



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2012143519, 01.04.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
01.04.2011Дата регистрации:
28.04.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
01.04.2010 US 61/320,052

(43) Дата публикации заявки: 10.05.2014 Бюл. № 13

(45) Опубликовано: 28.04.2017 Бюл. № 13

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 01.11.2012(86) Заявка РСТ:
EP 2011/055104 (01.04.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/121110 (06.10.2011)Адрес для переписки:
191036, Санкт-Петербург, а/я 24, "НЕВИНПАТ"

(72) Автор(ы):

КУФЕР Петер (DE),
РАУМ Тобиас (DE),
КИШЕЛЬ Роман (DE),
ЛУТТЕРБЮЗЕ Ральф (DE),
ГОФМАН Патрик (DE),
РАУ Дорис (DE),
МАНГОЛЬД Сузанне (DE),
КЛИНГЕР Маттиас (DE),
ШАЛЛЕР Эвелине (DE),
ХАУСМАН Сузанне (DE),
ФЛУР Петра (DE),
ШТАЙГЕР Карола (DE)

(73) Патентообладатель(и):

Эмджин Рисеч (Мюнх) ГмбХ (DE)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: BÜHLER P. et al., "A
bispecific diabody directed against
prostate-specific membrane antigen and CD3
induces T-cell mediated lysis of prostate cancer
cells", Cancer Immunology, Immunotherapy,
2008; 57(1): 43-52. WO 2008/119567 A2,
09.10.2008. WO 2007/042261 A2, 19.04.2007.
WOLF E. et al., "BiTEs: bispecific antibody
constructs with unique (см. прод.)(54) БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ ОДНОЦЕПОЧЕЧНОЕ АНТИТЕЛО К PSMA \times CD3 С МЕЖВИДОВОЙ
СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ

(57) Формула изобретения

1. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела, содержащая первый связывающий домен, который представляет собой сайт взаимодействия с антигеном, способный связываться с эпитопом CD3 ϵ (эпсилон)-цепи человека и обыкновенной игрушки (Callithrix jacchus), эдипова тамарина (Saguinis oedipus) или обыкновенной беличьей обезьяны (Saimiri sciureus), где указанный эпитоп представляет собой часть аминокислотной последовательности, входящей в группу, состоящую из SEQ ID NO: 2, 4, 6 или 8, и содержит по меньшей мере аминокислотную последовательность Gln-Asp-Gly-Asn-Glu (QDГNE), и второй связывающий домен, способный связываться со специфическим мембранным антигеном предстательной железы (PSMA) человека и яванского макака, где указанная молекула биспецифического одноцепочечного антитела содержит группу следующих последовательностей, в качестве CDR H1, CDR H2, CDR

НЗ, CDR L1, CDR L2 и CDR L3, во втором связывающем домене, выбранную из:

- а) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 226-228 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 231-233;
- б) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 240-242 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 245-247;
- в) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 254-256 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 259-261;
- г) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 268-270 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 273-275;
- д) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 618-620 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 623-625;
- е) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 282-284 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 287-289;
- ж) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 296-298 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 301-303;
- з) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 310-312 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 315-317;
- и) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 324-326 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 329-331;
- к) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 338-340 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 343-345;
- л) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 352-354 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 357-359;
- м) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 366-368 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 371-373;
- н) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 380-382 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 385-387;
- о) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 394-396 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 399-401;
- п) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 408-410 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 413-415;
- р) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 422-424 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 427-429;
- с) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 436-438 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 441-443;
- т) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 450-452 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 455-457;
- у) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 464-466 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 469-471;
- ф) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 478-480 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 483-485;
- х) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 492-494 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 497-499;
- ц) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 506-508 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 511-513;
- ч) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 520-522 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 525-527;
- ш) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 534-536 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 539-541;
- щ) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 548-550 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 553-555;
- ы) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 562-564 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 567-569;
- э) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 576-578 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 581-583;
- ю) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 590-592 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 595-597; и
- я) CDR H1-3 из SEQ ID NO: 604-606 и CDR L1-3 из SEQ ID NO: 609-611.

2. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и обыкновенной игрунки (*Callithrix jacchus*), эдипова тамарина (*Saguinis oedipus*) или обыкновенной беличьей обезьяны (*Saimiri sciureus*), содержит VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранную из:

- (а) CDR-L1, как представлено в SEQ ID NO: 27, CDR-L2, как представлено в SEQ ID NO: 28, и CDR-L3, как представлено в SEQ ID NO: 29;
- (б) CDR-L1, как представлено в SEQ ID NO: 117, CDR-L2, как представлено в SEQ ID NO: 118, и CDR-L3, как представлено в SEQ ID NO: 119; и
- (в) CDR-L1, как представлено в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, как представлено в SEQ ID NO: 154, и CDR-L3, как представлено в SEQ ID NO: 155.

3. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и обыкновенной игрунки (*Callithrix jacchus*), эдипова тамарина (*Saguinis oedipus*) или обыкновенной беличьей обезьяны (*Saimiri sciureus*), содержит VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранную из:

- (а) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 12, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 13, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 14;
- (б) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 30, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 31, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 32;

(в) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 48, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 49, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 50;

(г) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 66, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 67, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 68;

(д) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 84, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 85, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 86;

(е) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 102, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 103, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 104;

(ж) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 120, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 121, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 122;

(з) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 138, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 139, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 140;

(и) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 156, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 157, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 158; и

(к) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO: 174, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO: 175, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO: 176.

4. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и обыкновенной игрунки (*Callithrix jacchus*), эдипова тамарина (*Saguinis oedipus*) или обыкновенной беличьей обезьяны (*Saimiri sciureus*), содержит VL-область, выбранную из группы, состоящей из VL-области, как представлено в SEQ ID NO: 35, 39, 125, 129, 161 или 165.

5. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и обыкновенной игрунки (*Callithrix jacchus*), эдипова тамарина (*Saguinis oedipus*) или обыкновенной беличьей обезьяны (*Saimiri sciureus*), содержит VH-область, выбранную из группы, состоящей из VH-области, как представлено в SEQ ID NO: 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 или 181.

6. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и обыкновенной игрунки (*Callithrix jacchus*), эдипова тамарина (*Saguinis oedipus*) или обыкновенной беличьей обезьяны (*Saimiri sciureus*), содержит VL-область и VH-область, выбранные из группы, состоящей из:

(а) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 17 или 21, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 15 или 19;

(б) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 35 или 39, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 33 или 37;

(в) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 53 или 57, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 51 или 55;

(г) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 71 или 75, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 69 или 73;

(д) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 89 или 93, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 87 или 91;

(ж) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 107 или 111, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 105 или 109;

(з) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 125 или 129, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 123 или 127;

(и) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 143 или 147, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 141 или 145;

(к) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 161 или 165, и VH-область, как

представлено в SEQ ID NO: 159 или 163; и

(л) VL-область, как представлено в SEQ ID NO: 179 или 183, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO: 177 или 181.

7. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.6, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и обыкновенной игрунки (*Callithrix jacchus*), эдипова тамарина (*Saguinis oedipus*) или обыкновенной беличьей обезьяны (*Saimiri sciureus*), содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187.

8. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, которая содержит последовательность, выбранную из:

(а) аминокислотной последовательности, как представлено в любой из SEQ ID NO: 237, 251, 265, 279, 629, 293, 307, 321, 335, 349, 363, 377, 391, 405, 419, 433, 447, 461, 475, 489, 503, 517, 531, 545, 559, 573, 587, 601 или 615; и

(б) аминокислотной последовательности, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, как представлено в любой из SEQ ID NO: 238, 252, 266, 280, 630, 294, 308, 322, 336, 350, 364, 378, 392, 406, 420, 434, 448, 462, 476, 490, 504, 518, 532, 546, 560, 574, 588, 602 или 616.

9. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-8, где биспецифическое одноцепочечное антитело содержит метку, предпочтительно C-концевую His-метку.

10. Нуклеиновая кислота, кодирующая молекулу биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-9.

11. Клетка-хозяин для получения молекулы биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-9, трансформированная или трансфицированная вектором, содержащим нуклеиновую кислоту по п.10.

12. Способ получения молекулы биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-9, включающий культивирование клетки-хозяина по п.11 в условиях, обеспечивающих экспрессию молекулы биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-9, и выделение продуцируемого полипептида из культуры.

13. Фармацевтическая композиция для предупреждения, лечения или облегчения рака, ассоциированного с экспрессией PSMA, содержащая молекулу биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-9.

14. Применение молекулы биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-9 для изготовления фармацевтической композиции для предупреждения, лечения или облегчения рака, ассоциированного с экспрессией PSMA.

15. Применение по п.14, где указанный рак представляет собой солидную опухоль, предпочтительно карциному или рак предстательной железы.

16. Применение по п.14 или 15, где указанную фармацевтическую композицию вводят в комбинации с дополнительным лекарственным средством.

(56) (продолжение):

anti-tumor activity", *Drug discovery today*, 2005, 10(18):1237-1244. PORTOLES P. et al., "Monoclonal antibodies to murine CD3 ε define distinct epitopes, one of which may interact with CD4 during T cell activation", *J Immunology*, 1989; 142(12): 4169-4175. WO 2006/125481 A1, 30.11.2006. RU 2,179,862 C1, 27.02.2002.

RU 2 6 1 7 9 4 2 C 2

RU 2 6 1 7 9 4 2 C 2