

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **046551**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2024.03.26**

(21) Номер заявки  
**202190101**

(22) Дата подачи заявки  
**2019.08.30**

(51) Int. Cl. **A61K 31/635** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)  
**A61K 47/68** (2017.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

---

(54) **КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ**

---

(31) **1814207.5; 1908225.4**

(32) **2018.08.31; 2019.06.10**

(33) **GB**

(43) **2021.07.16**

(86) **PCT/EP2019/073212**

(87) **WO 2020/043878 2020.03.05**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**АДС ТЕРАПЬЮТИКС СА (CH);  
МЕДИМБЬОН ЛИМИТЕД (GB)**

(72) Изобретатель:  
**Заммарчи Франческа, Бертони  
Франческо (CH)**

(74) Представитель:  
**Нилова М.И. (RU)**

(56) WO-A1-2014057117  
WO-A1-2017160954  
WO-A1-2018078123  
WO-A1-2018229222  
WO-A1-2018193105  
C. TARANTELLI ET AL.: "The antibody-drug conjugate (ADC) loncastuximab tesirine (ADCT-402) targeting CD19 shows strong in vitro anti-lymphoma activity both as single agents and in combination - 15th International Conference on Malignant Lymphoma", HEMATOLOGICAL ONCOLOGY, vol. 37, no. Suppl. 2, 1 June 2019 (2019-06-01), pages 129-130, XP055646201, DOI: 10.1002/hon.90\_2629, the whole document

---

(57) Данное изобретение относится к вариантам комбинированной терапии для лечения патологических состояний, таких как рак. В частности, данное изобретение относится к вариантам комбинированной терапии, включающим лечение конъюгатом антитела к CD19 с лекарственным средством (анти-CD19 ADC) и анти-BCL-2 агентом.

---

**B1**

**046551**

**046551  
B1**

### Предшествующие заявки

Данная заявка испрашивает приоритет по заявке Великобритании GB1814207.5, поданной 31 августа 2018 г., и заявке Великобритании GB1908225.4, поданной 10 июня 2019 г.

### Область техники

Данное изобретение относится к вариантам комбинированной терапии для лечения патологических состояний, таких как рак. В частности, данное изобретение относится к вариантам комбинированной терапии, включающим лечение конъюгатом антитела к CD19 с лекарственным средством (анти-CD19 ADC) и анти-BCL-2 агентом.

### Уровень техники

#### Терапия антителами

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

### CD19

CD19 представляет собой мембранный рецептор молекулярной массой 95 кДа, который экспрессируется на ранних стадиях дифференцировки В-клеток и продолжает экспрессироваться до тех пор, пока В-клетки не переходят на стадию терминальной дифференцировки (Pezzutto et al. (1987), *J. Immunol* 138:2793; Tedder et al (1994) *Immunol Today* 15:437). Внеклеточный домен CD19 содержит два иммуноглобулин (IG)-подобных домена типа C2, разделенных меньшим потенциально дисульфид-связанным доменом. Цитоплазматический домен CD19 уникален по своей структуре, но высококонсервативен для человека, мыши и морской свинки (Fujimoto и др (1998) *Semin Immunol.* 10:267). CD19 является частью белкового комплекса, обнаруживаемого на клеточной поверхности В-лимфоцитов. Белковый комплекс включает CD19, CD21 (рецептор комплемента, тип 2), CD81 (TAPA-1) и CD225 (Leu-13) (Fujimoto, см. выше).

CD19 является важным регулятором трансмембранных сигналов в В-клетках. Увеличение или уменьшение поверхностной плотности CD19 влияет на развитие и функцию В-клеток, что приводит к таким заболеваниям, как аутоиммунные заболевания или гипогаммаглобулинемия. Комплекс CD19 усиливает ответ В-клеток на антиген *in vivo* за счет перекрестного связывания двух отдельных комплексов передачи сигнала, обнаруживаемых на мембранах В-клеток. Два комплекса передачи сигнала, связанные с мембранными IgM и CD19, активируют фосфолипазу C (PLC) с помощью различных механизмов. Перекрестное связывание CD19 и рецепторов В-клеток снижает количество молекул IgM, необходимых для активации PLC. CD19 также функционирует как специализированный адаптерный белок для амплификации киназ семейства Arc (Hasegawa et al., (2001) *J Immunol* 167:3190).

Было показано, что связывание CD19 как усиливает, так и ингибирует активацию и пролиферацию В-клеток, в зависимости от степени перекрестного связывания (Tedder, 1994, *Immunol. Today* 15:437). CD19 экспрессируется более чем в 90% В-клеточных лимфом, и предполагается, что он влияет на рост лимфом *in vitro* и *in vivo*.

### Терапевтическое использование анти-CD19 ADC

Была установлена эффективность конъюгата антитело-лекарственное средство, содержащего антитело к CD19 (анти-CD19-ADC), в лечении, например, рака, - см., например, WO 2014/057117 и WO 2016/166298.

Продолжаются исследования, направленные на дальнейшее улучшение эффективности, переносимости и клинического использования анти-CD19 ADC. С этой целью авторы данного изобретения определили демонстрирующие клиническое преимущество варианты комбинированной терапии, при которых анти-CD19 ADC вводят в комбинации по меньшей мере с одним анти-BCL-2 агентом.

### Сущность изобретения

Авторы данного изобретения установили, что введение индивидууму комбинации анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агента приводит к неожиданным клиническим преимуществам. Авторы данного изобретения дополнительно определили, что введение анти-CD19 ADC индивидууму, который либо проходил лечение, либо проходит лечение анти-BCL-2 агентом, приводит к синергетическому увеличению эффективности лечения.

Соответственно, в первом аспекте данного описания предложен способ выбора индивидуума, подходящего для лечения анти-CD19 ADC, причем индивидуума выбирают для лечения с помощью анти-

CD19 ADC, если индивидуум проходил лечение или проходит лечение анти-BCL-2 агентом. Индивидуум может быть выбран для лечения, если он невосприимчив к лечению или дальнейшему лечению анти-BCL-2 агентом.

В другом аспекте данного описания предложен способ лечения расстройства у индивидуума, причем способ включает выбор индивидуума, подходящего для лечения способом первого аспекта, а затем введение индивидууму эффективного количества анти-CD19 ADC. Способ лечения может дополнительно включать введение анти-BCL-2 агента в комбинации с анти-CD19 ADC.

В другом аспекте в описании предложен способ лечения расстройства у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агента.

Индивидуум может быть выбран для лечения в соответствии со способом согласно первому аспекту.

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

Анти-CD19-ADC может представлять собой ADCX19, описанный в данном документе.

Анти-BCL-2 агентом может быть венетоклакс (ABT-199), навитоклакс (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимержен (G3139). Предпочтительным анти-BCL-2 агентом является венетоклакс (ABT-199).

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD19+ рак или CD19+ ассоциированные с опухолью, неопухольевые клетки, такие как инфильтрирующие CD19+ В-клетки.

Анти-CD19-ADC в описанных способах можно вводить перед анти-BCL-2 агентом, одновременно или после анти-BCL-2 агента. Раскрытые способы могут включать введение индивидууму дополнительного химиотерапевтического агента.

В другом аспекте данного описания предложены анти-CD19-ADC или композиция, содержащая анти-CD19-ADC, для применения в способе лечения, как описано в данном документе.

В одном аспекте данного описания предложены анти-BCL-2 агент или композиция, содержащая анти-BCL-2 агент, для применения в способе лечения, как описано в данном документе.

В дополнительном аспекте данного описания предложено применение анти-CD19 ADC или анти-BCL-2 ADC при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, причем лечение включает способ лечения, как описано в данном документе.

В другом аспекте данного описания предложена первая композиция, содержащая анти-CD19 ADC, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей анти-BCL-2 агент.

В этом аспекте также предложена первая композиция, содержащая анти-BCL-2 агент, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей анти-CD19 ADC.

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

Анти-CD19-ADC может представлять собой ADCX19, описанный в данном документе.

Анти-BCL-2 агентом может быть венетоклакс (ABT-199), навитоклакс (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимержен (G3139). Предпочтительным анти-BCL-2 агентом является венетоклакс (ABT-199).

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD19+ рак или CD19+ ассоциированные с опухолью, неопухольевые клетки, такие как инфильтрирующие CD19+ В-клетки.

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

В дополнительном аспекте данного изобретения предложено применение анти-CD19-ADC при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, причем лекарственное средство включает анти-CD19 ADC и причем лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей анти-BCL-2 агент.

В этом аспекте также предложено применение анти-BCL-2 агента при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, причем лекарственное средство включает анти-BCL-2 агент, и причем лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей анти-CD19 ADC.

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

Анти-CD19 ADC может представлять собой ADCX19, описанный в данном документе.

Анти-BCL-2 агентом может быть венетоклак (ABT-199), навитоклак (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимерсен (G3139). Предпочтительным анти-BCL-2 агентом является венетоклак (ABT-199).

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD19+ рак или CD19+ ассоциированные с опухолью, неопухольевые клетки, такие как инфильтрирующие CD19+ В-клетки.

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

В другом аспекте данного изобретения предложен набор, содержащий

первое лекарственное средство, содержащее анти-CD19 ADC;

листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства в соответствии со способом лечения, описанным в данном документе. Набор может дополнительно содержать второе лекарственное средство, содержащее анти-BCL-2 агент.

В другом аспекте данного изобретения предложен набор, содержащий

первое лекарственное средство, содержащее анти-CD19 ADC;

второе лекарственное средство, содержащее анти-BCL-2 агент; и, необязательно,

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

В этом аспекте также предложен набор, содержащий лекарственное средство, содержащее анти-CD19 ADC, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей анти-BCL-2 агент, для лечения расстройства.

Кроме того, в этом аспекте предложен набор, содержащий лекарственное средство, содержащее анти-BCL-2 агент, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей анти-CD19 ADC, для лечения расстройства.

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

Анти-CD19 ADC может представлять собой ADCX19, описанный в данном документе.

Анти-BCL-2 агентом может быть венетоклак (ABT-199), навитоклак (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимерсен (G3139). Предпочтительным анти-BCL-2 агентом является венетоклак (ABT-199).

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD19+ рак или CD19+ ассоциированные с опухолью, неопухольевые клетки, такие как инфильтрирующие CD19+ В-клетки.

Лекарственное средство или композиция, содержащая анти-CD19 ADC, может быть введена перед лекарственным средством или композицией, содержащей анти-BCL-2 агент, одновременно с лекарственным средством или композицией, содержащей анти-BCL-2 агент, или после лекарственного средства или композиции, содержащей анти-BCL-2 агент. Лечение может включать введение индивидууму дополнительного химиотерапевтического агента.

В еще одном дополнительном аспекте в данном изобретении предложена композиция, содержащая анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агент.

В этом аспекте в данном изобретении также предложен способ лечения расстройства у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агент.

В этом аспекте в данном изобретении также предложена композиция, содержащая анти-CD19 ADC

и анти-BCL-2 агент, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума.

В этом аспекте в данном изобретении также предложено применение композиции, содержащей анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агент, при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума.

В этом аспекте в данном изобретении также предложен набор, содержащий композицию, содержащую анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агент, и набор инструкций по введению лекарственного средства индивидууму для лечения расстройства.

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

Анти-CD19-ADC может представлять собой ADCX19 как описано в данном документе.

Анти-BCL-2 агентом может быть венетоклакс (ABT-199), навитоклакс (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимерсен (G3139). Предпочтительным анти-BCL-2 агентом является венетоклакс (ABT-199).

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD19+ рак или CD19+ ассоциированные с опухолью, неопухольевые клетки, такие как инфильтрирующие CD19+ В-клетки.

Лечение может включать введение индивидууму дополнительного химиотерапевтического агента.

### Подробное описание изобретения

#### Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC)

Данное изобретение относится к улучшенной эффективности комбинаций ADC и анти-BCL-2 агента.

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

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

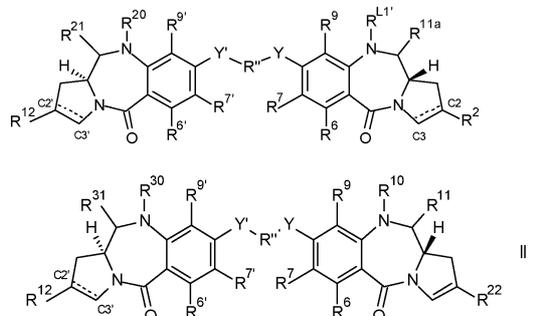
Линкер может быть расщеплен ферментом, присутствующим в целевом месте.

Данное изобретение, в частности, относится к лечению при помощи анти-CD19 ADC, описанного в WO 2014/057117 и как описано в данном документе.

анти-CD19 ADC:

В контексте данного документа термины "анти-CD19 ADC" и "CD19-ADC" относятся к ADC, в котором компонент антитела представляет собой антитело к CD19. Термин "PBD-ADC" относится к ADC, в котором лекарственный компонент представляет собой активную нагрузку пирролобензодиазепином (PBD). Термин "анти-CD19-ADC" относится к ADC, в котором компонент антитела представляет собой антитело к CD19, а компонент лекарственного средства представляет собой активную нагрузку PBD.

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



где

L представляет собой антитело (Ab), которое представляет собой антитело, связывающееся с CD19; когда между C2' и C3' присутствует двойная связь, R<sup>12</sup> выбран из группы, состоящей из:

(ia) C<sub>5-10</sub> арильной группы, необязательно замещенной одним или более заместителями, выбранными

ми из группы, включающей галоген, нитро, пиано, простой эфир, карбокси, сложный эфир, C<sub>1-7</sub> алкил, C<sub>3-7</sub> гетероцикл и бис-окси-C<sub>1-3</sub> алкилен;

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

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



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



(ie) , причем один из R<sup>25a</sup> и R<sup>25b</sup> представляет собой H, а другой выбран из фенила, причем фенил необязательно замещен группой, выбранной из галогена, метила, метокси; пиридила, и тиофенила; и



(if) , где R<sup>24</sup> выбран из H; C<sub>1-3</sub> насыщенного алкила; C<sub>2-3</sub> алкенила; C<sub>2-3</sub> алкинила; циклопропила; фенила, который необязательно замещен группой, выбранной из галогена, метила, метокси; пиридила и тиофенила;

где между C2' и C3' присутствует одинарная связь,



R<sup>12</sup> представляет собой , где R<sup>26a</sup> и R<sup>26b</sup> независимо выбраны из H, F, C<sub>1-4</sub> насыщенного алкила, C<sub>2-3</sub> алкенила, причем алкильные и алкенильные группы необязательно замещены группой, выбранной из C<sub>1-4</sub> алкиламида и C<sub>1-4</sub> алкилового сложного эфира или, где один из R<sup>26a</sup> и R<sup>26b</sup> представляет собой H, другой выбран из нитрила и C<sub>1-4</sub> алкилового сложного эфира;

R<sup>6</sup> и R<sup>9</sup> независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR', нитро, Me<sub>3</sub>Sn и галогенида;

где R и R' независимо выбраны из необязательно замещенных C<sub>1-12</sub> алкильной, C<sub>3-20</sub> гетероциклической и C<sub>5-20</sub> арильной групп;

R<sup>7</sup> выбран из H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NHRR', нитро, Me<sub>3</sub>Sn и галогена;

R'' представляет собой C<sub>3-12</sub> алкильную группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например O, S, NR<sup>N2</sup> (где R<sup>N2</sup> представляет собой H или C<sub>1-4</sub> алкил), и/или ароматические кольца, например, бензол или пиридин;

Y и Y' выбраны из O, S или NH;

R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>9</sup> выбраны из тех же групп, что и R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> и R<sup>9</sup> соответственно;

[Формула I]

R<sup>11'</sup> представляет собой линкер для соединения с антителом (Ab);

R<sup>11a</sup> выбран из OH, OR<sup>A</sup>, где R<sup>A</sup> представляет собой C<sub>1-4</sub> алкил и SO<sub>z</sub>M, где z равно 2 или 3, и

M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион;

R<sup>20</sup> и R<sup>21</sup> либо вместе образуют двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, либо

R<sup>20</sup> выбран из H и R<sup>C</sup>, где R<sup>C</sup> представляет собой блокирующую группу;

R<sup>21</sup> выбран из OH, OR<sup>A</sup> и SO<sub>z</sub>M;

где между C2 и C3 присутствует двойная связь, R<sup>2</sup> выбран из группы, состоящей из:

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

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

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



(id) , причем каждый из R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> и R<sup>13</sup> независимо выбраны из H, C<sub>1-3</sub> насыщенного алкила C<sub>2-3</sub> алкенила, C<sub>2-3</sub> алкинила и циклопропила, где общее количество атомов углерода в R<sup>2</sup> группе составляет не более чем 5;



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



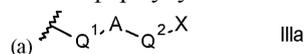
(if) , где R<sup>14</sup> выбран из H; C<sub>1-3</sub> насыщенного алкила; C<sub>2-3</sub> алкенила; C<sub>2-3</sub> алкинила; циклопропила; фенила, который необязательно замещен группой, выбранной из галогена, метила, метокси;

пиридила; и тиофенила; где между C2 и C3 присутствует одинарная связь,

$R^2$  представляет собой  где  $R^{16a}$  и  $R^{16b}$  независимо выбраны из H, F,  $C_{1-4}$  насыщенного алкила  $C_{2-3}$ алкенила, причем алкильные и алкенильные группы необязательно замещены группой, выбранной из  $C_{1-4}$  алкиламида и  $C_{1-4}$  алкилового сложного эфира или, где один из  $R^{16a}$  и  $R^{16b}$  представляет собой H, другой выбран из нитрила и  $C_{1-4}$  алкилового сложного эфира;

[Формула II]

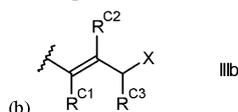
$R^{22}$  имеет формулу IIIa, формулу IIIb или формулу IIIc



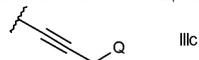
где A представляет собой  $C_{5-7}$  арильную группу и одно из двух

(i)  $Q^1$  представляет собой одинарную связь и  $Q^2$  выбран из одинарной связи и  $-Z-(CH_2)_n-$ , где Z выбран из одинарной связи, O, S и NH и n равно от 1 до 3; или

(ii)  $Q^1$  представляет собой  $-CH=CH-$  и  $Q^2$  представляет собой одинарную связь



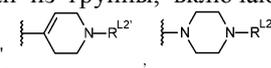
где  $R^{C1}$ ,  $R^{C2}$  и  $R^{C3}$  независимо выбраны из H и незамещенного  $C_{1-2}$ алкила;



где Q выбран из  $O-R^{L2'}$ ,  $S-R^{L2'}$  и  $NR^N-R^{L2'}$  и

$R^N$  выбран из H, метила и этила;

X выбран из группы, включающей  $O-R^{L2'}$ ,  $S-R^{L2'}$ ,  $CO_2-R^{L2'}$ ,  $CO-R^{L2'}$ ,  $NH-C(=O)-R^{L2'}$ ,  $NHNH-R^{L2'}$ ,

$CONHNH-R^{L2'}$ , ,  $NR^N-R^{L2'}$ , где  $R^N$  выбран из группы, включающей H и  $C_{1-4}$ алкил;

$R^{L2'}$  представляет собой линкер для соединения с антителом (Ab);

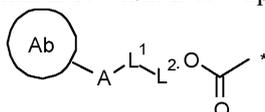
$R^{10}$  и  $R^{11}$  либо вместе образуют двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, либо

$R^{10}$  представляет собой H и  $R^{11}$  выбран из OH,  $OR^A$  и  $SO_zM$ ;

$R^{30}$  и  $R^{31}$  либо вместе образуют двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, либо

$R^{30}$  представляет собой H и  $R^{31}$  выбран из OH,  $OR^A$  и  $SO_zM$ .

В некоторых вариантах осуществления  $L-R^{L1'}$  или  $L-R^{L2'}$  представляет собой группу

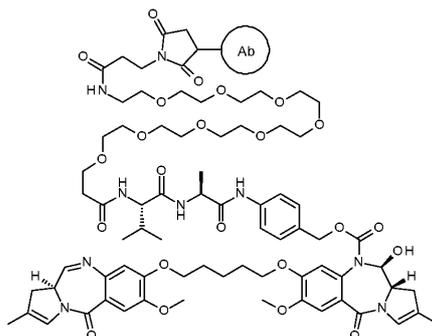


где звездочка указывает на точку присоединения к PBD, Ab представляет собой антитело,  $L^1$  представляет собой расщепляемый линкер, A представляет собой соединяющую группу, соединяющую  $L^1$  с антителом,  $L^2$  представляет собой ковалентную связь или вместе с  $-OC(=O)-$  образует саморасщепляющийся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

В некоторых из этих вариантов осуществления  $L^1$  расщепляется ферментом.

Ранее было показано, что такие ADC применимы при лечении рака, экспрессирующего CD19 (см., например, WO 2014/057117, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки).

Термин "анти-CD19-ADC" может включать любой вариант осуществления, описанный в WO 2014/057117. В частности, в предпочтительных вариантах осуществления ADC может иметь химическую структуру



где Ab представляет собой CD19 антитело и DAR составляет от 1 до 8.

Антитело может содержать домен VH, имеющий последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 или 6, необязательно дополнительно содержать домен VL, имеющий последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11 или 12.

В некоторых аспектах компонент антитела анти-CD19-ADC представляет собой антитело, содержащее домены VH и VL, соответственно, имеющие последовательности: SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 12.

В предпочтительных вариантах осуществления антитело содержит домен VH, имеющий последовательность согласно SEQ ID NO: 2. В предпочтительных вариантах осуществления антитело содержит домен VL, имеющий последовательность согласно SEQ ID NO: 8.

В предпочтительных вариантах осуществления антитело содержит домен VH и домен VL, причем домен VH имеет последовательность SEQ ID NO: 2 и домен VL имеет последовательность SEQ ID NO: 8.

Домен(ы) VH и VL могут спариваться с образованием антигенсвязывающего сайта антитела, который связывает CD19.

В предпочтительных вариантах осуществления, антитело представляет собой интактное антитело, содержащее домен VH и домен VL, причем домены VH и VL имеют последовательности SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 14.

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

В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой антитело RB4v1.2, описанное в WO 2014/057117.

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

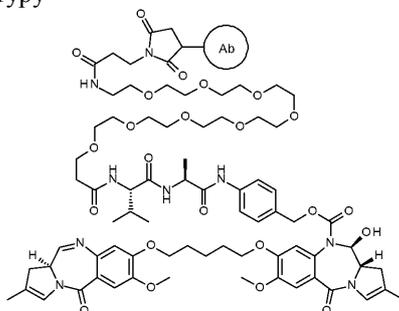
Наиболее предпочтительным анти-CD19-ADC для использования с аспектами данного описания является ADCx19, как описано в данном документе ниже.

Вторым предпочтительным анти-CD19-ADC для использования с аспектами данного описания является ADCT-402.

### APCx19

ADCx19 представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, состоящий из гуманизированного антитела к CD19 человека, присоединенного к активной нагрузке пирролобензодиазепином (PBD) через расщепляемый линкер. Механизм действия ADCx19 зависит от связывания CD19. Антитело, специфическое к CD19, нацеливает конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC) на клетки, экспрессирующие CD19. После связывания ADC интернализуется и транспортируется в лизосому, где линкер, чувствительный к протеазе, расщепляется, и свободный димер PBD высвобождается внутри клетки-мишени. Высвобожденный димер PBD ингибирует транскрипцию избирательным образом за счет прямого ингибирования РНК-полимеразы или ингибирования взаимодействия связанных факторов транскрипции. Димер PBD образует ковалентные поперечные связи, которые не искажают двойную спираль ДНК и не распознаются факторами эксцизиоэксцизионной репарации нуклеотидов, обеспечивая более длительный эффективный период (Hartley 2011).

Он имеет химическую структуру



Ab представляет собой антитело RB4v1.2 (антитело с последовательностями VH и VL SEQ ID NO. 2 и SEQ ID NO. 8, соответственно). Оно может быть синтезировано, как описано в WO 2014/057117 (RB4v1.2-E), и обычно имеет DAR (соотношение лекарственного средства к антителу) 2+/0,3.

### Связывание CD19

Используемый в данном документе термин "связывает CD19" означает, что антитело связывает CD19 с более высокой аффинностью, чем неспецифический партнер, такой как бычий сывороточный

альбумин (БСА, номер доступа в Genbank CAA76847, версия № CAA76847.1 GI: 3336842, дата обновления записи: 7 января 2011 г., 14:30). В некоторых вариантах осуществления, антитело связывает CD19 с константой ассоциации ( $K_a$ ) по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000,  $10^4$ ,  $10^5$  или  $10^6$  раз выше, чем константа ассоциации антитела для БСА при измерении в физиологических условиях. Антитела согласно данному изобретению могут связывать CD19 с высокой аффинностью. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело может связывать CD19 с  $K_D$ , равной или меньшей около  $10^{-6}$  М, например  $1 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  или  $10^{-14}$ .

В некоторых вариантах осуществления полипептид CD19 соответствует номеру доступа в Genbank NP 001171569, версия № NP 001171569.1 GI: 296010921, дата обновления записи: 10 сентября 2012 г., 12:43. В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид CD19, соответствует номеру доступа в Genbank. NM001178098, версия № NM001178098.1 GI: 296010920, дата обновления записи: 10 сентября 2012 г., 12:43. В некоторых вариантах осуществления, полипептид CD19 соответствует регистрационному номеру Uniprot/Swiss-Prot P15391.

#### Анти-BCL-2 агенты

Подходящие анти-BCL-2 агенты включают венетоклак (ABT-199), навитоклак (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимержен (G3139). Предпочтительным анти-BCL-2 агентом является венетоклак (ABT-199).

BCL-2 локализован на внешней мембране митохондрий, где он играет важную роль в обеспечении выживания клеток и подавлении действия проапоптотических белков. Проапоптотические белки семейства BCL-2, включая Bax и Bak, обычно действуют на митохондриальную мембрану, способствуя проницаемости и высвобождению цитохрома C и ROS, которые являются важными сигналами в каскаде апоптоза. Эти проапоптотические белки, в свою очередь, активируются BHL-3only белками и ингибируются функцией BCL-2 и его родственного ему BCL-X1. Динамическая роль про- и антиапоптотических белков, среди других белков, может изменить значимость повышенной экспрессии BCL-2 при заболевании человека. Однако широкое разнообразие типов рака, связанных с aberrантной экспрессией BCL-2 (как гематологические, так и негематологические солидные опухоли), согласуется с его ролью в качестве регулятора апоптоза (см. Hanada M, et al., Blood. 1993;82:1820-1828; Campos L., et al., Blood. 1993;81:3091-3096; Lamers F., et al., Eur J Cancer. 2012;48:3093-3103).

Термин "анти-BCL-2 агент" используется в данном документе для обозначения любого агента, который специфически связывается и/или ингибирует биологическую активность BCL-2.

Используемый в данном документе термин "специфически связывает BCL-2" используется для обозначения, что агент связывает BCL-2 с более высокой аффинностью, чем неспецифический партнер, такой как бычий сывороточный альбумин (БСА, номер доступа в Genbank CAA76847, номер версии CAA76847.1 GI: 3336842, дата обновления записи: 7 января 2011 г., 14:30). В некоторых вариантах осуществления, агент связывает BCL-2 с константой ассоциации ( $K_a$ ) по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000,  $10^4$ ,  $10^5$  или  $10^6$  раз выше, чем константа ассоциации агента для БСА при измерении в физиологических условиях. Агенты могут связывать BCL-2 с высокой аффинностью. Например, в некоторых вариантах осуществления агент может связывать BCL-2 с  $K_D$ , равной или меньшей около  $10^{-6}$  М, например,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  или  $10^{-14}$ .

В некоторых вариантах осуществления полипептид BCL-2 соответствует номеру доступа Genbank AAB72092, версия № AAB72092.1, дата обновления записи: 24 июля 2016 г., 14:22. В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид BCL-2, соответствует номеру доступа в Genbank. AF021792, версия № AF021792.1, дата обновления записи: 24 июля 2016 г., 14:22. В некоторых вариантах осуществления полипептид BCL-2 соответствует регистрационному номеру Uniprot/Swiss-Prot Q92934.

Чтобы показать, что анти-CD19 ADC работают синергетически с анти-BCL-2 агентом, панель клеточных линий CD19 (+) совместно обрабатывали диапазоном концентраций как анти-CD19 ADC, так и анти-BCL-2 агента. В качестве отрицательного контроля ту же самую панель клеточных линий обрабатывали диапазоном концентраций анти-BCL-2 агента или диапазоном концентраций анти-CD19 ADC и носителя.

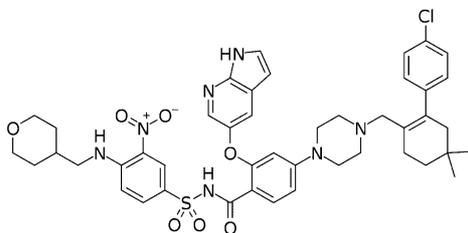
После инкубации измеряли два параметра: количество поверхностного CD19 (определенное с помощью проточной цитометрии) и цитотоксичность комбинаций *in vitro* (определенная с помощью анализов МТТ). Для определения цитотоксичности жизнеспособность клеток измеряли путем добавления МТТ в лунку и инкубации в течение 4 ч при 37°C. Рассчитывали процент жизнеспособности клеток по сравнению с необработанным контролем. Цитотоксический синергизм рассчитывали путем преобразования данных о жизнеспособности клеток в долю погибших клеток и вычисления показателя аддитивности с использованием программы анализа CalcuSyn.

Анти-BCL-2 агенты, подходящие для применения в данном описании, включают:

а) Венетоклак (ABT-199)

## 046551

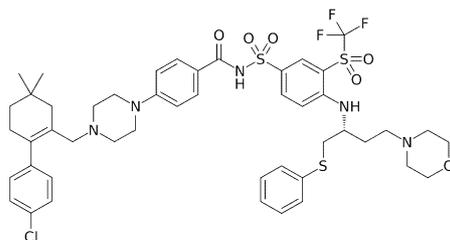
- i. номер CAS → 1257044-40-8  
(см. <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- ii. Ссылка DrugBank → DB11581  
(см. <https://www.drugbank.ca/>)
- iii. уникальный идентификатор ингредиента (UNII) → N54AIC43PW  
(см. <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Формула I: Венетоклак

b) Навитоклак (ABT-263)

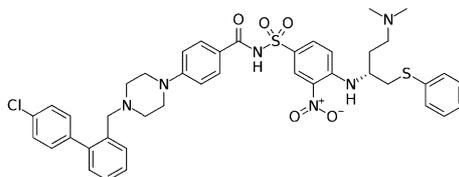
- i. номер CAS → 923564-51-6  
(см. <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- ii. уникальный идентификатор ингредиента (UNII) → XKJ5VVK2WD  
(см. <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Формула II: Навитоклак

c) ABT-737

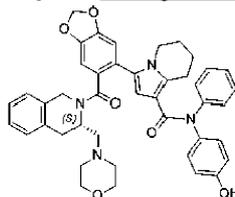
- i. номер CAS → 852808-04-9  
(см. <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- ii. уникальный идентификатор ингредиента (UNII) → Z5NFR173NV  
(см. <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Формула III: ABT-737

d) S55746/BCL201

- i. номер CAS → 1448584-12-0  
(см. <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



Формула IV: SS55746

e) облимерсен (G3139)

- i. номер CAS → 190977-41-4  
(см. <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- ii. Ссылка DrugBank → DB06650  
(см. <https://www.drugbank.ca/>)
- iii. уникальный идентификатор ингредиента (UNII) → 85J5ZP6YSL  
(см. <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- iv. Структура олигонуклеотида: D(P-тнo)(T-C-T-C-C-C-A-G-C-G-T-G-C-G-C-C-A-T)

#### **Выгодные свойства описываемых комбинаций**

Как анти-CD19 ADC, так и анти-BCL-2 агент при использовании в качестве единственного агента по отдельности продемонстрировали клиническую полезность, например, при лечении рака. Однако, как описано в данном документе, ожидается, что комбинация анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агента обеспечит одно или более из следующих преимуществ по сравнению с лечением только с помощью анти-CD19 ADC или анти-BCL-2 агента:

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

Эффективное лечение более широкого диапазона злокачественных новообразований в контексте данного описания означает, что после лечения комбинацией наблюдается полный ответ с более широким диапазоном распознаваемых типов злокачественных новообразований. Таким образом, полный ответ наблюдается при типах злокачественных новообразований, о которых ранее не сообщалось, при полном ответе либо только на анти-CD19 ADC, либо только на анти-BCL-2 агент.

Эффективное лечение резистентных, рефрактерных или рецидивирующих форм в контексте данного описания означает, что после лечения комбинацией наблюдается полный ответ у индивидуумов, которые либо частично, либо полностью резистентные, либо невосприимчивы к лечению либо анти-CD19 ADC, либо только анти-BCL-2 агентом (например, индивидуумы, у которых нет ответа или наблюдается только частичный ответ после лечения одним агентом, или индивидуумы с рецидивом заболевания). В некоторых вариантах осуществления полный ответ после лечения комбинацией анти-CD19 ADC/анти-BCL-2 агент наблюдается по меньшей мере у 10% индивидуумов, которые либо частично, либо полностью резистентные, либо невосприимчивы к лечению только с помощью анти-CD19 ADC или анти-BCL-2 агента. В некоторых вариантах осуществления полный ответ после лечения с помощью комбинации анти-CD19 ADC/анти-BCL-2 агент наблюдается по меньшей мере у 20%, по меньшей мере у 30%, по меньшей мере у 40%, по меньшей мере у 50%, по меньшей мере у 60%, по меньшей мере у 70%, по меньшей мере у 80%, по меньшей мере у 90%, по меньшей мере у 95%, по меньшей мере у 98% или по меньшей мере у 99% индивидуумов, которые частично или полностью резистентные или невосприимчивы к лечению только с помощью анти-CD19 ADC или анти-BCL-2 агента.

Повышенная частота ответа на лечение в контексте данного описания означает, что после лечения с помощью комбинации полный ответ наблюдается у большей части индивидуумов, чем наблюдается после лечения с помощью либо только анти-CD19 ADC, либо только анти-BCL-2 агентом. В некоторых вариантах осуществления полный ответ после лечения комбинацией анти-CD19 ADC/анти-BCL-2 агент наблюдается по меньшей мере у 10% индивидуумов, получавших лечение. В некоторых вариантах осуществления, полный ответ после лечения комбинацией анти-CD19 ADC/анти-BCL-2 агент наблюдается по меньшей мере у 20%, по меньшей мере у 30%, по меньшей мере у 40%, по меньшей мере у 50%, по меньшей мере у 60%, по меньшей мере у 70%, по меньшей мере у 80%, по меньшей мере у 90%, по меньшей мере у 95%, по меньшей мере у 98% или по меньшей мере у 99% индивидуумов, получавших лечение.

Повышенная продолжительность лечения в контексте данного описания означает, что средняя продолжительность полного ответа у индивидуумов, получавших комбинацию более длительная, чем у индивидуумов, которые достигли полного ответа после лечения только анти-CD19 ADC или только анти-BCL-2 агентом. В некоторых вариантах осуществления, средняя продолжительность полного ответа после лечения комбинацией анти-CD19 ADC/анти-BCL-2 агент составляет по меньшей мере 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, средняя продолжительность полного ответа после лечения комбинацией анти-CD19 ADC/анти-BCL-2 агент составляет по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 3 года, по меньшей мере 4 года, по меньшей мере 5 лет, по меньшей мере 6 лет, по меньшей мере 7 лет, по меньшей мере 8 лет, по меньшей мере 9 лет, по меньшей мере 10 лет, по меньшей мере 15 лет или по меньшей мере 20 лет.

Термин "полный ответ" используется в данном документе для обозначения отсутствия каких-либо клинических признаков заболевания у индивидуума. Доказательства могут быть оценены с использова-

нием соответствующего способа в данной области техники, например, компьютерной томографии или ПЭТ-сканирования или биопсии, где это необходимо. Количество доз, необходимых для достижения полного ответа, может составлять одну, две, три, четыре, пять, десять или больше. В некоторых вариантах осуществления, индивидуумы достигают полного ответа не более чем через год после введения первой дозы, например, не более 6 месяцев, не более 3 месяцев, не более месяца, не более двух недель или не более через неделю после введения первой дозы.

#### **Расстройства, подвергаемые лечению**

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

Таким образом, в одном аспекте в данном изобретении предложены варианты комбинированной терапии, включающие введение анти-CD19 ADC, который связывает CD19, для использования в терапии, причем способ включает выбор субъекта на основе экспрессии целевого белка.

В одном аспекте в данном изобретении предложена комбинированная терапия с отметкой, которая указывает, что терапия подходит для использования у субъекта, который определен как подходящий для такого применения. Отметка может указывать, что терапия подходит для применения у субъекта с экспрессией CD19, например сверхэкспрессией CD19. В отметке может быть указано, что у субъекта конкретный тип рака.

Раком может быть лимфома, такая как неходжкинская лимфома. В отметке может быть указано, что у субъекта лимфома CD19+.

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

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

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

Примеры пролиферативных состояний включают, но не ограничиваются ими, доброкачественную, предзлокачественную и злокачественную клеточную пролиферацию, включая, но не ограничиваясь ими, новообразования и опухоли (например, гистiocитому, глиому, астроциому, остеому), рак (например, рак легких, мелкоклеточный рак легкого, рак желудочно-кишечного тракта, рак кишечника, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак яичников, рак предстательной железы, рак яичек, рак печени, рак почек, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы, рак головного мозга, саркома, остеосаркома, саркома

Капоши, меланома), лимфомы, лейкозы, псориаз, заболевания костей, фибропролиферативные расстройства (например, соединительной ткани) и атеросклероз. Представляющие интерес виды рака включают, но не ограничиваются ими, лейкозы и рак яичников.

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

Прролиферативные расстройства, представляющие особый интерес, включают, но не ограничиваются ими, неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВКЛ), фолликулярную лимфому, (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (ВЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), например, положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ). [Fielding A., *Haematologica*. 2010 Jan; 95(1): 8-12].

Предполагается, что комбинированные терапии по данному изобретению могут использоваться для лечения различных заболеваний или расстройств, например, характеризуемых сверхэкспрессией опухолевого антигена. Типичные состояния или гиперпролиферативные нарушения включают доброкачест-

венные или злокачественные опухоли; лейкоз, гематологические и лимфоидные злокачественные образования. Другие включают нейрональные, глиальные, астроцитарные, гипоталамические, железистые, макрофагальные, эпителиальные, стромальные, бластоцелльные, воспалительные, ангиогенные и иммунологические, включая аутоиммунные нарушения и болезнь трансплантат против хозяина (БТПХ).

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

Аутоиммунные заболевания, при лечении которых можно использовать комбинированные терапии, включают ревматологические нарушения (такие как, например, ревматоидный артрит, синдром Шегрена, склеродермия, волчанка, такая как СКВ и волчаночный нефрит, полимиозит/дерматомиозит, криоглобулинемия, синдром антифосфолипидных антител и псориатический артрит), остеоартрит, аутоиммунные заболевания желудочно-кишечного тракта и печени (такие как, например, воспалительные заболевания кишечника (например, язвенный колит и болезнь Крона), аутоиммунный гастрит и пернициозная анемия, аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит и глютенная болезнь), васкулиты (такие как, например, ANCA-ассоциированный васкулит, включая васкулит Черга-Страусе, гранулематоз Вегенера и полиартериит), аутоиммунные неврологические расстройства (такие как, например, рассеянный склероз, опсо-миоклональный синдром, миастения гравис, нейромиелит зрительного нерва, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и аутоиммунные полиневропатии), нарушение функции почек (такие как, например, гломерулонефрит, синдром Гудпасчера и болезнь Бергера), аутоиммунные дерматологические заболевания (такие как, например, псориаз, уртикария, крапивница, вульгарный пемфигус, буллезный пемфигоид и кожная красная волчанка), гематологические нарушения (такие как, например, тромбоцитопеническая пурпура, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура, посттрансфузионная пурпура и аутоиммунная гемолитическая анемия), атеросклероз, увеит, аутоиммунные заболевания слуха (такие как, например, болезнь внутреннего уха и потеря слуха), синдром Бехчета, синдром Рейно, трансплантация органов, болезнь трансплантат против хозяина (БТПХ) и аутоиммунные эндокринные расстройства (такие как, например, связанные с диабетом аутоиммунные заболевания, такие как инсулинозависимый сахарный диабет (ИЗСД), болезнь Аддисона и аутоиммунное заболевание щитовидной железы (например, болезнь Грейвса и тиреоидит)). Более предпочтительные такие заболевания включают, например, ревматоидный артрит, язвенный колит, ANCA-ассоциированный васкулит, волчанку, рассеянный склероз, синдром Шегрена, болезнь Грейвса, ИЗСД, пернициозную анемию, тиреоидит и гломерулонефрит.

В некоторых аспектах субъект имеет пролиферативное расстройство, выбранное из неходжкинской лимфомы, включая диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДВКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) и В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (ВЛКМЗ); и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph- ОЛЛ). [Fielding A., Haematologica. 2010 Jan; 95(1): 8-12].

В некоторых аспектах у субъекта наблюдается диффузная В-крупноклеточная лимфома.

#### **Отбор пациентов**

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

В данном контексте индивидуумы, которых считают подходящими для лечения, представляют собой индивидуумы, которые, как ожидается, получают пользу от лечения или отвечают на него. Индивидуумы могут иметь рак или у них подозревается наличие рака, или быть в группе риска возникновения рака. Индивидуумы могли получить диагноз рак. В частности, индивидуумы могут иметь лимфому или у них подозревается наличие лимфомы или могут быть подвержены риску возникновения лимфомы. В некоторых случаях индивидуумы могут иметь или у них подозревается наличие, или иметь риск возникновения солидного рака, который имеет ассоциированные с опухолью неопухольевые клетки, экспрессирующие

CD19, такие как инфильтрирующие клетки, экспрессирующие CD19.

В некоторых аспектах индивидуумы отбираются на основе количества или паттерна экспрессии CD19. В некоторых аспектах выбор основан на экспрессии CD19 на поверхности клетки.

В определенных аспектах мишенью является BCL-2. В некоторых аспектах выбор основан на экспрессии BCL-2

В некоторых аспектах выбор основан на уровнях как CD19 на поверхности клетки, так и BCL-2.

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

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

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

В некоторых аспектах присутствие CD19 и/или в клетках в образце указывает на то, что индивидуум подходит для лечения комбинацией, содержащей анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агент. В других аспектах количество CD19 и/или экспрессия должны быть выше порогового уровня, чтобы указать, что индивидуум подходит для лечения. В некоторых аспектах наблюдение за изменением CD19 и/или локализации в образце по сравнению с контролем указывает на то, что индивидуум подходит для лечения.

В некоторых аспектах индивидуум определен как подходящий для лечения, если клетки, полученные из лимфатических узлов или внеузловых участков, вступают в реакцию с антителами к CD19 и/или как определено с помощью ИГХ.

В некоторых аспектах пациент считается пригодным для лечения, если по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или более всех клеток в образце экспрессируют CD19. В некоторых описанных в данном документе аспектах пациент считается пригодным для лечения, если по меньшей мере 10% клеток в образце экспрессируют CD19.

В некоторых аспектах пациент считается пригодным для лечения, если экспрессируется по меньшей мере в 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или более всех клеток в образце. В некоторых описанных в данном документе аспектах пациент считается пригодным для лечения, если экспрессируется по меньшей мере в 10% клеток в образце.

В некоторых аспектах индивидуум выбирается как подходящий для лечения на основании его текущей или предыдущей схемы лечения. В некоторых вариантах осуществления индивидуум выбирается для лечения анти-CD19 ADC, если индивидуум проходил лечение анти-BCL-2 агентом. В некоторых вариантах осуществления индивидуум выбирается для лечения анти-CD19 ADC, если индивидуум проходит лечение анти-BCL-2 агентом. В некоторых случаях индивидуум выбирается для лечения, если он невосприимчив к лечению (или дальнейшему лечению) анти-BCL-2 агентом. В некоторых случаях анти-BCL-2 агентом может быть венетоклакс. В вариантах осуществления, где индивидуум проходит или проходил лечение анти-BCL-2 агентом, анти-CD19 ADC можно вводить в комбинации с анти-BCL-2 агентом или без дальнейшего введения анти-BCL-2 агента.

В некоторых вариантах осуществления анти-CD19 ADC вводят выбранному индивидууму в комбинации с анти-BCL-2 агентом. В некоторых вариантах осуществления анти-CD19 ADC вводят выбранному индивидууму без дальнейшего введения анти-BCL-2 агента. Анти-BCL-2 агент предпочтительно представляет собой венетоклакс.

Термин "невосприимчивый к лечению (или дальнейшему лечению) анти-BCL-2 агентом" используется в данном документе для обозначения того, что заболевание (например, рак) не отвечает или перестает отвечать на введение анти-BCL-2 агента, вводимого в качестве монотерапии. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы с рефрактерной НХЛ идентифицируются с использованием критериев оценки ответа, описанных в Cheson et al., 2014 (South Asian J Cancer. 2014 Jan-Mar; 3 (1): 66-70). В этом документе не отвечающие на лечение индивидуумы определяются как те, у которых имеется либо (i) увеличение на > 50% от надира суммы произведений диаметров любого ранее идентифицированного аномального узла, либо (ii) появление любого нового поражения во время или по окончании терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы с рефрактерной лейкемией идентифицируются как пациенты со стабильным или прогрессирующим заболеванием, которые завершили один полный цикл лечения, или как пациенты, которые достигают частичного ответа после двух или более полных циклов лечения.

Термин "проходит лечение" используется в данном документе для обозначения того, что индивидуум либо получал рассматриваемый агент в течение предыдущих 3 недель, либо ему назначено лечение в течение следующих 3 недель. В некоторых вариантах осуществления термин "проходит лечение" используется в данном документе для обозначения того, что индивидуум получает рассматриваемый агент в одном и том же цикле лечения.

Термин "проходил лечение" используется в данном документе для обозначения того, что индивидуум получал агент в любой предыдущий момент времени. В некоторых вариантах осуществления термин "проходил лечение" используется в данном документе для обозначения того, что пациент получал рас-

смаатриваемый агент в течение предыдущих 12 месяцев, например, в течение предыдущих 3 месяцев. В некоторых вариантах осуществления термин "проходил лечение" используется в данном документе для обозначения того, что индивидуум получал агент в непосредственно предшествующем цикле лечения.

### **Образцы**

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

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

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

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

В некоторых случаях образец представляет собой образец крови или образец, полученный из крови. Образец, полученный из крови может представлять собой выбранную фракцию крови индивидуума, например, выбранную фракцию, содержащую клетки, или фракцию плазмы или сыворотки.

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

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

Первым целевым полипептидом может быть CD19.

### **Статус индивидуума**

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

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

В некоторых аспектах, описанных в данном документе, индивидуум имеет или у него подозревается наличие или был идентифицирован как подверженный риску возникновения рака. В некоторых аспектах, описанных в данном документе, индивидууму уже был поставлен диагноз рак. Индивидууму может быть поставлен диагноз неходжкинская лимфома, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) и В-клеточную лимфому из клеток и маргинальной зоны (ВЛКМЗ), и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такие как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ) [Fielding A., *Haematologica*. 2010 Jan; 95(1): 8-12].

В некоторых случаях индивидууму поставили диагноз неходжкинская лимфома, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хроническую лимфатическую лимфому (ХЛЛ) и В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (ВЛКМЗ); и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ

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

В некоторых случаях индивидууму поставили диагноз солидный рак, содержащий инфильтрирующие клетки, экспрессирующие CD19 +.

Индивидуум может проходить или проходил терапевтическое лечение этого вида рака. Субъект мог получать или мог не получать ранее ADCX19. В некоторых случаях рак представляет собой лимфому, включая неходжкинскую лимфому.

Индивидуум может проходить или проходил лечение анти-BCL-2 агентом. В некоторых случаях человек индивидууму быть невосприимчивым к лечению (или дальнейшему лечению) анти-BCL-2 агентом. В некоторых случаях анти-BCL-2 агентом может быть венетоклакс. В вариантах осуществления, где индивидуум проходит или проходил лечение анти-BCL-2 агентом, анти-CD19 ADC можно вводить в комбинации с анти-BCL-2 агентом или без дальнейшего введения анти-BCL-2 агента.

#### **Контроли**

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

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

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

Контроли могут представлять собой образцы тканей, взятых у индивидуумов, которые, как известно, получают пользу от лечения. Ткань может быть того же типа, что и исследуемый образец. Например, образец опухолевой ткани от индивидуума можно сравнить с контрольным образцом опухолевой ткани от индивидуума, о котором известно, что он подходит для лечения, например, от индивидуума, который ранее отвечал на лечение.

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

В некоторых случаях контролем является образец клеточной культуры.

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

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

Способы могут включать интерпретацию морфологии и иммуногистохимии гематологом для обеспечения точной интерпретации результатов тестов. Способ может включать подтверждение того, что паттерн экспрессии коррелирует с ожидаемым паттерном. Например, когда анализируется уровень экспрессии

CD19 и/или BCL-2, способ может включать подтверждение того, что в тестируемом образце экспрессия наблюдается как окрашивание мембраны с цитоплазматическим компонентом. Способ может включать подтверждение того, что соотношение целевого сигнала к шуму выше порогового уровня, что позволяет четко различать конкретные и неспецифические фоновые сигналы.

#### **Способы лечения**

Термин "лечение", используемый в данном документе в контексте лечения патологического состояния, относится в целом к лечению и терапии человека или животного (например, к ветеринарному применению), при которых достигается некоторый желаемый терапевтический эффект, например, подавление прогрессирования состояния, и включает снижение скорости прогрессирования, торможение скорости прогрессирования, регрессирование состояния, облегчение состояния и излечение состояния. Также включено лечение в качестве профилактической меры (т.е. профилактика, предотвращение).

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

Подобным образом, термин "профилактически эффективное количество" в контексте данного документа относится к количеству активного соединения или материала, композиции или лекарственной формы, содержащих активное соединение, которое эффективно для достижения некоторого желательного профилактического эффекта, связано с разумным соотношением польза/риск при введении в соответствии с назначенной схемой лечения.

Способы терапии описаны в данном документе. Также предложен способ лечения, включающий

введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агента. Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество, достаточное для того, чтобы обеспечить терапевтический эффект у субъекта. Такая польза может заключаться по меньшей мере в улучшении хотя бы одного симптома. Фактическое вводимое количество, а также частота и продолжительность введения будут зависеть от природы и тяжести заболевания, которое лечат. Назначение лечения, например принятие решения о дозе, входит в компетенцию терапевтов и других врачей. Субъект мог быть протестирован для определения его соответствия критериям для получения лечения в соответствии с раскрытыми в данном документе способами. Способ лечения может включать этап определения того, соответствует ли субъект критериям для получения лечения, с использованием раскрытого в данном документе способа.

Анти-CD19 ADC содержит антитело к CD19. Антитело к CD19 может быть RB4v1.2 антителом. ADC может содержать лекарственное средство, которое представляет собой димер PBD. ADC может быть ADCx19. ADC может представлять собой ADC, раскрытый в WO 2014/057117.

Анти-BCL-2 агентом может быть венетоклак (ABT-199), навитоклак (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимерсен (G3139). Предпочтительным анти-BCL-2 агентом является венетоклак (ABT-199).

Лечение может включать введение только комбинации анти-CD19 AE)/C/анти-BCL-2 агента или в дополнительной комбинации с другими видами лечения, одновременно или последовательно, в зависимости от патологического состояния, подлежащего лечению.

Примерный способ лечения включает:

- (1) идентификацию индивидуума, который проходил лечение или проходит лечение анти-BCL-2 агентом, таким как венетоклак;
- (2) введение индивидууму анти-CD19 ADC, такого как ADCx19; и, необязательно
- (3) введение индивидууму анти-BCL-2 агента, такого как венетоклак, в комбинации с анти-CD19 ADC (например, одновременно с ADC или после ADC).

Примеры лечения и терапии включают, но не ограничиваются ими, химиотерапию (введение активных агентов, включая, например, лекарственные средства, такие как химиотерапевтические средства), операцию; и лучевую терапию.

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

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

Другие примеры химиотерапевтических средств включают: оксалиплатин (ELOXATIN®, Sanofi), бортезомиб (VELCADE®, Millennium Pharm.), сутент (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), летрозол (FEMARA®, Novartis), иматиниба мезилат (GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (ингибитор Mek, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886 (ингибитор Mek, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (ингибитор PI3K, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (ингибитор PI3K, Novartis), XL-147 (ингибитор PI3K, Exelixis), РТК787/ЗК 222584 (Novartis), фулвестрант (FASLODEX®, AstraZeneca), лейковорин (фолиновая кислота), рапамицин (сиролимус, RAPAMUNE®, Wyeth), лапатиниб (ТYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), лонафарниб (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), сорафениб (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), гефитиниб (IRESSA®, AstraZeneca), иринотекан (СAMPТОSAR®, СРТ-11, Pfizer), типифарниб (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), АBRAXANE™ (без кремофора), альбуминовые нанокомпозиции паклитаксела (American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, IL), вандетаниб (rINN, ZD6474, ZAC-TIMA®, AstraZeneca), хлорамбуцил, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), темсиролимус (TORISEL®, Wyeth), пазопаниб (GlaxoSmithKline), канфосфамид (TELCYTA®, Telik), тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN®, NEOSAR®); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; ази-

ридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилендиофосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинон); камптотецин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; СС-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); криптофицины (особенно криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги KW-2189 и СВ1-ТМ1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урамустин; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как эндиновые антибиотики (например, калихеамицин, калихеамицин гаммаII, калихеамицин омегаII (Angew Chem. Intl. Ed. Engl.(1994) 33:183-186); динемистин, динемистин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также хромофор неокарзиностатина и родственные хромопротеиновые эндиновые антибиотические хромофоры), аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карзинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, морфолинодоксорубицин, цианоморфолинодоксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эсорубицин, идарубицин, неморубицин, марцелломицин, митомичины, такие как митомичин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфирамицин, пурамицин, келамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; пополнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновая кислота; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльфортин; эллиптиния ацетат; эпотион; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраерин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK® полисахаридный комплекс (JHS Natural Products, Юджин, Орегон); азоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; теназоновая кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ага-С"); циклофосфамид; тиотепа; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги на основе платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; винорелбин (NAVELBINE®); новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоклутетин; капецитабин (XELODA®, Roche); ибандронат; СРТ-11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифформетилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты и производные любого из вышеперечисленных. Могут использоваться комбинации средств, таких как СНР (доксорубицин, преднизон, циклофосфамид) или СНОР (доксорубицин, преднизон, циклофосфамид, винкристин).

В определении "химиотерапевтическое средство" также входят: (i) антигормональные агенты, которые регулируют или ингибируют действие гормонов на опухоли, такие как антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), включая, например, тамоксифен (включая NOLVADEX®; тамоксифена цитрат), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и FARESTON® (цитрат торемифена); (ii) ингибиторы ароматазы, которые ингибируют фермент ароматазу, который регулирует выработку эстрогена в надпочечниках, такие как, например, 4(5)-имидазолы, аминоклутетимид, MEGASE® (мегестрола ацетат), AROMASIN® (эксеместан; Pfizer), форместан, фадрозол, RIVISOR® (ворозол), FEMARA® (летрозол; Novartis) и ARMIDEX® (анастрозол; AstraZeneca); (iii) антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; а также троксацитабин (аналог цитозина 1,3-диоксоланового нуклеозида); (iv) ингибиторы протеинкиназы, такие как ингибиторы MEK (WO 2007/044515); (v) ингибиторы липидкиназы; (vi) бессмысловые олигонуклеотиды, особенно те, которые ингибируют экспрессию генов в сигнальных путях, участвующих в aberrантной пролиферации клеток, например, PKC-альфа, Raf и H-Ras, такие как облимерсен (GENASENSE®, Genta Inc.); (vii) рибозимы, такие как ингибиторы экспрессии VEGF (например, ANGIOZYME®) и ингибиторы экспрессии HER2; (viii) вакцины, такие как вакцины для генной терапии, например, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® и VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; ингибиторы топоизомеразы 1, такие как LURTOTECAN®; ABARELIX® gmRH; (ix) антиангиогенные средства, такие как бевацизумаб (AVASTIN®, Genentech); и фармацевтически приемлемые соли, кислоты и производные любого из вышеперечисленных.

Также в определение "химиотерапевтическое средство" входят лекарственные средства на основе моноклональных антител, такие как алемтузумаб (Campath), бевацизумаб (AVASTIN®, Genentech); цетуксимаб (ERBITUX®, Imclone); панитумумаб (VECTIBIX®, Amgen), пертузумаб (PERJETA™, OMNITARG™, 2C4, Genentech), трастузумаб (HERCEPTIN®, Genentech), MDX-060 (Medarex) и конъюгат антитело-лекарственное средство, гемтузумаб озогамицин (MYLOTARG®, Wyeth).

Гуманизированные моноклональные антитела с терапевтическим потенциалом в качестве химиотерапевтических средств в комбинации с конъюгатами по данному изобретению включают

алемтузумаб, аполизумаб, азелизумаб, атлизумаб, бапинеузумаб, бевацизумаб, биватузумаб мертанзин, кантузумаб мертанзин, седелизумаб, цертолизумаба пэгол, сидфузитузумаб, цидтузумаб, даклизумаб, экулизумаб, эфализумаб, эпратузумаб, эрлизумаб, фельвизумаб, фонтолизумаб, гемтузумаб озогамицин, инотузумаб озогамицин, ипилимумаб, лабетузумаб, линтузумаб, матузумаб, меполизумаб, мотавизумаб, мотовизумаб, натализумаб, нимотузумаб, ноловизумаб, нумавизумаб, омализумаб, паливизумаб, пасколизумаб, пекфузитузумаб, пектузумаб, пертузумаб, пекселизумаб раливизумаб, ранибизумаб, ресливизумаб, реслизумаб, ресивизумаб, ровелизумаб, руплизумаб, сибротузумаб, сиплизумаб, сонтузумаб, такатузумаб, тетракетан, тадоцизумаб, тализумаб, тефибазумаб, тоцилизумаб, торализумаб, трастузумаб, тукутузумаб, целмолейкин, тукуситузумаб, умавизумаб, уртоксазумаб и визилизумаб.

Композиции согласно данному изобретению предпочтительно представляют собой фармацевтические композиции. Фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением и для использования в соответствии с данным изобретением могут содержать, помимо активного ингредиента, то есть конъюгированного соединения, фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, носитель, буфер, стабилизатор или другие материалы, хорошо известные специалисту в данной области техники. Такие материалы должны быть нетоксичными и не должны влиять на эффективность активного ингредиента. Точная природа носителя или другого материала будет зависеть от пути введения, который может быть пероральным или путем инъекции, например кожной, подкожной или внутривенной.

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

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

### Дозировка

Специалисту в данной области техники будет понятно, что подходящие дозировки анти-CD19 ADC и/или анти-BCL-2 агента и композиций, содержащих эти активные элементы, могут варьироваться от субъекта к субъекту. Определение оптимальной дозы обычно включает уравновешивание уровня терапевтической пользы относительно любого риска или нежелательных побочных эффектов. Выбранный уровень дозировки будет зависеть от множества факторов, включая, но не ограничиваясь, активность конкретного соединения, способ введения, время введения, скорость выведения соединения, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в комбинации, тяжесть состояния и вид, пол, возраст, масса тела, патологическое состояние, общее состояние здоровья и предыдущий медицинский анамнез субъекта. Количество соединения и путь введения в конечном счете определяются суждением врача, ветеринара или клинициста, хотя в целом дозу выбирают таким образом чтобы обеспечивать местные концентрации в месте действия, которые обеспечивают желаемый эффект, не вызывая значительных вредных или опасных побочных эффектов.

В определенных аспектах дозировка анти-CD19 ADC определяется экспрессией CD19, наблюдаемой в образце, полученном от субъекта. Таким образом, уровень или локализация экспрессии CD19 в образце может указывать на то, что требуется более высокая или более низкая доза анти-CD19 ADC. Например, высокий уровень экспрессии CD19 может указывать на то, что подойдет более высокая доза анти-CD19 ADC. В некоторых случаях высокий уровень экспрессии CD19 может указывать на необходимость введения другого агента в дополнение к анти-CD19 ADC. Например, введение анти-CD19 ADC вместе с химиотерапевтическим агентом. Высокий уровень экспрессии CD19 может указывать на более агрессивную терапию.

В определенных аспектах дозировка анти-BCL-2 агента определяется экспрессией, наблюдаемой в образце, полученном от субъекта. Таким образом, уровень или локализация экспрессии в образце может

указывать на то, что требуется более высокая или более низкая доза анти-BCL-2 агента. Например, высокий уровень экспрессии BCL-2 может указывать на то, что подойдет более высокая доза анти-BCL-2 агента. В некоторых случаях высокий уровень экспрессии BCL-2 может указывать на необходимость введения другого агента в дополнение к анти-BCL-2 агенту. Например, введение анти-BCL-2 агента вместе с химиотерапевтическим агентом. Высокий уровень экспрессии BCL-2 может указывать на более агрессивную терапию.

Введение можно осуществлять одной дозой, непрерывно или с перерывами (например, дробными дозами с соответствующими интервалами) на протяжении курса лечения. Способы определения наиболее эффективных средств и доз для введения хорошо известны специалистам в соответствующей области техники, и варьируют в зависимости от препаратов, применяемых для терапии, цели терапии, клетки (клеток)-мишени(ей) лечения и субъекта, подлежащего лечению. Однократное или многократное введение могут осуществляться с применением уровня дозы и схемы введения, выбранных лечащим врачом, ветеринаром или клиницистом.

Как правило, подходящая доза каждого активного соединения находится в диапазоне от около 100 нг до около 25 мг (более типично от около 1 мкг до около 10 мг) на килограмм массы тела субъекта в сутки. В случае, когда активное соединение представляет собой соль, сложный эфир, амид, пролекарство и т. п., вводимое количество рассчитывают по исходному соединению таким образом, чтобы пропорционально увеличить фактически применяемую массу.

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

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

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

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

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

Для анти-CD19 ADC, где ADC, несущий PBD, количество доз, описанное выше, может применяться к конъюгату (включая фрагмент PBD и линкер к антителу) или к эффективному количеству предоставленного соединения PBD, например, количеству соединения, которое высвобождается после расщепления линкера.

Анти-CD19 ADC содержит антитело к CD19. Антитело к CD19 может быть RB4v1.2 антителом. ADC может содержать лекарственное средство, которое представляет собой димер PBD. Анти-CD19-ADC может представлять собой ADCx19. ADC может представлять собой ADC, раскрытый в WO 2014/057117.

Анти-BCL-2 агентом может быть венетоклак (ABT-199), навитоклак (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимесен (G3139). Предпочтительным анти-BCL-2 агентом является венетоклак (ABT-199).

#### **Антитела**

Термин "антитело" в контексте данного документа используется в самом широком смысле и конкретно охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, димеры, мультимеры, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), интактные антитела (также описываемые как "полноразмерные" антитела) и фрагменты антител, при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность, например, способность связывать CD19 (Miller et al. (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Антитела могут представлять собой мышинные, человеческие, гуманизированные, химерные антитела или могут быть получены от других видов, таких как кролик, коза, овца, лошадь или верблюд.

Антитело представляет собой белок, вырабатываемый иммунной системой, который способен распознавать и связываться с конкретным антигеном. (Janeway, C, Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York). Целевой антиген обычно имеет множество сайтов связывания, также называемых эпитопами, распознаваемых определяющими комплементарность областями (CDR) на множественных антителах. Каждое антитело, которое специфически связывается с разными эпитопами, имеет разную структуру. Таким образом, один антиген может иметь более одного соответствующего антитела. Антитело может содержать полноразмерную молекулу иммуноглобулина или иммунологически активную часть полноразмерной молекулы иммуноглобулина, то есть молекулу, которая содержит антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывает антиген представляющей интерес цели или ее части, такие мишени включают, но не ограничиваются ими, раковая клетка или клетки, вырабатывающие аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Иммуноглобулин может представлять собой иммуноглобулин любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2), подкласса или аллотипа (например, G1m1, G1m2, G1m3, не-G1m1 [то есть любой аллотип, отличный от G1m1], G1m17, G2m23, G3m21,

G3m28, G3m11, G3m5, G3m13, G3m14, G3m10, G3m15, G3m16, G3m6, G3m24, G3m26, G3m27, A2m1, A2m2, Km1, Km2 и Km3 человека) молекулы иммуноглобулина. Иммуноглобулины могут быть получены от любого вида, включая иммуноглобулины происходящие от человека, мыши или кролика.

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

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

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

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

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

#### **Краткое описание графических материалов**

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

Фиг. 1. Последовательности

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

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

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

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

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

#### **Некоторые варианты осуществления**

Следующие параграфы описывают некоторые конкретные варианты осуществления данного изобретения:

1. Способ выбора индивидуума, подходящего для лечения ADCx19 или ADCT-402, или ADCT-402, в котором индивидуума выбирают для лечения ADCx19 или ADCT-402, если индивидуум проходил лечение венетоклаксом.

2. Способ выбора индивидуума, подходящего для лечения ADCx19 или ADCT-402, в котором индивидуума выбирают для лечения ADCx19 или ADCT-402, если индивидуум проходит лечение венетоклаксом.

3. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуума выбирают для лечения, если индивидуум невосприимчив к лечению или дальнейшему лечению венетоклаксом.

4. Способ лечения расстройства у индивидуума, включающий:

(i) выбор индивидуума, подходящего для лечения, способом по любому из пп.1-3 и

(ii) введение индивидууму эффективного количества ADCx19 или ADCT-402.

5. Способ по п.4, дополнительно включающий введение венетоклакса в комбинации с ADCx19 или ADCT-402.

6. Способ лечения расстройства у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества ADCx19 или ADCT-402 и венетоклакса.

7. Способ по п.6, в котором индивидуума выбирают для лечения в соответствии со способом по любому из пп.1-3.

8. Способ по любому из пп.5-7, в котором лечение включает введение ADCx19 или ADCT-402 до введения венетоклакса, одновременно с венетоклаксом или после введения венетоклакса.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором лечение дополнительно включает введение химиотерапевтического агента.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум является человеком.

11. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум имеет или было определено, что он имеет расстройство.

12. Способ по п.11, в котором индивидуум имеет или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует CD19 или имеет опухоль-ассоциированные CD19+ неопухолевые клетки, такие как инфилтрирующие CD19+ клетки.

13. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором пациент проходит лечение венетоклаксом.

14. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором пациент прошел лечение венетоклаксом.

15. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум невосприимчив к лечению или дальнейшему лечению венетоклаксом.

16. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором лечение имеет повышенную эффективность по сравнению с монотерапией только ADCx19, ADCT-402 или венетоклаксом.

17. Способ по любому предыдущему пункту, в котором расстройство представляет собой пролиферативное заболевание.

18. Способ по п.17, в котором расстройство представляет собой рак.

19. Способ по п.18, в котором расстройство выбрано из группы, включающей: неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) и В-клеточную лимфому из клеток и маргинальной зоны (ВЛКМЗ), и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такие как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ).

20. ADCx19 или ADCT-402 для применения в способе лечения согласно любому из пп.4-19.
21. Композиция, содержащая ADCx19 или ADCT-402, для применения в способе лечения по любому из пп.4-19.
22. Венетоклакс для применения в способе лечения по любому из пп.5-19.
23. Композиция, содержащая венетоклакс, для применения в способе лечения по любому из пп.5-19.
24. Применение ADCx19 или ADCT-402 при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает способ по любому из пп.4-19.
25. Применение венетоклакса при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает способ по любому из пп.5-19.
26. Набор, содержащий первое лекарственное средство, содержащее ADCx19 или ADCT-402; листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства в соответствии со способом по любому из пп.4-19.
27. Набор по п.26, дополнительно содержащий второе лекарственное средство, содержащее венетоклакс.

### Сущность изобретения

1. Способ выбора индивидуума, подходящего для лечения анти-CD19 ADC, в котором индивидуума выбирают для лечения анти-CD19 ADC, если индивидуум проходил лечение анти-BCL-2 агентом.
2. Способ выбора индивидуума, подходящего для лечения анти-CD19 ADC, в котором индивидуума выбирают для лечения анти-CD19 ADC, если индивидуум проходит лечение анти-BCL-2 агентом.
3. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуума выбирают для лечения, если индивидуум невосприимчив к лечению или дальнейшему лечению анти-BCL-2 агентом.
4. Способ лечения расстройства у индивидуума, включающий:
  - (i) выбор индивидуума, подходящего для лечения, способом по любому из пп.1-3 и
  - (ii) введение индивидууму эффективного количества анти-CD19 ADC.
5. Способ по п.4, дополнительно включающий введение анти-BCL-2 агента в комбинации с анти-CD19ADC.
6. Способ лечения расстройства у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества анти-CD19 ADC и анти-BCL-2 агента.
7. Способ по п.6, в котором индивидуума выбирают для лечения в соответствии со способом по любому из пп.1-3.
8. Способ по любому из пп.5-7, в котором лечение включает введение анти-CD19 ADC перед анти-BCL-2 агентом, одновременно с анти-BCL-2 агентом или после анти-BCL-2 агента.
9. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором лечение дополнительно включает введение химиотерапевтического агента.
10. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум является человеком.
11. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум имеет или было определено, что он имеет расстройство.
12. Способ по п.11, в котором индивидуум имеет или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует CD19 или имеет опухоль-ассоциированные CD19+ неопухолевые клетки, такие как инфильтрирующие CD19+ клетки.
13. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум проходит лечение анти-BCL-2 агентом.
14. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум прошел лечение анти-BCL-2 агентом.
15. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум невосприимчив к лечению или дальнейшему лечению анти-BCL-2 агентом.
16. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором лечение имеет повышенную эффективность по сравнению с монотерапией только анти-CD19 ADC или только анти-BCL-2 агентом.
17. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором анти-CD19 ADC представляет собой ADCx19.
- 17а. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором анти-CD19 ADC представляет собой ADCT-402.
18. Способ по любому предыдущему пункту, в котором расстройство представляет собой пролиферативное заболевание.
19. Способ по п.18, в котором расстройство представляет собой рак.
20. Способ по п.19, в котором расстройство выбрано из группы, включающей неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) и В-клеточную лимфому из клеток и маргинальной зоны (ВЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такие как

положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ).

21. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором анти-BCL-2 агент выбран из группы, состоящей из венетоклакса (ABT-199), навитоклакса (ABT-263), ABT-737, S55746/BCL201 и облимерсена (G3139).

22. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором анти-BCL-2 агентом является венетоклакс.

23. Анти-CD19 ADC для применения в способе лечения по любому из пп.4-22.

24. Композиция, содержащая анти-CD19 ADC, для применения в способе лечения по любому из пп.4-22.

25. Анти-BCL-2 агент для применения в способе лечения по любому из пп.5-22.

26. Композиция, содержащая анти-BCL-2 агент, для применения в способе лечения по любому из пп.5-22.

27. Применение анти-CD19 ADC в производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает способ по любому из пп.4-22.

28. Применение анти-BCL-2 агента в производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает способ по любому из пп.5-22.

29. Набор, содержащий первое лекарственное средство, содержащее анти-CD19 ADC; листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства в соответствии со способом по любому из пп.4-22.

30. Набор по п.29, дополнительно содержащий второе лекарственное средство, содержащее анти-BCL-2 агент.

### Примеры

В следующих примерах:

Клеточные линии, экспрессирующие CD19, подходящие для использования в примерах, включают клетки Ramos, Daudi, Raji, WSU-DLCL и NALM-6.

Заболевание А - диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома/ДБКЛ представляет собой агрессивный тип неходжкинской лимфомы, который развивается из В-клеток лимфатической системы. Это самая большая подгруппа неходжкинских лимфом.

Заболевание В - мантийноклеточная лимфома/МКЛ представляет собой редкую В-клеточную НХЛ, которая чаще всего поражает мужчин старше 60 лет. Заболевание может быть агрессивным (быстрорастущее), но у некоторых пациентов оно также может протекать более индолентно (медленнорастущее). МСЛ составляет около пяти процентов всех НХЛ.

Заболевание С - фолликулярная лимфома/ФЛ представляет собой довольно индолентный тип НХЛ с длительным временем выживания, но от которого очень трудно добиться излечения; он также может трансформироваться в более агрессивные формы лимфомы.

Пример 1.

В отдельном эксперименте, клеточные линии, экспрессирующие CD19, инкубировали в течение 0, 6, 24 и 48 ч с этопозидом (отрицательный контроль) и оксалиплатином (положительный контроль), 1 мкг/мл анти-CD19 ADC (ADC нацеленное на CD19 с димером PBD в виде активной нагрузки), 1 мкг/мл антитела к CD19 (антитело в ADC) и 1 мкг/мл B12-SG3249 (несвязывающий контроль ADC с той же полезной нагрузкой PBD, что и анти-CD19 ADC).

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

Пример 2.

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

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

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

анти-CD19 ADC (см., например, WO 2014/057117, WO 2016/166298, WO 2014/057122 и WO 2016/166307)

анти-BCL-2 агента (см. KS Peggs et al. 2009, *Clinical and Experimental Immunology*, 157: 9-19 [doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03912.x])

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

Кроме того, оно предоставит предварительные доказательства того, что комбинация может увеличить частоту и продолжительность ответов по сравнению с опубликованными данными для лечения монотерапией анти-CD19 ADC или анти-BCL-2 агентом.

Каждая группа заболеваний может включать подгруппу пациентов, ранее проходивших лечение анти-BCL-2 агентом, чтобы выяснить, может ли комбинированная терапия преодолеть резистентность к терапии анти-BCL-2 агентом. Для каждого заболевания не предполагается применять конкретный молекулярный отбор, поскольку имеющиеся в настоящее время данные, как правило, не поддерживают включение пациентов на основе утвержденных молекулярных диагностических тестов.

#### Обоснование начальной дозы анти-CD19 ADC

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

#### Обоснование начальной дозы анти-BCL-2 агента

Уже установленная RDE для анти-BCL-2 агента (в мкг/кг, вводимых каждые три недели) будет использоваться для всех пациентов в этом исследовании. Для обеспечения безопасности пациента будет использоваться начальная доза ниже RDE; начальный уровень дозы будет таким, при котором польза для пациента все еще может быть продемонстрирована в исследовании SA1, что позволяет предположить, что пациенты, зарегистрированные при таком уровне дозы, получают хотя бы некоторую пользу от участия.

#### Цели и относящиеся конечные точки

Цель	Конечная точка
<p><i>Первичная цель</i></p> <p>Охарактеризовать безопасность и переносимость ADC в комбинации с анти-BCL-2 агентом, а также определить рекомендуемые дозы и графики для будущих исследований.</p>	<p>Определить частоту и тяжесть НЯ и СНЯ, возникших в связи с лечением</p> <p>Определить изменения между лабораторными параметрами на исходном уровне и после исходного уровня, и показателями жизненно важных функций</p> <p>Определить частоту случаев дозолимитирующей токсичности (ДЛТ), во время первого цикла лечения (только с повышением дозы)</p> <p>Определить частоту прерывания приема и снижения дозы</p>
<p><i>Вторичные цели</i></p> <p>Оценить клиническую активность комбинации ADC с анти-BCL-2 агентом.</p> <p>Охарактеризовать фармакокинетический (ФК) профиль каждого из двух соединений ADC и анти-BCL-2 агента</p> <p>Проверить наличие доказательств иммуногенности и ADA к ADC</p>	<p>ORR (частота объективного ответа), DOR (продолжительность ответа), PFS (выживаемость без признаков прогрессирования заболевания), OS (общая выживаемость)</p> <p>AUC и C<sub>max</sub> для каждого соединения</p> <p>Проверить содержание антител к лекарственному препарату (ADA) до, во время и после лечения ADC</p>
<p><i>Исследовательские цели</i></p> <p>Изучить потенциальную корреляцию профилей ФК с безопасностью/переносимостью и эффективностью.</p> <p>Охарактеризовать изменения иммунного инфильтрата при опухолях.</p> <p>Охарактеризовать изменение уровней циркулирующих цитокинов в плазме и маркеров активации в циркулирующих иммунных клетках.</p>	<p>Определить коэффициенты корреляции между AUC и/или C<sub>max</sub> для каждого соединения или показателя соединения и любыми переменными безопасности или эффективности</p> <p>Провести иммуногистохимический анализ биопсий опухоли до и после лечения,</p> <p>Провести измерения (например, с помощью ИФА) иммунологически значимых цитокинов в плазме или сыворотке; определить уровни окрашивания для маркеров активации циркулирующих иммунных клеток (например, FACS)</p>

### Дизайн исследования

Данное исследование представляет собой многоцентровое открытое исследование фазы Ib для обеспечения характеристики безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК), фармакодинамики (ФД) и противоопухолевой активности ADC в комбинации с анти-BCL-2 агентом у пациентов с заболеванием А, заболеванием В и заболеванием С.

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

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

Предполагаемая безопасная начальная доза составляет 33% от предполагаемой эффективной дозы для обоих соединений, но может потребоваться адаптация к более низкой или более высокой, в зависимости от индивидуального профиля риска для комбинации.

Соединение 1 должно быть соединением, для которого установлена эффективная клиническая доза (на уровне 100%) и, следовательно, предполагается, что оно будет быстро получено пациентами испытания путем увеличения дозы этого соединения сначала.

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

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

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

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

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

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

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

### Часть повышения дозы

Во время части исследования с повышением дозы пациенты будут проходить лечение фиксированной дозой ADC, вводимой внутривенно, и повышающимися дозами анти-BCL-2 агента до достижения RDE для анти-BCL-2 агента. Впоследствии дозы ADC повышаются (в разных группах), тогда как доза анти-BCL-2 агентом остается постоянной.

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

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

Повышение дозы не допускается, если от 2 или более пациентов не имеется полной информации о

ДЛТ в течение первого цикла при любом заданном уровне дозы. Повышение дозы будет определяться с использованием mCRM с целевой частотой ДЛТ 30% и интервалом эквивалентности от 20 до 35%, а также с повышением дозы с контролем передозировки (EWOC) и без пропуска дозы.

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

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

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

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

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

Надзор за безопасностью, осуществляемый Руководящим комитетом по повышению дозы DESC, состоящий из ADC Therapeutics и исследователей, будет постоянно анализировать безопасность пациентов в течение DE, чтобы определить, оправдывает ли график повышения дозы, предписанный mCRM, изменения. Помимо наблюдений за безопасностью данные ФК и/или ФД также могут использоваться для принятия решений. Промежуточные дозы могут быть назначены после согласования между ADC Therapeutics и исследователями. DESC может продолжать осуществлять надзор во время Части 2. Официальный совет по контролю за безопасностью данных (DSMB) использоваться не будет.

Часть использования ранее установленной максимальной переносимой дозы в расширенной популяции

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

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

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

В каждой группе лечения будет разрешено лечение максимум около шести пациентов, которые получали лечение и у которых наблюдалось прогрессирование заболевания на предшествующем однократном введении (т.е. не в комбинации) терапии анти-BCL-2 агентом. Это число может быть увеличено, если комбинация обещает преодолеть резистентность к предыдущему лечению однократным введением анти-BCL-2 агента.

#### **Популяция пациентов**

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

#### **Критерии включения**

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

1. Письменное информированное согласие должно быть получено до начала любых процедур.
2. Возраст 18 лет.
3. Пациенты с распространенным/метастатическим раком, с поддающимся измерению заболеванием, как определено в RECIST версии 1.1, у которых заболеванием прогрессирует, несмотря на стандартную терапию, или, которые, не переносят стандартную терапию, или для которых стандартной терапии не существует. Пациенты должны входить в одну из следующих групп:
  - Заболевание А
  - Заболевание В
  - Заболевание С
4. Показатель общего состояния по шкале по шкале ECOG 0-1 (или 2 TBC)
5. TBC: Пациент должен иметь место заболевания, поддающееся биопсии, и быть кандидатом на биопсию опухоли в соответствии с рекомендациями лечебного учреждения. Пациент должен быть готов пройти новую биопсию опухоли на исходном уровне и еще раз во время терапии в этом исследовании. 6. Допускается предварительная терапия анти-BCL-2 агентом или родственными соединениями (то есть такими же MOA).

#### **Критерий невключения**

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

1. Тяжелые реакции гиперчувствительности к другим mAb в анамнезе (ИЛИ к mAb с тем же остовом, что и в ADC, ИЛИ к тому же mAb ИО, если применимо)
2. Данные в анамнезе о положительных сывороточных ADA человека к каркасу mAb как в ADC
3. Только заболевание центральной нервной системы (ЦНС) (если применимо)
4. Симптоматические метастазы в ЦНС или признаки лептоменингеальной болезни (МРТ головного мозга или ранее задокументированная цитология спинномозговой жидкости (СМЖ))

Ранее пролеченные бессимптомные метастазы в ЦНС разрешены при условии, что последнее лечение (системная противоопухолевая терапия и/или местная лучевая терапия) было завершено  $\geq 8$  недель до 1<sup>го</sup> дня дозирования, за исключением того, что допускается использование низких доз стероидов в дополнении)

Подходят пациенты с дискретными метастазами в твердой мозговой оболочке.

5. Пациент, имеющий лабораторные показатели, выходящие за пределы допустимого диапазона, определенные как:

Уровень креатинина сыворотки  $\leq 1,5 \times \text{ULN}$  (верхняя граница нормы). Если уровень креатинина сыворотки  $> 1,5$ , клиренс креатинина (рассчитанный по формуле Кокрофта-Голта или измеренный) должен быть  $> 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, чтобы пациент имел право на участие в исследовании.

Уровень общего билирубина  $> 1,5 \times \text{ULN}$ , за исключением пациентов с синдромом Жильбера, которые исключаются, если уровень общего билирубина  $> 3,0 \times \text{ULN}$  или уровень прямого билирубина  $> 1,5 \times \text{ULN}$

Уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ)  $> 3 \times \text{ULN}$ , за исключением пациентов с опухолевым поражением печени, которые исключаются, если уровень АЛТ  $> 5 \times \text{ULN}$

Уровень аспаратаминотрансферазы (АСТ)  $> 3 \times \text{ULN}$ , за исключением пациентов с опухолевым поражением печени, которые исключаются, если уровень АСТ  $> 5 \times \text{ULN}$

Абсолютное количество нейтрофилов  $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$

Количество тромбоцитов  $< 75 \times 10^9/\text{л}$

Уровень гемоглобина (Hgb)  $< 8$  г/дл

Калий, магний, кальций или фосфатная аномалия  $> \text{СТСАЕ}$  степени 1, несмотря на соответствующую заместительную терапию

6. Нарушение сердечной функции или клинически значимое сердечное заболевание, включая любое из следующего:

Клинически значимое и/или неконтролируемое заболевание сердца, такое как застойная сердечная недостаточность, требующая лечения (степень III или IV по NYHA), или неконтролируемая

гипертензия, определяемая систолическим артериальным давлением (САД) 160 мм рт.ст. и/или диастолическим артериальным давлением (ДАД) 100 мм рт.ст. антигипертензивными лекарственными средствами или без них.

QTcF  $> 470$  мс для женщин или  $> 450$  мс для мужчин на скрининговой ЭКГ с коррекцией Фридерисии, врожденный синдром удлиненного интервала QT

Острый инфаркт миокарда или нестабильная стенокардия  $< 3$  месяцев (месяцев до включения в исследование)

Клинически значимое заболевание клапанов сердца с документально подтвержденным нарушением сердечной функции

#### **Симптоматический перикардит**

Данные в анамнезе или текущая документально подтвержденная кардиомиопатия

Фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ) < 40%, как определено с помощью эхокардиограммы (ЕСНО) или радиоизотопной вентрикулографии (MUGA)

Наличие в анамнезе или наличие любых клинически значимых сердечных аритмий, например желудочковых, наджелудочковых, узловых аритмий или нарушений проводимости (квалификатор ТВС:... требуется кардиостимулятор или не контролируется лекарственными средствами)

Наличие нестабильной фибрилляции предсердий (частота желудочкового ответа > 100 ударов в минуту).

Примечание: Пациенты со стабильной фибрилляцией предсердий могут быть включены в исследование при условии, что они не соответствуют другим критериям исключения со стороны заболеваний сердца.

Полная блокада левой ножки пучка Гиса (БПНПГ), двухпучковая блокада

Любые клинически значимые отклонения сегмента ST и/или зубца T.

7. Токсичность, связанная с предшествующей ИО терапией, которая привела к прекращению терапии. Не исключаются адекватно пролеченные пациенты с лекарственной сыпью на коже или с заместительной терапией при эндокринопатиях, при условии, что эти токсические эффекты не привели к прекращению предшествующего лечения.

8. Пациенты с активным, известным или подозреваемым аутоиммунным заболеванием. Субъекты с витилиго, сахарным диабетом I типа, остаточным гипотиреозом из-за аутоиммунного состояния, требующего только заместительную гормональную терапию, псориазом, не требующим системного лечения, или состояниями, для которых не ожидаются повторения в отсутствие внешнего триггера, разрешены к включению при условии, что триггера можно избежать.

9. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) или активная инфекция вируса гепатита В (ВГВ) или гепатита С (ВГС)

Тестирование не является обязательным для участия. Следует рассмотреть возможность тестирования на ВГС, если у пациента есть риск недиагностированного ВГС (например, употребление инъекционных наркотиков в анамнезе).

10. Злокачественные заболевания, не относящиеся к лечению в данном исследовании. Исключения из этого исключения включают следующее: злокачественные новообразования, которые лечились до излечения и не рецидивировали в течение 2 лет до исследуемого лечения; полностью резецированный базально-клеточный и плоскоклеточный рак кожи; любое злокачественное новообразование, считающееся безболезненным и никогда не требующее лечения; и полностью резецированная карцинома *in situ* любого типа.

11. Системная противораковая терапия в течение 2 недель после первой дозы исследуемого лекарственного средства. Для цитотоксических агентов, которые обладают большой отсроченной токсичностью, например, митомицина С и нитрозомочевины, период вымывания составляет 4 недели. Для пациентов, получающих противоопухолевую иммунотерапию, такую как антагонисты CTLA-4, период вымывания составляет 6 недель.

12. Активная диарея СТСАЕ степени 2 или заболевание, связанное с хронической диареей (например, синдром раздраженного кишечника, воспалительное заболевание кишечника)

13. Наличие 2: Токсичность СТСАЕ 2 степени (за исключением алопеции, периферической нейропатии и ототоксичности, которые исключаются, если > = СТСАЕ степени 3) вследствие предшествующей терапии рака.

14. Активная инфекция, требующая системной антибактериальной терапии.

15. Активное изъязвление верхних отделов желудочно-кишечного тракта или желудочно-кишечное кровотечение

16. Активный кровотокающий диатез или прием пероральных лекарственных средств против витамина К (за исключением низких доз варфарина и аспирина или эквивалента, если INR <= 2,0)

17. Активное аутоиммунное заболевание, моторная нейропатия, имеющая аутоиммунное происхождение, и другие аутоиммунные заболевания ЦНС

18. Пациенты, которым требуются сопутствующие иммунодепрессанты или хроническое лечение кортикоидами, за исключением:

заместительная доза стероидов при надпочечниковой недостаточности

разрешены местные, ингаляционные, назальные и офтальмологические стероиды

19. Использование любых живых вакцин против инфекционных заболеваний (например, гриппа, ветряной оспы, пневмококка) в течение 4 недель после начала исследуемого лечения (примечание: использование живых вакцин не допускается на протяжении всего периода исследования)

20. Использование гемопоэтических колониестимулирующих факторов роста (например, Г-КСФ, ГМКСФ, М-КСФ) < 2 недель до начала приема исследуемого лекарственного средства. Эритроидстимулирующее средство разрешено, если оно было начато по крайней мере за 2 недели до первой дозы исследуемого лекарственного средства.

21. Серьезное хирургическое вмешательство в течение 2 недель после введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.

дуемого лекарственного средства (NB медиастиноскопия, введение устройства для доступа к центральным венам или введение зонда для питания не считаются серьезной операцией).

22. Лучевая терапия в течение 2 недель после первой дозы исследуемого лекарственного средства, за исключением паллиативной лучевой терапии в ограниченном поле, например, для лечения боли в костях или очагового болезненного образования опухоли. Чтобы можно было оценить ответ на лечение, пациенты должны иметь измеримое заболевание, которое не было облучено.

23. Участие в интервенционном исследовании в течение 2 недель после первой дозы исследуемого лекарственного средства.

24. Любое заболевание, которое по мнению исследователя может помешать участию пациента в клиническом исследовании из-за соображений безопасности, соблюдения процедур клинического исследования или интерпретации результатов исследования.

25. Сексуально активные мужчины, за исключением случаев, когда они используют презерватив во время полового акта во время приема лекарственного средства и в течение 90 дней после прекращения исследуемого лечения, и не должны иметь ребенка в этот период. Презервативы также должны использоваться мужчинами, подвергшимися вазэктомии, чтобы предотвратить доставку лекарственного средства через семенную жидкость.

26. Беременные или кормящие женщины, у которых беременность определяется как состояние женщины после зачатия и до прерывания беременности, подтвержденное положительным лабораторным тестом на ХГЧ. В редких случаях опухоли, секретирующей эндокрина, уровень ХГЧ может быть выше нормы, но при отсутствии беременности у пациента. В этих случаях следует провести повторный анализ ХГЧ в сыворотке (без приведения результата) и УЗИ влагалища/таза, чтобы исключить беременность. После подтверждения результатов и обсуждения с медицинским представителем эти пациенты могут участвовать в исследовании.

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

Полное воздержание (когда это соответствует предпочтительному и обычному образу жизни пациента. Периодическое воздержание (например, календарное, овуляционное, симптотермальное, постовульсионное) и отмена не являются приемлемыми способами контрацепции.

Женская стерилизация (наличие хирургической билатеральной овариэктомии с гистерэктомией или без), общая гистерэктомия или связывание маточных труб за не менее чем 6 недель, перед приемом лекарственного средства исследования. В случае только овариэктомии, только если репродуктивный статус женщины подтвержден последующей оценкой уровня гормонов.

Стерилизация мужчин (минимум за 6 месяцев до обследования). Для пациентов, участвовавших в исследовании, партнер-мужчина, подвергшийся вазэктомии, должен быть единственным партнером этого пациента.

Использование оральных (эстроген и прогестерон), вводимых или имплантированных гормональных способов контрацепции или размещение внутриматочных устройств (ВМС) или внутриматочной системы (ИУС) или других форм гормональной контрацепции, которые имеют сравнимую эффективность (частота отказов <1% ), например, гормональное вагинальное кольцо или трансдермальная гормональная контрацепция.

В случае использования оральных контрацептивов женщины должны быть стабильно на одной и той же таблетке в течение как минимум 3 месяцев до начала приема исследуемого лекарственного средства.

Женщины считаются постменопаузальными и не находящиеся в детородном возрасте, если у них в течение 12 месяцев была естественная (спонтанная) аменорея с соответствующим клиническим профилем (например, в соответствии с возрастом, анамнезом вазомоторных симптомов) или если они перенесли двустороннюю хирургическую овариэктомию (с гистерэктомией или без нее) или перевязку маточных труб не менее 6 недель назад. В случае только овариэктомии, только если репродуктивный статус женщины подтвержден последующей оценкой уровня гормонов, она считается не способной к деторождению.

#### **Дозолимитирующая токсичность и принципы модификации доз**

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

#### **Определения ДЛТ**

Гематологическая ДЛТ определяется как:

Фебрильная нейтропения или нейтропеническая инфекция 3 или 4 степени

Нейтропения 4 степени продолжительностью > 7 дней

Тромбоцитопения 4 степени

Тромбоцитопения 3 степени с клинически значимым кровотечением или тромбоцитопения 3 степени, требующая переливания тромбоцитов

Анемия 3 степени, требующая переливания

Анемия 4 степени

Негематологическая ДЛТ определяется как:

Негематологическая токсичность 4 степени

Негематологическая токсичность 3 степени, длящаяся > 3 дней, несмотря на оптимальную поддерживающую терапию или медицинское вмешательство

Случай закона Хай (уровень АСТ и/или АЛТ > 3x ULN и уровень билирубина > 2x ULN, и без первоначальных данных о холестазе (активность щелочной фосфатазы в сыворотке (ЩФ) < 2x ULN) и никакой другой причины, которая могла бы объяснить комбинацию повышенных уровней трансаминаз и общего билирубина в сыворотке, такая как вирусный гепатит А, В или С, ранее существовавшее или острое заболевание печени, или другое лекарство, способное вызвать наблюдаемое повреждение)

Гиперчувствительность 3 степени и выше/реакция, связанная с инфузией (независимо от премедикации). Гиперчувствительность 3 степени/реакция, связанная с инфузией, которая проходит в течение 8 часов после начала при соответствующем клиническом лечении, не квалифицируется как ДЛТ.

Снижение ФВЛЖ до < 40% или > 20% от исходного уровня

Синдром лизиса опухоли 4 степени (СЛЮ 3 степени не будет считаться ДОТ, если только он не приведет к необратимому повреждению целевого органа)

Следующие состояния не считаются негематологическими ДЛТ:

Усталость 3 степени в течение ≤ 7 дней

Диарея, тошнота или рвота 3 степени в отсутствие премедикации, которая реагирует на терапию и улучшается как минимум на 1 степень в течение 3 дней для явлений 3 степени или до ≤ 1 степени в течение 7 дней.

Повышение уровня АСТ или АЛТ  $\geq 5$  x ULN, но  $\leq 8$  x ULN, без одновременного повышения уровня билирубина, которое понижается до ≤ 2 степени в течение 5 дней после начала.

Липаза сыворотки или амилаза сыворотки 3 степени в течение ≤ 7 дней при отсутствии клинических признаков или симптомов панкреатита

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

#### **Модификации дозы**

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

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

Пример 3.

### Способы

Анализ пролиферации на основе МТТ и расчет IC50 на клеточных линиях, подвергшихся (96 ч) воздействию возрастающих концентраций ADCx19. Корреляция Пирсона (r): рассчитано для IC50 по сравнению с уровнями экспрессии CD19 на клеточной поверхности (абсолютное количественное определение флуоресценции с помощью микросфер Quantum Simply Cellular; неабсолютное, данные из PMID 29298756) и по сравнению с уровнями РНК (массивы HT-12 Illumina и панель биомаркеров онкологии HTG EdgeSeq, данные из PMID 29066507). Синергизм через 96 ч оценивали с помощью индекса комбинирования Chou-Talalay (CI) (CI синергизма  $< 0,9$ , аддитивный CI = 0, 9-1, 1, антагонизма/отсутствие пользы CI  $> 1,1$ ) на 2 активированных В-клеточных (ABC) ДВКЛ (OCI-LY-3, TMD8) и 2 зародышевых центрах (GCB) ДВКЛ (VAL, WSU-DLCL2).

### Результаты

Медиана IC50 ADCx19 составляла 4 пМ (95% ДИ, 2-10 пМ) в 48 линиях В-клеточной лимфомы и, как и ожидалось, исходя из профиля экспрессии CD19, более чем в 800 раз выше в 9 линиях Т-клеточных лимфом (3,5 нМ; 95% ДИ, 0,8-11 нМ). Сосредоточившись на В-клеточных лимфомах, активность ADCx19 in vitro коррелировала с его целевой экспрессией, измеренной как на уровне белка клеточной поверхности [(абсолютное количественное определение, n = 40, r -0,37 P 0,02; неабсолютное количественное определение, n = 42, -0,48, P 0,001] так и на уровне РНК [(массивы, n = 39, -0,69 P < 0,001; HTG, n = 31, -0,73 P 0,001]. При ДВКЛ наличие транслокаций BCL2 и MYC или инактивация TP53 не влияли на чувствительность к ADCx19.

Затем ADCx19 был объединен в клеточных линиях GCB- и ABC-ДВКЛ с ингибитором BCL2 вене-

токлаком.

Синергизм во всех клеточных линиях был достигнут при комбинировании ADCx19 с венетоклаком.

Клеточная линия : OCI-LY3

Идентификатор доступа к ячейке RRID: CVCL\_8800

ADCx19 (нМ)	Венетоклакс (нМ)	Fa	ДИ	ADCx19 (нМ)	Венетоклакс (нМ)	Fa	ДИ
0,02	2,44	0,88	0,55	1,56	156,25	0,37	0,51
0,02	9,77	0,75	0,46	1,56	625	0,24	0,64
0,02	39,06	0,63	0,74	1,56	2500	0,15	0,96
0,02	156,25	0,39	0,57	6,25	2,44	0,75	0,71
0,02	625	0,25	0,75	6,25	9,77	0,57	0,27
0,02	2500	0,17	1,36	6,25	39,06	0,48	0,34
0,1	2,44	0,83	0,29	6,25	156,25	0,30	0,29
0,1	9,77	0,73	0,40	6,25	625	0,19	0,40
0,1	39,06	0,61	0,64	6,25	2500	0,13	0,72
0,1	156,25	0,38	0,51	25	2,44	0,44	0,26
0,1	625	0,25	0,71	25	9,77	0,36	0,17
0,1	2500	0,17	1,23	25	39,06	0,23	0,09
0,39	2,44	0,92	1,67	25	156,25	0,16	0,09
0,39	9,77	0,76	0,56	25	625	0,10	0,13
0,39	39,06	0,59	0,54	25	2500	0,07	0,24
0,39	156,25	0,40	0,60	100	2,44	0,19	0,14
0,39	625	0,24	0,69	100	9,77	0,16	0,09
0,39	2500	0,15	1,01	100	39,06	0,12	0,06
1,56	2,44	0,86	0,85	100	156,25	0,08	0,04
1,56	9,77	0,71	0,42	100	625	0,04	0,03
1,56	39,06	0,53	0,38	100	2500	0,03	0,06

Клеточная линия : TMD8

Идентификатор доступа к ячейке RRID: CVCL\_A442 Ссылка: Tohda et al., Leuk. Res. 30:1385-1390 (2006).

ADCx19 (нМ)	Венетоклакс (нМ)	Fa	ДИ	ADCx19 (нМ)	Венетоклакс (нМ)	Fa	ДИ
0,02	2,44	0,98	3,70	0,39	156,25	0,81	1,63
0,02	9,77	0,96	3,64	0,39	625	0,68	1,40
0,02	39,06	0,87	1,02	0,39	2500	0,55	1,83
0,02	156,25	0,77	0,93	1,56	2,44	0,79	0,30
0,02	625	0,72	2,09	1,56	9,77	0,77	0,33
0,02	2500	0,59	2,45	1,56	39,06	0,68	0,33
0,1	2,44	0,94	0,47	1,56	156,25	0,64	0,48
0,1	9,77	0,87	0,29	1,56	625	0,51	0,50
0,1	39,06	0,88	1,19	1,56	2500	0,40	0,63
0,1	156,25	0,77	0,93	6,25	2,44	0,31	0,63
0,1	625	0,70	1,75	6,25	9,77	0,28	0,61
0,1	2500	0,59	2,46	6,25	39,06	0,21	0,55
0,39	2,44	0,95	0,82	6,25	156,25	0,19	0,54
0,39	9,77	0,87	0,32	6,25	625	0,10	0,44
0,39	39,06	0,81	0,47	6,25	2500	0,08	0,42

Клеточная линия: VAL

Идентификатор доступа к ячейке RRID: CVCL\_1819

ADCx19 (нМ)	Венетоклакс (нМ)	Fa	ДИ	ADCx19 (нМ)	Венетоклакс (нМ)	Fa	ДИ
0,02	2,44	0,73	0,70	0,39	2,44	0,52	0,77
0,02	9,77	0,46	0,81	0,39	9,77	0,32	0,72
0,02	39,06	0,21	0,98	0,39	39,06	0,13	0,66
0,1	2,44	0,66	0,64	1,56	2,44	0,28	1,04
0,1	9,77	0,42	0,77	1,56	9,77	0,16	0,74
0,1	39,06	0,19	0,92	1,56	39,06	0,05	0,43

Клеточная линия : WSU-DLCL2

Идентификатор доступа к ячейке RRID: CVCL 1902

ADCx19 (нМ)	Венетоклакс (нМ)	Fa	ДИ	ADCx19 (нМ)	Венетоклакс (нМ)	Fa	ДИ
0,02	2,44	0,87	0,21	1,56	625	0,65	1,76
0,02	9,77	0,91	1,98	1,56	2500	0,54	1,77
0,02	39,06	0,89	5,03	1,56	10000	0,14	0,03
0,02	156,25	0,85	7,56	6,25	2,44	0,61	0,70
0,02	625	0,77	6,89	6,25	9,77	0,57	0,52
0,02	2500	0,68	8,49	6,25	39,06	0,46	0,22
0,02	10000	0,13	0,03	6,25	156,25	0,43	0,19
0,1	2,44	0,87	0,40	6,25	625	0,38	0,18
0,1	9,77	0,89	1,58	6,25	2500	0,32	0,20
0,1	39,06	0,87	2,72	6,25	10000	0,13	0,03
0,1	156,25	0,84	6,53	25	2,44	0,32	0,23
0,1	625	0,79	10,42	25	9,77	0,27	0,15
0,1	2500	0,65	6,18	25	39,06	0,24	0,10
0,1	10000	0,13	0,03	25	156,25	0,22	0,08
0,39	2,44	0,88	1,21	25	625	0,19	0,07
0,39	9,77	0,89	2,50	25	2500	0,18	0,07
0,39	39,06	0,85	2,54	25	10000	0,07	0,01
0,39	156,25	0,80	2,98	100	2,44	0,23	0,35
0,39	625	0,73	4,18	100	9,77	0,20	0,26
0,39	2500	0,63	4,85	100	39,06	0,17	0,17
0,39	10000	0,13	0,03	100	156,25	0,15	0,13
1,56	2,44	0,85	2,47	100	625	0,14	0,11
1,56	9,77	0,82	1,87	100	2500	0,13	0,10
1,56	39,06	0,81	2,34	100	10000	0,04	0,01
1,56	156,25	0,77	2,71				

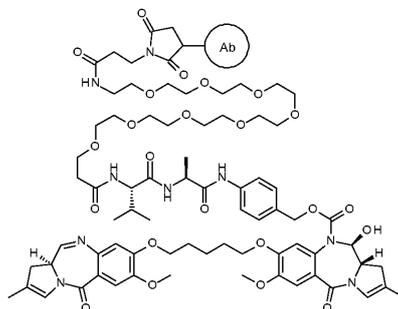
### Заключение

Сильная противолимфомная активность одного агента ADCx19 *in vitro* коррелирует с с его целевой экспрессией и поддерживает текущие клинические исследования рецидивирующей/рефрактерной ДВКЛ. Новые данные о комбинации венетоклакса указывают на клиническую синергию.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества анти-CD19 ADC (конъюгата антитела к CD19 с лекарственным средством) и венетоклакса;

причем указанный анти-CD19 ADC имеет химическую структуру



где Ab представляет собой антитело, содержащее домен VH, имеющий последовательность SEQ ID NO: 2, и домен VL, имеющий последовательность SEQ ID NO: 8.

2. Способ по п.1, в котором индивидуума выбирают для лечения.

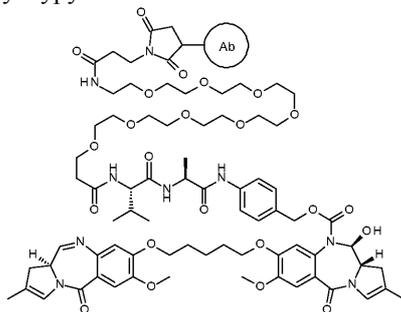
3. Способ по п.2, в котором индивидуума выбирают для лечения анти-CD19 ADC, если индивидуум проходил лечение венетоклаксом.

4. Способ по п.2, в котором индивидуума выбирают для лечения анти-CD19 ADC, если индивидуум проходит лечение венетоклаксом.

5. Способ по любому из предыдущих пунктов, причем индивидуума выбирают для лечения, если индивидуум не восприимчив к лечению или дальнейшему лечению венетоклаксом.

6. Способ лечения расстройства у индивидуума, включающий:

- (i) выбор индивидуума как подходящего для лечения способом по любому из пп.3-5 и
- (ii) введение указанному индивидууму эффективного количества анти-CD19 ADC; причем анти-CD19 ADC имеет химическую структуру



где Ab представляет собой антитело, содержащее домен VH, имеющий последовательность SEQ ID NO: 2, и домен VL, имеющий последовательность SEQ ID NO: 8.

7. Способ по п.6, дополнительно включающий введение венетоклакса в комбинации с анти-CD19ADC.

8. Способ по любому из пп.1-5 или 7, причем лечение включает введение анти-CD19 ADC перед венетоклаксом, одновременно с венетоклаксом или после венетоклакса.

9. Способ по любому из предыдущих пунктов, причем лечение дополнительно включает введение химиотерапевтического агента.

10. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором индивидуум является человеком.

11. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак.

12. Способ по п.11, в котором индивидуум имеет или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует CD19, или опухоль-ассоциированные CD19+ неопухолевые клетки, такие как инфильтрирующие CD19+ клетки.

13. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум проходит лечение венетоклаксом.

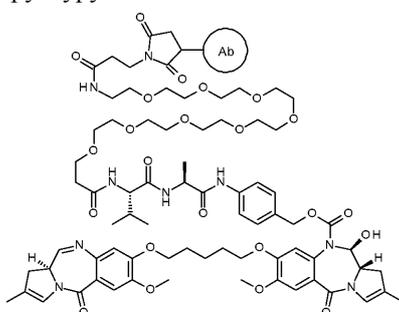
14. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум проходил лечение венетоклаксом.

15. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором индивидуум невосприимчив к лечению или дальнейшему лечению венетоклаксом.

16. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором лечение имеет повышенную эффективность по сравнению с монотерапией либо анти-CD19 ADC, либо только венетоклаксом.

17. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором рак выбран из группы, включающей неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) и В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (ВЛКМЗ), и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такие как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ).

18. Применение анти-CD19 ADC в способе лечения по любому из предыдущих пунктов, причем анти-CD19 ADC имеет химическую структуру

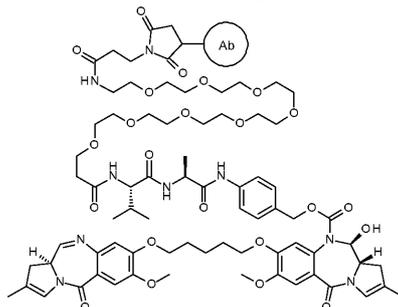


где Ab представляет собой антитело, содержащее домен VH, имеющий последовательность SEQ ID NO: 2, и домен VL, имеющий последовательность SEQ ID NO: 8

19. Применение венетоклакса в способе лечения по любому из предыдущих пунктов.

20. Применение анти-CD19 ADC в производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, где лечение включает способ по любому из предшествующих пунктов;

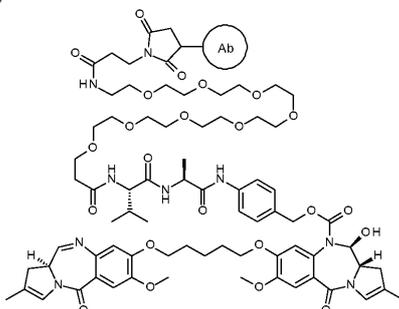
причем анти-CD19 ADC имеет химическую структуру



где Ab представляет собой антитело, содержащее домен VH, имеющий последовательность SEQ ID NO: 2, и домен VL, имеющий последовательность SEQ ID NO: 8.

21. Применение венетоклакса в изготовлении лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, где указанное лечение включает способ по любому из предыдущих пунктов.

22. Композиция для лечения рака, содержащая анти-CD19 ADC и венетоклак, причем анти-CD19 ADC имеет химическую структуру



где Ab представляет собой антитело, содержащее домен VH, имеющий последовательность SEQ ID NO: 2, и домен VL, имеющий последовательность SEQ ID NO: 8.

23. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции по п.22.

#### ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

##### SEQ ID NO. 1 (RB4v1.0 VH):

QVQLVQPGAELVVRPGASVKLSCKTSGYFTFSNWMHWKQRPQGQGLEWIGEDPSDSY  
TNYNQNFQKGAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYAMDYWGQGT  
SVTVS

##### SEQ ID NO. 2 (RB4v1.2 VH):

QVQLVQPGAELVVRPGASVKLSCKTSGYFTFSNWMHWKQAPGGQGLEWIGEDPSDSY  
TNYNQNFQKGAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYAMDYWGQGT  
SVTVS

##### SEQ ID NO. 3 (B43 VH):

QVQLLESGAELVVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWKQRPQGQGLEWIGQIWPQDGD  
TNYNGFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLRSEDSAVYSCARRETTTVGRYYYAMDYWG  
QGTTVT

##### SEQ ID NO. 4 (HD37 VH):

QVQLQQSGAELVVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWKQRPQGQGLEWIGQIWPQDGD  
TNYNGFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLSEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWG  
QGSTVTVS

##### SEQ ID NO. 5 (4G7 VH):

EVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASGYFTFSYVMHWKQKPGQGLEWIGYINPYNDGT  
KYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYGSRVFDYWGQGT  
LTVS

##### SEQ ID NO. 6 (FMC63 VH):

EVKLQESGPGLVAPSSQLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLVGVIWGSETTY  
YNSALKSRLTIKDNSKQVFLKMNSLQTDATAIYYCAKHYGGSYAMDYWGQGTSTV  
VS

##### SEQ ID NO.7 (RB4v1.0 VK):

EIVLTQSPAIMSASPGERVMTCSASSGVNYMHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLAGSVP  
ARFSGSGSGTSYSLTISSEPEDAATYYCHQRGSYTFGGGTKLEIK

Фиг. 1А

SEQ ID NO. 8 (RB4v1.2 VK):

EIVLTQSPAIMSASPGERVTMTCSASSGVNYMHWYQKPGTSPRRWIYDTSKLAGVPA  
ARFSGSGSGTSYSLTISSEMPEDAATYYCHQRGSYTFGGGKLEIK

SEQ ID NO. 9 (B43 VK):

ELVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVYDGDSDYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVS  
GIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGKLEIK

SEQ ID NO. 10 (HD37 VK):

DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVYDGDSDYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVS  
GIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGKLEIK

SEQ ID NO. 11 (4G7 VK):

DIVMTQAAAPSIPVTPGESVSISSCRSSKLLNSNGNTLYWFLQRPQSPQLLIYRMSNLA  
SGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYCMQHLEYPFTFGAGTKLELK

SEQ ID NO. 12 (FMC63 VK):

DIQMTQTSSLSASLGDVRTISCRASQDISKYLWYQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS  
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT

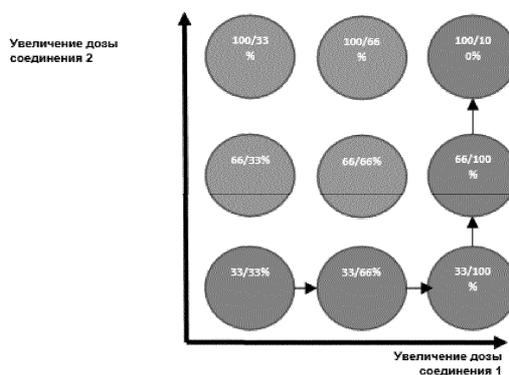
SEQ ID NO. 13 (RB4v1.2-HC):

QVQLVQPGAIEVVKPGASVKLSCKTSGYFTTSNWMHWKQAPGGLEWIGIIPSDSY  
TNYNQNFQGGAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGT  
SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPC  
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL  
YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPG

SEQ ID NO. 14 (RB4v1.2-LC):

EIVLTQSPAIMSASPGERVTMTCSASSGVNYMHWYQKPGTSPRRWIYDTSKLAGVPA  
ARFSGSGSGTSYSLTISSEMPEDAATYYCHQRGSYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPS  
DEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDYSTYLSSTL  
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 1B



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2