с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI) из неизвестной первичной области или рак почки.

8. Применение по любому из пп.1-5, где злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль с частотой ответа на лечение молекулой против PD-1 10% или менее, предпочтительно 5% или менее.

9. Применение по любому из пп.1-5, где злокачественная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки, множественную миелому, мелкоклеточный рак легкого, гепатокарциному или рак яичника.

10. Применение по любому из предшествующих пунктов, где злокачественная опухоль оценена как слабоиммуногенная.

11. Применение по п.10, где указанная оценка состоит в анализе маркера иммуногенности в биологическом образце пациента, взятом перед периодом индукции, и обнаружении того, что присутствие, уровень экспрессии или установленный показатель оценки маркера не соответствует заданному пороговому значению.

12. Применение по п.11, где маркером является PD-L1, экспрессируемый на злокачественных клетках и/или иммунных клетках.

13. Применение по п.11, где маркером являются инфильтрирующие опухоль лимфоциты, предпочтительно CD8⁺ клетки, или мутационная нагрузка опухоли.

14. Применение по любому из предшествующих пунктов, где введение антагониста IAP в ходе периода индукции продолжают до тех пор, пока злокачественную опухоль не оценивают как имеющую высокую иммуногенность.

15. Применение по п.14, где указанная оценка состоит в анализе маркера иммуногенности в биологическом образце пациента, взятом после периода индукции, и обнаружении того, что присутствие, уровень экспрессии или установленный показатель оценки маркера превышает заданное пороговое значение.

16. Применение по п.15, где маркером является PD-L1, экспрессируемый на злокачественных клетках и/или иммунных клетках.

17. Применение по п.15, где маркером являются инфильтрирующие опухоль лимфоциты, предпочтительно CD8⁺ клетки, или мутационная нагрузка опухоли.

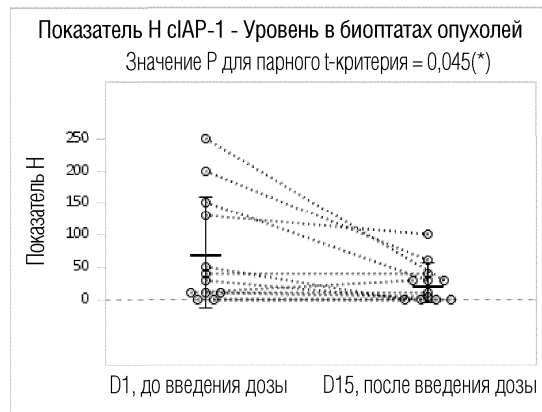
18. Применение по любому из пп.11-13 и 15-17, где биологическим образцом является биоптат опухоли или жидкостной биоптат.

19. Применение по любому из предшествующих пунктов, где молекула против PD-1 представляет собой Ниволумаб, Пембролизумаб, Атезолизумаб, Дурвалумаб, Авелумаб, PDR001, IBI-308, Цемиплимаб, Камрелизумаб, BGB-A317, BCD-100, JS-001, JNJ-3283, MEDI0680, AGEN-2034, TSR-042, Sym-021, PF-06801591, MGD-013, MGA-012, LZM-009, GLS-010, Генолимзумаб, BI 754091, AK-104, CX-072, WBP3155, SHR-1316, ингибиторную миламолекулу против PD-L1, BMS-936559, M-7824, LY-3300054, KN-035, FAZ-053, CK-301 или CA-170.

20. Применение по п.19, где молекула против PD-1 представляет собой Ниволумаб, Пембролизумаб, Атезолизумаб, Дурвалумаб, Авелумаб, PDR001 или BI 754091.

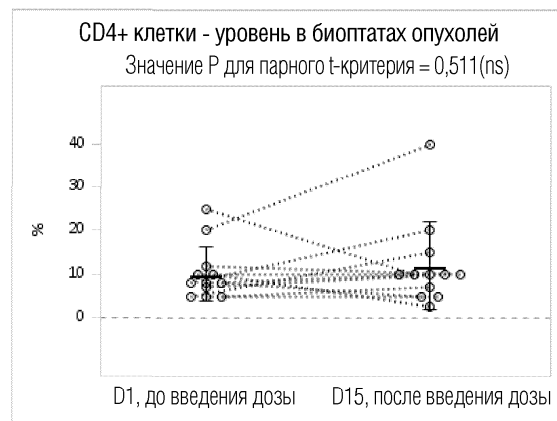
21. Применение по любому из предшествующих пунктов, где введение молекулы против PD-1 комбинируют с одним или несколькими другими способами терапии злокачественной опухоли, включая

другую иммунотерапию, лучевую терапию, химиотерапию, химиорadiотерапию, онколитические вирусы, антиангиогенную терапию и/или направленную терапию злокачественной опухоли.

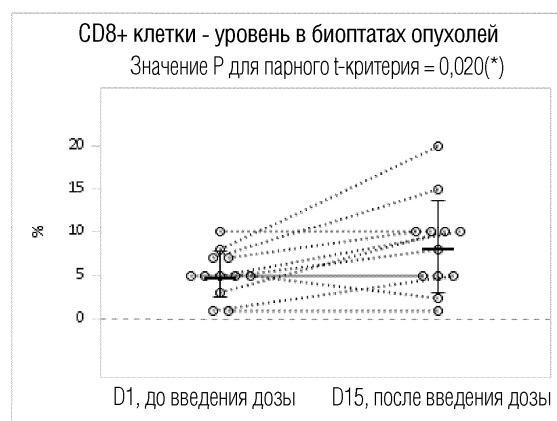


Фиг. 1

(A)

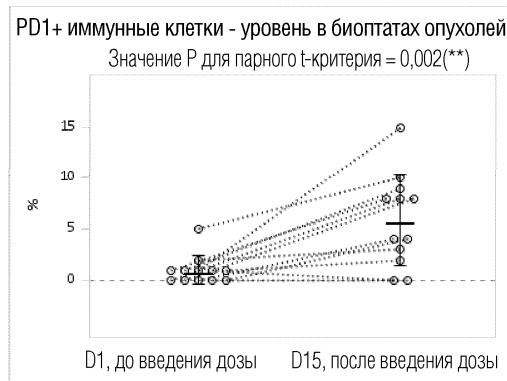


(B)

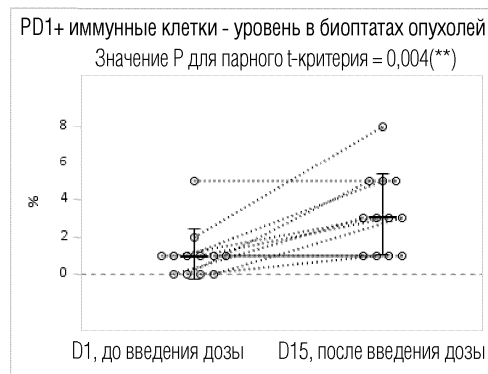


Фиг. 2

(A)

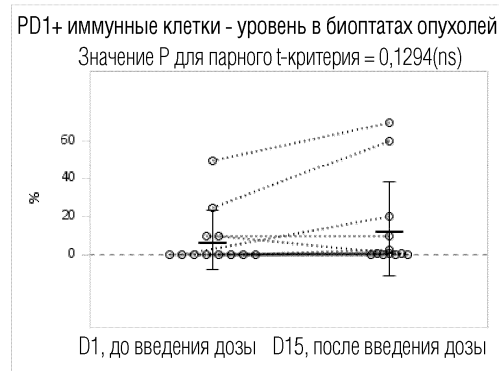


(B)

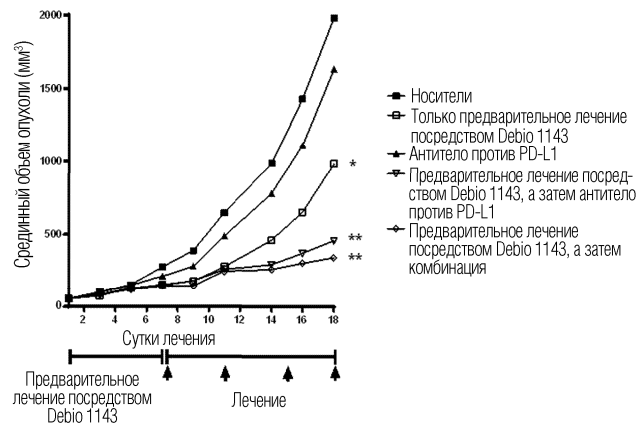


Фиг. 3

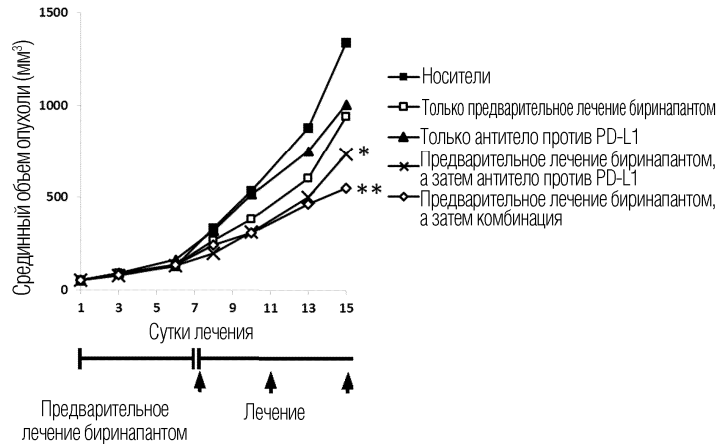
(C)



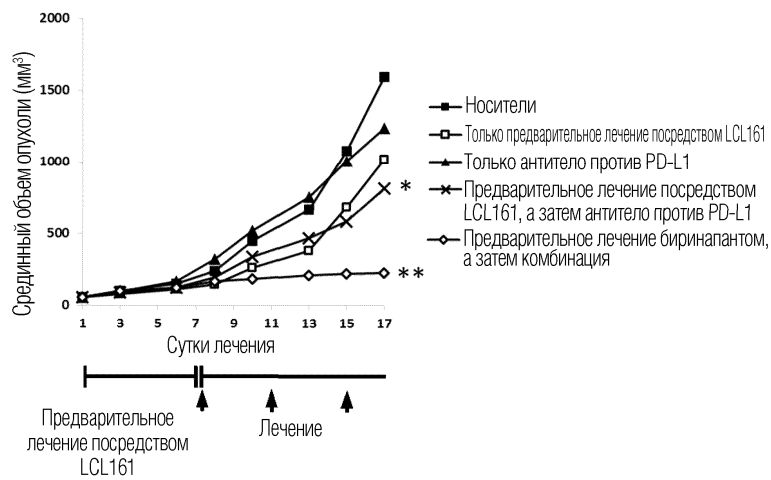
Фиг. 3



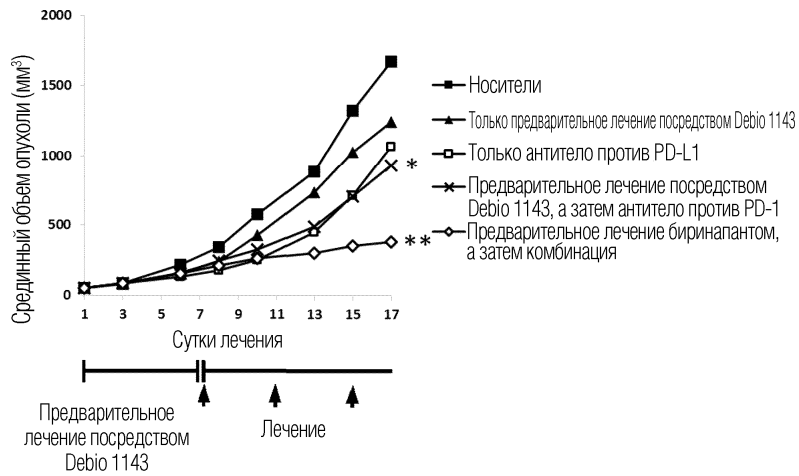
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7

