

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 009 025**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 31/573 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.08.2019 PCT/US2019/049027**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.03.2020 WO20047389**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2019 E 19782800 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.01.2025 EP 3844189**

54 Título: **Estrategia de dosificación que mitiga el síndrome de liberación de citocinas para los anticuerpos biespecíficos CD3/CD20**

30 Prioridad:

31.08.2018 US 201862726137 P

30.11.2018 US 201862774019 P

13.06.2019 US 201962861100 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.03.2025

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

(100.00%)

777 Old Saw Mill River Road

Tarrytown, NY 10591, US

72 Inventor/es:

BROWNSTEIN, CARRIE;

LOWY, ISRAEL y

ADRIAENS, LIEVE LUCILLE

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 3 009 025 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Estrategia de dosificación que mitiga el síndrome de liberación de citocinas para los anticuerpos biespecíficos CD3/CD20

5

Campo de la invención

La presente invención se enmarca en el campo de la medicina y se refiere a estrategias de dosificación y regímenes de administración para un anticuerpo anti-CD20 x anti-CD3 biespecífico terapéutico que mitiga la prevalencia y la gravedad del síndrome de liberación de citocinas o una reacción relacionada con la infusión en pacientes sometidos a inmunoterapia. El documento WO2017/112762 desvela el posible uso del anticuerpo biespecífico CD3 x CD20 REGN1979 en el tratamiento de leucemia, pero no aborda la cuestión del posible CRS.

10

Antecedentes

15

El síndrome de liberación de citocinas (CRS, por sus siglas en inglés) es una respuesta inflamatoria sistémica que puede desencadenarse por una diversidad de factores, incluyendo determinados fármacos. Las inmunoterapias contra el cáncer que activan las células T conllevan un riesgo particularmente alto de CRS, que se debe habitualmente a efectos específicos inducidos por la unión de un anticuerpo biespecífico o una célula T con receptor de antígeno quimérico (CAR, por sus siglas en inglés) a su antígeno y la posterior activación de células inmunitarias espectadoras y células no inmunitarias, tales como células endoteliales. La activación de las células espectadoras produce la liberación masiva de una diversidad de citocinas. La IL-6, la IL-10 y el interferón (IFN)- γ se encuentran entre las citocinas principales que se encuentran constantemente elevadas en el suero de pacientes con CRS. Con terapias activadoras de células T dirigidas contra células tumorales, CRS se desencadena por la liberación masiva de IFN- γ por parte de las células T activadas o las propias células tumorales. El IFN- γ secretado induce la activación de otras células inmunitarias, lo más importante macrófagos, que a su vez producen cantidades excesivas de citocinas adicionales tales como IL-6, TNF- α e IL-10. La IL-6, en particular, contribuye a muchos de los síntomas clave del CRS, incluyendo la fuga vascular y la activación de la cascada del complemento y de la coagulación que induce la coagulación intravascular diseminada. Además, es probable que la IL-6 contribuya a la miocardiopatía al promover la disfunción miocárdica. Shimabukuro-Vornhagen *et al.*, Journal for Immunotherapy of Cancer, 6:56, pp. 1-14, 2018. En algunos casos, los síntomas asociados a CRS se denominan reacción relacionada con la infusión (IRR) si se producen menos de seis horas después del inicio de la infusión y CRS si ocurren a partir de seis horas después del inicio de la infusión.

20

25

30

35

40

45

El tratamiento de las toxicidades de la inmunoterapia contra el cáncer es un problema clínico desafiante. La mitigación de CRS o IRR es un sello distintivo de la administración de ciertas modalidades de tratamiento, por ejemplo, células CAR T y anticuerpos biespecíficos dirigidos a las células T. El CRS de bajo grado generalmente se trata sintomáticamente con antihistamínicos, antipiréticos y líquidos. El CRS grave puede representar un acontecimiento adverso potencialmente mortal que requiere un tratamiento rápido y agresivo. La reducción de la carga tumoral, las limitaciones en la dosis de la terapia administrada y la premedicación con esteroides han reducido la incidencia de CRS grave, así como el uso de tratamientos anticitocinas. Tocilizumab, un anticuerpo anti-IL-6, se ha convertido en un tratamiento inicial convencional para el CRS grave en algunas circunstancias. Sin embargo, el uso de limitaciones de dosis y tratamientos para minimizar la actividad de las citocinas puede tener efectos perjudiciales sobre la eficacia de la inmunoterapia. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de estrategias alternativas para mitigar los posibles efectos potencialmente mortales del CRS sin afectar negativamente los beneficios terapéuticos de las inmunoterapias.

Breve resumen de la invención

La presente invención proporciona una proteína terapéutica para su uso en un método de tratamiento de una neoplasia maligna de células B CD20+, en donde el método comprende administrar la proteína terapéutica a un sujeto en una pauta posológica para reducir la incidencia o la gravedad del síndrome de liberación de citocinas o la reacción relacionada con la infusión, comprendiendo el método:

50

55

60

65

administrar fracciones de una dosis primaria (D1) de la proteína terapéutica en la semana 1 de la pauta posológica, en donde la dosis primaria comprende 1 mg de la proteína terapéutica, una primera fracción de dosis (F1D1) comprende el 50 % de la dosis primaria total y se administra al sujeto el día 1 de la semana 1, y una segunda fracción de dosis (F2D1) comprende el 50 % restante de la dosis primaria total y se administra al sujeto de 12 a 96 horas después de la administración de la F1D1;

administrar fracciones de una dosis secundaria (D2) de la proteína terapéutica en la semana 2 de la pauta posológica, en donde la dosis secundaria comprende 20 mg de la proteína terapéutica, una primera fracción de dosis (F1D2) comprende el 50 % de la dosis secundaria total, una segunda fracción de dosis (F2D2) comprende el 50 % restante de la dosis secundaria total y la F2D2 se administra al sujeto de 12 a 96 horas después de la administración de la F1D2 durante la semana 2 de la pauta posológica; y

administrar la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica al sujeto como una dosis única en una semana posterior de la pauta posológica, en donde la dosis máxima semanal comprende 80 mg, 160 mg o 320 mg de la proteína terapéutica,

ES 3 009 025 T3

en donde la proteína terapéutica es un anticuerpo anti-CD20 x anti-CD3 biespecífico que comprende un brazo de unión anti-CD20 que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y un brazo de unión anti-CD3 que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

En algunos casos, la F2D1 se administra al sujeto entre 24 y 96 horas después de la administración de la F1D1. En algunos casos, la F2D1 se administra al sujeto entre 18 y 72 horas después de la administración de la F1D1. En algunos casos, la F2D2 se administra al sujeto entre 24 y 96 horas después de la administración de la F1D2. En algunos casos, la F2D2 se administra al sujeto entre 18 y 72 horas después de la administración de la F1D2. En algunos casos, la semana posterior es la semana 3 de la pauta posológica. En algunos casos, la semana posterior es la semana 4 de la pauta posológica. En algunos casos, la semana posterior es la semana 14 de la pauta posológica. En algunos casos, la semana posterior es una cualquiera de las semanas 4 a 36 de la pauta posológica.

En algunas realizaciones, el método comprende además: (i) administrar fracciones de una dosis terciaria (D3) de la proteína terapéutica en la semana 3 de la pauta posológica, en donde la dosis terciaria no es menos de una mitad de la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica y no más de la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica, una primera fracción de dosis (F1D3) comprende del 40 % al 60 % de la dosis terciaria total, una segunda fracción de dosis (F2D3) comprende del 40 % al 60 % restante de la dosis terciaria total y la F2D3 se administra al sujeto de 12 a 96 horas después de la administración de la F1D3 durante la semana 3 de la pauta posológica; y (ii) administrar la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica al sujeto como una dosis única en una semana posterior de la pauta posológica.

En algunos casos, la F2D3 se administra al sujeto entre 24 y 96 horas después de la administración de la F1D3. En algunos casos, la F2D3 se administra al sujeto entre 18 y 72 horas después de la administración de la F1D3.

En algunos casos, la semana posterior es la semana 4 de la pauta posológica. En algunos casos, la semana posterior es la semana 14 de la pauta posológica. En algunos casos, la semana posterior es una cualquiera de las semanas 4 a 36 de la pauta posológica. En diversas realizaciones, la dosis terciaria se administra como una dosis única en las semanas 4 a 12 de la pauta posológica.

En algunas realizaciones, los métodos de la presente divulgación comprenden además administrar una o más dosis de "mantenimiento" durante una fase de mantenimiento de la pauta posológica, que sigue a la finalización de una fase semanal del régimen. En algunos casos, cada dosis de mantenimiento se administra 2, 3 o 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En una realización, la dosis de mantenimiento es la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica administrada en una dosis única.

En algunos casos, la dosis máxima semanal (MD) de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única durante de 1 a 8 semanas, de 1 a 12 semanas o de 1 a 16 semanas durante una fase semanal de la pauta posológica. En algunos casos, la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única una vez cada dos semanas durante una fase de mantenimiento de la pauta posológica, que sigue a la finalización de una fase semanal de la pauta posológica. En algunos casos, la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única una vez cada tres semanas durante una fase de mantenimiento de la pauta posológica, que sigue a la finalización de una fase semanal de la pauta posológica. En algunos casos, la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única una vez cada cuatro semanas durante una fase de mantenimiento de la pauta posológica, que sigue a la finalización de una fase semanal de la pauta posológica. En algunas realizaciones, la fase de mantenimiento es un período de hasta 86 semanas. En algunas realizaciones, la fase de mantenimiento es un período de hasta 87 semanas. En algunas realizaciones, la fase de mantenimiento es un período de hasta 88 semanas. En algunas realizaciones, la fase de mantenimiento es más de 86 semanas, más de 100 semanas, más de 150 semanas, más de 200 semanas o más de 250 semanas. En algunas realizaciones, la fase de mantenimiento es de al menos 24 semanas. En algunas realizaciones, la fase de mantenimiento es de 24 semanas.

En diversas realizaciones, la dosis terciaria es de 40 mg. En diversas realizaciones, la dosis terciaria es de 80 mg. En diversas realizaciones, la dosis terciaria es de 160 mg. En diversas realizaciones, la dosis terciaria es de 320 mg.

En diversas realizaciones, la F1D3 comprende el 50 % de la dosis terciaria total y la F2D3 comprende el 50 % de la dosis terciaria total.

En algunas realizaciones, la dosis máxima semanal es de 80 mg. En algunas realizaciones, la dosis máxima semanal es de 160 mg. En algunas realizaciones, la dosis máxima semanal es de 320 mg.

En algunos casos, la dosis de mantenimiento de la proteína terapéutica es de 5 mg a 320 mg. En diversas realizaciones, la dosis de mantenimiento de la proteína terapéutica es de 6-320 mg, 10-320 mg, 5-40 mg, 5-80 mg, 5-160 mg, 12-40 mg, 18-80 mg, 40-80 mg, 80-160 mg, 160-320 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 12 mg, 18 mg, 27 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg o 320 mg. En algunas realizaciones, la dosis de mantenimiento es de 80 mg. En algunas

realizaciones, la dosis de mantenimiento es de 160 mg. En algunas realizaciones, la dosis de mantenimiento es de 320 mg.

En algunos casos, cada dosis o fracción de dosis se administra al sujeto durante un período de 1 a 6 horas.

5 En algunos casos, la neoplasia maligna de células B CD20+ es linfoma no Hodgkiniano, linfoma de Hodgkin, leucemia linfocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma linfocítico pequeño, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma de la zona marginal, macroglobulinemia de Waldenstrom, linfoma mediastínico primario de linfocitos B, linfoma linfoblástico o linfoma de Burkitt. En algunas realizaciones, al sujeto se le ha diagnosticado linfoma folicular (FL). En algunos casos, el FL es de grado 1-3a. En algunas realizaciones, al sujeto se le ha diagnosticado linfoma difuso de células B grandes (DLBCL). En una realización, al sujeto se le ha diagnosticado DLBCL recidivante/refractario. En algunos casos, el sujeto diagnosticado con DLBCL ha fracasado en la terapia CAR-T previa. En algunas realizaciones, al sujeto se le ha diagnosticado linfoma de células del manto (MCL). En algunos casos, el sujeto diagnosticado con MCL no ha respondido al tratamiento previo con inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton (BTK). En algunas realizaciones, al sujeto se le ha diagnosticado linfoma de la zona marginal (MZL).

En algunos casos, el sujeto es un ser humano, un adulto humano o un niño humano (de menos de dieciocho años).

20 El anticuerpo anti-CD20 x anti-CD3 puede denominarse REGN1979.

En diversas realizaciones, la proteína terapéutica se mantiene a una concentración sérica igual o superior a aproximadamente 2000 microgramos/litro (mcg/l) después de la administración de la dosis semanal máxima durante la duración de la pauta posológica. En algunos casos, la proteína terapéutica se mantiene a una concentración sérica igual o superior a aproximadamente 2600 mcg/l después de la administración de la dosis semanal máxima durante la duración de la pauta posológica. En algunas realizaciones, la proteína terapéutica se mantiene a una concentración sérica igual o superior a aproximadamente 3700 mcg/l después de la administración de la dosis semanal máxima durante la duración de la pauta posológica.

30 En algunas realizaciones, la proteína terapéutica se administra al sujeto en combinación con un segundo agente seleccionado de un esteroide, un antihistamínico, acetaminofeno, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un antagonista de IL-6 o un antagonista de IL-6R. En algunos casos, el esteroide es dexametasona. En algunos casos, el AINE es indometacina. En algunos casos, el antagonista de IL-6 es un anticuerpo anti-IL-6 o el antagonista de IL-6R es un anticuerpo anti-IL-6R. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-IL-6R es sarilumab. En diversas realizaciones, la administración del segundo agente se elimina después de una primera administración de la dosis semanal máxima mientras dure el régimen de dosificación. En otras realizaciones, el segundo agente se administra antes de la administración de la proteína terapéutica (por ejemplo, aproximadamente una a tres horas antes de la F1D1, la F2D1, la F1D2, la F2D2, la F1D3 y/o la F2D3). En otras realizaciones más, la proteína terapéutica se administra mediante infusión durante un período de tiempo tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más horas.

40 En diversas realizaciones, la proteína terapéutica se administra al sujeto en combinación con un segundo agente terapéutico. En algunas realizaciones, el segundo agente terapéutico comprende al menos uno de rituximab, obinutuzumab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona, prednisolona, bendamustina, lenalidomida, clorambucilo, ibritumomab tiuxetán, idelalisib, copanlisib, duvelisib, etopósido, metilprednisolona, citarabina, cisplatino, mesna, ifosfamida, mitoxantrona y procarbazona. En algunos casos, el segundo agente terapéutico comprende una combinación de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona. En algunos casos, el segundo agente terapéutico comprende una combinación de ifosfamida, cisplatino y etopósido. En algunos casos, el segundo agente terapéutico comprende una combinación de gemcitabina y oxaliplatino. En algunos casos, el segundo agente terapéutico comprende una combinación de lenalidomida y rituximab. En algunos casos, el segundo agente terapéutico es lenalidomida.

55 En un aspecto, la presente invención incluye el anticuerpo como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar un cáncer de células B CD20+ en un sujeto, comprendiendo el método: (a) seleccionar un sujeto diagnosticado con un cáncer de células B CD20+; y (b) administrar el anticuerpo al sujeto de acuerdo con cualquiera de los métodos de la invención analizados anteriormente o en el presente documento utilizando una pauta posológica para reducir la incidencia o gravedad del síndrome de liberación de citocinas o la reacción relacionada con la infusión. En algunas realizaciones, el sujeto se ha tratado anteriormente con una terapia con anticuerpos anti-CD20. En algunas realizaciones, el sujeto se ha tratado anteriormente con una terapia CAR-T. En algunos casos, el cáncer de células B se selecciona del grupo que consiste en linfoma folicular, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto y linfoma de la zona marginal.

60 En cualquiera de las realizaciones analizadas anteriormente o en el presente documento, la incidencia de CRS e IRR de grado 3 es menos del 10 %. En algunos casos, la incidencia de CRS e IRR de grado 3 es menos del 7,5 % o menos del 7 %. En algunas realizaciones, la incidencia de CRS e IRR es menos del 10 %, menos del 9 %, menos del 8 %, menos del 7,5 % o menos del 7 %. En cualquiera de las realizaciones, cualquier dosis administrada como dosis única podrá administrarse en no más de 1 hora.

En diversas realizaciones, cualquiera de las características o componentes de cualquiera de las realizaciones analizadas anteriormente o en el presente documento pueden combinarse, y dichas combinaciones están comprendidas dentro del alcance de la presente divulgación. Cualquier valor específico indicado anteriormente o en el presente documento puede combinarse con otro valor relacionado indicado anteriormente o en el presente documento para enumerar un intervalo en que los valores representan los extremos superior e inferior del intervalo, y dichos intervalos están abarcados dentro del alcance de la presente divulgación.

Otras realizaciones serán evidentes a partir de una revisión de la descripción detallada que sigue.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 ilustra la incidencia de CRS/IRR durante las primeras cinco semanas de terapia con REGN1979 a diversos niveles de dosis.

Descripción detallada

El alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas. La divulgación técnica que se expone a continuación puede, en algunos aspectos, ir más allá del alcance de las reivindicaciones. Los elementos de la divulgación que no se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones se proporcionan a título informativo.

Salvo que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. El término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar con respecto al valor indicado en no más de un 1 %. Por ejemplo, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque cualquier método y material similares o equivalentes a aquellos descritos en el presente documento pueden usarse en la práctica o el ensayo de la presente invención, los métodos y materiales preferidos se describen ahora.

La expresión "CD3", se refiere a un antígeno que se expresa en linfocitos T como parte del receptor multimolecular de linfocitos T (TCR) y que consiste en un homodímero o heterodímero formado a partir de la asociación de dos de las cuatro cadenas receptoras: CD3-épsilon, CD3-delta, CD3-zeta y CD3-gamma. CD3-épsilon humano comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 1; CD3-delta humano comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 2; CD3-zeta humano comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 3; y CD3-gamma humano comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 4.

Todas las referencias a proteínas, polipéptidos y fragmentos de proteína en el presente documento pretenden referirse a la versión humana de la proteína, el polipéptido o el fragmento de proteína respectivos a menos que se especifique explícitamente siendo de una especie no humana. Por lo tanto, la expresión "CD3" significa CD3 humano a menos que se especifique que proviene de una especie no humana, por ejemplo, "CD3 de ratón", "CD3 de mono", etc.

"Un dominio de unión al antígeno que se une a CD3", "un anticuerpo que se une a CD3" o un "anticuerpo anti-CD3" incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen específicamente una subunidad CD3 única (por ejemplo, épsilon, delta, gama o zeta), así como anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen específicamente un complejo dimérico de dos subunidades CD3 (por ejemplo, dímeros gamma/épsilon, delta/épsilon y zeta/zeta CD3). Los anticuerpos de la presente invención pueden unirse a CD3 soluble y/o CD3 expresado en la superficie celular. CD3 soluble incluye proteínas CD3 naturales así como variantes de proteínas CD3 recombinantes tales como, por ejemplo, construcciones CD3 monoméricas y diméricas, que carecen de un dominio transmembrana o que están de otra manera no asociadas con una membrana celular.

La expresión "CD20", se refiere a una fosfoproteína no glucosilada expresada en las membranas celulares de las células B maduras. CD20 se considera un antígeno asociado a tumores de células B porque se expresa en más del 95 % de los linfomas no Hodgkinianos (NHL, por sus siglas en inglés) de células B y otras neoplasias malignas de células B, pero está ausente en las células B precursoras, células dendríticas y células plasmáticas. La proteína CD20 humana tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 5.

"Un dominio de unión al antígeno que se une a CD20", "un anticuerpo que se une a CD20" o un "anticuerpo anti-CD20" incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen específicamente CD20.

La expresión "BCMA", se refiere al antígeno de maduración de células B. El BCMA (también conocido como TNFRSF17 y CD269) es una proteína de la superficie celular expresada en células plasmáticas neoplásicas y desempeña un papel fundamental en la regulación de la maduración de las células B y en la diferenciación en células plasmáticas productoras de inmunoglobulina. La secuencia de aminoácidos de BCMA humano se muestra en SEQ ID NO: 6.

"Un dominio de unión al antígeno que se une a BCMA", "un anticuerpo que se une a BCMA" o un "anticuerpo anti-BCMA" incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen específicamente BCMA.

5 La expresión "PSMA", se refiere a antígeno de membrana específico prostático, también conocido como folato hidrolasa 1 (FOLH1). PSMA es una glucoproteína integral de membrana no desprendida que se expresa en gran medida en las células epiteliales de la próstata y es un marcador de la superficie celular para el cáncer de próstata. La secuencia de aminoácidos de PSMA humano se establece en SEQ ID NO: 7.

10 "Un dominio de unión al antígeno que se une a PSMA", "un anticuerpo que se une a PSMA" o un "anticuerpo anti-PSMA" incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen específicamente PSMA.

La expresión "MUC16", se refiere a la mucina 16. MUC16 es una glucoproteína de membrana integral muy glucosilada de un solo dominio transmembrana que se expresa a un nivel alto en el cáncer de ovario. La secuencia de aminoácidos de MUC16 humana se expone en SEQ ID NO: 8.

15 "Un dominio de unión al antígeno que se une a MUC16", "un anticuerpo que se une a MUC16" o un "anticuerpo anti-MUC16" incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen específicamente MUC16.

20 La expresión "STEAP2", se refiere al antígeno epitelial de próstata 2 de seis transmembrana. STEAP2 es una proteína integral que abarca seis transmembrana que se expresa en gran medida en las células epiteliales de la próstata y es un marcador de la superficie celular para el cáncer de próstata. STEAP2 es una proteína de 490 aminoácidos codificada por el gen *STEAP2* ubicado en la región cromosómica 7q21 en seres humanos. La secuencia de aminoácidos de STEAP2 humana se expone en SEQ ID NO: 9.

25 "Un dominio de unión al antígeno que se une a STEAP2", "un anticuerpo que se une a STEAP2" o un "anticuerpo anti-STEAP2" incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen específicamente STEAP2.

30 La expresión "proteína terapéutica", incluye cualquier polipéptido, incluyendo anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, y anticuerpos biespecíficos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se usa para prevenir, tratar o mejorar cualquier afección, enfermedad o trastorno en un sujeto.

La expresión "molécula de unión a antígeno" incluye anticuerpos y fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno, incluyendo, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos.

El término "anticuerpo", significa cualquier molécula o complejo molecular de unión a antígeno que comprende al menos una región determinante de complementariedad (CDR) que se une específicamente a o interacciona con un antígeno particular (por ejemplo, CD20, BCMA, PSMA, MUC16, STEAP2 o CD3). El término "anticuerpo" incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM). El término "anticuerpo" también incluye moléculas de inmunoglobulina que consisten en cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (C_{L1}). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR, por sus siglas en inglés). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestos del extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las FR del anticuerpo (o porción de unión a antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana, o pueden modificarse de manera natural o artificial. Una secuencia de aminoácidos consenso puede definirse basándose en un análisis en paralelo de dos o más CDR. El término "anticuerpo" incluye un "anticuerpo biespecífico" salvo que se indique lo contrario.

El término "anticuerpo", también incluye fragmentos de unión a antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Las expresiones "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo y similares, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o modificado por ingeniería genética que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Los fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo pueden derivar, por ejemplo, de moléculas de anticuerpo completas usando cualquier técnica convencional adecuada tales como digestión proteolítica o técnicas recombinantes de ingeniería genética que implican la manipulación y la expresión de ADN que codifica los dominios variables y, opcionalmente, los constantes, de un anticuerpo. Dicho ADN se conoce y/o puede adquirirse fácilmente de, por ejemplo, fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (incluyendo, por ejemplo, fagotecas de anticuerpos) o puede sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o mediante técnicas de biología molecular, por ejemplo, para

disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada o para introducir codones, crear restos de cisteína, modificar, añadir o eliminar aminoácidos, etc.

5 La expresión "molécula de unión a antígeno biespecífica" se refiere a una proteína, un polipéptido o un complejo molecular que comprende al menos un primer dominio de unión a antígeno y un segundo dominio de unión a antígeno. Cada dominio de unión a antígeno dentro de la molécula de unión a antígeno biespecífica comprende al menos una CDR que sola, o junto con una o más CDR y/o FR adicionales, se une específicamente a un antígeno particular. Las moléculas que se unen a antígenos biespecíficos incluyen anticuerpos biespecíficos.

10 Los ejemplos no limitantes de fragmentos de unión a antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')₂; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas Fv monocatenarias (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimas que consisten en los restos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de complementariedad (CDR) aislada, tal como un péptido CDR3) o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas modificadas por ingeniería genética, tales como anticuerpos
15 específicos de dominio, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos con dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados con CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), agentes inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP, por sus siglas en inglés) y dominios IgNAR variables de tiburón, también están abarcados dentro de la expresión "fragmento de unión a antígeno".

20 Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que está adyacente a o en fase con una o más secuencias marco. En fragmentos de unión a antígeno que tienen un dominio V_H asociado con un dominio V_L, los dominios V_H y V_L pueden situarse uno con respecto al otro en
25 cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimerica y contener los dímeros V_H-V_H, V_H-V_L o V_L-V_L. Como alternativa, el fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico.

30 En determinadas realizaciones, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido covalentemente a al menos un dominio constante. Las configuraciones ilustrativas no limitantes de dominios variables y constantes que pueden encontrarse dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo incluyen: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; y (xiv) V_L-C_L. En
35 cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluyendo cualquiera de las configuraciones ilustrativas enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar unidos directamente entre sí o pueden estar unidos mediante una región bisagra o enlazadora completa o parcial. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos que dan como resultado un enlace flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula polipeptídica. Por otra parte,
40 un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante enumeradas anteriormente en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (por ejemplo, mediante enlace o enlaces disulfuro).

45 Como ocurre con las moléculas de anticuerpo completas, los fragmentos de unión a antígeno pueden ser mono-específicos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un fragmento de unión a antígeno multiespecífico de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable es capaz de unirse específicamente a un antígeno diferente o a un epítipo distinto en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, incluyendo los formatos de anticuerpo biespecífico ilustrativos desvelados en el presente documento, puede adaptarse para su uso en el contexto de un fragmento de unión a antígeno de un
50 anticuerpo usando técnicas rutinarias disponibles en la técnica.

Los anticuerpos de la presente invención pueden actuar mediante citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) o citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC). "Citotoxicidad dependiente del complemento" (CDC) se refiere a lisis de células que expresan antígeno por un anticuerpo de la invención en presencia del
55 complemento. "Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos" (ADCC) se refiere a una reacción mediada por células en que células citotóxicas no específicas que expresan receptores de Fc (FcR) (por ejemplo, linfocitos citolíticos naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) reconocen el anticuerpo unido en una célula diana y de ese modo da lugar a la lisis de la célula diana. CDC y ADCC pueden medirse usando ensayos que se conocen bien y están disponibles en la técnica. (Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N.º 5.500.362 y 5.821.337 y Clynes *et al.*, (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. (EE.UU.) 95:652-656). La región constante de un anticuerpo es importante en la
60 capacidad de un anticuerpo de fijar el complemento y mediar la citotoxicidad dependiente de células. Por lo tanto, el isotipo de un anticuerpo puede seleccionarse basándose en si se desea que el anticuerpo medie la citotoxicidad. Los anticuerpos de la presente divulgación pueden incluir una cadena pesada de IgG humana. En diversas realizaciones, la pesada puede ser de isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. El anticuerpo de la invención se define en las reivindicaciones.

65 La expresión "anticuerpo humano" pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas

de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por las secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y en particular CDR3. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano" no pretende incluir anticuerpos en que secuencias de CDR procedentes de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se hayan injertado en secuencias marco humanas.

Los anticuerpos de la invención pueden, en algunas realizaciones, ser anticuerpos humanos recombinantes. La expresión "anticuerpo humano recombinante" pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se preparan, se expresan, se crean o aíslan mediante medios recombinantes, tales como los anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedadora (descrita adicionalmente más adelante), anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos combinatoria recombinante (descrita adicionalmente más adelante), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para genes de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos que se preparan, se expresan, se crean o se aíslan mediante cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes procedentes de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes pueden someterse a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para las secuencias de Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*) y, por lo tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque proceden de y están relacionadas con secuencias V_H y V_L de la línea germinal humana, pueden no existir de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que están asociadas a la heterogeneidad de bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende una construcción de cuatro cadenas estable de aproximadamente 150-160 kDa en donde los dímeros se mantienen juntos mediante un enlace disulfuro intercatenario de la cadena pesada. En una segunda forma, los dímeros no están unidos a través de enlaces disulfuro intercatenarios y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta por una cadena ligera y pesada acopladas covalentemente (semianticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de la purificación por afinidad.

La frecuencia de aparición de la segunda forma en diferentes isotipos de IgG intactos se debe a, pero no limitado a, diferencias estructurales asociadas al isotipo de la región bisagra del anticuerpo. Una sustitución de un único aminoácido en la región bisagra de la bisagra de IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (Angal *et al.* (1993) Molecular Immunology 30:105) hasta los niveles normalmente observados usando una bisagra de IgG1 humana. En general, los anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la bisagra, en la región C_H2 o C_H3 pueden ser deseables, por ejemplo, en la producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada.

Los anticuerpos de la invención pueden ser anticuerpos aislados. Un "anticuerpo aislado" significa un anticuerpo que se ha identificado y se ha separado y/o se ha recuperado de al menos un componente de su entorno natural. Por ejemplo, un anticuerpo que se ha separado o eliminado de al menos un componente de un organismo, o de un tejido o célula en donde el anticuerpo existe de forma natural o se produce de forma natural, es un "anticuerpo aislado" para los fines de la presente invención. Un anticuerpo aislado también incluye un anticuerpo *in situ* dentro de una célula recombinante. Los anticuerpos aislados son anticuerpos que se han sometido a al menos una etapa de purificación o aislamiento. De acuerdo con determinadas realizaciones, un anticuerpo aislado puede carecer sustancialmente de otro material celular y/o agentes químicos.

El término "epítipo" se refiere a un determinante antigénico que interactúa con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como un parátipo. Un único antígeno puede tener más de un epítipo. Por lo tanto, distintos anticuerpos pueden unirse a distintas áreas de un antígeno y pueden tener distintos efectos biológicos. Los epítipos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítipo conformacional se produce mediante aminoácidos yuxtapuestos espacialmente de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal. Un epítipo lineal es uno producido por restos de aminoácidos adyacentes en una cadena polipeptídica. En una determinada circunstancia, un epítipo puede incluir restos de sacáridos, grupos fosforilo o grupos sulfonilo en el antígeno.

La expresión "identidad sustancial" o "sustancialmente idéntico", cuando hace referencia a un ácido nucleico o fragmento del mismo, indica que, cuando se alinea de forma óptima con inserciones o eliminaciones de nucleótidos adecuadas con otro ácido nucleico (o su cadena complementaria), existe identidad de secuencia de nucleótidos en al menos aproximadamente el 95 % y, más preferentemente, en al menos aproximadamente el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de las bases nucleotídicas, según se mide mediante cualquier algoritmo bien conocido de identidad de secuencia, tales como FASTA, BLAST o Gap, como se analiza a continuación. Una molécula de ácido nucleico que tiene una identidad sustancial con una molécula de ácido nucleico de referencia puede, en determinados casos, codificar un polipéptido que tenga la misma secuencia de aminoácidos o una sustancialmente similar que el polipéptido codificado por la molécula de ácido nucleico de referencia.

Aplicada a polipéptidos, la expresión "similitud sustancial" o "sustancialmente similar" significa que dos secuencias peptídicas, cuando se alinean de forma óptima, tal como mediante los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de hueco predeterminadas, comparten al menos un 95 % de identidad de secuencia, incluso más preferentemente al menos un 98 % o un 99 % de identidad de secuencia. Preferentemente, las posiciones de los restos que no son idénticas difieren en sustituciones de aminoácidos conservativas. Una "sustitución de aminoácido conservativa" es aquella en la que un resto de aminoácido se sustituye por otro resto de aminoácido que tiene una cadena lateral (grupo R) con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobia). En general, una sustitución de aminoácido conservativa no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En los casos en que dos o más secuencias de aminoácidos difieren entre sí en sustituciones conservativas, el porcentaje de identidad de secuencia o grado de similitud puede ajustarse al alza para corregir la naturaleza conservativa de la sustitución. Los medios para hacer este ajuste son bien conocidos por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331, incorporado en el presente documento por referencia. Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen (1) cadenas laterales alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; (2) cadenas laterales de hidroxilo-alifáticas: serina y treonina; (3) cadenas laterales que contienen amida: asparagina y glutamina; (4) cadenas laterales aromáticas: fenilalanina, tirosina y triptófano; (5) cadenas laterales básicas: lisina, arginina e histidina; (6) cadenas laterales ácidas: aspartato y glutamato y (7) cadenas laterales que contienen azufre que son cisteína y metionina. Los grupos de sustitución conservativa de aminoácidos preferidos son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina. Como alternativa, un remplazo conservativo es cualquier cambio que tenga un valor positivo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250 divulgada en Gonnet *et al.* (1992) *Science* 256: 1443-1445, incorporado en el presente documento por referencia. Un remplazo "moderadamente conservativo" es cualquier cambio que tenga un valor no negativo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250.

La similitud de secuencia para polipéptidos, que también se denomina identidad de secuencia, se mide normalmente con un programa informático de análisis de secuencias. El programa informático de análisis de proteínas empareja secuencias similares usando medidas de similitud asignadas a diferentes sustituciones, eliminaciones y otras modificaciones, incluyendo sustituciones conservativas de aminoácidos. Por ejemplo, el programa informático GCG contiene programas tales como Gap y Bestfit que pueden usarse con los parámetros por defecto para determinar la homología de secuencia o la identidad de secuencia entre polipéptidos estrechamente relacionados, tales como polipéptidos homólogos de distintas especies de organismos o entre una proteína de tipo natural y una muteína de la misma. Véase, por ejemplo, GCG Versión 6.1. Las secuencias polipeptídicas también pueden compararse usando FASTA usando parámetros por defecto o recomendados, un programa en GCG Versión 6.1. FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) proporciona alineaciones y porcentajes de identidad de secuencia de las regiones del mejor solapamiento entre las secuencias de consulta y de búsqueda (Pearson (2000) *supra*). Otro algoritmo preferido cuando se compara una secuencia de la invención con una base de datos que contiene una gran cantidad de secuencias de diferentes organismos es el programa informático BLAST, especialmente BLASTP o TBLASTN, usando parámetros por defecto. Véase, por ejemplo, Altschul *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410 y Altschul *et al.* (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402.

Estrategias de dosificación y regímenes de administración

Se crearon estrategias de dosificación que proporcionan regímenes de administración para mitigar la prevalencia o la gravedad, o ambas, del síndrome de liberación de citocinas (CRS) o de la reacción relacionada con la infusión (IRR) mediante la administración de una proteína terapéutica a un paciente para diversas terapias. Estas estrategias incluyen múltiples dosis de un anticuerpo biespecífico terapéutico como se define en las reivindicaciones que pueden administrarse a un sujeto durante un período de tiempo definido para crear un régimen. Los métodos comprenden administrar secuencialmente a un sujeto múltiples dosis del anticuerpo. "Administrar secuencialmente" significa que cada dosis de una proteína terapéutica se administra al sujeto en un punto temporal diferente, por ejemplo, en días diferentes separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). Los métodos comprenden administrar secuencialmente al paciente una dosis primaria dividida del anticuerpo, seguido de una dosis secundaria dividida del anticuerpo, opcionalmente seguido de una dosis terciaria dividida de la proteína terapéutica, seguido de dosis únicas de una dosis máxima semanal del anticuerpo. Los regímenes de administración actuales permiten dosis más altas del anticuerpo que son deseables para mejorar la eficacia terapéutica, pero sin los efectos nocivos asociados a CRS o IRR. Sin pretender quedar ligados a teoría particular alguna, los regímenes de administración actuales prevén la preparación de la respuesta inmunitaria a la administración del anticuerpo para minimizar la incidencia y la gravedad de CRS e IRR durante las fases iniciales del régimen de tratamiento, lo que permite entonces la administración de dosis más altas de las proteínas terapéuticas durante fases posteriores del régimen de tratamiento sin acontecimientos adversos significativos asociados a CRS o IRR.

Un régimen de administración ilustrativo incluye: (i) administrar fracciones de una dosis primaria de la proteína terapéutica en la semana 1 (S1) de la pauta posológica, en donde la dosis primaria comprende 1 mg de la proteína terapéutica, una primera fracción de dosis (F1D1) comprende el 50 % de la dosis primaria y se administra al sujeto el día 1 de la semana 1, y una segunda fracción de dosis (F2D1) comprende el 50 % de la dosis primaria total y se administra al sujeto de 12 a 96 horas después de la administración de la F1D1; (ii) administrar fracciones de una dosis secundaria de la proteína terapéutica en la semana 2 (S2) de la pauta posológica, en donde la dosis secundaria es

20 mg de la proteína terapéutica, una primera fracción de dosis (F1D2) comprende el 50 % de la dosis secundaria, una segunda fracción de dosis (F2D2) comprende el 50 % de la dosis secundaria y la F1D2 y la F2D2 se administran al sujeto de 12 a 96 horas entre sí durante la semana 2 de la pauta posológica; (iii) administrar fracciones de una dosis terciaria de la proteína terapéutica en la semana 3 (S3) de la pauta posológica, en donde la dosis terciaria no es menos de una mitad de la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica y no más de la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica, una primera fracción de dosis (F1D3) comprende el 50 % de la dosis terciaria, una segunda fracción de dosis (F2D3) comprende el 50 % de la dosis terciaria y la F1D3 y la F2D3 se administran al sujeto en 96 horas entre sí durante la semana 3 de la pauta posológica; y (vi) administrar la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica al sujeto como una dosis única en una semana posterior (Sp) de la pauta posológica, en donde la dosis máxima semanal comprende 80 mg, 160 mg o 320 mg de la proteína terapéutica.

En diversas realizaciones, la dosis terciaria comprende el 50 % de la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica. En algunos casos, la dosis terciaria comprende el 51 %, el 52 %, el 53 %, el 54 %, el 55 %, el 56 %, el 57 %, el 58 %, el 59 %, el 60 %, el 61 %, el 62 %, el 63 %, el 64 %, el 65 %, el 66 %, el 67 %, el 68 %, el 69 %, el 70 %, el 71 %, el 72 %, el 73 %, el 74 %, el 75 %, el 76 %, el 77 %, el 78 %, el 79 %, el 80 %, el 81 %, el 82 %, el 83 %, el 84 %, el 85 %, el 86 %, el 87 %, el 88 %, el 89 % o el 90 % de la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica. En algunos casos, la dosis terciaria de la proteína terapéutica comprende un intervalo porcentual de la dosis semanal máxima que incluye cualquiera de los valores indicados anteriormente como el extremo superior o inferior del intervalo (por ejemplo, el 50-75 %).

En diversas realizaciones, la primera fracción de dosis y la segunda fracción de dosis de la dosis terciaria comprenden cada una el 50 % de la dosis. En algunos casos, la primera fracción de dosis y la segunda fracción de dosis de la dosis terciaria comprenden porcentajes diferentes (que en total suman el 100 %) de la dosis total. Por ejemplo, la primera fracción de dosis puede comprender el 45 % de la dosis y la segunda fracción de dosis puede comprender el 55 % de la dosis. Como alternativa, la primera fracción de dosis puede comprender el 55 % de la dosis y la segunda fracción de dosis puede comprender el 45 % de la dosis. En diversas realizaciones, la primera y segunda fracciones de dosis pueden incluir el 10%/90 %, el 15%/85 %, el 20%/80 %, el 25%/75 %, el 30%/70 %, el 35%/65 %, el 40%/60 %, el 46%/54 %, el 47%/53 %, el 48%/52 %, el 49%/51 % o viceversa, de la dosis terciaria total, respectivamente.

En diversas realizaciones, la dosis terciaria (D3) puede dividirse en dos o más fracciones. Anteriormente se analizan diversas opciones para dividir la dosis en dos fracciones. En algunos casos, sin embargo, la dosis se divide en 3, 4 o 5 fracciones. Por ejemplo, la dosis podría dividirse en 5 fracciones, comprendiendo cada una de las cuales el 20 % de la dosis total y cada fracción de dosis (F1, F2, F3, F4 y F5) puede administrarse al sujeto durante cinco días consecutivos durante el régimen de administración. En otros casos, el porcentaje de la dosis total puede variar entre cada fracción de dosis. Por ejemplo, si la dosis se divide en 3 fracciones, la primera fracción de dosis (F1) puede incluir el 30 % de la dosis total, la segunda fracción de dosis (F2) puede incluir el 30 % de la dosis total y la tercera fracción de dosis (F3) puede incluir el 40 % restante de la dosis primaria total. Se contemplan expresamente en el presente documento otras combinaciones de los porcentajes y número de dosis fraccionarias que suman el 100 % de la dosis total.

En una realización ilustrativa de la pauta posológica, la dosis primaria comprende 1 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D1) y la segunda fracción de dosis (F2D1) comprende 500 mcg, la dosis secundaria comprende 20 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D2) y la segunda fracción de dosis (F2D2) comprenden 10 mg, la dosis terciaria comprende 60 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D3) y la segunda fracción de dosis (F2D3) comprenden 30 mg y la dosis semanal máxima comprende 80 mg de la proteína terapéutica.

En una realización ilustrativa de la pauta posológica, la dosis primaria comprende 1 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D1) y la segunda fracción de dosis (F2D1) comprende 500 mcg, la dosis secundaria comprende 20 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D2) y la segunda fracción de dosis (F2D2) comprenden 10 mg, la dosis terciaria comprende 80 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D3) y la segunda fracción de dosis (F2D3) comprenden 40 mg y la dosis semanal máxima comprende 160 mg de la proteína terapéutica.

En una realización ilustrativa de la pauta posológica, la dosis primaria comprende 1 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D1) y la segunda fracción de dosis (F2D1) comprende 500 mcg, la dosis secundaria comprende 20 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D2) y la segunda fracción de dosis (F2D2) comprenden 10 mg, la dosis terciaria comprende 160 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D3) y la segunda fracción de dosis (F2D3) comprenden 80 mg y la dosis semanal máxima comprende 320 mg de la proteína terapéutica.

En diversas realizaciones, la proteína terapéutica se administra a una dosis para mantener una concentración sérica de al menos aproximadamente 2000 mcg/l después de la administración de la dosis semanal máxima durante la duración de la pauta posológica. En algunos casos, la proteína terapéutica se administra en una dosis para mantener una concentración sérica de al menos aproximadamente 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400 o 3500 mcg/l después de la administración de la dosis semanal máxima durante la duración de la pauta posológica.

En diversas realizaciones, la proteína terapéutica se administra a una dosis para mantener una concentración sérica

ES 3 009 025 T3

- promedio de al menos aproximadamente 2600 mcg/l después de la administración de la dosis semanal máxima durante la duración de la pauta posológica. En algunos casos, la proteína terapéutica se administra en una dosis para mantener una concentración sérica promedio de al menos aproximadamente 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900 o 4000 mcg/l después de la administración de la dosis semanal máxima durante la duración de la pauta posológica.
- 5
- En diversas realizaciones, la semana posterior (Sp) de la pauta posológica es la semana 3 (S3), la semana 4 (S4), la semana 5 (S5), la semana 6 (S6), la semana 7 (S7), la semana 8 (S8), la semana 9 (S9), la semana 10 (S10), la semana 11 (S11), la semana 12 (S12), la semana 13 (S13), la semana 14 (S14), la semana 15 (S15), la semana 16 (S16), la semana 17 (S17), la semana 18 (S18), la semana 19 (S19), la semana 20 (S20), la semana 21 (S21), la semana 22 (S22), la semana 23 (S23), la semana 24 (S24), la semana 25 (S25), la semana 26 (S26), la semana 27 (S27), la semana 28 (S29), la semana 30 (S30), la semana 31 (S31), la semana 32 (S32), la semana 33 (S33), la semana 34 (S34), la semana 35 (S35) o la semana 36 (S36).
- 10
- En diversas realizaciones, la segunda dosis fraccionada en cualquier semana determinada de la pauta posológica se administra en las 24, 36, 48, 60, 72, 84 o 96 horas después de la administración de la primera dosis fraccionada.
- 15
- En diversas realizaciones, la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única durante 1 a 8 semanas, o durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 o más semanas durante una fase semanal de la pauta posológica. En algunos casos, la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única durante un intervalo de semanas que incluye cualquiera de los valores indicados anteriormente como el extremo superior o inferior del intervalo (por ejemplo, 1-12 semanas).
- 20
- En diversas realizaciones, la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única (dosis de mantenimiento) una vez cada dos semanas durante un máximo de 24 semanas, o durante un máximo de 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260 o más semanas durante una fase quincenal, trisemanal, tetrasemanal o pentasemanal (fase de mantenimiento) de la pauta posológica, que puede seguir a la finalización de la fase semanal de la pauta posológica (es decir, ya sea la dosificación semanal de la dosis máxima semanal o la dosificación dividida de las dosis primaria, secundaria y (opcionalmente) terciaria. En algunos casos, la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única (dosis de mantenimiento) una vez cada dos semanas, uno cada tres semanas, o una vez cada cuatro semanas durante un intervalo de semanas que incluya cualquiera de los valores indicados anteriormente como el extremo superior o inferior del intervalo (por ejemplo, 24-86 semanas).
- 25
- 30
- 35
- En una realización ilustrativa de la pauta posológica, la dosis primaria comprende 1 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D1) y la segunda fracción de dosis (F2D1) comprende 500 mcg, la dosis secundaria comprende 20 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D2) y la segunda fracción de dosis (F2D2) comprenden 10 mg, la dosis terciaria comprende 80 mg, cada una de la primera fracción de dosis
- 40
- (F1D3) y la segunda fracción de dosis F2D3) comprenden 40 mg y la dosis máxima semanal comprende 160 mg de la proteína terapéutica, en donde la dosis terciaria se administra como una dosis única (es decir, 80 mg) semanalmente (QW) durante las semanas 4 a 12 de la pauta posológica, y la dosis máxima semanal se administra como una dosis única (es decir, 160 mg) una vez cada dos semanas (Q2W) a partir de la semana 14 de la pauta posológica.
- 45
- En algunos casos, la pauta posológica identificada anteriormente es para su uso en métodos de tratamiento de un linfoma agresivo (por ejemplo, linfoma de células del manto o linfoma de la zona marginal).
- 50
- En una realización ilustrativa de la pauta posológica, la dosis primaria comprende 1 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D1) y la segunda fracción de dosis (F2D1) comprende 500 mcg, la dosis secundaria comprende 20 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D2) y la segunda fracción de dosis (F2D2) comprenden 10 mg, la dosis terciaria comprende 160 mg, cada una de la primera fracción de dosis (F1D3) y la segunda fracción de dosis (F2D3) comprenden 80 mg y la dosis semanal máxima comprende 320 mg de la proteína terapéutica, en donde la dosis terciaria se administra como una dosis única (es decir, 160 mg) semanalmente (QW) durante las semanas 4 a 12 de la pauta posológica, y la dosis máxima semanal se administra como una dosis única (es decir, 320 mg) una vez cada dos semanas (Q2W) a partir de la semana 14 de la pauta posológica.
- 55
- 60
- En algunos casos, la pauta posológica identificada anteriormente es para su uso en métodos de tratamiento de un linfoma agresivo (por ejemplo, linfoma de células del manto o linfoma de la zona marginal). En algunos casos, la pauta posológica identificada anteriormente es para su uso en métodos de tratamiento de linfoma folicular (por ejemplo, grado 1-3a). En algunos casos, el régimen de dosificación identificado anteriormente es para el tratamiento del linfoma difuso de células B grandes (incluyendo DLBCL recidivante o refractario, por ejemplo, en pacientes que no han respondido a una terapia CAR-T previa).
- 65

En diversas realizaciones, cada dosis o dosis fraccionaria de la proteína terapéutica se administra al sujeto durante un período de 1-4, 1-5 o 1-6 horas (por ejemplo, a través de infusión). En algunos casos, la dosis o dosis fraccionada se administra durante un período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 o más horas. En algunos casos, cada dosis o dosis fraccionaria de la proteína terapéutica se administra al sujeto durante un intervalo de tiempo que incluye cualquiera de los valores indicados anteriormente como el extremo superior o inferior del intervalo (por ejemplo, 1-8 horas). En diversas realizaciones, cada dosis máxima semanal se administra como una infusión única.

En algunas realizaciones de los regímenes de administración analizados en el presente documento, se administra un segundo agente como pretratamiento o en combinación con, la proteína terapéutica. En algunos casos, un esteroide, tal como dexametasona, se administra al paciente como pretratamiento antes de la administración de las dosis fraccionarias primarias y las dosis fraccionarias secundarias y, opcionalmente, antes de las dosis fraccionarias terciarias. En algunas realizaciones, la dexametasona se administra al paciente aproximadamente una a tres horas antes de la primera fracción de dosis (F1D1). En determinadas realizaciones la dosis de dexametasona se administra mediante infusión intravenosa. En algunos casos, un antagonista de citocinas, tal como un anticuerpo anti-IL-6 o un anticuerpo anti-IL-6R se administra en combinación con la proteína terapéutica durante las administraciones de dosis primaria, secundaria y, opcionalmente, terciaria. En algunos casos, un anticuerpo monoespecífico anti-CD20 (por ejemplo, rituximab) se administra al paciente como un pretratamiento antes de la administración de las dosis fraccionarias primarias y, opcionalmente, de las dosis fraccionarias secundarias, y, opcionalmente, antes de las dosis fraccionarias terciarias. Estas administraciones de pretratamiento o combinación del segundo agente se interrumpen, en una realización, con la administración de una dosis única de la dosis máxima semanal a partir de, por ejemplo, la semana 3, la semana 4, la semana 5 o la semana 6 de la pauta posológica para no reducir artificialmente la actividad de las citocinas y, por lo tanto, impedir los efectos terapéuticos de la proteína terapéutica.

Las expresiones "dosis primaria", "dosis secundaria", y "dosis terciarias", se refieren a la secuencia temporal de administración de la molécula de unión a antígeno de la invención. Por lo tanto, la "dosis primaria" es la dosis que se administra al inicio del régimen de tratamiento; la "dosis secundaria" es la dosis que se administra después de la dosis primaria (incluyendo todas las fracciones de dosis de la dosis primaria); y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de la dosis secundaria (incluyendo todas las fracciones de dosis de la dosis secundaria). Las dosis primarias, secundarias y terciarias (o sus fracciones de dosis) pueden contener una cantidad de la proteína terapéutica como se analiza en el presente documento. En algunos casos, la "dosis primaria" y la "dosis secundaria", así como la "dosis terciaria" opcional pueden denominarse "dosis de carga", mientras que las dosis máximas semanales posteriores pueden denominarse "dosis de mantenimiento". En algunos casos, la "dosis primaria" puede denominarse la "dosis inicial". En algunos casos, la "dosis secundaria" puede denominarse la "dosis intermedia". En algunos casos, la "dosis terciaria" puede denominarse la "dosis de aumento".

La expresión "la dosis inmediatamente anterior", se refiere a, en una secuencia de administraciones múltiples, la dosis de la molécula de unión a antígeno que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis en la secuencia sin dosis intermedias.

Moléculas de unión a antígeno

Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítopos de un polipéptido diana o pueden contener dominios de unión a antígeno específicos para más de un polipéptido diana. Véanse, por ejemplo, Tutt *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer *et al.*, 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244. Los anticuerpos biespecíficos de la presente invención pueden enlazarse a o coexpresarse con otra molécula funcional, por ejemplo, otro péptido o proteína. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo puede unirse funcionalmente (por ejemplo, mediante acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de otro modo) a una o más entidades moleculares diferentes, tales como otro anticuerpo o fragmento de anticuerpo para producir un anticuerpo biespecífico con una segunda especificidad de unión o especificidad de unión adicional.

La presente invención se refiere a un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 desvelado en el documento WO 2014/047231.

El uso de la expresión "anticuerpo anti-CD3", "anticuerpo anti-CD20", "anticuerpo anti-PSMA", "anticuerpo anti-MUC16", "anticuerpo anti-STEAP2", "anticuerpo anti-BCMA", o similares en el presente documento pretende incluir tanto anticuerpos monoespecíficos como anticuerpos biespecíficos que comprenden el respectivo brazo de unión al antígeno (por ejemplo, CD3). La presente invención se refiere a anticuerpos biespecíficos en los que un brazo de una inmunoglobulina se une a CD3 humano, y el otro brazo de la inmunoglobulina es específico de la CD20 humana.

En determinadas realizaciones, el brazo de unión a CD3 se une a CD3 humano e induce la activación de células T humanas. En determinadas realizaciones, el brazo de unión a CD3 se une de forma débil al CD3 humano e induce la activación de células T humanas. En otras realizaciones, el brazo de unión a CD3 se une de forma débil a CD3 humano e induce la destrucción de células que expresan antígenos asociados a tumores en el contexto de un anticuerpo biespecífico o multiespecífico. En otras realizaciones, el brazo de unión a CD3 se une o se asocia de forma débil con CD3 humano y de macaco (mono) cangrejero, sin embargo, la interacción de unión no es detectable mediante ensayos *in vitro* conocidos en la materia.

Cada dominio de unión a antígeno de un anticuerpo biespecífico comprende un dominio variable de cadena pesada (HCVR) y un dominio variable de cadena ligera (LCVR). En el contexto de una molécula de unión a antígeno biespecífica que comprende un primer y un segundo dominio de unión a antígeno (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico), las CDR del primer dominio de unión a antígeno pueden designarse con el prefijo "A1" y las CDR del segundo dominio de unión a antígeno pueden designarse con el prefijo "A2". Por lo tanto, en el presente documento las CDR del primer dominio de unión a antígeno pueden denominarse A1-HCDR1, A1-HCDR2 y A1-HCDR3; y las CDR del segundo dominio de unión a antígeno en el presente documento pueden denominarse A2-HCDR1, A2-HCDR2 y A2-HCDR3.

El anticuerpo terapéutico biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 se conoce como REGN1979. REGN1979 comprende un brazo de unión anti-CD20 que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, un brazo de unión anti-CD3 que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera común (que corresponde a los brazos de unión anti-CD20 y anti-CD3) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. En algunos casos, la forma madura del anticuerpo puede no incluir los residuos de lisina C-terminal de SEQ ID NO: 10 y 11. Por lo tanto, en algunos casos el brazo de unión anti-CD20 de REGN1979 comprende una cadena pesada que comprende los restos 1-452 de SEQ ID NO: 10 y el brazo de unión anti-CD3 de REGN1979 comprende una cadena pesada que comprende los restos 1-448 de SEQ ID NO: 11. REGN1979 también comprende las secuencias HCVR, LCVR y CDR establecidas en la lista de secuencias adjunta. El HCVR anti-CD20 corresponde a SEQ ID NO: 13, el HCVR anti-CD3 corresponde a SEQ ID NO: 14 y el LCVR común corresponde a SEQ ID NO: 15. Los dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3 anti-CD20 corresponden a SEQ ID NO: 16-17-18, respectivamente. Los dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3 anti-CD3 corresponden a SEQ ID NO: 19-20-21, respectivamente. Los dominios LCDR1-LCDR2-LCDR3 comunes corresponden a SEQ ID NO: 22-23-24, respectivamente.

En algunos casos, las moléculas de unión a antígeno biespecíficas de la presente invención comprenden uno cualquiera de los formatos analizados en Brinkmann *et al.*, MABS, 9(2):182-212, 2017.

El primer dominio de unión a antígeno y el segundo dominio de unión a antígeno pueden estar conectados directa o indirectamente entre sí para formar el anticuerpo biespecífico de la presente invención. Como alternativa, el primer dominio de unión a antígeno y el segundo dominio de unión a antígeno pueden estar unidos a un dominio de multimerización separado. La asociación de un dominio de multimerización con otro dominio de multimerización facilita la asociación entre los dos dominios de unión a antígeno, formando de este modo una molécula de unión a antígeno biespecífica. Un "dominio de multimerización" es cualquier macromolécula, proteína, polipéptido, péptido o aminoácido que tiene la capacidad de asociarse con un segundo dominio de multimerización de la misma estructura o constitución o similar. Por ejemplo, un dominio multimerizante puede ser un polipéptido que comprende un dominio de inmunoglobulina C_H3. Un ejemplo no limitante de un componente de multimerización es una porción Fc de una inmunoglobulina (que comprende un dominio C_H2-C_H3), por ejemplo, un dominio Fc de una IgG seleccionada de los isotipos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, así como cualquier alotipo dentro de cada grupo de isotipo.

Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas de la presente invención comprenderán normalmente dos dominios de multimerización, por ejemplo, dos dominios Fc que son cada uno de manera individual parte de una cadena pesada de anticuerpo separada.

En determinadas realizaciones, el dominio multimerizante es un fragmento Fc o una secuencia de aminoácidos de 1 a aproximadamente 200 aminoácidos de longitud que contiene al menos un resto de cisteína. En otras realizaciones, el dominio de multimerización es un resto de cisteína o un péptido corto que contiene cisteína. Otros dominios de multimerización incluyen péptidos o polipéptidos que comprenden o consisten en una cremallera de leucina, un motivo de bucle de hélice o un motivo de hélice superenrollada.

Puede usarse cualquier formato o tecnología de anticuerpo biespecífico para preparar las moléculas de unión a antígeno biespecíficas de la presente invención. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo que tiene una primera especificidad de unión a antígeno puede unirse funcionalmente (por ejemplo, mediante acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de otro modo) a una o más entidades moleculares diferentes, tales como otro anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene una segunda especificidad de unión a antígeno para producir una molécula de unión a antígeno biespecífica. Otros formatos biespecíficos ilustrativos específicos que pueden usarse en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, por ejemplo, formatos biespecíficos basados en scFv o de diacuerpo, fusiones IgG-scFv, dominio variable doble (DVD)-Ig, Cuadroma, botones en ojales, cadena ligera común (por ejemplo, cadena ligera común con "botón en ojal", etc.), CrossMab, CrossFab, (SEED)cuerpo, cremallera de leucina, Duocuerpo, IgG1/IgG2, Fab de acción doble (DAF)-IgG y formatos biespecíficos de Mab² (véase, por ejemplo, Klein *et al.* 2012, mAbs 4:6, 1-11, y las referencias citadas en el mismo, para una revisión de los formatos anteriores).

Propiedades de unión de las moléculas de unión a antígeno

El término "unión" en el contexto de la unión de un anticuerpo, inmunoglobulina, fragmento de unión a anticuerpo o proteína que contiene Fc a cualquiera, por ejemplo, un antígeno predeterminado, tal como una proteína de la superficie

celular o un fragmento de la misma, se refiere normalmente a una interacción o asociación entre un mínimo de dos entidades o estructuras moleculares, tal como una interacción de anticuerpo y antígeno.

Por ejemplo, la afinidad de unión corresponde normalmente a un valor K_D de aproximadamente 10^{-7} M o menos, tal como de aproximadamente 10^{-8} M o menos, tal como de aproximadamente 10^{-9} M o menos cuando se determina mediante, por ejemplo, tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR, por sus siglas en inglés) en un instrumento BIAcore 3000 que usa el antígeno como ligando y el anticuerpo, Ig, fragmento de unión a anticuerpo o proteína que contiene Fc como analito (o antilígando). Las estrategias de unión basadas en células, tales como los análisis de unión de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS, por sus siglas en inglés), también se usan de forma rutinaria, y los datos de FACS se correlacionan bien con otros métodos tales como la unión por competición de radioligandos y la SPR (Benedict, CA, *J Immunol Methods*. 1997, 201(2):223-31; Geuijen, CA, *et al. J Immunol Methods*. 2005, 302(1-2):68-77).

En consecuencia, el anticuerpo de la invención se une al antígeno predeterminado o molécula de la superficie celular (receptor) que tiene una afinidad correspondiente a un valor de K_D que es al menos diez veces inferior a su afinidad por unirse a un antígeno no específico (por ejemplo, BSA, caseína). De acuerdo con la presente invención, la afinidad de un anticuerpo correspondiente a un valor de K_D que es igual a o inferior a diez veces menor que un antígeno no específico puede considerarse unión no detectable, sin embargo, dicho anticuerpo puede emparejarse con un segundo brazo de unión a antígeno para la producción de un anticuerpo biespecífico de la invención.

El término " K_D "(M) se refiere a la constante de equilibrio de disociación de una interacción de anticuerpo y antígeno particular, o la constante de equilibrio de disociación de un anticuerpo o fragmento de unión de anticuerpo que se une a un antígeno. Existe una relación inversa entre la K_D y la afinidad de unión, por lo tanto cuanto menor es el valor de K_D , más alta, es decir, más fuerte, será la afinidad. Por lo tanto, las expresiones "mayor afinidad" o "afinidad más fuerte" se refieren a una mayor capacidad para formar una interacción y, por lo tanto, un valor de K_D más pequeño y, por el contrario, las expresiones "menor afinidad" o "afinidad más débil" se refieren a una menor capacidad para formar una interacción y, por lo tanto, un valor de K_D más alto. En algunas circunstancias, una mayor afinidad de unión (o K_D) de una molécula particular (por ejemplo, anticuerpo) a su molécula asociada interactiva (por ejemplo, antígeno X) en comparación con la afinidad de unión de la molécula (por ejemplo, anticuerpo) a otra molécula asociada interactiva (por ejemplo, antígeno Y) puede expresarse como una relación de unión determinada mediante la división del valor de K_D más elevado (afinidad menor, o más débil) entre el valor de K_D más bajo (afinidad mayor, o más fuerte), por ejemplo, expresada como afinidad de unión 5 veces o 10 veces superior, según pueda ser el caso.

El término " k_d "(s⁻¹ o 1/s) se refiere a la constante de velocidad de disociación de una interacción de anticuerpo y antígeno particular o la constante de velocidad de disociación de un anticuerpo o fragmento de unión de anticuerpo. Dicho valor también se conoce como el valor k_{off} .

El término " k_a " (M⁻¹ x s⁻¹ o 1/M) se refiere a la constante de velocidad de asociación de una interacción de anticuerpo y antígeno particular, o la constante de velocidad de asociación de un anticuerpo o fragmento de unión de anticuerpo.

El término " K_A "(M⁻¹ o 1/M) se refiere a la constante de equilibrio de asociación de una interacción de anticuerpo y antígeno particular o la constante de equilibrio de asociación de un anticuerpo o fragmento de unión de anticuerpo. La constante de equilibrio de asociación se obtiene dividiendo la k_a entre la k_d .

El término "CE₅₀" o "CE₅₀" se refiere a la concentración eficaz semimáxima, que incluye la concentración de un anticuerpo que induce una respuesta a medio camino entre el valor inicial y el máximo después de un tiempo de exposición específico. La CE₅₀ representa esencialmente la concentración de un anticuerpo donde se observa el 50 % de su efecto máximo. En determinadas realizaciones, el valor de CE₅₀ es igual a la concentración de un anticuerpo de la invención que proporciona una unión semimáxima a las células que expresan CD3 o CD20, como se determina mediante, por ejemplo, un análisis de unión de FACS. Por lo tanto, se observa una unión reducida o más débil con un aumento de la CE₅₀, o valor de concentración eficaz semimáxima.

En una realización, la unión disminuida puede definirse como un aumento de la concentración de anticuerpos CE₅₀ que permite la unión a la cantidad semimáxima de células diana.

En otra realización, el valor de CE₅₀ representa la concentración de un anticuerpo de la invención que provoca el agotamiento semimáximo de las células diana mediante la actividad citotóxica de los linfocitos T. Por lo tanto, se observa un aumento de la actividad citotóxica (por ejemplo, destrucción de células tumorales mediada por células T) con una disminución de la CE₅₀, o el valor de concentración eficaz semimáxima.

Unión dependiente de pH

La presente invención incluye anticuerpos con características de unión dependientes de pH. Por ejemplo, un anticuerpo de la presente invención puede exhibir una unión reducida a, por ejemplo, un antígeno tumoral como CD20 a pH ácido en comparación con pH neutro. Como alternativa, los anticuerpos de la invención pueden exhibir una unión mejorada a, por ejemplo, un antígeno tumoral como CD20 a pH ácido en comparación con pH neutro. La expresión

"pH ácido" incluye valores de pH de menos de aproximadamente 6,2, por ejemplo, aproximadamente 6,0, 5,95, 5,9, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 o menos. La expresión "pH neutro" significa un pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4. La expresión "pH neutro" incluye valores de pH de aproximadamente 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 y 7,4.

5 En determinados casos, "unión reducida... a pH ácido en comparación con un pH neutro" se expresa en términos de una relación del valor de K_D del anticuerpo que se une a su antígeno a pH ácido respecto al valor de K_D del anticuerpo que se une a su antígeno a pH neutro (o viceversa). Por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo puede considerarse que exhibe "unión reducida a, por ejemplo, CD20 a pH ácido en comparación con pH neutro" para los fines de la presente invención si el anticuerpo exhibe una proporción K_D ácido/neutro de aproximadamente 3,0 o mayor. En determinadas realizaciones ilustrativas, la relación de K_D ácido/neutro para un anticuerpo de la presente invención puede ser de aproximadamente 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 40,0, 50,0, 60,0, 70,0, 100,0 o superior.

15 Los anticuerpos con características de unión dependientes del pH pueden obtenerse, por ejemplo, explorando la unión reducida (o aumentada) de una población de anticuerpos a un antígeno particular a pH ácido en comparación con pH neutro. Adicionalmente, las modificaciones del dominio de unión a antígeno a nivel de aminoácidos pueden producir anticuerpos con características dependientes del pH. Por ejemplo, mediante la sustitución de uno o más aminoácidos de un dominio de unión a antígeno (por ejemplo, dentro de una CDR) con un resto de histidina, puede obtenerse un anticuerpo con unión a antígeno reducida a pH ácido en relación con el pH neutro.

Anticuerpos que comprenden variantes Fc

25 En general, los anticuerpos y las moléculas de unión a antígenos biespecíficos pueden comprender un dominio Fc que comprende una o más mutaciones que mejoran o disminuyen la unión del anticuerpo al receptor FcRn, por ejemplo, a pH ácido en comparación con pH neutro. Por ejemplo, los anticuerpos que comprenden una mutación en la región C_H2 o C_H3 del dominio Fc, en donde la mutación o mutaciones aumentan la afinidad del dominio Fc por FcRn en un entorno ácido (por ejemplo, en un endosoma en donde el pH varía de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,0). Dichas mutaciones pueden dar como resultado un aumento de la semivida en suero del anticuerpo cuando se administra a un animal. Los ejemplos no limitantes de dichas modificaciones de Fc incluyen, por ejemplo, una modificación en la posición 250 (por ejemplo, E o Q); 250 y 428 (por ejemplo, L o F); 252 (por ejemplo, L/Y/F/W o T), 254 (por ejemplo, S o T) y 256 (por ejemplo, S/R/Q/E/D o T); o una modificación en la posición 428 y/o 433 (por ejemplo, H/L/R/S/P/Q o K) y/o 434 (por ejemplo, H/F o Y); o una modificación en la posición 250 y/o 428; o una modificación en 307 o 308 (por ejemplo, 308F, V308F) y 434. En un ejemplo, la modificación comprende una modificación en 428L (por ejemplo, M428L) y 434S (por ejemplo, N434S); una modificación en 428L, 259I (por ejemplo, V259I) y 308F (por ejemplo, V308F); una modificación en 433K (por ejemplo, H433K) y una modificación en 434 (por ejemplo, 434Y); una modificación en 252, 254 y 256 (por ejemplo, 252Y, 254T y 256E); una modificación en 250Q y 428L (por ejemplo, T250Q y M428L); y una modificación en 307 y/o 308 (por ejemplo, 308F o 308P).

40 Por ejemplo, un dominio Fc que comprende uno o más pares o grupos de mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en: 250Q y 248L (por ejemplo, T250Q y M248L); 252Y, 254T y 256E (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E); 428L y 434S (por ejemplo, M428L y N434S); y 433K y 434F (por ejemplo, H433K y N434F). Los anticuerpos de la presente invención se definen por las reivindicaciones.

Preparación de dominios de unión a antígeno y construcción de moléculas biespecíficas

50 Los dominios de unión a antígeno específicos para antígenos particulares pueden prepararse mediante cualquier tecnología generadora de anticuerpos conocida en la técnica. Una vez obtenidos, dos dominios de unión a antígeno diferentes, específicos para dos antígenos diferentes (CD3 y CD20), pueden disponerse apropiadamente uno con respecto al otro para producir un anticuerpo biespecífico de la presente invención usando métodos de rutina. (Un análisis de formatos de anticuerpos biespecíficos ilustrativos que pueden usarse para construir el anticuerpo biespecífico de la presente invención se proporciona en otras partes en el presente documento). En determinadas realizaciones, uno o más de los componentes individuales (por ejemplo, cadenas pesadas y ligeras) del anticuerpo de la invención derivan de anticuerpos quiméricos, humanizados o completamente humanos. Los métodos para fabricar tales anticuerpos se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, una o más de las cadenas pesadas y/o ligeras del anticuerpo biespecífico de la presente invención pueden prepararse usando la tecnología VELOCIMMUNE™. Usando la tecnología VELOCIMMUNE™ (o cualquier otra tecnología de generación de anticuerpos humanos), los anticuerpos quiméricos de alta afinidad contra un antígeno particular (por ejemplo, CD3 o CD20) se aíslan inicialmente con una región variable humana y una región constante de ratón. Los anticuerpos se caracterizan y se seleccionan para las características deseables, incluyendo afinidad, selectividad, epítipo, etc. Las regiones constantes de ratón se reemplazan por una región constante humana deseada para generar cadenas pesadas y/o ligeras totalmente humanas que pueden incorporarse en el anticuerpo biespecífico de la presente invención.

65 Los animales modificados genéticamente pueden usarse para producir moléculas de unión a antígeno biespecíficas humanas. Por ejemplo, puede usarse un ratón modificado genéticamente que es incapaz de reorganizar y expresar

una secuencia variable de cadena ligera de inmunoglobulina endógena de ratón, en donde el ratón expresa solo uno o dos dominios variables de cadena ligera humana codificados por secuencias de inmunoglobulina humana unidas operativamente al gen constante κ de ratón en el locus κ de ratón endógeno. Tales ratones modificados genéticamente pueden usarse para producir moléculas de unión a antígeno biespecíficas totalmente humanas que comprenden dos cadenas pesadas diferentes que se asocian a una cadena ligera idéntica que comprende un dominio variable procedente de uno de dos segmentos génicos de región variable de cadena ligera humana diferentes. (Véase, por ejemplo, el documento US 2011/0195454). Completamente humano se refiere a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno o dominio de inmunoglobulina del mismo, que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por un ADN derivado de una secuencia humana en toda la longitud de cada polipéptido del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o dominio de inmunoglobulina del mismo. En algunos casos, la secuencia totalmente humana deriva de una proteína endógena a un ser humano. En otros casos, la proteína o secuencia de proteína totalmente humana comprende una secuencia quimérica en donde cada secuencia constituyente deriva de una secuencia humana. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, las proteínas o secuencias quiméricas generalmente están diseñadas para minimizar la creación de epítopos inmunogénicos en las uniones de las secuencias constituyentes, por ejemplo, en comparación con cualquier región o dominio de inmunoglobulina humana de tipo silvestre.

Bioequivalentes

Dos proteínas de unión a antígeno, o anticuerpos, se consideran bioequivalentes si, por ejemplo, son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya velocidad y grado de absorción no muestran una diferencia significativa cuando se administran a la misma dosis molar en condiciones experimentales similares, ya sea en una sola dosis o en múltiples dosis. Algunas proteínas de unión a antígeno se considerarán equivalentes o alternativas farmacéuticas si son equivalentes en el grado de su absorción, pero no en su velocidad de absorción y, sin embargo, pueden considerarse bioequivalentes porque tales diferencias en la velocidad de absorción son intencionales y se reflejan en el marcaje, no son esenciales para obtener las concentraciones eficaces del fármaco en el organismo en, por ejemplo, el uso crónico, y se consideran médicamente irrelevantes para el fármaco estudiado en concreto.

Dos proteínas de unión a antígeno pueden ser bioequivalentes si no hay diferencias clínicamente importantes en su seguridad, pureza y potencia.

Dos proteínas de unión a antígeno pueden ser bioequivalentes si un paciente puede cambiarse una o más veces entre el producto de referencia y el producto biológico sin un aumento esperado en el riesgo de efectos adversos, incluyendo un cambio clínicamente significativo en la inmunogenicidad o eficacia disminuida, en comparación con la terapia continuada sin dicho cambio.

Dos proteínas de unión a antígeno pueden ser bioequivalentes si ambas actúan por un mecanismo o mecanismos comunes de acción para la condición o condiciones de uso, en la medida en que se conozcan dichos mecanismos.

La bioequivalencia puede demostrarse por métodos *in vivo* e *in vitro*. Las mediciones de bioequivalencia incluyen, por ejemplo, (a) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos, en donde se mide la concentración del anticuerpo o sus metabolitos en sangre, plasma, suero u otro líquido biológico como una función del tiempo; (b) una prueba *in vitro* que se ha correlacionado con y es razonablemente predictiva de datos de biodisponibilidad *in vivo* en seres humanos; (c) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos en donde se mide el efecto farmacológico agudo adecuado del anticuerpo (o su diana) en función del tiempo; y (d) en ensayo clínico bien controlado que establece la seguridad, eficacia, biodisponibilidad o bioequivalencia de una proteína de unión a antígeno.

Las variantes bioequivalentes de los anticuerpos y las moléculas de unión a antígeno biespecíficas ilustrativas expuestas en el presente documento pueden construirse mediante, por ejemplo, diferentes sustituciones de restos o secuencias o eliminando secuencias o restos terminales o internos no necesarios para la actividad biológica. Por ejemplo, pueden eliminarse restos de cisteína no esenciales para la actividad biológica, o remplazarse por otros aminoácidos, para evitar la formación de puentes disulfuro intramoleculares innecesarios o incorrectos tras la renaturalización. En otros contextos, las proteínas de unión a antígeno bioequivalentes pueden incluir variantes de los anticuerpos y las moléculas de unión a antígeno biespecíficas ilustrativas expuestas en el presente documento que comprenden cambios de aminoácidos que modifican las características de glucosilación de las moléculas, por ejemplo, mutaciones que eliminan o retiran la glucosilación.

Los anticuerpos de la presente invención se definen por las reivindicaciones.

Formulación terapéutica y suministro

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos de la presente invención. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse con vehículos, excipientes y otros agentes adecuados que proporcionan transferencia, administración, tolerancia y similares mejoradas. Una multitud de formulaciones adecuadas puede encontrarse en el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tales

como LIPOFECTIN™, Life Technologies, Carlsbad, CA), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, emulsiones de Carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen Carbowax. Véase también Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

5 Se conocen diversos sistemas de suministro y pueden usarse para administrar la composición farmacéutica, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu *et al.*, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Los métodos de introducción incluyen, pero no se limitan a, vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. La composición puede administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en embolada, mediante absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, rectal y mucosa intestinal, etc.) y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local. En una realización, el anticuerpo de la invención es para administración a través de infusión intravenosa.

15 Una composición farmacéutica puede administrarse por vía subcutánea o por vía intravenosa con una aguja y una jeringa convencionales. Además, con respecto al suministro subcutáneo, un dispositivo inyector de pluma tiene fácilmente aplicaciones en la administración de una composición farmacéutica. Dicho dispositivo inyector de pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de suministro de pluma reutilizable utiliza generalmente un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez que se ha administrado toda la composición farmacéutica del cartucho y que el cartucho está vacío, el cartucho vacío puede desecharse fácilmente y sustituirse por un nuevo cartucho que contenga la composición farmacéutica. El dispositivo de suministro de pluma puede reutilizarse después. En un dispositivo de suministro de pluma desechable, no hay cartucho reemplazable. Más bien, el dispositivo inyector de pluma desechable viene precargado con la composición farmacéutica contenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez que el depósito se vacía de la composición farmacéutica, se desecha todo el dispositivo.

20 Numerosos dispositivos inyectores de pluma y autoinyectores reutilizables tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RU), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar solo algunos. Los ejemplos de dispositivos de suministro de pluma desechables que tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica incluyen, pero no se limitan a la pluma SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), la FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y la KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), la PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), la EPIPEN (Dey, L.P.) y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), por nombrar solo algunos.

40 En determinadas situaciones, la composición farmacéutica puede suministrarse en un sistema de liberación controlada. En una realización, puede usarse una bomba (véase Langer, citado anteriormente; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos; véase, Medical Applications of Controlled Release, Langer y Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. En otra realización más, un sistema de liberación controlada puede colocarse en proximidad a la diana de la composición, por lo tanto, requiriendo solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, 1984, en Medical Applications of Controlled Release, citado anteriormente, vol. 2, pp. 115-138). Otros sistemas de liberación controlada se analizan en la revisión de Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

50 Las preparaciones inyectables pueden incluir formas farmacéuticas para inyecciones intravenosas, subcutáneas, intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estas preparaciones inyectables pueden prepararse mediante métodos conocidos por el público en general. Por ejemplo, las preparaciones inyectables pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal descrita anteriormente en un medio acuoso estéril o en un medio oleaginoso usado convencionalmente para inyecciones. Como el medio acuoso para inyecciones, existen, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros coadyuvantes, etc., que puede usarse junto con un agente solubilizante adecuado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol), un polialcohol (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol), un tensoactivo no iónico [por ejemplo, polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como el medio oleaginoso, se emplean, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, etc., que puede usarse junto con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencílico, etc. La inyección preparada de esta manera se carga preferentemente en una ampolla apropiada.

Usos terapéuticos de los anticuerpos

65 La presente invención proporciona un anticuerpo biespecífico como se define en las reivindicaciones para su uso en métodos que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita, por ejemplo, una composición terapéutica que

comprende el anticuerpo biespecífico. La composición terapéutica puede comprender la molécula de unión al antígeno biespecífico y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. La expresión "un sujeto que lo necesita" significa un animal humano o no humano que presenta uno o más síntomas o indicios de cáncer (por ejemplo, un sujeto que expresa un tumor o padece cualquiera de los cánceres mencionados a continuación en el presente documento).

5 Los anticuerpos de la invención (y las composiciones terapéuticas que comprenden los mismos) son útiles, entre otros, para tratar cualquier enfermedad o trastorno en que la estimulación, la activación y/o el direccionamiento de una respuesta inmunitaria resultase ser beneficioso. En particular, los anticuerpos o las moléculas de unión a antígeno biespecíficas de la presente invención pueden usarse para el tratamiento, la prevención y/o la mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado o mediado por expresión o actividad de CD20 o proliferación de células CD20+. El mecanismo de acción mediante el cual se logran los métodos terapéuticos incluye destrucción de células que expresan dichos antígenos en presencia de células efectoras, por ejemplo, mediante CDC, apoptosis, ADCC, fagocitosis, o por una combinación de dos o más de estos mecanismos. Los anticuerpos de la invención son para su uso en un método de tratamiento de una neoplasia maligna de células B CD20+.

15 De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, los anticuerpos biespecíficos son útiles para tratar a un paciente que padece un cáncer refractario o resistente al tratamiento.

20 El anticuerpo anti-CD3 x anti-CD20 biespecífico de la invención es útil para tratar un cáncer que expresa CD20 incluyendo linfoma no Hodgkiniano, linfoma de Hodgkin, leucemia linfocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma linfocítico pequeño, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma de la zona marginal, macroglobulinemia de Waldenström, linfoma mediastínico primario de linfocitos B, linfoma linfoblástico o linfoma de Burkitt. En algunas realizaciones, el cáncer es linfoma folicular. En algunas realizaciones, el cáncer es el linfoma difuso de células B grandes (DLBCL). En algunas realizaciones, el cáncer es linfoma de células del manto. En algunas realizaciones, el cáncer es linfoma de la zona marginal. En algunas realizaciones, el cáncer es linfoma folicular y la dosis máxima semanal del anticuerpo biespecífico es de 80 mg. En algunas realizaciones, el cáncer es DLBCL y la dosis máxima semanal del anticuerpo biespecífico es de 80 mg. En algunas realizaciones, el cáncer es DLBCL y la dosis máxima semanal del anticuerpo biespecífico es de 160 mg. En algunas realizaciones, el cáncer es DLBCL y la dosis máxima semanal del anticuerpo biespecífico es de 320 mg. En cualquiera de estas realizaciones, u otras analizadas en el presente documento, el paciente con cáncer puede haber recibido tratamiento previo con una terapia con anticuerpos monoespecíficos anti-CD20.

35 El linfoma no Hodgkin (NHL) es la neoplasia hematológica maligna más común. Entre un grupo heterogéneo de NHL, el 85-90 % son de origen de células B e incluyen el linfoma folicular (FL), linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de células del manto (MCL), linfoma de la zona marginal (MZL) y varios otros B-NHL. Los anticuerpos anti-CD20 en combinación con quimioterapia son el tratamiento habitual para el tratamiento de los B-NHL; sin embargo, a pesar de las respuestas iniciales, muchos pacientes recaen, a menudo con duraciones de respuesta progresivamente más cortas en líneas de terapia posteriores y malos resultados. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el anticuerpo biespecífico anti-CD3 x anti-CD20 de la invención se une a las células T CD3+ y a las células B CD20+, dirigiéndose a las células tumorales CD20+ a través de la citotoxicidad mediada por células T. En algunos casos, el anticuerpo biespecífico anti-CD3 x CD20 es para el tratamiento de un cáncer de células B (por ejemplo, un NHL) en un sujeto que no ha respondido a una terapia previa con un anticuerpo monoespecífico anti-CD20.

45 Para pacientes con una respuesta menor a la terapia CAR-T, los resultados son generalmente malos y no existen opciones terapéuticas convencionales. Por lo tanto, en algunos casos, el anticuerpo biespecífico anti-CD3 x CD20 de la presente invención es para el tratamiento de un cáncer de células B (por ejemplo, un NHL tal como DLBCL) en un sujeto que no ha respondido a una terapia CAR-T previa o que no responde a una terapia CAR-T previa (por ejemplo, terapia CAR-T anti-CD19).

50 **Terapias de combinación**

La presente invención proporciona un anticuerpo biespecífico como se define en las reivindicaciones para su uso en métodos de tratamiento de una neoplasia maligna de células B CD20+ que comprenden la administración de una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Los agentes terapéuticos adicionales ilustrativos que pueden combinarse o administrarse en combinación con un anticuerpo de la presente invención incluyen, por ejemplo, un agente antitumoral (por ejemplo, agentes quimioterapéuticos que incluyen melfalán, vincristina (Oncovin), ciclofosfamida (Cytosan), etopósido (VP-16), doxorubicina (Adriamicina), doxorubicina liposómica (Doxil), obendamustina (Treanda) o cualquier otro que se sepa que es eficaz en el tratamiento de un tumor de células plasmáticas en un sujeto). En determinadas realizaciones, el segundo agente terapéutico es un régimen que comprende radioterapia o un trasplante de células madre hematopoyéticas. En determinadas realizaciones, el segundo agente terapéutico puede ser un agente inmunomodulador. En determinadas realizaciones, el segundo agente terapéutico puede ser un inhibidor del proteosoma, incluyendo bortezomib (Velcade), carfilzomib (Kyprolis), ixazomib (Ninlaro). En determinadas realizaciones, el segundo agente terapéutico puede ser un inhibidor de histona desacetilasa tal como panobinostat (Farydak). En determinadas realizaciones, el segundo agente terapéutico puede ser un anticuerpo monoclonal, un conjugado de anticuerpo-fármaco, un anticuerpo biespecífico conjugado con un agente antitumoral, un inhibidor de

punto de control inmunitario o combinaciones de los mismos. Las composiciones farmacéuticas también pueden administrarse como parte de un régimen terapéutico que comprende una o más combinaciones terapéuticas seleccionadas de un anticuerpo monoclonal distinto de aquellos descritos en el presente documento, que puede interactuar con un antígeno diferente en la superficie de las células plasmáticas, un anticuerpo biespecífico, que tiene un brazo que se une a un antígeno en la superficie de la célula tumoral y el otro brazo se une a un antígeno en una célula T, un conjugado de anticuerpo-fármaco, un anticuerpo biespecífico conjugado con un agente antitumoral, un inhibidor del punto de control, por ejemplo, uno que marca como diana, PD-1 o CTLA-4, o combinaciones de los mismos. En determinadas realizaciones, los inhibidores del punto de control pueden seleccionarse de inhibidores de PD-1, tales como pembrolizumab (Keytruda), nivolumab (Opdivo) o cemiplimab. En determinadas realizaciones, los inhibidores del punto de control pueden seleccionarse de inhibidores de PD-L1, tales como atezolizumab (Tecentriq), avelumab (Bavencio) o Durvalumab (Imfinzi)). En determinadas realizaciones, los inhibidores del punto de control pueden seleccionarse de inhibidores de CTLA-4, tales como ipilimumab (Yervoy). Otras combinaciones que pueden usarse junto con un anticuerpo de la invención se describen anteriormente.

La presente invención también incluye combinaciones terapéuticas que comprenden el anticuerpo biespecífico para su uso como se define en las reivindicaciones y un inhibidor de uno o más de VEGF, Ang2, DLL4, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, EGFRvIII, cMet, IGF1R, B-raf, PDGFR- α , PDGFR- β , FOLH1 (PSMA), PRLR, STEAP1, STEAP2, TMPRSS2, MSLN, CA9 o uroplaquina, en donde el inhibidor es un aptámero, una molécula antisentido, una ribozima, un ARNip, un peptidocuerpo, un nanocuerpo o un fragmento de anticuerpo (por ejemplo, fragmento Fab; fragmento F(ab')₂; fragmento Fd; fragmento Fv; scFv; fragmento dAb; u otras moléculas diseñadas por ingeniería genética, tales como diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos y unidades de reconocimiento mínimas). El anticuerpo de la invención también puede administrarse y/o coformularse en combinación con antiviricos, antibióticos, analgésicos y/o AINE. El anticuerpo de la invención también puede administrarse como parte de un régimen de tratamiento que también incluye tratamiento con radiación y/o quimioterapia convencional.

El componente o componentes terapéuticamente activos adicionales pueden administrarse justo antes de, concomitante con o poco después de la administración del anticuerpo de la presente invención; (para los fines de la presente divulgación, dichos regímenes de administración se consideran la administración de una molécula de unión a antígeno "junto con" un componente terapéuticamente activo adicional).

El anticuerpo de la presente invención puede coformularse con uno o más de los componentes terapéuticamente activos adicionales como se describe en otra parte del presente documento.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completas de cómo preparar y usar las composiciones de la invención y no están previstas para limitar el alcance de las reivindicaciones.

Se han realizado esfuerzos para garantizar la exactitud con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. Salvo que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es atmosférica o cercana a la atmosférica.

Ejemplo 1: Evaluación clínica y aumento escalonado de la dosis de un anticuerpo biespecífico

El estudio clínico descrito a continuación es un estudio abierto, multicéntrico de fase 1 para investigar la seguridad y la tolerabilidad de REGN1979, un anticuerpo monoclonal biespecífico anti-CD20 x anti-CD3, en pacientes con neoplasias malignas de células B CD20+ previamente tratados con terapia con anticuerpos dirigidos a CD20.

Objetivos: Los objetivos principales del estudio eran evaluar la seguridad, la tolerabilidad y las toxicidades limitantes de la dosis (DLT, por sus siglas en inglés) de REGN1979 administrado por vía intravenosa (i.v.), y estudiar la actividad antitumoral de REGN1979 en cohortes de expansión que comprenden linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) después del fracaso de la terapia con células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T), linfoma agresivo (distinto del DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T), linfoma folicular (FL) grado 1-3a y leucemia linfocítica crónica (CLL). Los objetivos secundarios del estudio eran: (1) caracterizar el perfil farmacocinético (PK) de REGN1979; (2) evaluar la inmunogenicidad de REGN1979; (3) estudiar la actividad antitumoral preliminar de REGN1979 administrado a pacientes con neoplasias malignas de células B CD20+ (linfoma no Hodgkiniano [NHL] previamente tratado con terapia con anticuerpos anti-CD20 o leucemia linfocítica crónica [CLL]); y (4) estudiar la actividad antitumoral preliminar de REGN1979 en la parte de aumento escalonado de la dosis del estudio. Se realizaron evaluaciones de enfermedad residual mínima (MRD, por sus siglas en inglés) en pacientes con CLL. Los objetivos exploratorios del estudio eran evaluar biomarcadores que pueden correlacionarse con mecanismo de acción, toxicidad observada y posible actividad antitumoral incluyendo, pero no limitado, a: (1) perfil de citocinas y evaluación de marcadores inflamatorios (por ejemplo, proteína C reactiva [CRP, por sus siglas en inglés]); (2) subconjuntos de células B y células T de sangre periférica e inmunofenotipado; y (3) cambios en la expresión génica en sangre periférica.

- Diseño del estudio:** Los pacientes se asignaron a una cohorte de nivel de dosis (DL) que consiste en una dosis de partida inicial, seguido de dosis en aumento más altas para la administración de la segunda dosis y las posteriores. Los pacientes se inscribieron basándose en la indicación (NHL o CLL). En cada DL, hubo 2 cohortes (una para cada indicación), con 3 a 6 pacientes por cohorte de NHL y 1 a 6 pacientes por cohorte de CLL. Los pacientes con linfoma linfocítico pequeño (SLL) se inscribieron en el grupo de CLL y siguen evaluaciones de NHL.
- Los pacientes que inicialmente mostraron un beneficio clínico y que posteriormente recayeron o avanzaron o tuvieron una respuesta subóptima al tratamiento pueden haber sido tratados nuevamente con REGN1979 en la DL más alta que se consideró tolerable en el momento de la recaída o avance.
- Los pacientes se sometieron a procedimientos de selección para determinar la elegibilidad en los 28 días anteriores a la administración inicial de REGN1979. Los pacientes se inscribieron secuencialmente según la indicación (NHL o CLL) en orden de confirmación de elegibilidad por parte del patrocinador hasta que cada cohorte se llenó según los criterios del protocolo.
- Hubo cohortes de aumento de dosis independientes para NHL y CLL en cada DL. Cada DL consistió en una dosis inicial y una segunda y posterior dosis, que era más alta que la dosis de partida, siempre que se tolerase la dosis inicial.
- El aumento escalonado de la dosis siguió un diseño tradicional de aumento escalonado de la dosis 3+3 para pacientes con NHL. Se planificaron de tres a 6 pacientes por cohorte en función de la toxicidad observada.
- El aumento escalonado de la dosis siguió un 3+3 modificado con un componente de titulación acelerada para pacientes con CLL. Basándose en la toxicidad observada, se planificaron de 1 a 6 pacientes por cohorte.
- Tras completarse la fase de aumento de dosis, y tras la determinación de una dosis recomendada para estudio adicional en pacientes con NHL, se abrirían tres cohortes de expansión para 1) pacientes con DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T (20 pacientes), 2) linfoma agresivo (distinto de DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T) (40 pacientes; entre los cuales se inscribirían 20 pacientes en cada cohorte 1 de linfoma agresivo [dosis de aumento de 160 mg]) y cohorte 2 [dosis de aumento de 80 mg]) y 3) pacientes con linfoma folicular recidivante/refractario de grado 1-3a (60 pacientes; entre los cuales se inscribirían 30 en cada cohorte 1 [dosis de aumento de 80 mg] y cohorte 2 [dosis de aumento de 160 mg]). La dosis semanal de aumento de REGN1979 para cada una de estas cohortes de expansión (excepto la cohorte 2 de linfoma agresivo y la cohorte 1 de linfoma folicular) se estableció en 160 mg semanalmente, seguido de tratamiento de mantenimiento Q2W con 320 mg de REGN1979. En la cohorte 2 de linfoma agresivo y la cohorte 1 de linfoma folicular, la dosis semanal de aumento de REGN1979 fue de 80 mg y la dosis de mantenimiento Q2W de REGN1979 fue de 160 mg. Para los pacientes asignados a una dosis de aumento de 80 mg, los pacientes recibieron 80 mg semanalmente durante un período de inducción de 4 semanas, después del aumento escalonado de la dosis inicial, seguido de 8 dosis semanales adicionales y un tratamiento de 160 mg Q2W hasta la progresión, con una opción de interrumpir el tratamiento después de que el paciente haya mostrado una respuesta duradera durante al menos 9 meses después de la demostración inicial de CR. En el caso de los pacientes asignados a una dosis de aumento de 160 mg, recibieron 160 mg semanalmente durante un período de inducción de 4 semanas, después del aumento escalonado de la dosis inicial, seguido de 8 dosis semanales adicionales y un tratamiento de 320 mg Q2W hasta la progresión, con una opción de interrumpir el tratamiento después de que el paciente haya mostrado una respuesta duradera durante al menos 9 meses después de la demostración inicial de CR.
- Se estudió la utilidad de una dosis inicial de rituximab antes de la primera administración de REGN1979 en pacientes con NHL para determinar si esta intervención puede disminuir la incidencia y la gravedad de la reacción relacionada con la infusión (IRR) y el síndrome de liberación de citocinas (CRS). En la cohorte de entrada de rituximab, REGN1979 se administró usando una dosis de aumento de 160 mg durante el tratamiento semanalmente y 320 mg durante el tratamiento de mantenimiento Q2W. Posteriormente, se trataría a 24 pacientes adicionales con la pauta posológica y la dosis óptimas; junto con los 6 pacientes del grupo inicial de rituximab tratados con la dosis óptima, se evaluó la seguridad y la tolerabilidad de un total de 30 pacientes.
- En el primer DL para la parte de aumento escalonado de la dosis, hubo un periodo de espera de 48 horas entre las administraciones de fármacos del estudio inicial para los primeros 3 pacientes dentro de la misma indicación. Los pacientes posteriores en el primer DL no se trataron el mismo día, independientemente de la indicación. En cohortes posteriores, siempre que no se observara toxicidad inesperada en cohortes anteriores o dentro de la cohorte, las infusiones iniciales para los primeros 3 pacientes se administraron con al menos 24 horas de diferencia.
- Después de que cada cohorte de pacientes se inscribiera, se tratara y completara el periodo de observación de DLT, la apertura de cohortes de DL posteriores para inscripción (o expansión de la cohorte de DL abierta actual) se determinó una vez que el patrocinador y el investigador o investigadores hubieran revisado los datos de seguridad.
- El periodo de observación de DLT se definió como los primeros 28 días de tratamiento, que en este estudio corresponde con el periodo de inducción. Durante la inducción, los pacientes se trataron con 4 administraciones

semanalmente de REGN1979.

Para que DLT fuera evaluable, un paciente individual debe haber recibido al menos las primeras 2 administraciones de REGN1979 (semana 1 día 1 ["dosis inicial o primaria"] y semana 2 día 1 ["dosis secundaria y posterior"]), o haber experimentado una DLT. Los pacientes inscritos en DL11 y superiores deben haber recibido al menos las primeras 3 administraciones de REGN1979 (dosis inicial de la semana 1, dosis intermedia o secundaria de la semana 2 y dosis terciaria o de aumento superior de la semana 3) o haber experimentado una DLT. Adicionalmente, el paciente debe haberse evaluado durante al menos 28 días después de la primera administración y al menos 21 días desde la segunda administración.

El aumento escalonado de la dosis y las cohortes para los pacientes con NHL y CLL se muestran en la Tabla 1, a continuación.

Tabla 1. Aumento escalonado de la dosis y cohortes

Nivel de dosis	Dosis inicial (mcg)	Dosis intermedia (mcg)	Dosis máxima (dosis de aumento) (mcg)	NHL	n	CLL	n
DL1	30	-	100	Cohorte 1	3-6	Cohorte 1	1-6
DL2	100	-	300	Cohorte 2	3-6	Cohorte 2	1-6
DL3	300	-	1000	Cohorte 3	3-6	Cohorte 3	1-6
DL4	1000	-	2000	Cohorte 4	3-6	Cohorte 4	1-6
DL5	1000	-	3000	Cohorte 5	3-6	Cohorte 5	1-6
DL6	1000	-	4000	Cohorte 6	3-6	Cohorte 6	1-6
DL7	1000	-	5000	Cohorte 7	3-6	Cohorte 7	1-6
DL8	1000	-	6000	Cohorte 8	3-6	Cohorte 8	1-6
DL9	1000	-	7000	Cohorte 9	3-6	Cohorte 9	1-6
DL10	1000	-	8000	Cohorte 10	3-6	Cohorte 10	1-6
DL11	1000	6.000	12.000	Cohorte 11	3-6	Cohorte 11	1-6
DL12	1000	9.000	18.000	Cohorte 12	3-6	Cohorte 12	1-6
DL13	1000	13.500	27.000	Cohorte 13	3-6	Cohorte 13	1-6
DL14	1000	20.000	40.000	Cohorte 14	3-6	Cohorte 14	1-6
DL15	1000	20.000	80.000	Cohorte 15	3-6	Cohorte 15	1-6
DL16	1000	20.000	160.000	Cohorte 16	3-6	Cohorte 16	1-6
DL17	1000	20.000	320.000	Cohorte 17	3-6	Cohorte 17	1-6

En este estudio, cada nivel de dosis comprende una dosis inicial de REGN1979 seguida de una dosis de aumento; para las cohortes DL11 y superiores, se ha añadido una dosis secundaria antes de alcanzar la dosis de aumento (véase la Tabla 1). La dosis inicial (primaria), la dosis intermedia (secundaria) (si es aplicable) y la primera administración de la dosis de aumento (terciaria) se dividen opcionalmente cada una durante al menos 2 días. Todos los pacientes en las cohortes de dosis máxima DL7 y superiores recibieron dosis divididas (por ejemplo, dosificación fraccionada) para dosis iniciales (primarias) e intermedias (secundarias). Los pacientes en cohortes de dosis máxima DL11 y superiores recibieron dosis divididas (por ejemplo, dosificación fraccionada) para las dosis inicial (primaria), intermedia (secundaria) y primera de aumento (terciaria), seguido de dosis crecientes (dosis máxima semanal) en lo sucesivo.

Duración del estudio: El periodo de tratamiento es de 9 meses. Los pacientes serán tratados con hasta 24 dosis de REGN1979 - 4 dosis semanales durante un periodo de inducción de 4 semanas, seguido de 8 dosis semanales adicionales y 12 o más dosis administradas dos veces al mes (Q2W) durante un periodo de mantenimiento hasta el avance, con opción de suspender el tratamiento 9 meses después de que el paciente haya logrado una respuesta completa. Se podrá realizar un seguimiento de los pacientes para evaluar la eficacia y seguridad hasta 15 meses después de finalizar el tratamiento.

Población de estudio: Suponiendo la inscripción hasta DL17 y la inscripción completa en todas las cohortes de expansión, se planean hasta 370 pacientes en aproximadamente 15 sitios en Estados Unidos y Alemania. Se

inscribirán hasta 204 pacientes en las cohortes de aumento de dosis hasta DL17 para ambas indicaciones (NHL y CLL) durante la fase de aumento escalonado de la dosis. Hasta 100 pacientes que comprenden 90 pacientes con NHL (20 pacientes con DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T, 40 pacientes con linfoma agresivo (distinto del DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T), 30 pacientes con FL de grado 1-3a) y 10 pacientes con CLL se inscribirán en las cohortes de expansión específicas de la enfermedad. Se inscribirán hasta 42 pacientes en la cohorte inicial de rituximab para determinar el régimen de dosis óptimo. Una vez que se determina la pauta terapéutica inicial óptima de rituximab, se inscribirán 24 pacientes adicionales en la expansión del tratamiento inicial con rituximab y se combinarán con los 6 pacientes del grupo de tratamiento inicial con rituximab mencionado anteriormente, tratados con el régimen de dosis y la dosis óptimos. Por lo tanto, se evaluará a un total de 30 pacientes con el régimen de dosis inicial y la dosis óptimas de rituximab.

Los pacientes deben haber documentado neoplasia maligna de células B CD20+, con enfermedad activa que no responde a la terapia previa, para quienes no existen opciones de tratamiento habitual y para quienes el tratamiento con un anticuerpo anti-CD20 puede ser apropiado. Los pacientes con NHL deben haber sido tratados previamente con terapia con anticuerpos dirigidos a CD20.

Criterios de inclusión: Un paciente debe cumplir los siguientes criterios para ser elegible para su inclusión en el estudio:

1. Tener neoplasia maligna de células B CD20+ documentada, con enfermedad activa que no responde a la terapia previa, para quienes no existen opciones de tratamiento habitual y para quienes el tratamiento con un anticuerpo anti-CD20 puede ser apropiado:

- B-NHL confirmado por los criterios del grupo de trabajo del NCI, 2007 (Cheson 2007, Apéndice 2); y
- CLL confirmada por los criterios del grupo de trabajo del International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL), 2008 (Hallek 2008, Apéndice 3): Los pacientes con linfoma linfocítico pequeño (SLL) se inscribirán en el grupo de CLL y seguirán evaluaciones de NHL.

Nota: Un paciente con biopsia de ganglio linfático (NHL) negativa para CD20 realizada como tratamiento habitual justo antes de la inscripción, sigue siendo elegible para el estudio siempre que el paciente haya tenido previamente enfermedad CD20+ documentada Y haya sido tratado previamente con rituximab u otra terapia con anticuerpos dirigidos a CD20 en aproximadamente 6 meses. Los casos individuales podrán analizarse con el monitor médico.

2. Los pacientes con NHL deben haber recibido tratamiento previo con una terapia con anticuerpos anti-CD20. No es necesario que los pacientes con CLL hayan recibido tratamiento previo con una terapia con anticuerpos anti-CD20, siempre que el paciente haya fracasado con un inhibidor de BTK o un inhibidor de PI3K y el médico tratante considere apropiado que el paciente participe en un ensayo de fase 1. Para su inclusión en la cohorte de expansión de grado 1-3a de FL, los pacientes deben haber recibido al menos 2 líneas previas de terapia sistémica, incluyendo un anticuerpo anti-CD20 y un agente alquilante. Para la inclusión en la cohorte de expansión específica de la enfermedad que inscribe a pacientes con DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T, el paciente debe haberse recuperado de las toxicidades de la terapia de linfagotomía y de la infusión de CAR-T. No es necesario que la terapia CAR-T previa sea la línea de terapia más reciente antes de la inscripción al estudio.

3. Todos los pacientes (NHL de células B y CLL) deben tener al menos una lesión medible bidimensional $\geq 1,5$ cm) documentada por CT o IRM, si la CT no es factible.

4. Los pacientes con CLL deben tener glóbulos blancos (WBC) $\leq 200 \times 10^9/l$

5. Edad ≥ 18 años

6. Estado de rendimiento según el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ≤ 1

7. Esperanza de vida de al menos 6 meses

8. Función de la médula ósea adecuada documentada por: a. Recuentos de plaquetas $\geq 75 \times 10^9/l$; b. Nivel de Hb ≥ 9 g/dl; c. ANC $\geq 1 \times 10^9/l$

Nota: Los pacientes con recuentos de células por debajo de los umbrales enumerados anteriormente pueden considerarse para la inscripción si, en opinión del investigador, se cree que la razón se debe a la infiltración de la médula ósea por una enfermedad subyacente. En dichos casos, el investigador debe analizar la elegibilidad con el patrocinador y recibir la aprobación por escrito para la inscripción.

9. Función orgánica adecuada documentada por:

• Aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) $\leq 2,5 \times$ ULN

• Bilirrubina total $\leq 1,5 \times$ ULN

Nota: Los pacientes con el síndrome de Gilbert no necesitan cumplir con este requisito siempre que su bilirrubina total no cambie con respecto a su valor inicial.

• Aclaramiento de creatinina calculado por Cockcroft-Gault ≥ 50 ml/min

Nota: Los pacientes pueden considerarse para la inscripción si, en opinión del investigador, los resultados de laboratorio anómalos se deben a enfermedad subyacente. En dichos casos, el investigador debe analizar la elegibilidad con el patrocinador y recibir la aprobación por escrito para la inscripción.

Nota: Los pacientes con aclaramiento de creatinina límite según Cockcroft-Gault pueden considerarse para la inscripción si el aclaramiento de creatinina medido (basado en orina de 24 horas u otro método fiable) es ≥ 50 ml/min.

10. Voluntad de someterse a una biopsia tumoral obligatoria antes del tratamiento, si en opinión del investigador, el paciente tiene una lesión accesible que puede biopsiarse sin riesgo significativo para el paciente.

11. Dispuesto y capaz de cumplir con las visitas a la clínica y los procedimientos relacionados con el estudio

12. Proporciona consentimiento informado firmado.

Criterios de exclusión: Un paciente que cumpla cualquiera de los siguientes criterios será excluido del estudio:

1. Linfoma primario del sistema nervioso central (SNC) o afectación conocida o sospechada del SNC por NHL no primario del SNC

2. Antecedentes o patología relevante del SNC actual tal como

- Epilepsia, convulsiones, paresia, afasia, apoplejía, lesiones cerebrales graves, enfermedad cerebelosa, síndrome cerebral orgánico, psicosis o

- Evidencia de presencia de lesiones inflamatorias y/o vasculitis en IRM cerebral

3. Quimioterapia antineoplásica convencional (no biológica) en 5 veces la semivida o en 28 días, lo que sea más corto, antes de la primera administración del fármaco de estudio.

4. Radioterapia convencional en los 14 días posteriores a la primera administración del fármaco de estudio.

Nota: Se permite la radioterapia paliativa de un ganglio linfático o lesión sintomática siempre que la lesión o lesiones o el ganglio o ganglios irradiados no estén incluidos como lesión diana para las evaluaciones del tumor

5. Trasplante alogénico de células madre

6. Tratamiento con rituximab, alemtuzumab u otro agente biológico en investigación o comercial en las 12 semanas antes de a la primera administración del fármaco de estudio.

Nota: para pacientes con linfoma agresivo para los que se requiere tratamiento inmediato, el periodo de reposo farmacológico puede reducirse a 28 días. Esto requerirá análisis y aprobación por escrito con el patrocinador.

7. Terapia inmunosupresora (que no sea biológica) en los 28 días posteriores a la primera administración del fármaco de estudio.

8. Tratamiento con un agente no biológico en investigación en los 28 días de la primera administración del fármaco de estudio.

9. Antecedentes de reacciones alérgicas atribuidas a compuestos de composición química o biológica similar del fármaco de estudio.

10. Antecedentes de hipersensibilidad a cualquier compuesto en el grupo de antibióticos de tetraciclina.

11. Neoplasia maligna activa concomitante para la cual el paciente está recibiendo tratamiento.

12. Infecciones bacterianas, víricas, fúngicas, micobacterianas activas conocidas u otra infección o cualquier episodio importante de infección que requiera hospitalización o tratamiento con anti-infecciosos i.v. en las 4 semanas de la primera administración.

13. Evidencia de enfermedad concomitante significativa o afección médica que podría interferir con la realización del estudio, o poner al paciente en un riesgo significativo incluyendo, pero no limitado a, enfermedad cardiovascular significativa (por ejemplo, enfermedad cardíaca clase III o IV de la New York Heart Association, infarto de miocardio en los 6 meses anteriores, arritmias inestables o angina inestable) y/o enfermedad pulmonar significativa (por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva y antecedentes de broncoespasmo sintomático).

Nota: Los pacientes con antecedentes médicos de enfermedad cardíaca deben ser evaluados mediante ecocardiograma o exploración de adquisición multiclasificado (MUGA, por sus siglas en inglés) antes de la primera administración de REGN1979 para asegurar reservas y función cardíacas adecuadas.

14. Tratamiento continuo con corticosteroides sistémicos, con la excepción del uso de corticosteroides para otras indicaciones (no tumorales y no inmunosupresoras) hasta un máximo de 10 mg/día de prednisona o equivalente.

15. Infección con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o infección crónica con el virus de la hepatitis B (VHB) o el virus de la hepatitis C (VHC). Los pacientes con hepatitis B (HepBsAg+) que tienen una infección controlada (ADN del virus de la hepatitis B en suero por debajo del límite de detección Y que reciben terapia antiviral para la hepatitis B) pueden ingresar previa consulta con el médico que maneja la infección.

16. Hipersensibilidad conocida tanto al alopurinol como a la rasburicasa.

17. Mujeres embarazadas o en lactancia.

18. Mujeres en edad fértil* que no estén dispuestas a practicar métodos anticonceptivos altamente eficaces antes del tratamiento inicial con el fármaco del estudio, durante el estudio y durante al menos 6 meses después de la última dosis. Las medidas anticonceptivas altamente efectivas incluyen el uso estable de anticonceptivos hormonales combinados (que contienen estrógeno y progestágeno) (orales, intravaginal, transdérmica) o anticoncepción hormonal con progestágeno solo (oral, inyectable, implantable) asociado con inhibición de la ovulación iniciada 2 o más ciclos menstruales antes de la evaluación; dispositivo intrauterino; sistema liberador de hormonas intrauterinas; ligadura bilateral de trompas; pareja vasectomizada; y o abstinencia sexual†, ‡.

* Las mujeres posmenopáusicas deben ser amenorreicas durante al menos 12 meses para no ser consideradas en edad fértil. No se requieren pruebas de embarazo ni anticoncepción en mujeres con histerectomía o ligadura de trompas documentada.

† La abstinencia sexual se considera un método altamente eficaz solo si se define como abstenerse de tener relaciones heterosexuales durante todo el período de riesgo asociado con los tratamientos del estudio. La

confiabilidad de la abstinencia sexual debe evaluarse en relación con la duración del ensayo clínico y el estilo de vida preferido y habitual del paciente.

‡ La abstinencia periódica (calendario, métodos sintotérmicos, post-ovulación), marcha atrás (coitus interruptus), solo espermicidas y el método de amenorrea de la lactancia (LAM, por sus siglas en inglés) no son métodos anticonceptivos aceptables. El condón femenino y el condón masculino no deben usarse juntos.

19. Administración de la vacuna viva en los 28 días posteriores a la primera administración del fármaco de estudio

20. Miembro del equipo de estudio del sitio clínico y/o su familia inmediata, a menos que el Patrocinador otorgue aprobación previa.

Tratamientos: REGN1979 se suministró como un líquido en viales estériles de un solo uso. Cada vial contenía REGN1979 a una concentración de 2 mg/ml. Se proporcionaron instrucciones detalladas de preparación y administración a los sitios en el manual de farmacia. Se suministró diluyente para la preparación del fármaco del estudio REGN1979.

Los pacientes recibieron REGN1979 semanalmente durante un periodo de inducción de 4 semanas, seguido de otras 8 dosis semanales y dosis Q2W hasta el avance, a una dosis según su cohorte asignada.

Solo en la cohorte de introducción y expansión de rituximab, se administró una dosis única de rituximab (375 mg/m²) un día antes de la primera dosis de REGN1979 [es decir, el día de estudio (-1)]. REGN1979 se inició el Día 1 de la Semana 1 y el período de tratamiento para REGN1979 fue de 9 meses. Los pacientes se trataron con hasta 24 dosis de REGN1979; 4 dosis semanalmente durante un periodo de inducción de 4 semanas, seguido de 8 dosis semanalmente adicionales y 12 o más dosis administradas Q2W durante un período de mantenimiento, hasta el avance. En la cohorte de entrada de rituximab, REGN1979 se administró usando una dosis de aumento de 160 mg durante el tratamiento semanalmente y 320 mg durante el tratamiento de mantenimiento Q2W. También pueden evaluarse grupos de dosis con dosis de aumento de REGN1979 por debajo de 160 mg de tratamiento semanal y por debajo de 320 mg de REGN1979 en tratamiento de mantenimiento Q2W. Posteriormente, se evaluaron 24 pacientes adicionales con la pauta posológica y la dosis óptimas; junto con los 6 pacientes del grupo de introducción de rituximab tratados con el régimen de dosis y la dosis óptimas, se revisó un total de 30 pacientes para determinar la seguridad y tolerabilidad.

Criterios de valoración

Primarios: Los criterios de valoración principales fueron la seguridad (específicamente, los acontecimientos adversos [AE] y DLT) para determinar la dosis máxima tolerada (MTD) y/o la dosis biológica óptima (OBD) como la dosis recomendada en fase 2 (RP2D) de REGN1979; y la eficacia medida por la tasa de respuesta objetiva (ORR) en la cohorte de expansión de pacientes con DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T, cohortes de expansión 1 y 2 de linfoma agresivo (distinto del DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T), la cohorte de expansión de grado 1-3a de FL y la cohorte de expansión de CLL.

Secundarios: Los criterios de valoración secundarios fueron:

- Farmacocinética: Concentración de REGN1979
- Inmunogenicidad: Anticuerpos anti-REGN1979
- Actividad antitumoral:
 - Tasa de respuesta objetiva (ORR)
- Evaluación de la respuesta tumoral según los Criterios de Respuesta Revisados para el linfoma neoplásico maligno del NCI-International Working Group (NCI-WG)
- Evaluación de la respuesta tumoral según las directrices del International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia para el diagnóstico y el tratamiento de CLL
- Para los pacientes inscritos en cohortes de expansión del NHL, evaluación de la respuesta tumoral según la clasificación de Lugano
 - Supervivencia sin de progresión (PFS) y supervivencia global (OS)
 - Enfermedad mínima residual (MRD) en pacientes con CLL

Los criterios de valoración exploratorios incluyen:

- Medidas farmacodinámicas (PD) incluyendo:
 - Subconjuntos y fenotipo de células B y células T
 - Niveles de citocinas circulantes
 - CRP

Cambios en la expresión génica en sangre periférica

Procedimientos y evaluaciones

- 5 **Procedimientos de valor inicial:** IRM cerebral, electrocardiograma (ECG), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), ensayo de virus de hepatitis C (VHC) y virus de hepatitis B (VHB) y coagulación.

Procedimientos de seguridad: Historial médico, exploración física, evaluación de los síntomas, evaluación de estado de rendimiento, pruebas de laboratorio clínico, constantes vitales, AE y medicamentos simultáneos.

- 10 **Procedimientos de la eficacia:** Evaluaciones tumorales, incluyendo exploraciones de CT o IRM, exploraciones de tomografía por emisión de positrones con 18F-fluorodeoxiglucosa (FDG-PET), aspirado de médula ósea y biopsias, biopsias de ganglios linfáticos y/o tumorales y muestras de sangre periférica (solo pacientes con CLL). Se recogieron muestras de sangre para la evaluación de PK y anticuerpo antifármaco (ADA, por sus siglas en inglés).

- 15 Las muestras de biomarcadores se recogieron para supervisar los cambios en la producción de citocinas, los niveles séricos de citocinas proinflamatorias y los cambios en los subconjuntos de linfocitos y el estado de activación. Además, estas muestras permitieron análisis genéticos tumorales o somáticos para detectar variaciones que afectan al transcurso clínico de la enfermedad subyacente o modulan los efectos secundarios del tratamiento.

- 20 **Plan estadístico:** El diseño del estudio se basó en un diseño tradicional 3+3 con 3 a 6 pacientes según DL para pacientes con NHL y un diseño 3+3 modificado con un componente de titulación acelerada con 1 a 6 pacientes según DL para pacientes con CLL. La cantidad exacta de pacientes inscritos dependerá de la cantidad de pacientes (NHL y CLL) observados con DLT definidos por el protocolo y toxicidad relacionada con el tratamiento de grado 2 o superior en la que los efectos agudos (con excepción de las anomalías de laboratorio asociadas) se resuelven a \leq grado 1 o valor inicial en 72 horas (CLL durante el componente de titulación acelerada), y la necesidad de expandir las DL definidas actualmente o abrir cohortes adicionales en DL más bajas.

- 30 **La inscripción de pacientes está en curso y se prevén hasta 370 pacientes.** Se inscribirán hasta 204 pacientes en las cohortes de aumento de dosis hasta DL17 para ambas indicaciones (NHL y CLL) durante la fase de aumento escalonado de la dosis. Hasta 100 pacientes que comprenden 90 pacientes con NHL (20 pacientes con DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T, se inscribirán 40 pacientes con linfoma agresivo [que no sea DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T], 30 pacientes con FL grado 1-3a) y 10 pacientes con CLL en las cohortes de expansión específicas de la enfermedad. Se inscribirán hasta 42 pacientes en la cohorte inicial de rituximab para determinar el régimen de dosis óptimo. Se inscribirán 24 pacientes adicionales en una expansión del tratamiento inicial con rituximab y se combinarán con los 6 pacientes de cohorte de tratamiento inicial con rituximab mencionado anteriormente, tratados con el régimen de dosis y la dosis óptimos. Por lo tanto, se evaluará a un total de 30 pacientes en el régimen de dosis inicial y la dosis óptimas de rituximab.

- 40 Los datos se resumen usando únicamente estadísticas descriptivas. En general, los datos se resumen por DL y por indicación (NHL o CLL). Dentro de la indicación NHL, los datos también se resumirán por subgrupos y dosis de DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T, cohortes 1 y 2 de linfoma agresivo (distinto del DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T) y FL grado 1-3a. Dentro de la indicación NHL, los datos también se resumen por subgrupos de NHL indolente y agresivo. Las características demográficas y basales se resumen descriptivamente por grupo.

- 45 Los resúmenes y análisis de seguridad se realizaron en el conjunto de análisis de seguridad (SAF). El análisis principal de seguridad se basará en AE emergentes durante el tratamiento (TEAE, pos rus siglas en inglés). Este análisis comprendió la base sobre la que se extrajeron conclusiones sobre el perfil de seguridad de REGN1979. Todos los AE informados en este estudio se codificaron usando la versión actualmente disponible del Diccionario médico para actividades regulatorias (MedDRA®). La codificación se realizará en términos de nivel más bajo. Se enumeraron el texto textual, el término preferido (PT) y la clase de órgano del sistema primario (SOC). El análisis de las variables de eficacia y de referencia se realiza en el conjunto de análisis de eficacia (FAS). Los análisis de eficacia para las cohortes de expansión que comprenden DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T, cohortes 1 y 2 de linfoma agresivo (distinto del DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T), FL grado 1-3a y CLL se realizarán por separado después de que todos los pacientes de la cohorte respectiva hayan completado la visita de 24 semanas o hayan abandonado el estudio antes de este momento.

- 60 **Resultados:** Los resultados para los pacientes a los que se administró una dosis semanal máxima de 5 a 320 mg indican una baja incidencia de CRS. Se observó que las concentraciones séricas de REGN1979 en pacientes que recibieron una dosis semanal máxima de tan solo 12 mg se acercaban a o superaban los niveles de concentración sérica que han demostrado ser eficaces en modelos de ratones con xenoinjerto de tumor Raji (datos no mostrados). Los pacientes que recibieron una dosis semanal máxima de tan solo 40 mg mantuvieron una concentración sérica que excedía el nivel de concentración mínima (2000 µg/l), lo que demostró ser eficaz en los modelos de ratón de xenoinjerto de tumor Raji (datos no mostrados). Además, también se observaron numerosas respuestas parciales y completas en los pacientes tratados a estos niveles, como se muestra en las Tablas 2-9, a continuación. La experiencia acumulada de seguridad y farmacocinética de REGN1979 durante el período de evaluación de DLT de la Cohorte 13N (27.000 mcg de REGN1979) demuestra que el algoritmo de gestión para reacciones de CRS o IRR (es decir, el

5 aumento escalonado de la dosis, la dosificación dividida durante las semanas iniciales de administración de REGN1979 y la premedicación con corticosteroides) han demostrado ser eficaces para prevenir el CRS o la IRR graves a pesar de los aumentos incrementales de la dosis en cohortes de dosis sucesivas. La dosificación dividida proporcionó un beneficio para la seguridad del paciente en las semanas 1 a 4 (los datos disponibles), en donde se observaron menos incidentes generales de CRS/IRR graves. Particularmente, la estrategia de dosificación analizada en este documento proporcionó una estrategia más segura para aumentar las dosis a niveles superiores a 80 mg, incluso 160 mg o más, los acontecimientos menos graves ocurrieron en las semanas 3 y 4 cuando las dosis más altas alcanzaron y superaron las concentraciones séricas deseadas analizadas anteriormente. La Figura 1 ilustra la incidencia de CRS/IRR en pacientes que recibieron una dosis máxima de hasta 320 mg. Hasta la fecha, ningún paciente se ha descontinuado debido a un acontecimiento adverso de CRS/IRR.

Tabla 2. Respuesta observada en el linfoma folicular de Grado 1-3a

	CD20×CD3 [†]			
	<5 mg (N=7)	5-12 mg (N=5)	18-40 mg (N=6)	160 mg (N=1)
Tasa de respuesta global, n (%)	1 (14,3)	5 (100)	5 (83,4)	1 (100)
Respuesta completa, n (%)	1 (14,3)	4 (80)	4 (66,7)	0
Respuesta parcial, n (%)	0	1 (20)	1 (16,7)	1 (100)
Enfermedad estable, n (%)	4 (57,1)	0	1 (16,7)	0
Enfermedad progresiva, n (%)	2 (28,6)	0	0	0
Duración de la respuesta, mediana (IC del 95 %), meses	5,3 N/A	N/A (5,75 - no alcanzado)	11,8 (4,37-11,83)	N/A

†Ningún paciente dosificado a 80 mg de REGN1979

15 Después del valor de corte de datos (Tabla 2), dos pacientes evaluables adicionales mostraron respuestas completas (CR), uno a 40 mg y el segundo a 320 mg.

Tabla 3. Respuesta observada en el linfoma difuso de células B grandes

	CD20×CD3					
	<5 mg (N=15)	5-12 mg (N=11)	18-40 mg (N=11)	80 mg (N=3)	160 mg (N=3)	320 mg (N=2)
Tasa de respuesta global, n (%)	2 (13,3)	2 (18,2)	6 (54,5)	3 (100)	1 (33,3)	1 (50,0)
Respuesta completa, n (%)	0	1 (9,1)	2 (18,2)	3 (100)	1 (33,3)	1 (50,0)
Respuesta parcial, n (%)	2 (13,3)	1 (9,1)	4 (36,4)	0	0	0
Enfermedad estable, n (%)	4 (26,7)	4 (36,4)	3 (27,3)	0	1 (33,3)	1 (50,0)
Enfermedad progresiva, n (%)	8 (53,3)	4 (36,4)	1 (9,1)	0	1 (33,3)	0
Falta/Incapaz de evaluar, n (%)	1 (6,7)	1 (9,1)	1 (9,1)	0	0	0
Duración de la respuesta, mediana (IC del 95 %), meses	2,1 (1,5-2,6)	N/A	4,4 (2,5-no alcanzado)	N/A	N/A	N/A

20 Dos de los tres pacientes con CR que recibieron 80 mg fracasaron con la terapia con células T CAR. Todas las respuestas completas señaladas en la Tabla 3 eran respuestas metabólicas completas.

Todas las CR en dosis de 80 mg, 160 mg y 320 mg son CR en curso en el tratamiento del estudio, apuntando a la durabilidad de la respuesta.

Tabla 4. Respuesta observada en DLBCL después del fracaso de la terapia CAR-T

	CD20×CD3				
	3 mg (N=1)	27 mg (N=1)	40 mg (N=1)	80 mg (N=3)	160 mg (N=1)
Tasa de respuesta global, n (%)	0	0		2 (66,7)	
Respuesta completa, n (%)	0	0		2 (66,7)	

(continuación)

	CD20xCD3				
	3 mg (N=1)	27 mg (N=1)	40 mg (N=1)	80 mg (N=3)	160 mg (N=1)
Respuesta parcial, n (%)	0	0		0	
Enfermedad estable, n (%)	0	1 (100)		0	
Enfermedad progresiva, n (%)	1 (100)	0	1 (100)	1 (33,3)	1 (100)
Falta/Incapaz de evaluar, n (%)	0	0		0	

Tabla 5. Respuesta observada en el linfoma de células del manto

	CD20xCD3		
	5-12 mg (N=1)	18-40 mg (N=1)	160 mg (N=1)
Respuesta objetiva (CR/PR)	1 (100 %)	1 (100 %)	0
Respuesta completa	0	1 (100 %)	0
Respuesta parcial	1 (100 %)	0	0
Enfermedad estable	0	0	0
Enfermedad progresiva	0	0	0
Falta/Incapaz de evaluar	0	0	1 (100 %)

5

Tabla 6. Respuesta observada en el linfoma de la zona marginal

	CD20xCD3		
	5-12 mg (N=1)	18-40 mg (N=1)	80 mg (N=3)
Respuesta objetiva (CR/PR)	0	1 (100 %)	2 (66,7 %)
Respuesta completa	0	0	2 (66,7 %)
Respuesta parcial	0	1 (100 %)	0
Enfermedad estable	0	0	0
Enfermedad progresiva	1 (100 %)	0	1 (33,3 %)

Tabla 7. Respuestas en pacientes con MCL según el nivel de dosis

	CD20xCD3					
	0,3 mg (N=1)	2 mg (N=1)	4 mg (N=1)	8 mg (N=1)	27 mg (N=1)	160 mg (N=1)
Respuesta objetiva (CR/PR)	0	1 (100 %)	0	1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)
Respuesta Completa	0	0	0	0	1 (100 %)	1 (100 %)
Respuesta parcial	0	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0	0
Enfermedad estable	0	0	0	0	0	0
Enfermedad progresiva	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0	0	0
Falta/Incapaz de evaluar	0	0	0	0	0	0

Tabla 8. Respuestas en pacientes con MZL según el nivel de dosis

	CD20xCD3			
	4 mg (N=1)	5 mg (N=1)	27 mg (N=1)	80 mg (N=3)
Respuesta objetiva (CR/PR)	1 (100 %)	0	1 (100 %)	2 (66,7 %)
Respuesta Completa	0	0	0	2 (66,7 %)
Respuesta parcial	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0
Enfermedad estable	0	0	0	0
Enfermedad progresiva	0	1 (100 %)	0	1 (33,3 %)
Falta/Incapaz de evaluar	0	0	0	0

Tabla 9. Respuestas en pacientes con otros NHL según el nivel de dosis

	CD20xCD3			
	4 mg (N=1)	12 mg (N=1)	18 mg (N=1)	27 mg (N=1)
Subtipo de NHL	Grado de FL desconocido	Macroglobulinemia de Waldenstrom	FL grado 3b	Grado de FL desconocido
Respuesta objetiva (CR/PR)	0	0	1 (100 %)	0
Respuesta Completa	0	0	1 (100 %)	0
Respuesta parcial	0	0	0	0
Enfermedad estable	1 (100 %)	0	0	0
Enfermedad progresiva	0	0	0	0
Falta/Incapaz de evaluar	0	1 (100 %)	0	1 (100 %)

5 En general, la actividad observada ampliamente en pacientes con B-NHL recidivante/refractario fuertemente pretratados tratados con REGN1979, incluyendo algunos con progresión después de una terapia previa con células CAR T, incluyó:

- 10 (i) FL Grado 1-3a: 12/13 (92,3 %) ORR; 8/13 CR (61,5 %) a dosis \geq 5 mg;
(ii) DLBCL: 4/6 (66,7 %) ORR (todos CR) a dosis de 80-160 mg, logrando dos pacientes CR después del fracaso de la terapia de células CAR T dirigida a CD19;
(iii) MCL: 3/3 respuestas a dosis \geq 5 mg, incluyendo una CR;
15 (iv) MZL: respuesta 3/5 a dosis \geq 5 mg, incluyendo dos CR;
(v) Se ha demostrado tolerabilidad en pacientes con B-NHL hasta dosis de 320 mg semanalmente, sin DLT observados en pacientes con NHL-B;
(vi) La mayoría de los eventos adversos son de gravedad leve a moderada;
(vii) Se notificaron infecciones en el 49,4 % de los pacientes (14,8 % grado 3-4, con dos muertes (2,5 %));
(viii) Ningún paciente interrumpió el tratamiento debido a CRS o acontecimientos adversos neurológicos. De 20 96 pacientes iniciales, solo siete pacientes experimentaron CRS Grado 3; y
(ix) La dexametasona no inhibió la citotoxicidad de REGN1979, afectó modestamente la regulación positiva de la activación de las células T e inhibió la liberación de citocinas.

Ejemplo 2: Evaluación clínica de un anticuerpo biespecífico

25 El estudio clínico descrito a continuación es un estudio de fase 2 multicéntrico abierto para evaluar la actividad antitumoral y la seguridad de REGN1979, un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3, en pacientes con linfoma folicular recidivante o refractario.

30 **Objetivos:** El objetivo principal de este estudio es evaluar la actividad antitumoral del agente único REGN1979, según lo medido por la tasa de respuesta objetiva (ORR) de acuerdo con la Clasificación de Lugano de respuesta en linfoma neoplásico maligno (Cheson, 2014) por una revisión central independiente, en pacientes con linfoma folicular (FL) que ha recaído o es refractario a al menos 2 líneas previas de terapia sistémica, incluyendo un anticuerpo anti-CD20 y un agente alquilante. Los objetivos secundarios de este estudio son: (1) evaluar la actividad antitumoral del agente único REGN1979 en pacientes con FL recidivante o refractaria, según lo medido por (a) ORR según la Clasificación de Lugano (Cheson, 2014) según lo evaluado por el investigador local, (b) tasa de respuesta completa (RC) según la

35

Clasificación de Lugano evaluada mediante una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local, (c) supervivencia sin progresión (SLP) según la clasificación de Lugano, evaluada mediante una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local, (d) supervivencia general (OS), (e) duración de la respuesta (DOR) según la clasificación de Lugano evaluada mediante una revisión central independiente y una evaluación del investigador local, (f) tasa de control de la enfermedad (DCR) según la Clasificación de Lugano evaluada mediante una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local, (g) duración del control de la enfermedad (DDC) según la Clasificación de Lugano, evaluada mediante una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local; (2) evaluar la seguridad y tolerabilidad de REGN1979; (3) evaluar la farmacocinética (PK) de REGN1979; (4) evaluar la inmunogenicidad de REGN1979; y (5) evaluar el efecto de REGN1979 sobre la calidad de vida medida mediante los instrumentos validados Cuestionario de calidad de vida de la European Organisation for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire (EORTC QLQ-C30) y EuroQoL 5 Dimensions 3 Levels (EQ-5D-3L).

Diseño del estudio: el estudio consiste en un período de selección de hasta 28 días, un período total de tratamiento de hasta 98 semanas que incluye 12 dosis semanalmente (QW) seguidas de dosificación cada 2 semanas (Q2W) de hasta 86 semanas y un período de seguimiento posterior al tratamiento de 96 semanas.

REGN1979 se administra como agente único por vía intravenosa (i.v.) a una dosis inicial (primaria) de 1 mg, seguida de una dosis intermedia (secundaria) de 20 mg y, posteriormente, una dosis nominal (terciaria y máxima semanal) de 80 mg en una pauta posológica de 12 tratamientos QW, seguido de una dosificación de 80 mg de REGN1979 Q2W.

La inscripción sigue un diseño abierto de un solo brazo.

El período de selección comienza con la firma del formulario de consentimiento informado (ICF) y finaliza cuando se confirma que el paciente es elegible para el estudio e inicia el tratamiento, o con la determinación de que el paciente no es elegible y ha sido designado como un fracaso de selección.

El período de tratamiento comienza con la administración inicial de REGN1979 y consiste en 12 infusiones QW de REGN1979 seguidas de una dosificación Q2W durante 86 semanas para un período de tratamiento total de 98 semanas de dosificación del fármaco de estudio, a menos que el paciente interrumpa el tratamiento del estudio debido al avance de la enfermedad, el inicio de la terapia posterior del linfoma, acontecimiento adverso (AE) o cualquier otra razón.

El período de seguimiento posterior al tratamiento será de 96 semanas después de la última dosis del tratamiento del estudio. A todos los pacientes se les hará un seguimiento cada 12 semanas para determinar su estado de supervivencia hasta la muerte, pérdida de seguimiento, retiro del consentimiento del paciente para el seguimiento o terminación del estudio por parte del patrocinador, lo que ocurra primero. Para los pacientes que han interrumpido el tratamiento del estudio por cualquier motivo que no sea la progresión de la enfermedad, el inicio de la terapia posterior del linfoma, o la muerte, la respuesta a la enfermedad se evaluará cada 12 semanas durante el período de seguimiento posterior al tratamiento hasta el momento de la progresión de la enfermedad, muerte, inicio de una terapia posterior para el linfoma, o retiro del consentimiento del paciente para el seguimiento, lo que ocurra primero.

Duración del estudio: La duración del estudio para cada paciente, excluyendo el período de selección, será de aproximadamente 194 semanas a menos que el paciente presente progresión de la enfermedad o comience una terapia posterior, o hasta el momento de la muerte, pérdida de seguimiento, retiro del consentimiento del paciente para el seguimiento o terminación del estudio por parte del patrocinador. El final del estudio se define como la última visita del último paciente.

Población de estudio: Se inscribirán hasta 481 pacientes en un máximo de 100 sitios. La población del estudio estará compuesta por pacientes de 18 años o más con FL de grado 1 a 3a previamente tratado que haya recaído o sea refractario a al menos 2 líneas previas de terapia sistémica, incluyendo un anticuerpo anti-CD20 y un agente alquilante. Se requerirá confirmación histopatológica central del diagnóstico de FL antes de la inscripción. Los pacientes con FL grado 3b no son elegibles. La enfermedad refractaria se define como la falta de respuesta a un régimen convencional o el avance en los 6 meses del último tratamiento.

Criterios de inclusión: Cada paciente debe cumplir los siguientes criterios para ser elegible para su inclusión en el estudio:

1. Edad de 18 años o más
2. Debe obtenerse una confirmación histopatológica central del diagnóstico de FL de grado 1 a 3a antes de la inscripción en el estudio. Los pacientes con FL grado 3b no son elegibles. La subtipificación del linfoma folicular se basa en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Swerdlow, 2017).
3. La enfermedad debe haber recaído o debe ser refractaria a ≥ 2 líneas previas de terapia sistémica, incluyendo un anticuerpo anti-CD20 y un agente alquilante. En opinión del investigador los pacientes deben requerir terapia para FL en el momento de inscripción al estudio.
4. Enfermedad medible en imágenes en sección transversal (definida como al menos 1 lesión nodular medible

bidimensionalmente de $\geq 1,5$ cm en el diámetro transversal máximo (GTD) independientemente del diámetro del eje corto) documentada mediante formación de imágenes diagnósticas (tomografía computarizada [CT] o formación de imágenes por resonancia magnética [IRM]).

5. Estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 0 o 1.

6. Función adecuada de la médula ósea según se documenta por: (a) Recuento de plaquetas $\geq 50 \times 10^9/l$. Es posible que un paciente no haya recibido una transfusión de plaquetas en los 7 días anteriores a la primera dosis de REGN1979 para cumplir con el criterio de elegibilidad de plaquetas; (b) Hemoglobina $\geq 9,0$ g/dl; (c) Recuento absoluto de neutrófilos (ANC) $\geq 1,0 \times 10^9/l$. Es posible que un paciente no haya recibido factor estimulante de colonias de granulocitos en los 2 días anteriores a la primera dosis de REGN1979 para cumplir con el criterio de elegibilidad de ANC.

7. Función hepática adecuada: (a) Bilirrubina total $\leq 1,5 \times$ límite superior de lo normal (ULN) ($\leq 3 \times$ ULN si se atribuye a infiltración de linfoma en el hígado); (b) Alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) $\leq 2,5 \times$ ULN ($\leq 5 \times$ ULN si se atribuye a infiltración de linfoma en el hígado); (c) Fosfatasa alcalina (ALP) $\leq 2,5 \times$ ULN ($\leq 5 \times$ ULN si se atribuye a infiltración de linfoma en el hígado); NOTAS: Independientemente de la presencia de infiltración de linfoma en el hígado, se excluirá a un paciente con un AST $> 2,5 \times$ ULN y/o ALT $> 2,5 \times$ ULN concurrente con una bilirrubina total $> 1,5 \times$ ULN, y los pacientes con síndrome de Gilbert conocido no están obligados a cumplir con este requisito de bilirrubina total siempre que el valor no cambie respecto del nivel inicial.

8. Creatinina sérica $\leq 1,5 \times$ ULN o aclaramiento de creatinina calculado por la fórmula de Cockcroft-Gault ≥ 50 ml/min; NOTA: Los pacientes con un aclaramiento de creatinina calculado < 50 ml/min pueden considerarse para la inscripción si el aclaramiento de creatinina medido (basado en la recolección de orina de 24 horas u otro método confiable) es ≥ 50 ml/min.

9. Voluntad de someterse a una biopsia tumoral al valor inicial. Si un investigador ha determinado que no puede obtenerse de forma segura una biopsia de tumor de referencia, el patrocinador puede otorgar una excepción al requisito de biopsia solo después de discutirlo con el monitor médico y obtener su aprobación.

10. Capacidad para comprender el propósito y los riesgos del estudio y proporcionar consentimiento informado firmado y fechado y autorización para usar información de salud protegida (de acuerdo con las regulaciones nacionales y locales de privacidad del sujeto).

11. Dispuesto y capaz de cumplir con las visitas a la clínica y los procedimientos relacionados con el estudio.

12. Proporcionar el consentimiento informado firmado por el paciente del estudio o su representante legalmente aceptable.

13. Capaz de comprender y completar cuestionarios relacionados con el estudio.

Criterios de exclusión: Un paciente que cumpla cualquiera de los siguientes criterios será excluido del estudio:

1. Linfoma primario del sistema nervioso central (SNC) o compromiso conocido por NHL no primario del SNC (el linfoma del SNC sospechado debe evaluarse mediante punción lumbar, según sea apropiado, además de la CT o IRM de la cabeza obligatoria).

2. Tratamiento con cualquier terapia sistémica antilinfoma en las 5 semividas o en los 28 días anteriores a la primera administración del fármaco de estudio, lo que sea más corto.

3. Antecedentes de trasplante alogénico de células madre.

4. Tratamiento anterior con cualquier terapia de células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T).

5. Tratamiento sistémico continuo con corticosteroides con más de 10 mg por día de prednisona o equivalente antiinflamatorio en las 72 horas posteriores al inicio del fármaco de estudio.

6. Antecedentes de enfermedad neurodegenerativa o trastorno del movimiento del SNC. Antecedentes de trastorno convulsivo no controlado, definido como cualquier convulsión en los 12 meses anteriores a la inscripción al estudio.

7. Vacunación en los 28 días previos a la primera administración del fármaco en estudio con un vector que tenga potencial de replicación.

8. Otra neoplasia maligna excepto FL en los últimos 5 años, con excepción del cáncer de piel no melanoma que se haya sometido a una terapia potencialmente curativa o del carcinoma cervical *in situ*, o cualquier otro tumor que se haya considerado tratado eficazmente con control local definitivo y con intención curativa.

9. Evidencia de enfermedad simultánea significativa o afección médica que podría interferir con la realización del estudio, o poner al paciente en un riesgo significativo, incluyendo pero no limitado a enfermedad cardiovascular significativa (por ejemplo, enfermedad cardíaca de clase III o IV de la New York Heart Association, infarto de miocardio en los 6 meses anteriores, arritmias inestables o angina inestable) y/o enfermedad pulmonar significativa (por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva y antecedentes de broncoespasmo sintomático).

10. Fracción de eyección cardíaca < 40 % por ecocardiograma o exploración de adquisición multiclasificada (MUGA).

11. Cualquier infección que requiera hospitalización o tratamiento con antiinfecciosos intravenosos en las 2 semanas posteriores a la primera administración del fármaco de estudio.

12. Infección no controlada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), infección activa por hepatitis B o hepatitis C; u otra infección no controlada, excepto: (a) Se permiten pacientes con VIH que tengan infección controlada (carga vírica indetectable y recuento de CD4 superior a 350 células/microlitro, ya sea de forma espontánea o con un régimen antivírico estable); (b) Se permiten pacientes con hepatitis B (HepBsAg+) que tengan una infección controlada (reacción en cadena de la ADN polimerasa [PCR] del virus de la hepatitis B en suero que esté por debajo del límite de detección Y que reciban terapia antivírica para la hepatitis B); (c) Se permiten pacientes con anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (HCV Ab +) que tengan una infección controlada (ARN

del VHC indetectable por PCR ya sea de manera espontánea o en respuesta a un tratamiento previo exitoso contra el VHC).

13. Antecedentes de reacción alérgica grave atribuida a compuestos con una composición química o biológica similar a la del fármaco o excipiente de estudio. Una reacción alérgica grave se define a estos efectos como aquella que requiere hospitalización y/o tratamiento con epinefrina.

14. Hipersensibilidad conocida tanto al alopurinol como a la rasburicasa.

15. Miembro del equipo de estudio del sitio clínico o su familia inmediata, a menos que se cuente con la aprobación previa del patrocinador.

16. Mujeres con una prueba de embarazo de β -hCG sérica positiva en la visita de selección. Si es positivo, para que la paciente sea elegible debe descartarse el embarazo mediante ecografía.

17. Pacientes que se encuentren internados en una institución en virtud de una orden emitida ya sea por la autoridad judicial o administrativa.

18. Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.

19. Mujeres en edad fértil* u hombres que no estén dispuestos a practicar métodos anticonceptivos altamente eficaces antes de la dosis inicial/inicio del primer tratamiento, durante el estudio y durante al menos 6 meses después de la última dosis. Las medidas anticonceptivas altamente eficaces incluyen: (a) uso estable de anticonceptivos hormonales combinados (que contengan estrógenos y progestágenos) (oral, intravaginal, transdérmica) o anticoncepción hormonal con progestágeno solo (oral, inyectable, implantable) asociado con inhibición de la ovulación iniciada 2 o más ciclos menstruales antes de la evaluación; (b) dispositivo intrauterino (DIU); sistema liberador de hormonas intrauterino (SIU); (c) ligadura bilateral de trompas; (d) pareja vasectomizada; (e) y/o abstinencia sexual[†], [‡].

Las mujeres posmenopáusicas deben ser amenorreicas durante al menos 12 meses para no ser consideradas en edad fértil. No se requieren pruebas de embarazo ni anticoncepción en mujeres con histerectomía o ligadura de trompas documentada.

[†] La abstinencia sexual se considera un método altamente eficaz solo si se define como abstenerse de tener relaciones heterosexuales durante todo el período de riesgo asociado con los fármacos de estudio. La confiabilidad de la abstinencia sexual debe evaluarse en relación con la duración del ensayo clínico y el estilo de vida preferido y habitual del sujeto.

[‡] La abstinencia periódica (calendario, métodos sintotérmicos, post-ovulación), marcha atrás (coitus interruptus), solo espermicidas y el método de amenorrea de la lactancia (LAM, por sus siglas en inglés) no son métodos anticonceptivos aceptables. El condón femenino y el condón masculino no deben usarse juntos.

Tratamiento: REGN1979 se administrará mediante infusión intravenosa a una dosis inicial de 1 mg durante la semana 1, una dosis intermedia de 20 mg durante la semana 2 y una dosis nominal de 80 mg o 160 mg durante administraciones posteriores. Para la dosis inicial, la dosis intermedia y la primera dosis nominal (dosis primaria, secundaria y terciaria, respectivamente), los tratamientos se dividirán en 2 infusiones separadas, cada una durante 4 horas en cada uno de 2 días que sean preferentemente consecutivos pero no más de 3 días separados (por ejemplo, día 1 de la semana 1 y día 2 de la semana 1). Los tratamientos posteriores (dosis máximas semanales; por ejemplo, 320 mg) pueden administrarse como una infusión única o como 2 infusiones separadas y puede administrarse durante 1 a 4 horas dependiendo de la tolerabilidad. El tratamiento del estudio comprende 12 administraciones QW seguidas de dosis Q2W durante 86 semanas, para un total de 98 semanas de dosificación del fármaco de estudio.

Criterios de valoración: El criterio de valoración principal del estudio es ORR desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis, según lo medido por la Clasificación de Lugano de respuesta en el linfoma neoplásico maligno (Cheson, 2014) y según una revisión central independiente, en pacientes con FL que ha recaído o es refractario a al menos 2 líneas previas de terapia sistémica, incluyendo un anticuerpo anti-CD20 y un agente alquilante. Los criterios de valoración secundarios son: (1) ORR de acuerdo con la clasificación de Lugano según la evaluación del investigador local desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis; (2) Tasa de CR desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis, de acuerdo con la Clasificación de Lugano, según lo evaluado por una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local; (3) PFS desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis, de acuerdo con la Clasificación de Lugano, según lo evaluado por una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local; (4) OS desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis; (5) DOR desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis, de acuerdo con la Clasificación de Lugano, según lo evaluado por una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local; (6) DCR desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis, de acuerdo con la Clasificación de Lugano, según lo evaluado por una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local; (7) DDC desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis, de acuerdo con la Clasificación de Lugano, según lo evaluado por una revisión central independiente y una evaluación de un investigador local; (8) Incidencia y gravedad de los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis; y (9) Cambios en las puntuaciones de los resultados informados por los pacientes desde la primera dosis hasta 194 semanas después de la primera dosis según se mide mediante los instrumentos validados EORTC QLQ-C30 y EQ-5D-3L.

Procedimientos y evaluaciones: Para todos los pacientes, la enfermedad se evaluará radiológicamente mediante tomografía computarizada (CT) o formación de imágenes por resonancia magnética (IRM) y mediante imágenes de tomografía por emisión de positrones con ^{18}F -fluorodesoxiglucosa (FDG-PET). La respuesta del tumor de acuerdo con los criterios de clasificación de Lugano será evaluada mediante una revisión radiológica central independiente. Se realizarán aspirados de médula ósea, biopsias de médula ósea y biopsias de ganglio linfático y/o de tumor y las muestras se evaluarán histológicamente y podrán usarse para otros estudios, incluyendo para inmunohistoquímica. La seguridad se evaluará mediante la evaluación de los signos vitales, exploración física, estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG), electrocardiograma (ECG), incidencia de AE y notificación de medicaciones concomitantes. Las evaluaciones de laboratorio incluyen hemograma completo con diferencial, valores de química sanguínea, inmunoglobulinas G (IgG) séricas, prueba de embarazo en suero (si corresponde), ferritina y proteína C reactiva (CRP). Se recogen muestras de sangre para la evaluación de PK y anticuerpo antifármaco (ADA). Se recogerán muestras de sangre periférica para evaluar los cambios en los biomarcadores (por ejemplo, producción de citocinas, niveles séricos de citocinas proinflamatorias y cambios en los subconjuntos de linfocitos y estado de activación). Además, estas muestras permitirán análisis genéticos tumorales o somáticos para detectar variaciones que afectan al transcurso clínico de la enfermedad subyacente o modulan los efectos secundarios del tratamiento. Se realizarán evaluaciones de la calidad de vida usando los cuestionarios autoadministrados EORTC QLQ-C30 y EQ-5D-3L.

Plan estadístico: Este estudio está diseñado para evaluar la eficacia y la seguridad de REGN1979 para pacientes con FL que ha recaído o es refractario a al menos 2 líneas previas de terapias sistémicas. El análisis para el criterio principal de valoración de eficacia se realizará después de que todos los pacientes hayan completado las 28 semanas del período de tratamiento del estudio hasta las evaluaciones y hayan tenido una evaluación de las respuestas tumorales o se hayan retirado del estudio. Justificación del tamaño de la muestra: se adopta un diseño binomial exacto de una sola etapa para el criterio de valoración principal de ORR. Los intervalos de confianza bilaterales del 95 % para los ORR observados se calcularon en función del tamaño de muestra de 100. Con 100 pacientes, si la ORR observada es de al menos el 60 %, el 66 %, el 70 % y el 75 %, el límite inferior del IC del 95 % excluirá la ORR del 49 %, el 55 %, el 60 % y el 65 % respectivamente; es decir, la ORR es significativamente diferente del 49 %, el 55 %, el 60 % y el 65 % como se muestra en la Tabla 10, a continuación.

Tabla 10. Los intervalos de confianza exactos del 95 % bilaterales para la ORR observada dado un tamaño de muestra de 100 pacientes

Número de personas que respondieron	ORR observada	IC del 95 %: inferior	IC del 95 %: superior
60	0,60	0,497	0,697
66	0,66	0,558	0,752
70	0,70	0,6002	0,788
75	0,75	0,653	0,831

Con el tamaño de muestra de 100 pacientes, si el verdadero efecto del tratamiento de REGN1979 es del 64 %, el 70 %, el 75 % o el 80 %, la probabilidad es del 82 %, el 83 %, el 89 % o el 91 % para el límite inferior observado del IC del 95 % para excluir el 49 %, el 55 %, el 60 % o el 65 % respectivamente. El tamaño de la muestra se aumentará aún más en un 10 % para tener en cuenta a los pacientes que se retiren prematuramente del estudio. Por tanto, el tamaño total de la muestra será de 112 pacientes.

Métodos estadísticos: Se resumirán descriptivamente las características demográficas y basales. El criterio principal de valoración de eficacia es la ORR de acuerdo con la clasificación de Lugano basada en una revisión central independiente. Se resumirá la ORR junto con el intervalo de confianza del 95 % bilateral. Los pacientes que no sean evaluables para la mejor respuesta general serán considerados como que no responden al tratamiento. Los puntos finales de eficacia secundarios de ORR determinados por la revisión del investigador de acuerdo con la Clasificación de Lugano y la tasa de CR y DCR por la evaluación del investigador local y por la revisión central independiente de acuerdo con la Clasificación de Lugano se resumirán junto con un intervalo de confianza del 95 % bilateral. Los otros criterios de valoración secundarios de eficacia, incluyendo DOR, DDC, PFS y OS se resumirán mediante la mediana y su intervalo de confianza del 95 % usando el método de Kaplan-Meier de acuerdo con la clasificación de Lugano. La tasa de control de la enfermedad se resumirá junto con el intervalo de confianza bilateral. La calidad de vida medida con los instrumentos validados EORTC QLQ-C30 y EQ-5D-3L se resumirá mediante estadísticas descriptivas. Las observaciones y las mediciones de seguridad incluyendo exposición a medicamentos, AE, datos de laboratorio, signos vitales y estado de rendimiento ECOG se resumirán y se presentarán en tablas y listados.

Análisis provisional: Se realizará un análisis provisional después de que los primeros 50 pacientes hayan completado las evaluaciones del tumor a las 28 semanas o se hayan retirado del estudio antes. Se resumirá la ORR y el intervalo de confianza del 95 % asociado. Como el objetivo principal de este análisis provisional es la estimación puntual de ORR y la caracterización de la precisión de la estimación puntual, no hay ninguna prueba de hipótesis asociada con este análisis provisional. Por lo tanto, el ajuste de error Tipo I no es aplicable para este análisis provisional

planificado. Para otros criterios de valoración de eficacia, también se presentará un intervalo de confianza bilateral del 95 %.

5 Es posible que se incluyan investigaciones adicionales sobre la eficacia de REGN1979 en el presente estudio o en estudios adicionales, incluyendo en (a) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) como terapia de tercera línea o superior (3L+), (b) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) que son aptos para quimioterapia de dosis completa como terapia de segunda línea o superior (2L+), (c) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) que no son aptos para recibir quimioterapia de dosis completa como terapia 2L+, (d) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) que no hayan recibido tratamiento previo y sean aptos para recibir quimioinmunoterapia de dosis completa, (e) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) que no hayan recibido tratamiento previo y no sean aptos para recibir quimioinmunoterapia de dosis completa, (f) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) aptos para recibir quimioinmunoterapia de dosis completa como terapia de primera línea (1L) frente al tratamiento habitual, (g) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) no aptos para recibir quimioinmunoterapia de dosis completa como terapia de 1L frente al tratamiento habitual, (h) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) aptos para recibir quimioinmunoterapia de dosis completa como terapia de 2L+ frente al tratamiento habitual, (i) pacientes con linfoma folicular (grado 1-3a) no aptos para recibir quimioinmunoterapia de dosis completa como terapia de 2L+ frente al tratamiento habitual y/o (j) pacientes con linfoma folicular en combinación con el tratamiento habitual.

20 Es posible que se incluyan investigaciones adicionales sobre la eficacia de REGN1979 en el presente estudio o en estudios adicionales, incluyendo en (a) pacientes con linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) que es *de novo* o se transforma como terapia 3L+, (b) pacientes con DLBCL después de fracaso de la terapia CAR-T, (c) pacientes con DLBCL elegibles para HSCT (trasplante de células madre hematopoyéticas) autólogo como terapia 2L+, (d) pacientes con LDCBG no elegibles para HSCT como terapia 2L+, (e) pacientes con DLBCL que no hayan recibido tratamiento previo, con factores de pronóstico molecular pobres (centro B no germinal, doble impacto o triple impacto) y apto para quimioinmunoterapia de dosis completa, (f) pacientes con DLBCL que no hayan recibido tratamiento previo, factores de pronóstico molecular pobres (centro B no germinal, doble impacto o triple impacto) y no apto para quimioinmunoterapia de dosis completa, (g) pacientes con DLBCL que no han recibido tratamiento previo con CAR-T, (h) pacientes con DLBCL a una dosis máxima semanal de 320 mg, (i) pacientes con DLBCL en combinación con el tratamiento habitual, (j) pacientes con DLBCL para quimioinmunoterapia de dosis completa como terapia de 1L frente al el tratamiento habitual, (k) pacientes con DLBCL no aptos para quimioinmunoterapia de dosis completa como terapia de 1L frente al el tratamiento habitual, (l) pacientes con DLBCL que son elegibles para auto-HSCT como terapia 2L+ frente al tratamiento habitual y/o (m) pacientes con DLBCL que no son elegibles para auto-HSCT como terapia de 2L+ frente al tratamiento habitual.

35 Es posible que se incluyan investigaciones adicionales sobre la eficacia de REGN1979 en el presente estudio o en estudios adicionales, incluyendo en (a) pacientes con linfoma de células del manto (MCL) después del fracaso del inhibidor de BTK como terapia 2L+, (b) en pacientes con linfoma de la zona marginal (MZL) como terapia de 2L+ y/o (c) en pacientes con linfoma linfoblástico, linfoma linfoplasmacítico, Linfoma de Burkitt u otros subtipos de B-LNH como terapia de 2L+.

40 Es posible que se incluyan investigaciones adicionales sobre la eficacia de REGN1979 en el presente estudio o en estudios adicionales, incluyendo en (a) pacientes con neoplasia maligna de células B CD20+ que han recibido una dosis única de rituximab un día antes de la primera dosis de REGN1979. Solo en esta cohorte de introducción y expansión de rituximab, se administrará una dosis única de rituximab (375 mg/m²) un día antes de la primera dosis de REGN1979 [es decir, el día de estudio (-1)]. REGN1979 se iniciará el Día 1 de la Semana 1 y el período de tratamiento para REGN1979 será de 9 meses. Los pacientes serán tratados con hasta 24 dosis de REGN1979: 4 dosis semanales durante un periodo de inducción de 4 semanas, seguido de 8 dosis semanalmente adicionales y 12 dosis administradas Q2W durante un período de mantenimiento de 6 meses. En la primera parte de esta cohorte de introducción al tratamiento con rituximab, REGN1979 se administrará usando una dosis de aumento de 80 mg. Una vez que se identifique un régimen de dosis óptimo, se evaluará un grupo de dosis adicional de 6 pacientes con una dosis aumentada de 320 mg de REGN1979 con el régimen de dosis óptimo. También podrán evaluarse grupos de dosis con aumentos de dosis de REGN1979 entre 80 mg y 320 mg. Posteriormente, se evaluarán 24 pacientes adicionales con este régimen de dosis óptimo y la dosis óptima, y junto con los 6 pacientes del grupo de inicio con rituximab tratados con la dosis óptima, se revisará la seguridad y tolerabilidad de un total de 30 pacientes.

55 En cualquiera de los estudios de combinación con el tratamiento habitual, la combinación puede incluir REGN1979 más CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona), ICE (ifosfamida, carboplatino y etopósido), Gem-Ox (gemcitabina y oxaliplatino), lenalidomida o lenalidomida más rituximab.

REIVINDICACIONES

1. Una proteína terapéutica para su uso en un método de tratamiento de una neoplasia maligna de células B CD20+, en donde el método comprende administrar la proteína terapéutica a un sujeto en una pauta posológica para reducir la incidencia o la gravedad del síndrome de liberación de citocinas o la reacción relacionada con la infusión, comprendiendo el método:
- 5
- administrar fracciones de una dosis primaria (D1) de la proteína terapéutica en la semana 1 de la pauta posológica, en donde la dosis primaria comprende 1 mg de la proteína terapéutica, una primera fracción de dosis (F1D1) comprende el 50 % de la dosis primaria total y se administra al sujeto el día 1 de la semana 1, y una segunda fracción de dosis (F2D1) comprende el 50 % restante de la dosis primaria total y se administra al sujeto de 12 a 96 horas después de la administración de la F1D1;
- 10
- administrar fracciones de una dosis secundaria (D2) de la proteína terapéutica en la semana 2 de la pauta posológica, en donde la dosis secundaria comprende 20 mg de la proteína terapéutica, una primera fracción de dosis (F1D2) comprende el 50 % de la dosis secundaria total, una segunda fracción de dosis (F2D2) comprende el 50 % restante de la dosis secundaria total y la F2D2 se administra al sujeto de 12 a 96 horas después de la administración de la F1D2 durante la semana 2 de la pauta posológica; y
- 15
- administrar la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica al sujeto como una dosis única en una semana posterior de la pauta posológica, en donde la dosis máxima semanal comprende 80 mg, 160 mg o 320 mg de la proteína terapéutica,
- 20
- en donde la proteína terapéutica es un anticuerpo anti-CD20 x anti-CD3 biespecífico que comprende un brazo de unión anti-CD20 que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y un brazo de unión anti-CD3 que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
- 25
2. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la segunda fracción de dosis de la dosis primaria o la dosis secundaria se administra al sujeto de 18 a 72 horas después de la administración de la primera fracción de dosis de la dosis primaria o la dosis secundaria.
- 30
3. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde la semana posterior es la semana 3, la semana 4, la semana 14 o una cualquiera de las semanas 4 a 36 de la pauta posológica.
- 35
4. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la dosis máxima semanal de la proteína terapéutica se administra al sujeto como una dosis única durante de 1 a 8 semanas, 1 a 12 semanas o 1 a 16 semanas durante una fase semanal de la pauta posológica.
- 40
5. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el método comprende además administrar la dosis semanal máxima de la proteína terapéutica al sujeto como una dosis única una vez cada dos, tres o cuatro semanas durante una fase de mantenimiento de la pauta posológica, que sigue a la finalización de una fase semanal de la pauta posológica.
- 45
6. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la dosis máxima semanal es de 160 mg o 320 mg.
- 50
7. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la neoplasia maligna de células B CD20+ es linfoma no Hodgkiniano, linfoma de Hodgkin, leucemia linfocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma linfocítico pequeño, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma de la zona marginal, linfoma de Burkitt, linfoma mediastínico primario de linfocitos B, linfoma linfoblástico o macroglobulinemia de Waldenström.
8. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el sujeto se ha diagnosticado con:
- 55
- (i) linfoma folicular o un linfoma folicular de grado 1-3a;
- (ii) linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), opcionalmente en donde el sujeto ha fallado a una terapia CAR-T previa;
- (iii) linfoma de células del manto (MCL), opcionalmente en donde el sujeto ha fallado a una terapia previa con inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton (BTK); o
- 60
- (iv) linfoma de la zona marginal (MZL).
9. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la proteína terapéutica se administra al sujeto en combinación con un segundo agente seleccionado de un esteroide, un antihistamínico, acetaminofeno, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un antagonista de IL-6 o un antagonista de IL-6R.
- 65

10. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la proteína terapéutica se administra al sujeto en combinación con un segundo agente terapéutico.

5 11. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el segundo agente terapéutico:

(a) comprende al menos uno de rituximab, obinutuzumab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona, prednisolona, bendamustina, lenalidomida, clorambucilo, ibritumomab tiuxetán, idelalisib, copanlisib, duvelisib, etopósido, metilprednisolona, citarabina, cisplatino, mesna, ifosfamida, mitoxantrona y procarbazona;

10 (b) comprende una combinación de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona;

(c) comprende una combinación de ifosfamida, cisplatino y etopósido;

(d) comprende una combinación de gemcitabina y oxaliplatino;

(e) comprende una combinación de lenalidomida y rituximab; o

(f) es lenalidomida.

15 12. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde

(a) el sujeto se ha tratado previamente con una terapia contra el cáncer;

(b) el sujeto es refractario al tratamiento previo o ha recaído después del tratamiento previo;

20 (c) el sujeto se ha tratado anteriormente con una terapia con anticuerpos anti-CD20; o

(d) el sujeto se ha tratado anteriormente con una terapia CAR-T.

13. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde la incidencia de CRS de grado 3 y de IRR es menos del 10 % en una población de sujetos que reciben una dosis semanal máxima de al menos 80 mg.

25 14. La proteína terapéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde la incidencia de CRS de grado 3 y de IRR es menos del 7,5 %.

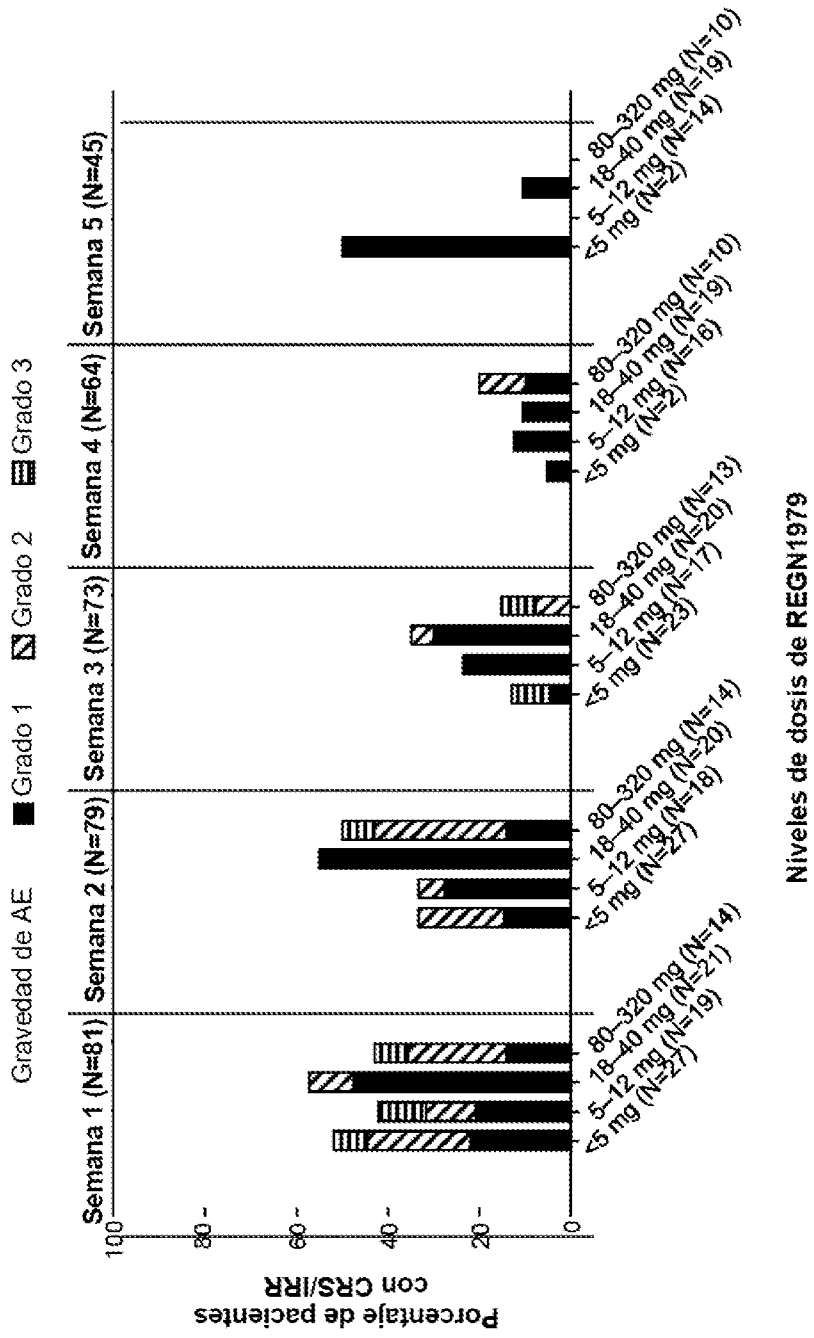


Fig. 1