



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2022105827, 12.04.2019

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

13.04.2018 EP 18167384.9;

13.04.2018 EP 18167385.6;

24.08.2018 EP 18190661.1;

24.08.2018 EP 18190662.9

(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:

2020134591 21.10.2020

(43) Дата публикации заявки: 05.04.2022 Бюл. № 10

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский бульвар, 11,

Джермакян Рубен Валерьевич

(71) Заявитель(и):

АФФИМЕД ГМБХ (DE)

(72) Автор(ы):

ТЕСАР, Майкл (DE),**ЭЛЛВАНГЕР, Кристина (DE),****ФУСЕК, Ивика (DE),****РАУШ, Уве (DE),****РОСС, Торстен (DE),****КОХ, Йоаким (DE),****РАДЖКОВИЧ, Эрик (DE),****ТРЕДЕР, Мартин (DE)**(54) **СЛИТЫЕ КОНСТРУКЦИИ АНТИТЕЛ ДЛЯ ВОВЛЕЧЕНИЯ НК-КЛЕТОК**

(57) Формула изобретения

1. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок, содержащий

(a) два фрагмента, связывающих целевой антиген, причем каждый содержит фрагмент Fab и участок Fc, и

(b) два фрагмента, связывающих антиген CD16A, причем каждый имеет формат одноцепочечного переменного фрагмента (scFv), содержащего переменную область тяжелой цепи (V_H) и переменную область легкой цепи (V_L), где переменная область на N-конце каждого scFvs представляет собой V_L .2. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 1, отличающийся тем, что переменные области по меньшей мере двух фрагментов, связывающих антиген CD16A, расположены от N-конца к C-концу в порядке V_L - V_H , V_L - V_L - V_H - V_H или V_L - V_H - V_L - V_H .3. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 1 или 2, отличающийся тем, что переменные области по меньшей мере двух фрагментов, связывающих антиген CD16A, расположены от N-конца к C-концу в порядке V_L - V_H .4. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 1 или 2, отличающийся тем, что переменные области по меньшей мере двух фрагментов, связывающих антиген CD16A в полипептидной цепи, расположены от N-конца к C-концу в порядке V_L - V_H - V_L - V_H .

5. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что N-конец первого из двух scFv слит с C-концом участка Fc первого

из двух фрагментов, связывающих целевой антиген, и N-конец второго из двух scFv слит с C-концом участка Fc второго из двух фрагментов, связывающих целевой антиген.

6. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что а) участок Fc выбран из мономерного фрагмента CH2-CH3, гетеродимерной области Fc и гомодимерной области Fc, и/или б) участок Fc не связывается с рецептором Fc-гамма, но сохраняет способность связываться с неонатальным рецептором Fc.

7. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок является тетравалентным.

8. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что каждый из двух фрагментов, связывающих антиген CD16A, содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 50; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 51; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 52, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 53; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 54; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 55, или

(ii) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 73; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 74; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 75, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 76; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 77; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 78.

9. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что каждый из двух фрагментов, связывающих антиген CD16A, содержит (i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80% гомологична или идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 3, и/или (ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80% гомологична или идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2.

10. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что каждый из двух фрагментов, связывающих CD16A, содержит (i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3, и/или (ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2.

11. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что целевой антиген содержит ВСМА или РЭФР.

12. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 11, отличающийся тем, что целевой антиген содержит ВСМА.

13. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 11 или 12, отличающийся тем, что белок содержит один фрагмент, нацеленный на ВСМА, или два фрагмента,

А
2
0
2
2
1
0
5
8
2
7

RU
2
0
2
2
1
0
5
8
2
7
А

нацеленных на ВСМА.

14. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 12, отличающийся тем, что белок представляет собой тетрамер, содержащий первую полипептидную цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 61 или 63, и вторую полипептидную цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 62 или 64.

15. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 14, отличающийся тем, что первый полипептид и второй полипептид выбраны из:

(i) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 61, и второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 62;

(ii) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 61, и второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 64;

(iii) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 63, и второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 62; и

(iv) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 63, и второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 64.

16. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 11 или 12, отличающийся тем, что целевой антиген содержит ВСМА, и фрагмент, связывающий антиген ВСМА, содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 67; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 68; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 69, и/или

(ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 70; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 71; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 72.

17. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 11, 12 и 16, отличающийся тем, что фрагмент, связывающий антиген ВСМА, содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80% гомологична или идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 65, и/или

(ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80% гомологична или идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 66.

18. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 11, 12, 16 и 17, отличающийся тем, что фрагмент, связывающий антиген ВСМА, содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 65, и/или

(ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 66.

19. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 11-13 и 16-18, отличающийся тем, что

(i) два фрагмента, связывающие антиген CD16A, содержат:

А
2
0
2
2
1
0
5
8
2
7
А
R
U

RU
2
0
2
2
1
0
5
8
2
7
А

(a) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 73; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 74; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 75, и

(b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 76; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 77; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 78; и

(ii) целевой антиген содержит ВСМА, и фрагмент, связывающий антиген ВСМА, содержит:

(a) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 67; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 68; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 69, и

(b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 70; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 71; и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 72.

20. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-19, отличающийся тем, что участок Fc содержит по меньшей мере одну мутацию, приводящую к снижению эффекторной функции.

21. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 20, отличающийся тем, что по меньшей мере одна мутация, приводящая к снижению эффекторной функции, выбрана из группы, состоящей из (i) C220S, C229S, E233P, L234A, L234V, L234F, L235A, L235E, P238S, D265A, N297A, N297Q и P331S, (ii) L234A, L234V, L234F, L235A, L235E, P238S и D265A или (iii) L234F, L235E и D265A.

22. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-21, отличающийся тем, что участок Fc содержит две мутации, приводящие к снижению эффекторной функции.

23. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 20, отличающийся тем, что две мутации, приводящие к снижению эффекторной функции, представляют собой L234F и L235E.

24. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-21, отличающийся тем, что участок Fc содержит три мутации, приводящие к снижению эффекторной функции.

25. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 24, отличающийся тем, что три мутации, приводящие к снижению эффекторной функции, представляют собой L234F, L235E и D265A.

26. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-25, отличающийся тем, что он представляет собой биспецифический антигенсвязывающий белок.

27. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по п. 26, отличающийся тем, что биспецифический антигенсвязывающий белок связывается с CD16A и ВСМА.

28. Фармацевтическая композиция, содержащая мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-30 и фармацевтически приемлемый носитель.

29. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-27 для применения в качестве лекарственного препарата.

30. Фармацевтическая композиция по п. 28 для применения в качестве лекарственного средства.

31. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-27 или фармацевтическая композиция по п. 28 для применения для лечения, ослабления и/или профилактики заболевания у субъекта.

32. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 31, где заболевание представляет собой онкологическое заболевание.

33. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 31, где заболевание представляет собой гемобластоз.

34. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по любому из пп. 31-33, где заболевание представляет собой множественную миелому.

35. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по любому из пп. 31-34, где мультиспецифический антигенсвязывающий белок или фармацевтическую композицию вводят внутривенно.

36. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по любому из пп. 31-34, где мультиспецифический антигенсвязывающий белок или фармацевтическую композицию вводят подкожно.

37. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по любому из пп. 31-36, где второй вид терапии вводят субъекту.

38. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 37, где вторая терапия выбрана из способов лечения, включающих антитело к PD-1, способов лечения, включающих антитело к PD-L1, способов лечения, включающих биспецифическое антитело к CD3, способов лечения, включающих антитело к TIGIT, способов лечения, включающих антитело к VEGF, и способов лечения, включающих антитело к FcRH5.

39. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 37, где вторая терапия представляет собой терапию с использованием цитокинов.

40. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 39, где цитокин выбран из ИЛ-15, ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-21 и ИЛ-6.

41. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 40, где цитокин содержит ИЛ-2.

42. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 40, где цитокин содержит ИЛ-15.

43. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 34, где множественная миелома является рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой (RRMM).

44. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по любому из пп. 31-43, где для лечения субъекта ранее применяли терапию с использованием антител к CD38.

45. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 44, где терапия с использованием антител к CD38 содержит даратумумаб.

46. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по любому из пп. 31-45, где субъект ранее не получал лечение даратумумабом, резистентный к даратумумабу, рефрактерный к даратумумабу или имеет рецидив после лечения даратумумабом.

47. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 46, где субъект резистентный к даратумумабу, рефрактерный к даратумумабу или имеет рецидив после лечения даратумумабом.

48. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по любому из пп. 31-47, где субъект демонстрирует полиморфизм CD16A.

49. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок или композиция для применения по п. 48, где полиморфизм CD16A представляет собой полиморфизм CD16A-158V/F.

50. Мультиспецифический антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-27 или фармацевтическая композиция по п. 28 для применения для лечения субъекта, у которого истощена или сокращена популяция NK-клеток.

A 2 0 2 2 1 0 5 8 2 7 R U

R U 2 0 2 2 1 0 5 8 2 7 A