



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/505 (2021.08); A61K 31/519 (2021.08); A61K 39/395 (2021.08); A61P 35/02 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2018107929, 18.08.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
18.08.2016

Дата регистрации:
16.03.2022

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
21.08.2015 EP 15181925.7

(43) Дата публикации заявки: 23.09.2019 Бюл. № 27

(45) Опубликовано: 16.03.2022 Бюл. № 8

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 21.03.2018

(86) Заявка РСТ:
EP 2016/069571 (18.08.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2017/032679 (02.03.2017)

Адрес для переписки:
191036, Санкт-Петербург, а/я 24,
"НЕВИНПАТ"

(72) Автор(ы):

ЭНДЕЛЛЬ Ян (DE),
ВИНДЕРЛИХ Марк (DE),
БОКСХАММЕР Райнер (DE)

(73) Патентообладатель(и):
МОРФОСИС АГ (DE)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2013/024095 A1, 21.02.2013. WO
2013/024097 A1, 21.02.2013. RU 2012121895 A,
10.12.2013. WU M et. al. "Novel agents for chronic
lymphocytic leukemia", J Hematology &
Oncology, 2013, Vol. 6(36), pp. 1-8.

(54) Комбинации и их использование

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биохимии, в частности к применению синергической комбинации в лечении неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза или острого лимфобластного лейкоза, ассоциированных с экспрессией CD19. Раскрыт способ лечения неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или

острого лимфобластного лейкоза, ассоциированных с экспрессией CD19 с помощью указанного применения синергической комбинации. Изобретение позволяет эффективно лечить лимфому, хронический лимфоцитарный лейкоз или острый лимфобластный лейкоз, ассоциированные с экспрессией CD19. 2 н. и 42 з.п. ф-лы, 10 ил., 32 табл., 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 31/505 (2006.01)*A61K 31/519* (2006.01)*A61K 39/395* (2006.01)*A61P 35/02* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 31/505 (2021.08); A61K 31/519 (2021.08); A61K 39/395 (2021.08); A61P 35/02 (2021.08)(21)(22) Application: **2018107929, 18.08.2016**(24) Effective date for property rights:
18.08.2016Registration date:
16.03.2022

Priority:

(30) Convention priority:
21.08.2015 EP 15181925.7(43) Application published: **23.09.2019 Bull. № 27**(45) Date of publication: **16.03.2022 Bull. № 8**(85) Commencement of national phase: **21.03.2018**(86) PCT application:
EP 2016/069571 (18.08.2016)(87) PCT publication:
WO 2017/032679 (02.03.2017)Mail address:
191036, Sankt-Peterburg, a/ya 24, "NEVINPAT"

(72) Inventor(s):

**ENDELL Jan (DE),
WINDERLICH Mark (DE),
BOXHAMMER Rainer (DE)**

(73) Proprietor(s):

MorphoSys AG (DE)(54) **COMBINATIONS AND USE THEREOF**

(57) Abstract:

FIELD: biochemistry.

SUBSTANCE: invention relates to use of a synergistic combination in treating non-Hodgkin lymphoma, chronic lymphocytic leukemia or acute lymphoblastic leukemia associated with CD19 expression. Disclosed is a method of treating non-Hodgkin lymphoma, chronic lymphocytic leukemia

and/or acute lymphoblastic leukemia associated with CD19 expression using said synergetic combination.

EFFECT: invention enables effective treatment of lymphoma, chronic lymphocytic leukemia or acute lymphoblastic leukemia associated with CD19 expression.

44 cl, 10 dwg, 32 tbl, 4 ex

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее раскрытие относится к фармацевтической комбинации антитела к CD19 и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы для лечения неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза.

5 Предпосылки изобретения

В-клетки - это лимфоциты, которые играют большую роль в гуморальном иммунном ответе. Они продуцируются в костном мозге большинства млекопитающих и составляют 5-15% циркулирующего лимфоидного пула. Основная функция В-клеток состоит в создании антител к различным антигенам, и они являются неотъемлемым элементом адаптивной иммунной системы.

10 Вследствие их критической роли в регулировании иммунной системы расстройство регуляции В-клеток связано с различными нарушениями, такими как лимфомы и лейкозы. Среди таких нарушений находятся неходжкинская лимфома (НХЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ).

15 НХЛ - это гетерогенная группа злокачественных новообразований, возникающих из лимфоцитов. В Соединенных Штатах Америки (США) заболеваемость оценивается в 65000/год с числом смертельных случаев примерно 20000 (по данным Американского онкологического общества, 2006 г., и сводной статистики рака SEER). Болезнь встречается во всех возрастных группах, обычно ее начало наблюдается у взрослых 20 старше 40 лет, причем заболеваемость растет с возрастом. НХЛ характеризуется клональной пролиферацией лимфоцитов; которые накапливаются в лимфатических узлах, крови, костном мозге и селезенке, хотя может быть вовлечен любой крупный орган. В настоящее время системой классификации, используемой патологоанатомами и лечащими врачами, является Классификация опухолей Всемирной организации 25 здравоохранения (ВОЗ), по которой НХЛ различают как новообразования прекурсорных и зрелых В-клеток или Т-клеток. PDQ (база данных для врачебных запросов) в настоящее время делит НХЛ на индолентную (медленно прогрессирующую) или агрессивную форму на входе в клинические испытания. Индолентная группа НХЛ состоит в основном из фолликулярных подтипов, малой лимфоцитарной лимфомы, 30 MALT (слизистой оболочки лимфоидной ткани) и маргинальной зоны; в число пациентов с индолентной формой входит примерно 50% вновь диагностированных пациентов с В-клеточной НХЛ. Агрессивная форма НХЛ включает пациентов с гистологическим диагнозом преимущественно диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBL, DLBCL или DLCL) (у 40% всех вновь диагностированных пациентов наблюдается 35 диффузная крупноклеточная форма), лимфомы Беркитта и лимфомы из клеток мантии. Клиническое течение НХЛ сильно варьируется. Основной детерминантой клинического течения является гистологический подтип. Большинство индолентных форм НХЛ считаются неизлечимыми. Изначально пациенты реагируют либо на химиотерапию, либо на терапию антителами, и у большинства из них произойдет рецидив заболевания. 40 Исследования, проведенные до настоящего времени, не продемонстрировали улучшения выживаемости при раннем лечении. В случае пациентов без выраженных симптомов принято "наблюдать и выжидать", пока у пациента не появятся симптомы или болезнь не станет прогрессировать. С течением времени заболевание может принять более агрессивную гистологическую форму. Средняя выживаемость составляет 8-10 лет, и 45 пациенты с индолентной формой часто получают 3 или более курсов лечения в ходе лечебной фазы их заболевания. Так сложилось, что первоначальное лечение больного с симптоматической индолентной НХЛ состоит из комбинированной химиотерапии. Наиболее часто применяемые средства включают: циклофосфамид, винкристин и

преднизон (CVP); или циклофосфамид, адриамицин, винкристин, преднизон (CHOP). Примерно 70-80% пациентов будут реагировать на их первоначальную химиотерапию, продолжительность ремиссий длится порядка 2-3 лет. В конечном итоге у большинства пациентов произойдет рецидив заболевания. Разработка и клиническое использование антитела к CD20 - ритуксимаба - обеспечило значительное улучшение реакции и выживаемости. В настоящее время стандартное лечение для большинства пациентов состоит из ритуксимаба + CHOP (R-CHOP) или ритуксимаба + CVP (R-CVP). Для начального лечения НХЛ одобрен интерферон в комбинации с алкилирующими средствами, но в США он широко не применяется. Было показано, что терапия ритуксимабом эффективна при нескольких типах НХЛ, и в настоящее время он одобрен в качестве лечения первой линии как для индолентной формы (фолликулярной лимфомы), так и агрессивной НХЛ (диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы). Однако для моноклонального антитела (mAb) к CD20 есть серьезные ограничения, включая первичную невосприимчивость (50% ответов у пациентов с рецидивом индолентной формы), приобретенную невосприимчивость (50% ответов при повторном лечении), редкий полный ответ (2% полной ремиссии в популяции с рецидивом заболевания) и продолжающуюся картину рецидива. И наконец, многие В-клетки не экспрессируют CD20, и поэтому многие В-клеточные расстройства не поддаются лечению антителами к CD20.

Кроме НХЛ существуют несколько других типов лейкозов, которые возникают вследствие расстройства регуляции В-клеток. ХЛЛ - это тип лейкоза взрослого возраста, который вызван ненормальным накоплением В-лимфоцитов. При ХЛЛ злокачественные лимфоциты могут выглядеть нормальными и зрелыми, но они не способны эффективно действовать против инфекций. ХЛЛ является наиболее часто встречающейся формой лейкоза у взрослых. У мужчин ХЛЛ развивается, как правило, в два раза чаще, чем у женщин. Однако основным фактором риска является возраст. Свыше 75% новых случаев заболевания выявляют у пациентов в возрасте старше 50 лет. Каждый год выявляется более 10000 случаев заболевания, и смертность составляет почти 5000 в год (по данным Американского онкологического общества, 2006 г., и сводной статистики рака SEER). ХЛЛ является неизлечимой болезнью, но в большинстве случаев прогрессирует медленно. Многие люди с ХЛЛ многие годы ведут нормальный и активный образ жизни. Вследствие своего замедленного изначального развития ХЛЛ на ранних стадиях не лечат, поскольку считается, что раннее лечение ХЛЛ не улучшает выживаемость или качество жизни. Вместо этого проводят наблюдение за состоянием больного с течением времени. Первоначальное лечение ХЛЛ варьируется в зависимости от точного диагноза и прогрессирования болезни. Для лечения ХЛЛ применяют десятки средств. Схемы комбинированной химиотерапии, такой как FCR (флударабин, циклофосфамид и ритуксимаб) и BR (иделалисиб и ритуксимаб), эффективны как при вновь выявленном ХЛЛ, так и при рецидивирующем заболевании. Пересадка аллогенного костного мозга (стволовых клеток) редко используется в качестве лечения ХЛЛ первой линии вследствие связанного с ней риска.

Другим типом лейкоза является ОЛЛ, также известный как острый лимфоцитарный лейкоз. ОЛЛ характеризуется сверхпродукцией и продолжающимся увеличением числа злокачественных и незрелых белых кровяных телец (также называемых лимфобластами) в костном мозге. "Острый" относится к недифференцированному, незрелому состоянию циркулирующих лимфоцитов ("бластов"), и эта болезнь быстро прогрессирует, и при отсутствии лечения продолжительность жизни составляет недели или месяцы. ОЛЛ особенно характерен для детского периода и наиболее часто

встречается к возрасту 4-5 лет. Особенно смертность от этого заболевания высока для детей в возрасте 12-16 лет. В настоящее время считается, что по меньшей мере 80% ОЛЛ детского возраста излечимо. Каждый год выявляется почти 4000 случаев заболевания, и смертность составляет почти 1500 в год (по данным Американского онкологического общества, 2006 г., и сводной статистики рака SEER).

Молекула человеческого CD19 представляет собой рецептор на клеточной поверхности с отличающейся структурой, экспрессируемый на поверхности В-клеток человека, включая, но не ограничиваясь ими, предшественники В-клеток, В-клетки на ранней стадии развития (т.е., незрелые В-клетки), зрелые В-клетки при окончательной дифференциации в клетки плазмы и злокачественные В-клетки. CD19 экспрессируется в большинстве случаев пре-В-клеточных острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ), неходжкинских лимфом, В-клеточных хронических лимфоцитарных лейкозов (ХЛЛ), пролимфоцитарных лейкозов, лейкозов ворсистых клеток, острых недифференцированных лимфоцитарных лейкозов и некоторых острых лимфобластных лейкозов с нулевым фенотипом (Nadler et al, J. Immunol., 131:244-250 (1983), Loken et al, Blood, 70:1316-1324 (1987), Uckun et al, Blood, 71:13- 29 (1988), Anderson et al, 1984. Blood, 63:1424-1433 (1984), Scheuermann, Leuk. Lymphoma, 18:385-397(1995)). Тот факт, что CD19 экспрессируется на клетках плазмы, также позволяет предположить, что он может экспрессироваться на дифференцированных В-клеточных опухолях, таких как множественная миелома, плазмацитомы, опухоли Вальденстрема (Grossbard et al., Br. J. Haematol, 102:509-15(1998); Treon et al, Semin. Oncol, 30:248-52(2003)).

Поэтому антиген CD19 представляет собой цель для иммунотерапии при лечении неходжкинской лимфомы (включая каждый подтип, описанный в данном документе), хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза.

Были продемонстрированы некоторые CD19 терапии. Три пациента с ХЛЛ на поздней стадии получали Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR) к CD19, включая как **CD3-ζ**, так и 4-BB костимулирующий домен. Публикация Kalos et al., T cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia, Science Translational Medicine, vol. 3, no. 95 (10 августа 2011 г.), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой. В публикации Sadelain et al., The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors, Current Opinion in Immunology, Elsevier, vol. 21, no. 2, 2 апреля 2009 г., которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой, также описаны химерные антигенные рецепторы (CAR) к CD19.

Применение антитела CD19 при неспецифических В-клеточных лимфомах обсуждается в публикации WO 2007076950 (US 2007154473), обе из которых включены в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

Применение антитела CD19 при ХЛЛ, НХЛ и ОЛЛ описано в публикации Scheuermann et al., CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

Дополнительные антитела, специфичные к CD19, описаны в публикациях WO 2005012493 (US 7109304), WO 2010053716 (US 12/266999) (Immunomedics); WO 2007002223 (US 78097703) (Medarex); WO 2008022152 (12/377251) и WO 2008150494 (Xencor), WO 2008031056 (US 11/852106) (Medimmune); WO 2007076950 (US 11/648505) (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431 (US 12/253895) (Seattle Genetics); и WO 2010095031 (12/710442) (Glenmark Pharmaceuticals), WO 2012010562 и WO 2012010561 (International Drug Development), WO 2011147834 (Roche Glycart) и WO 2012/156455 (Sanofi), которые

включены в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

Комбинации антител, специфичных к CD19, и других средств описаны в публикациях WO 2010151341 (US 13/377514) (The Feinstein Institute); US 5686072 (University of Texas) и WO 2002022212 (PCT/US01/29026) (IDEC Pharmaceuticals), WO 2013/024097 (14/126928) (MorphoSys AG) и WO 2013/024095 (14/127217) (MorphoSys AG), которые включены в
 5 данный документ во всей своей полноте ссылкой. В реферате 4765 Ежегодной встречи Американской ассоциации исследования рака (AACR Annual Meeting) 2014, 5-9 апреля 2014 г. в Сан-Диего, Калифорния, под названием "Drug synergies observed for antibody and toxin components of SAR3419 ADC contribute to overall conjugate efficacy and can be
 10 combination drug or tumor cell line dependent" сообщается о лекарственном конъюгате антитела (ADC) SAR3419 к CD19 с ингибиторами PI3K в некоторых клеточных линиях.

В продажу поступают некоторые ингибиторы фосфоинозитид-3-киназы. Иделалисиб, также известный как GS-1101 или CAL-101, производится компанией Gilead и имеет торговое наименование Зиделиг (Zydelig) в Соединенных Штатах. Иделалисиб
 15 описывается в патентах США №№6800620; 8865730; 8980901; RE44599; и RE44638, которые включены в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

Очевидно, что несмотря на недавний прогресс в обнаружении и разработке противоопухолевых средств, многие формы рака, в которые вовлечены опухоли, экспрессирующие CD19, по-прежнему имеют плохой прогноз. Поэтому существует
 20 потребность в усовершенствованных способах лечения таких форм рака.

Краткое описание

Ни в каком из документов предшествующего уровня техники, ни в их комбинации, не предполагается наличие синергического действия комбинации приведенных антител и Иделалисиба в лечении неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного
 25 лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к синергической комбинации антитела, специфичного к CD19, и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы. Такие комбинации полезны при лечении В-клеточных злокачественных новообразований, таких как неходжкинская лимфома (НХЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз и/или
 30 острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ).

Считается, что по моделям *in vitro* можно судить о том, как определенные соединения или комбинации соединений будут вести себя в ходе применения у людей. Испытания проводились на многих клеточных линиях, например, клетках MEC-1 (DSMZ# ACC497) клеточной линии хронического В-клеточного лейкоза. По клеткам MEC-1 в такой
 35 модели *in vitro* можно судить о том, как комбинация будет работать в ходе лечения хронического лимфоидного лейкоза (ХЛЛ) у людей.

Кроме того, при комбинировании соединений *in vitro* предполагается, что они будут иметь только совокупное воздействие. Неожиданно изобретателями было обнаружено, что комбинация определенного антитела, специфичного к CD19, и Иделалисиба
 40 опосредовала синергический уровень специфического клеточного уничтожения *in vitro* по сравнению с одним только антителом и одним только Иделалисибом.

В частности, изобретателями было обнаружено, что комбинация MOR00208 и Иделалисиба опосредовала синергический уровень специфического клеточного уничтожения *in vitro* в случае клеток MEC-1 по сравнению с одним только антителом
 45 и одним только Иделалисибом.

Кроме того, и также неожиданно, изобретателями было обнаружено, что комбинация определенного антитела, специфичного к CD19, и Иделалисиба имела определенные улучшенные функциональные свойства по сравнению с одним только антителом и

одним только Иделалисибом.

В целом, комбинация названного антитела к CD19 и Иделалисиба продемонстрировала синергическое поведение в моделях, относящихся к ХЛЛ. Поскольку ХЛЛ относится к В-клеточным расстройствам, и CD19 сверхэкспрессируется на В-клетках, названная комбинация будет иметь такой же механизм действия и должна также проявлять синергическое действие в лечении других В-клеточных расстройств, например, НХЛ и ОЛЛ.

Поэтому комбинация названных антитела, специфичного к CD19, и Иделалисиба должна быть эффективной при лечении людей в случаях неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза. Ожидаемая действенность комбинации названных антитела, специфичного к CD19, и Иделалисиба будет подтверждена в клинических исследованиях.

Поскольку механизмы действия Иделалисиба и других ингибиторов фосфоинозитид-3-киназы похожи, так как все они действуют путем подавления одного или нескольких ферментов фосфоинозитид-3-киназы, которые являются частью сигнального пути PI3K/AKT/mTOR - важного сигнального пути многих клеточных функций, таких как регулирование роста, метаболизм и инициация трансляции, считается, что синергия также будет наблюдаться при лечении людей с выявленными неходжкинской лимфомой, хроническим лимфоцитарным лейкозом и/или острым лимфобластным лейкозом комбинацией названного антитела к CD19 и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы, отличающегося от Иделалисиба.

Поскольку названное антитело к CD19 и другие антитела к CD19 связываются с CD19, считается, что синергия также будет наблюдаться при лечении людей с выявленными неходжкинской лимфомой, хроническим лимфоцитарным лейкозом и/или острым лимфобластным лейкозом комбинацией любого антитела к CD19 и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы, например, Иделалисиба.

Один аспект настоящего раскрытия включает в себя синергическую комбинацию, где антитело, специфичное к CD19, содержит участок HCDR1 с последовательностью SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с последовательностью RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), участок LCDR3 с последовательностью MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) и Иделалисиб. В предпочтительных аспектах комбинацию применяют для лечения неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза.

Описание графических материалов

На Фигуре 1 показана аминокислотная последовательность переменных доменов MOR00208.

На Фигуре 2 показана аминокислотная последовательность Fc участков MOR00208.

На Фигурах 3-6 показаны кривые ADCC в зависимости от дозы для комбинации MOR00208 и Иделалисиба в клетках МЕС-1, полученные в четырех независимых экспериментах.

На Фигурах 7-10 показаны кривые CI для комбинации MOR00208 и Иделалисиба при изменяющихся дозах, полученные в четырех независимых экспериментах.

Подробное описание изобретения

"Синергия", "синергизм" или "синергический" означают больше, чем ожидаемый суммарный эффект комбинации. "Синергия", "синергизм" или "синергический" эффект комбинации определены в данном документе с помощью способов в публикации Chou

et al., Clarke et al. и/или Webb et al. См. Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой. Также см. публикацию Clarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278 (1997), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой. Также см. публикацию Webb, J. L. (1963) Enzyme and Metabolic Inhibitors, Academic Press, New York, которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

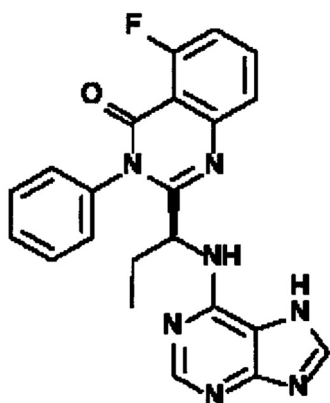
Термин "антитело" означает моноклональные антитела, включая любой изотип, такой как IgG, IgM, IgA, IgD и IgE. Антитело IgG состоит из двух идентичных тяжелых цепей и двух идентичных легких цепей, которые соединены дисульфидными связями. Каждая тяжелая и легкая цепь содержит константную область и переменную область. Каждая переменная область содержит три сегмента, называемых "участками, определяющими комплементарность" ("CDR") или "гиперпеременными участками", которые в первую очередь отвечают за связывание с эпитопом антигена. На них ссылаются как CDR1, CDR2 и CDR3, нумеруя последовательно от N-конца. Более консервативные фрагменты переменных участков за пределами CDR называют "каркасными участками". "Фрагмент антитела" означает фрагмент Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другой фрагмент, который содержит по меньшей мере одну переменную тяжелую или переменную легкую цепь, каждая из которых содержит CDR и каркасные участки.

"Ингибитор фосфоинозитид-3-киназы" - это тип лекарственного средства, которое действует путем подавления одного или нескольких фосфоинозитид-3-киназных ферментов, которые являются частью сигнального пути PI3K/AKT/mTOR - важного сигнального пути многих клеточных функций, таких как регулирование роста, метаболизм и инициация трансляции.

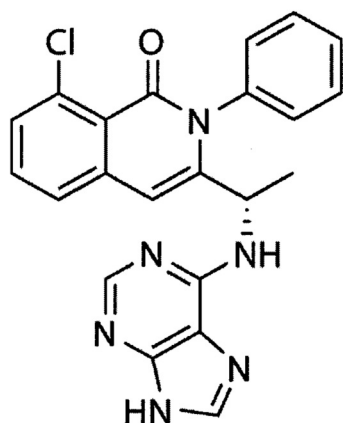
Существует несколько различных классов и изоформ PI3K. Класс 1 PI3K имеет каталитическую субъединицу, известную как p110, четырех типов (изоформ) - p110-альфа, p110-бета, p110-гамма и p110-дельта. Исследуемые здесь ингибиторы ингибируют одну или несколько изоформ Класса 1 PI3K.

Ингибиторы фосфоинозитид-3-киназы включают, по меньшей мере, Иделалисиб, Дувелисиб и Копанлисиб.

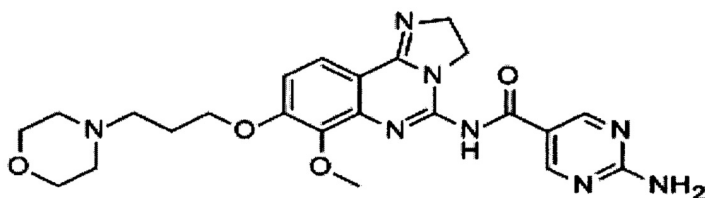
Иделалисиб поступает в продажу от Gilead Sciences, Inc. (торговое наименование Зиделиг (Zydelig), также называемый GS-1101 или CAL-101). Иделалисиб в настоящее время одобрен для лечения рецидивирующего хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ) в комбинации с ритуксимабом у пациентов, для которых ритуксимаб отдельно считается приемлемой терапией вследствие других сопутствующих заболеваний; рецидивирующей фолликулярной В-клеточной неходжкинской лимфомы (ФЛ) у пациентов, которые до этого получили по меньшей мере две системные терапии; рецидивирующей малой лимфоцитарной лимфомы (МЛЛ) у пациентов, которые до этого получили по меньшей мере две системные терапии. Активная субстанция действует как ингибитор фосфоинозитид-3-киназы, более конкретно - она блокирует P110δ - дельта-изоформу фермента фосфоинозитид-3-киназы. Иделалисиб имеет следующую формулу:



Дувелисиб (Duvelisib) (IPI-145, INK1197) - это новый и селективный ингибитор PI3K δ/γ (дельта и гамма). Дувелисиб имеет следующую формулу:



Копанлисиб (Copanlisib, BAY 80-6946), разработанный компанией Bayer, представляет собой селективный ингибитор Класса 1 фосфоинозитид-3-киназы. Копанлисиб имеет следующую формулу:



"VH" относится к вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина антитела или фрагмента антитела. "VL" относится к вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина антитела или фрагмента антитела.

Термин "CD19" относится к белку, известному как CD19, имеющему следующие синонимы: B4, B-лимфоцитарный антиген CD19, B-лимфоцитарный поверхностный антиген B4, CVID3, дифференцировочный антиген CD19, MGC12802 и Т-клеточный поверхностный антиген Leu-12.

Аминокислотная последовательность человеческого CD19:

MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTS DGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSL
 GLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLG
 GLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSL NQSLSQDLTMAPGS
 TLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVWVETGLLLPRATAQDAGK
 YYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRK
 RMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQA
 DGALGSRSPPGVGPVEEEEGEGYEEDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSQSYENPEDEPLGPE
 DEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLR
 SIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGGRMGWSTR. (SEQ ID NO: 7)

"MOR00208" представляет собой антитело к CD19. Аминокислотная последовательность вариабельных доменов представлена на Фигуре 1. Аминокислотная последовательность Fc участков тяжелой и легкой цепей MOR00208 представлена на Фигуре 2. "MOR00208", "XmAb 5574" и "MOR208" используются в качестве синонимов для описания антитела, показанного на Фигурах 1 и 2. Антитело MOR00208 описывается в публикации заявки на патент США за порядковым номером 12/377251, где полная легкая цепь представляет собой SEQ ID NO: 106, а полная тяжелая цепь представляет собой SEQ ID NO: 87, которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

MOR00208 прошло испытание в клинических исследованиях на людях в отношении ОЛЛ, НХЛ, ХЛЛ и малой лимфоцитарной лимфомы (МЛЛ).

Дополнительные антитела, специфичные к CD19, описаны в патенте США №7109304 (Immunomedics), который включен в данный документ во всей своей полноте ссылкой; заявке на патент США за порядковым номером 11/917750 (Medarex), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой; заявке на патент США за порядковым номером 11/852106 (Medimmune), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой; заявке на патент США за порядковым номером 11/648505 (Merck Patent GmbH), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой; патенте США №7968687 (Seattle Genetics), который включен в данный документ во всей своей полноте ссылкой; и заявке на патент США за порядковым номером 12/710442 (Glenmark Pharmaceuticals), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

"Fc участок" означает константный участок антитела, который у людей может относиться к подклассу IgG1, 2, 3, 4 или другим подклассам. Последовательности человеческих Fc участков можно узнать на сайте IMGT, Human IGH C-REGIONS, http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/protein/human/IGH/IGHC/Hu_IGHCallgenes.html (найденно 16 мая 2011 г.).

«RefmAb33» представляет собой антитело со следующей аминокислотной последовательностью:

Тяжелая цепь, включая Fc участок:

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKH
 YNPSLKDRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGGQTTVTVSSASTKG
 PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV
 PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKE
 YKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 8)

Легкая цепь, включая Fc участок:

DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCSASSRVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCFQGSQGYPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC
EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 9)

RefmAb33 специфичен к RSV и используется в качестве изотипического контроля, поскольку он имеет такой же Fc участок, как и MOR00208.

"Комбинация" означает более чем один компонент, например, соединение, такое как антитело, и Иделалисиб.

Настоящее раскрытие также относится к комбинациям, фармацевтическим препаратам и фармацевтическим композициям, содержащим описанные комбинации. Два компонента синергической комбинации данного изобретения, например, антитело, специфичное к CD19, и Иделалисиб, можно вводить вместе, одновременно, отдельно или последовательно, как физически, так и во времени.

В настоящее время Иделалисиб предписано принимать перорально по 150 мг дважды в день. В настоящее время MOR00208 вводят внутривенно при дозировании либо раз в неделю, либо один раз в две недели. В одном варианте осуществления Иделалисиб принимают до введения антитела, специфичного к CD19, например, MOR00208. В одном варианте осуществления Иделалисиб принимают после введения антитела, специфичного к CD19, например, MOR00208.

Предпочтительно, чтобы введение обоих лекарственных средств позволяло обоим лекарственным средствам проявлять свое действие в пациенте одновременно. Например, если MOR00208 дозируют еженедельно, а Иделалисиб дозируют ежедневно, то активные субстанции обоих лекарственных средств желательно присутствуют в пациенте одновременно, даже если оба лекарственных средства не всегда вводят в один и тот же день.

"Одновременно" или "вводят вместе" означает, что два компонента вводят в момент времени, когда оба компонента (лекарственные средства) проявляют свое действие в пациенте в одно и то же время. Под "синергизмом" подразумевается, что оба лекарственных средства проявляют свое действие в пациенте в одно и то же время.

"Одновременно" или "вводят вместе" не обязательно означает, что два лекарственных средства вводят в один и тот же момент времени или всегда в один и тот же день.

Эти два компонента могут быть составлены в различных фармацевтических композициях.

Фармацевтическая композиция включает активный агент, например, антитело, для терапевтического применения у людей. Фармацевтическая композиция может включать приемлемые носители или вспомогательные вещества.

"Вводимый", "введение" или "прием" включают, но не ограничиваются этим, доставку в форме инъекции, и включают, например, внутривенный, внутримышечный, внутрикожный, наружный, чрескожный, внутрибрюшинный, внутриглазничный, имплантационный или подкожный путь, или через слизистую оболочку, например, в виде назального спрея или аэрозоля для ингаляции, или в виде усваиваемого в пищеварительном тракте раствора, или перорально в виде капсулы или таблетки.

"Терапевтически эффективное количество" соединения или комбинации относится к количеству, способному вызвать заметное улучшение, облегчить или частично прекратить клинические проявления данного заболевания или расстройства. Количество, эффективное для конкретной терапевтической цели, будет зависеть от тяжести заболевания или травмы, а также от веса и общего состояния субъекта. Понятно, что подходящую дозу можно определить, используя обычные эксперименты, путем

построения таблицы значений и тестирования различных точек в таблице; все из этих приемов являются обычными навыками подготовленного врача или клинического ученого.

"CDR" в данном документе определены, как у Chothia et al., либо как у Kabat et al. См. публикацию Chothia C, Lesk AM. (1987) Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J Mol Biol., 196(4):901-17, которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой. См. публикацию Kabat E.A, Wu T.T., Perry H.M., Gottesman K.S. and Foeller C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5th edit., NIH Publication no. 91-3242, US Dept. of Health and Human Services, Washington, DC, которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

"Перекрестно конкурирует" означает способность антитела или другого связывающего агента препятствовать связыванию других антител или связывающих агентов с CD19 в стандартном анализе конкурентного связывания. Способность или степень, с которой антитело или другой связывающий может препятствовать связыванию другого антитела или связывающей молекулы с CD19, и, таким образом, его способность перекрестно конкурировать в соответствии с данным изобретением, можно определить, используя стандартные анализы конкурентного связывания. В одном подходящем количественном анализе используется технология Biacore (например, если использовать прибор BIAcore 3000 (Biacore, Uppsala, Sweden)), который может измерять степень взаимодействия, используя технологию поверхностного плазмонного резонанса. Другой количественный анализ для измерения перекрестной конкуренции использует подход, основанный на ELISA. Процесс с высокой пропускной способностью для "биннинга эпитопов" антител, основанный на их перекрестной конкуренции, описан в международной патентной заявке №WO 2003/48731.

Термин "эпитоп" включает в себя любую детерминанту белка, способную специфически связываться с антителом или иным образом взаимодействовать с молекулой. Эпитопные детерминанты обычно состоят из химически активных поверхностных скоплений молекул, таких как боковые цепи аминокислот или углеводов или Сахаров, и могут иметь специфические свойства 3-х мерных структур, а также определенные свойства, обусловленные наличием электрического заряда. Эпитоп может быть "линейным" или "конформационным". Термин "линейный эпитоп" относится к эпитопу со всеми точками взаимодействия между белком и взаимодействующей молекулой (такой как антитело), расположенными линейно вдоль первичной аминокислотной последовательности белка (непрерывной). Термин "конформационный эпитоп" относится к эпитопу, в котором прерывистые аминокислоты объединяются в трехмерную конформацию. В конформационном эпитопе точки взаимодействия расположены по аминокислотным остаткам на белке, которые отделены друг от друга.

"Связывается с тем же эпитопом, что и" означает способность антитела или другого связывающего агента связываться с CD19 и иметь тот же эпитоп, что и описываемое антитело. Эпитопы описываемого антитела и других антител к CD19 могут быть определены с использованием стандартных методов картирования эпитопов. Методы картирования эпитопов, широко известные в области техники, включают Протоколы картирования эпитопов (Epitope Mapping Protocols) в публикации Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E.Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey. Например, линейные эпитопы можно определять путем, например, одновременного синтеза большого количества пептидов на твердых подложках, пептидов, соответствующих частям молекулы белка, и взаимодействия пептидов с антителами, в то время как пептиды все еще связаны с подложками. Такие методики известны в уровне техники и

описаны, например, в патенте США №4708871; публикациях Geysen et al, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8:3998-4002; Geysen et al, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182; Geysen et al, (1986) Mol. Immunol. 23:709-715. Аналогичным образом, конформационные эпитопы легко идентифицируются путем определения пространственной конформации аминокислот, такого как, например, обмен водорода / дейтерия, рентгеновская кристаллография и двумерный ядерный магнитный резонанс. См., например, Epitope Mapping Protocols, выше. Антигенные области белков также могут быть идентифицированы с использованием стандартных графиков антигенности и гидрофобности, таких как рассчитанные с использованием, например, программного обеспечения Omega версия 1.0, которое можно получить у Oxford Molecular Group. В этой компьютерной программе используется способ Hopp / Woods, Hopp et al, (1981) Proc. Natl. Acad. Sci USA 78:3824-3828 для определения профилей антигенности, и методика Kyte-Doolittle, Kyte et al, (1982) J. Mol. Biol. 157:105-132 для построения графиков гидрофобности.

Варианты осуществления

Один аспект настоящего раскрытия включает комбинацию антитела, специфичного к CD19, и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы для применения в лечении неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза. В вариантах осуществления комбинация является синергической.

В данном документе, комбинация названного антитела к CD19 и Иделалисиба продемонстрировала синергическое поведение в моделях *in vitro*, относящихся к ХЛЛ. Поскольку ХЛЛ относится к В-клеточному расстройству, а CD19 сверхэкспрессируется на В-клетках, названная комбинация должна иметь такой же механизм действия и должна также проявлять синергическое действие в лечении других В-клеточных расстройств, например, НХЛ и ОЛЛ. Поэтому комбинация названных антитела, специфичного к CD19, и Иделалисиба должна быть эффективной при лечении людей в случаях неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза. Ожидаемая действенность комбинации названных антитела, специфичного к CD19, и Иделалисиба будет подтверждена в клинических исследованиях.

Испытания проводили на клетках MEC-1 (DSMZ# ACC497) - клеточной линии хронического В-клеточного лейкоза.

Были оценены дополнительные клеточные линии: Клетки-Ramos (ATCC номер CRL-1596) - человеческие клетки лимфомы Беркитта. HG-3 (DSMZ#ACC765) и СП (DSMZ#ACC773) - клеточная линия хронического лимфоцитарного лейкоза. Su-DHL 6 (DSMZ#ACC572) и U2932 (DSMZ#ACC633) - клеточная линия диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL). JVM-2 (ATCC® CRL-3002) - клеточная линия лимфомы из клеток мантии. BALL-1 (DSMZ#ACC742) - клеточная линия острого лимфобластного лейкоза.

По клеткам MEC-1 в такой модели *in vitro* можно судить о том, как комбинация будет действовать в ходе лечения хронического лимфоидного лейкоза (ХЛЛ) у людей. По клеткам-Ramos в такой модели *in vitro* можно судить о том, как комбинация будет действовать в ходе лечения неходжкинской лимфомы (НХЛ) у людей. По клеткам HG-3 и СП в такой модели *in vitro* можно судить о том, как комбинация будет работать в ходе лечения хронического лимфоидного лейкоза (ХЛЛ) у людей. По клеткам Su-DHL 6 и U2932 в такой модели *in vitro* можно судить о том, как комбинация будет работать в ходе лечения неходжкинской лимфомы у людей. По клеткам JVM-2 в такой модели *in vitro* можно судить о том, как комбинация будет работать в ходе лечения неходжкинской

лимфомы у людей. По клеткам BALL-1 в такой модели *in vitro* можно судить о том, как комбинация будет работать в ходе лечения острого лимфобластного лейкоза у людей.

Значения по Clarke et al. и значения индекса Chou однозначно указывают на синергизм комбинации MOR00208 и Иделалисиба для специфического уничтожения клеток MEC-1 по сравнению с одним только MOR00208 и только одним Иделалисибом.

В целом, комбинация названного антитела к CD19 и Иделалисиба продемонстрировала синергическое поведение в моделях, относящихся к ХЛЛ. Поэтому комбинация названных антитела, специфичного к CD19, и Иделалисиба должна быть эффективной при лечении людей в случаях неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза.

Поскольку механизмы действия Иделалисиба и других ингибиторов фосфоинозитид-3-киназ похожи, так как все они действуют путем подавления одного или нескольких ферментов фосфоинозитид-3-киназ, которые являются частью сигнального пути PI3K/АКТ/mTOR - важного сигнального пути многих клеточных функций, таких как регулирование роста, метаболизм и инициация трансляции, считается, что синергия также будет наблюдаться при лечении людей с выявленными неходжкинской лимфомой, хроническим лимфоцитарным лейкозом и/или острым лимфобластным лейкозом комбинацией названного антитела к CD19 и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы, отличающегося от Иделалисиба.

Поскольку названное антитело к CD19 и другие антитела к CD19 связываются с CD19, считается, что синергия также будет наблюдаться при лечении людей с выявленными неходжкинской лимфомой, хроническим лимфоцитарным лейкозом и/или острым лимфобластным лейкозом комбинацией любого антитела к CD19 и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы, где антитело к CD19 представляет собой, например, описанное в публикациях заявок на патент США за номером 12/377251 (Xencor), WO 2005012493, WO 2010053716 (Immunomedics), WO 2007002223 (Medarex), WO 2008022152 (Xencor), WO 2008031056 (Medimmune), WO 2007/076950 (Merck Patent GmbH), WO 2009/052431 (Seattle Genetics) и WO 2010095031 (Glenmark Pharmaceuticals), все из которых включены в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

В вариантах осуществления антитело, специфическое к CD19, включает в себя антитело, которое перекрестно конкурирует с антителом, содержащим участок HCDR1 с последовательностью SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с последовательностью RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3 с последовательностью MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

В вариантах осуществления антитело, специфическое к CD19, включает в себя антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее участок HCDR1 последовательности SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с последовательностью RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3 с последовательностью MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

В вариантах осуществления антитело, специфическое к CD19, включает в себя участок HCDR1 с последовательностью SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с последовательностью

RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3 с последовательностью MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

В вариантах осуществления антитела, специфическое к CD19, включает в себя
5 вариабельную тяжелую цепь последовательности

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG и
QGTLLTVSS (SEQ ID NO: 10)

10 вариабельную легкую цепь последовательности

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO:
11).

В некоторых вариантах осуществления указанное антитело содержит константный
15 домен легкой цепи последовательности

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPDVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQD
20 WLNGKEYCKVSNKALPAPEEKTKSGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (SEQ ID NO: 12).

В вариантах осуществления антитела, специфическое к CD19, включает в себя
25 константный домен легкой цепи последовательности

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC. (SEQ ID NO: 13)

В вариантах осуществления ингибитор фосфоинозитид-3-киназы представляет собой
Иделаалисиб.

В вариантах осуществления компоненты комбинации - антитело, специфичное к
30 CD19, и Иделаалисиб - вводят отдельно. В одном варианте осуществления Иделаалисиб
принимают до введения антитела, специфичного к CD19. В одном варианте
осуществления Иделаалисиб принимают после введения антитела, специфичного к CD19.
В вариантах осуществления компоненты комбинации - антитело, специфичное к CD19,
35 и Иделаалисиб - вводят одновременно или вместе.

В вариантах осуществления комбинация представляет собой фармацевтическую
композицию. В вариантах осуществления композиция включает в себя приемлемый
носитель. В вариантах осуществления комбинацию вводят в эффективном количестве.

В другом аспекте синергическая комбинация антитела, специфичного к CD19,
40 содержащего участок HCDR1 с последовательностью SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок
HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с
последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с
последовательностью RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с
последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), участок LCDR3 с последовательностью
45 MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6), и Иделаалисиба способна опосредовать уничтожение клеток
MEC-1 с помощью ADCC в присутствии выделенных человеческих РВМС с
действенностью, которая по меньшей мере вдвое, втрое, вчетверо или впятеро лучше
действенности одного только Иделаалисиба.

Один аспект настоящего раскрытия включает в себя синергическую комбинацию антитела, специфичного к CD19, содержащего участок HCDR1 с последовательностью SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с последовательностью RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), участок LCDR3 с последовательностью MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6), и Иделалисиба для лечения неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза. В вариантах осуществления неходжкинскую лимфому выбирают из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы, малой лимфоцитарной лимфомы, лимфоидной ткани слизистых оболочек, лимфомы маргинальной зоны, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, лимфомы Беркитта и лимфомы из клеток мантии.

Другой аспект включает в себя способ лечения неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза у лица, нуждающегося в лечении; этот способ включает в себя введение антитела, специфичного к CD19, и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы. В вариантах осуществления способа антитело, специфичное к CD19, содержит участок HCDR1 с последовательностью SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с последовательностью RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), участок LCDR3 с последовательностью MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В вариантах осуществления способа антитело включает в себя описываемое антитело, специфичное к CD19. В вариантах осуществления способа ингибитор фосфоинозитид-3-киназы представляет собой Иделалисиб.

Другой аспект включает в себя применение антитела, специфичного к CD19, и ингибитора фосфоинозитид-3-киназы для производства лекарства для лечения неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза у лица, нуждающегося в лечении; этот способ включает в себя введение лекарства, содержащего антитело, специфичное к CD19, и ингибитор фосфоинозитид-3-киназы. В вариантах осуществления способа антитело, специфичное к CD19, содержит участок HCDR1 последовательности SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 последовательности NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 последовательности GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 последовательности RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 последовательности RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3 последовательности MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В вариантах осуществления способа антитело включает в себя описываемое антитело, специфичное к CD19. В вариантах осуществления способа ингибитор фосфоинозитид-3-киназы представляет собой Иделалисиб.

Примеры

Пример 1: Цитотоксичность клеток MEC-1 при использовании MOR00208 и Иделалисиба по отдельности и в комбинации друг с другом

Материалы

Клеточные линии клеток MEC-1: (DSMZ №ACC497) клеточная линия хронического В-клеточного лейкоза; JVM-2 (ATCC® CRL-3002) - клеточная линия лимфомы из клеток мантии; клетки-Ramos (ATCC №CRL-1596), клетки человеческой лимфомы Беркитта; HG-3 (DSMZ №ACC765) и CII (DSMZ №ACC773) - клеточная линия хронического

лимфоцитарного лейкоза; Su-DHL 6 (DSMZ №ACC572) и U2932 (DSMZ №ACC633) - клеточная линия диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL); и BALL-1 (DSMZ №ACC742) - клеточная линия острого лимфобластного лейкоза.

Условия культивирования используемых клеточных линий в соответствии с инструкциями производителя.

Клеточная среда: Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM), Invitrogen, Кат. №:31980-048; RPMI1640, Invitrogen, Кат. №: 31870-074; GlutaMAX, Invitrogen, Кат. №: 35050-38 Партия №: 1654740; FCS: Sigma Кат. №:F7524 Партия №:111M3396.

NK: RPMI1640, с GlutaMAXTM, Invitrogen, Кат. №: 31870-074, 10% FCS; Biocoll: Biochrome AG Кат. №: L6115 Партия №: 0034D; набор MACS NK для выделения клеток: Miltenyi Biotec Кат. №: 130-092-657 Партия №: 5150327376; Иделалисиб: Selleck Chem Кат. №: S2226; FCS: Sigma Кат. №: F7524 Партия №: 111M3396; и RefmAb33 (анти-RSV) с таким же Fc участком, как и у MOR00208.

Методы

Цитотоксичность MOR00208 и Иделалисиба поодиночке и в комбинации друг с другом исследовали на клеточной линии MEC-1.

Иделалисиб действует как ингибитор фосфоинозитид-3-киназы, более конкретно - он блокирует P110δ - дельта-изоформу фермента фосфоинозитид-3-киназы. Иделалисиб сам по себе оказывает либо очень низкое цитотоксическое действие на клетки MEC-1, либо оно отсутствует. MOR00208 нацелено на CD19 и способствует гибели клеток-мишеней посредством ADCC.

Следующие системы исследовали в качестве контрольных: а) клетки MEC-1 + RefmAb33 + DMSO + NK клетки, б) клетки MEC-1 + DMSO + NK клетки, в) клетки MEC-1 + DMSO.

Гибель клеток-мишеней измеряли, используя следующие параметры: Иделалисиб при концентрациях 0,3, 1, 3 и 10 мкМ; MOR00208 при концентрациях 1,5, 0,015 и 0,0015 мкг/мл и комбинация MOR00208 и Иделалисиба при тех же концентрациях.

В группе Иделалисиба, в группе только одного MOR00208, а также в группе комбинации MOR00208 + Иделалисиб клетки-мишени предварительно обрабатывали Иделалисибом в течение 7 дней до проведения аналитических измерений ADCC. Клетки-мишени подсчитывали и окрашивали, используя CFSE в конечной концентрации 10 мкМ. В случае клеток-мишеней, обрабатываемых DMSO, выбрано соотношение действующее начало : мишень (Е:Т), равное 2:1, что соответствует плотности клеток, равной 5×10^5 /мл. Воздействие на пролиферацию клеток-мишеней, оказываемое обработкой Иделалисибом, было учтено с помощью подгонки соотношения Е:Т для клеток, обработанных ингибитором. NK клетки подсчитывали и приводили к 1×10^6 /мл. Количественный анализ гибели клеток-мишеней выполняли следующим образом: использовали 96-луночные планшеты, в каждую лунку вносили 100 мкл суспензии клеток-мишеней, а затем в каждую лунку вносили 100 мкл клеточной суспензии NK клеток, получая соотношение Е:Т, равное 2:1. Антитела разбавляли до концентрации в пределах 10-0,00001 нМ (соответствует 1,5-0,0000015 мкг/мл) в среде. Клетки центрифугировали и пеллеты из клеток-мишеней : действующего начала повторно суспендировали в 100 мкл среды, содержащей антитело, или в соответствующем контрольном растворе. Анализируемые суспензии инкубировали в течение 4 часов в CO2-инкубаторе при 37°C. После 10 мин инкубирования на льду в каждую лунку вносили 50 мкл раствора DAPI (конечная концентрация - 1 мкг/мл) и инкубировали на льду в течение 10 мин. Измерение гибели клеток проводили, используя FACS-Verse. Погибшие клетки-мишени дали положительный результат в отношении DAPI.

Данные

В целом проводили шесть экспериментов, чтобы определить влияние на ADCC в клетках MEC-1 со стороны комбинации MOR00208 и Иделалисиба. В двух из шести экспериментов данные исключали из анализа, поскольку контрольная группа RefmAb и контрольная группа только один DMSO показали гибель на 25% выше чем в контрольной группе только из клеток MEC-1. В этих двух экспериментах нормальный анализ был невозможен вследствие аутореактивности NK клеток.

Кривые ADCC в зависимости от дозы для экспериментов 1-4 показаны на Фигурах 3-6.

Процент (%) погибших клеток (первичные данные исследования) для экспериментов 1-4 приведены в Таблицах 1-16 ниже.

Эксперимент 1

Таблица 1. Иделалисиб при 10 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
A: MOR00208, один	62,9	63,1	40,3
B: Иделалисиб, один, 10 мкМ	11,6	11,6	11,6
C: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: комбинация	88,0	86,4	68,2

Таблица 2. Иделалисиб при 3 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
A: MOR00208, один	62,9	63,1	40,3
B: Иделалисиб, один, 3 мкМ	11,3	11,3	11,3
C: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: комбинация	87,7	87,6	68,1

Таблица 3. Иделалисиб при 1 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
A: MOR00208, один	62,9	63,1	40,3
B: Иделалисиб, один, 1 мкМ	10,8	10,8	10,8
C: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4

АВ: комбинация	85,9	79,6	65,3
----------------	------	------	------

Таблица 4. Иделалисиб при 0,3 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	62,9	63,1	40,3
В: Иделалисиб, один, 0,3 мкМ	6,8	6,8	6,8
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
АВ: комбинация	77,5	78,5	57,6

Эксперимент 2

Таблица 5. Иделалисиб при 10 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	85,6	78,9	52,9
В: Иделалисиб, один, 10 мкМ	14,7	14,7	14,7
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
АВ: комбинация	92,5	87,2	52,6

Таблица 6. Иделалисиб при 3 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	85,6	78,9	52,9
В: Иделалисиб, один, 3 мкМ	14,6	14,6	14,6
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
АВ: комбинация	90,9	83,9	51,8

Таблица 7. Иделалисиб при 1 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	85,6	78,9	52,9

В: Иделалисиб, один, 1 мкМ	20,7	20,7	20,7
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
АВ: комбинация	94,2	86,5	63,4

Таблица 8. Иделалисиб при 0,3 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	85,6	78,9	52,9
В: Иделалисиб, один, 0,3 мкМ	20,8	20,8	20,8
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
АВ: комбинация	93,9	89,3	60,9

Эксперимент 3

Таблица 9. Иделалисиб при 10 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	62,0	59,5	43,5
В: Иделалисиб, один, 10 мкМ	11,5	11,5	11,5
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
АВ: комбинация	81,3	73,0	48,9

Таблица 10. Иделалисиб при 3 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	62,0	59,5	43,5
В: Иделалисиб, один, 3 мкМ	14,0	14,0	14,0
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
АВ: комбинация	81,1	74,0	46,8

Таблица 11. Иделалисиб при 1 мкМ

Концентрация MOR00208		
10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
1,5	0,015	0,0015

	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
A: MOR00208, один	62,0	59,5	43,5
B: Иделалисиб, один, 1 мкМ	18,7	18,7	18,7
C: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: комбинация	83,9	78,5	52,7

Таблица 12. Иделалисиб при 0,3 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
A: MOR00208, один	62,0	59,5	43,5
B: Иделалисиб, один, 0,3 мкМ	17,3	17,3	17,3
C: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: комбинация	80,4	73,7	50,8

Эксперимент 4

Таблица 13. Иделалисиб при 10 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
A: MOR00208, один	74,6	73,3	56,3
B: Иделалисиб, один, 10 мкМ	12,1	12,1	12,1
C: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: комбинация	90,6	88,0	68,9

Таблица 14. Иделалисиб при 3 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
A: MOR00208, один	74,6	73,3	56,3
B: Иделалисиб, один, 3 мкМ	13,8	13,8	13,8
C: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: комбинация	91,9	88,5	66,2

Таблица 15. Иделалисиб при 1 мкМ

Концентрация MOR00208

	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	74,6	73,3	56,3
В: Иделалисиб, один, 1 мкМ	15,9	15,9	15,9
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
АВ: комбинация	91,7	89,9	67,4

Таблица 16. Иделалисиб при 0,3 мкМ

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
А: MOR00208, один	74,6	73,3	56,3
В: Иделалисиб, один, 0,3 мкМ	15,5	15,5	15,5
С: контроль (0,03% DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
АВ: комбинация	90,4	87,7	66,1

Расчет синергизма: По Clarke et al.

При низкой активности одного лекарства, как в данном случае, где только один Иделалисиб обладает низкой цитотоксичностью по отношению к клеткам МЕС-1, синергизм можно определять на основании статистических данных, свидетельствующих о том, что комбинация существенно отличается своим синергическим действием от действия одного только ингибирующего лекарства. См. публикацию Clarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278 (1997), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой.

% мертвых клеток (первичные данные исследования) из Таблиц 1-16 анализировали следующим образом:

Несовместимые $(AB)/C < (A/C) \times (B/C)$

Аддитивные $(AB)/C = (A/C) \times (B/C)$

Синергичные $(AB)/C > (A/C) \times (B/C)$

где А - обработка одним MOR00208; В - обработка одним Иделалисибом; С - ответ контролей на DMSO + RefMab33; АВ - комбинированная обработка с А и В.

Эксперимент 1

Таблица 17. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 1

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	12,0	11,7	9,3
(A/C) x (B/C)	13,5	13,5	8,6

Таблица 18. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 2

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	11,9	11,9	9,3
(A/C) x (B/C)	13,1	13,1	8,4

Таблица 19. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 3

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	11,7	10,8	8,9
(A/C) x (B/C)	12,5	12,5	8,0

Таблица 20. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 4

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	10,5	10,7	7,8
(A/C) x (B/C)	7,9	7,9	5,0

Эксперимент 2

Таблица 21. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 5

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	4,8	4,5	2,7
(A/C) x (B/C)	3,4	3,1	2,1

Таблица 22. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 6

Концентрация MOR00208			
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
(AB)/C	4,7	4,4	2,7
(A/C) x (B/C)	3,4	3,1	2,1

Таблица 23. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 7

Концентрация MOR00208			
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
(AB)/C	4,9	4,5	3,3
(A/C) x (B/C)	4,8	4,4	3,0

Таблица 24. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 8

Концентрация MOR00208			
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
(AB)/C	4,9	4,6	3,2
(A/C) x (B/C)	4,8	4,4	3,0

Эксперимент 3

Таблица 25. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 9

Концентрация MOR00208			
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
(AB)/C	4,3	3,8	2,6
(A/C) x (B/C)	2,0	1,9	1,4

Таблица 26. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 10

Концентрация MOR00208		
10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл

(AB)/C	4,2	3,9	2,5
(A/C) x (B/C)	2,4	2,3	1,7

5

Таблица 27. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 11

10

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	4,4	4,1	2,8
(A/C) x (B/C)	3,2	3,1	2,2

Таблица 28. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 12

15

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	4,2	3,9	2,7
(A/C) x (B/C)	2,9	2,8	2,1

20

Эксперимент 4

25

Таблица 29. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 13

30

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	4,2	4,1	3,2
(A/C) x (B/C)	2,0	1,9	1,5

Таблица 30. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 14

35

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5	0,015	0,0015
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
(AB)/C	4,3	4,1	3,1
(A/C) x (B/C)	2,2	2,2	1,7

40

Таблица 31. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 15

45

Концентрация MOR00208

	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
(AB)/C	4,3	4,2	3,1
(A/C) x (B/C)	2,6	2,5	2,0

Таблица 32. Анализ по Clarke данных, приведенных в Таблице 16

	Концентрация MOR00208		
	10 нМ	0,1 нМ	0,01 нМ
	1,5 мкг/мл	0,015 мкг/мл	0,0015 мкг/мл
(AB)/C	4,2	4,1	3,1
(A/C) x (B/C)	2,5	2,5	1,9

Результаты

Эксперименты 2-4 при каждой концентрации продемонстрировали явную синергию комбинации MOR00208 + Иделалисиб при использовании методов по Clarke et al. Однако, в эксперименте 1 при нескольких концентрациях синергизм не наблюдался вследствие

малого эффекта в группе Иделалисиба (см. Таблицы 1-3), этот эффект был несколько выше, чем в контрольной группе (на -4% выше, чем в контрольной группе). Эта небольшая (~ 4%) разница по сравнению с контрольным экспериментом находится в интервале значений результатов других контрольных экспериментов, поэтому ее можно отнести за счет условий эксперимента.

Расчет синергизма: Показатель аддитивности (CI)

С целью подтверждения результатов, касающихся синергизма, рассчитанных по Clarke et al. выше, применяли методику показателя аддитивности (CI) в отношении % погибших клеток (первичные данные исследования) из Таблиц 1-16. Для расчета CI мы использовали Иделалисиб в концентрациях 0,3, 1, 3 и 10 мкМ и три концентрации MOR208 (1,5, 0,015 и 0,0015 мкг/мл).

Такие вычисления приведены в публикации Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой, и Chou TC, Talalay P, Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22: 27-55 (1984), которая включена в данный документ во всей своей полноте ссылкой. Способы Chou-Talalay выполняют с использованием метода CI-isobol (метода изоболограмм с показателем аддитивности).

Уравнение средней эффективной дозы

Уравнение средней эффективной дозы дает понятие о действии ингибитора (такого как лекарственное средство) в виде $F_a/F_u = (D/D50)^m$, где D представляет собой дозу, F_a и F_u представляют собой часть системы, находящуюся под воздействием и не находящуюся под воздействием дозы D ($F_a + F_u = 1$); D50 представляет собой дозу, оказывающую средний эффект (например, IC50, ED50, LD50). Постоянная m определяет форму кривой доза-эффект. Мы используем Graph Pad Prism для выполнения расчета нелинейной регрессии для оценки параметров m и D50.

Метод CI-isobol (изоболограмм с показателем аддитивности)

Метод CI-isobol дает количественную оценку синергизма между лекарственными средствами. Показатель аддитивности (CI) устанавливают на основании данных о зависимости доза-эффект при лечении одним лекарственным средством и комбинированного лечения. Значение CI меньше 1 указывает на синергизм; CI=1 указывает на аддитивный эффект; и CI>1 указывает на несовместимость. Взаимодействие лекарственных средств (синергизм или несовместимость) тем более выражены, чем больше значение CI отличается от 1.

Формально показатель аддитивности (CI) комбинированного лечения лекарственными средствами определяется как $CI = D_1/D_{x1} + D_2/D_{x2}$

Здесь D_1 и D_2 представляют собой дозы лекарственного средства 1 и лекарственного средства 2 в комбинации, соответственно; а D_{x1} и D_{x2} - это дозы при лечении только одним лекарственным средством 1 и только одним лекарственным средством 2, которые дадут такой же эффект, что и комбинация. Дозы D_{x1} и D_{x2} нужно оценивать из данных о зависимости доза-эффект при лечении одним лекарственным средством. По существу, уравнение средней эффективной дозы подгоняется к данным каждого лекарственного средства. Из уравнения средней эффективной дозы лекарственного средства мы можем установить дозу (т.е. D), необходимую для получения эффекта (воздействия) (т.е. Fa, Fu). Чем дальше лежит точка от аддитивной линии, чем больше разница между 1 и ее CI, тем сильнее эффект (синергизм или несовместимость).

Результаты

Кривые, полученные для расчетов синергизма по Chou, показаны на Фигурах 7-10. Значения индекса Chou во всех экспериментах 1-4 однозначно указывают на синергизм комбинации MOR00208 и Иделалисиба для специфического уничтожения клеток MEC-1 по сравнению с одним только MOR00208 и только одним Иделалисибом.

Комбинация MOR00208 и Иделалисиба проявляла синергическое действие в клеточной линии MEC-1 ХЛЛ. Следовательно, есть основания ожидать, что комбинация MOR00208 и Иделалисиба является синергической при лечении ХЛЛ у людей.

Кроме того, считается также, что комбинация MOR00208 и Иделалисиба будет проявлять синергизм при лечении неходжкинской лимфомы (НХЛ), хронического лимфоидного лейкоза (ХЛЛ) и острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у людей.

Следует понимать, что описание, конкретные примеры и данные с указанием иллюстративных вариантов осуществления приведены в качестве иллюстрации и не предназначены для ограничения настоящего изобретения. Различные изменения и модификации в соответствии с настоящим изобретением станут очевидными для специалиста в данной области техники из обсуждения, раскрытия и данных, содержащихся в настоящем документе, и поэтому рассматриваются как часть изобретения.

SEQUENCE LISTING

<110> MorphoSys AG
 <120> Combinations and uses thereof
 <130> MS228
 <150> EP15181925.7
 <151> 2015-08-21
 <160> 13
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 5

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> CDR
 5 <400> 1
 Ser Tyr Val Met His
 1 5
 <210> 2
 <211> 6
 10 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> CDR
 <400> 2
 15 Asn Pro Tyr Asn Asp Gly
 1 5
 <210> 3
 <211> 12
 <212> PRT
 20 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> CDR
 <400> 3
 Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr
 25 1 5 10
 <210> 4
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 30 <220>
 <223> CDR
 <400> 4
 Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
 1 5 10 15
 35 <210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 40 <223> CDR
 <400> 5
 Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser
 1 5
 <210> 6
 45 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> CDR

<400> 6

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr

1 5

5 <210> 7

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

10 Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met

1 5 10 15

Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp

20 25 30

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln

15 35 40 45

Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu

50 55 60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile

65 70 75 80

20 Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu

85 90 95

Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr

100 105 110

Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp

25 115 120 125

Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro

130 135 140

Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala

145 150 155 160

30 Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro

165 170 175

Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro

180 185 190

Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser

35 195 200 205

Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser

210 215 220

Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp

225 230 235 240

40 Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala

245 250 255

Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu

260 265 270

Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly

45 275 280 285

Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu

290 295 300

Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg

RU 2 767 063 C2

	305				310					315				320		
	Arg	Lys	Arg	Lys	Arg	Met	Thr	Asp	Pro	Thr	Arg	Arg	Phe	Phe	Lys	Val
					325					330				335		
	Thr	Pro	Pro	Pro	Gly	Ser	Gly	Pro	Gln	Asn	Gln	Tyr	Gly	Asn	Val	Leu
5					340					345				350		
	Ser	Leu	Pro	Thr	Pro	Thr	Ser	Gly	Leu	Gly	Arg	Ala	Gln	Arg	Trp	Ala
					355					360				365		
	Ala	Gly	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Pro	Ser	Tyr	Gly	Asn	Pro	Ser	Ser	Asp
					370					375				380		
10	Val	Gln	Ala	Asp	Gly	Ala	Leu	Gly	Ser	Arg	Ser	Pro	Pro	Gly	Val	Gly
					385					390				395		400
	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Glu	Gly	Tyr	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Glu	Glu
					405					410				415		
	Asp	Ser	Glu	Phe	Tyr	Glu	Asn	Asp	Ser	Asn	Leu	Gly	Gln	Asp	Gln	Leu
15					420					425				430		
	Ser	Gln	Asp	Gly	Ser	Gly	Tyr	Glu	Asn	Pro	Glu	Asp	Glu	Pro	Leu	Gly
					435					440				445		
	Pro	Glu	Asp	Glu	Asp	Ser	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Tyr	Glu	Asn	Glu
					450					455				460		
20	Asp	Glu	Glu	Leu	Thr	Gln	Pro	Val	Ala	Arg	Thr	Met	Asp	Phe	Leu	Ser
					465					470				475		480
	Pro	His	Gly	Ser	Ala	Trp	Asp	Pro	Ser	Arg	Glu	Ala	Thr	Ser	Leu	Gly
					485					490				495		
	Ser	Gln	Ser	Tyr	Glu	Asp	Met	Arg	Gly	Ile	Leu	Tyr	Ala	Ala	Pro	Gln
25					500					505				510		
	Leu	Arg	Ser	Ile	Arg	Gly	Gln	Pro	Gly	Pro	Asn	His	Glu	Glu	Asp	Ala
					515					520				525		
	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asn	Met	Asp	Asn	Pro	Asp	Gly	Pro	Asp	Pro	Ala	Trp
					530					535				540		
30	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Met	Gly	Thr	Trp	Ser	Thr	Arg				
					545					550				555		
	<210>	8														
	<211>	450														
	<212>	PRT														
35	<213>	Artificial Sequence														
	<220>															
	<223>	mab														
	<400>	8														
	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Glu	Ser	Gly	Pro	Ala	Leu	Val	Lys	Pro	Thr	Gln
40	1				5					10					15	
	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Phe	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Ala
					20					25				30		
	Gly	Met	Ser	Val	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Ala	Leu	Glu
					35					40				45		
45	Trp	Leu	Ala	Asp	Ile	Trp	Trp	Asp	Asp	Lys	Lys	His	Tyr	Asn	Pro	Ser
					50					55				60		
	Leu	Lys	Asp	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Val
					65					70				75		80

RU 2767 063 C2

	Val	Leu	Lys	Val	Thr	Asn	Met	Asp	Pro	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr
					85					90					95	
	Cys	Ala	Arg	Asp	Met	Ile	Phe	Asn	Phe	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln
				100					105					110		
5	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
				115				120					125			
	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
				130				135					140			
	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
10	145					150					155					160
	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
				165						170					175	
	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
				180					185					190		
15	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
				195				200					205			
	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
				210				215					220			
	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
20	225					230					235					240
	Pro	Asp	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
				245						250					255	
	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
				260					265					270		
25	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
				275				280					285			
	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg
				290			295					300				
	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
30	305					310					315					320
	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Glu
				325						330					335	
	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
				340					345					350		
35	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
				355				360					365			
	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
				370			375					380				
	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met
40	385					390					395					400
	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
				405					410					415		
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
				420					425					430		
45	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
				435				440					445			
	Gly	Lys														
				450												

<210> 9
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 5 <220>
 <223> mab
 <400> 9
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 10 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 15 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 20 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 25 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 30 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 35 210
 <210> 10
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 40 <220>
 <223> mab
 <400> 10
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 45 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
5 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
10 115 120
<210> 11
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
15 <220>
<223> mab
<400> 11
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
20 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser Gly Val Pro
25 50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95
30 Leu Glu Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
<210> 12
<211> 330
<212> PRT
35 <213> Artificial Sequence
<220>
<223> mab
<400> 12
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
40 1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
45 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

RU 2767 063 C2

	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
					85					90					95	
	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
				100					105					110		
5	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Asp	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
				115				120					125			
	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
				130			135					140				
	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp
10	145					150				155						160
	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165					170					175		
	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val
				180				185					190			
15	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
				195			200					205				
	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly
				210			215					220				
	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
20	225					230				235						240
	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245						250				255		
	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
				260				265				270				
25	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
				275				280				285				
	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
				290			295				300					
	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
30	305					310				315						320
	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
				325					330							
	<210>	13														
	<211>	107														
35	<212>	PRT														
	<213>	Artificial Sequence														
	<220>															
	<223>	mab														
	<400>	13														
40	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu
	1			5					10					15		
	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe
				20					25					30		
	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
45				35				40				45				
	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser
				50			55					60				
	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu

65		70		75		80									
Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser
				85					90					95	
Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys					
5			100					105							

(57) Формула изобретения

1. Применение синергической комбинации, включающей в себя антитело, специфичное к CD19, где указанное антитело содержит участок HCDR1 с последовательностью SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с последовательностью RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), участок LCDR3 с последовательностью MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6), и иделаалисиб, в лечении неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза или острого лимфобластного лейкоза, ассоциированных с экспрессией CD19.

2. Применение по п. 1, где антитело содержит вариабельную тяжелую цепь с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY N
DGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTIVTVSS (SEQ ID NO: 10) и вариабельную легкую цепь с последовательностью DI
VMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR MSNLN
SGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 11).

3. Применение по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит константный домен тяжелой цепи с последовательностью

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPDVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQFNSTFRVVSFLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12).

4. Применение по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит константный домен легкой цепи с последовательностью

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13).

5. Применение по любому из предыдущих пунктов, где антитело, специфичное к CD19, и иделаалисиб составлены в разных фармацевтических композициях.

6. Применение комбинации по любому из предыдущих пунктов, где указанное антитело, специфичное к CD19, и иделаалисиб вводят отдельно.

7. Применение по п. 6, где введение указанного антитела, специфичного к CD19, и иделаалисиба разделено физически.

8. Применение по п. 6, где введение указанного антитела, специфичного к CD19, и иделаалисиба разделено во времени.

9. Применение по любому из пп. 1-5, где указанное антитело, специфичное к CD19, и иделаалисиб вводят вместе.

10. Применение по любому из пп. 1-5, где иделаалисиб вводят до введения антитела,

специфичного к CD19.

11. Применение по любому из пп. 1-5, где иделалисиб вводят после введения антитела, специфичного к CD19.

12. Применение по любому из пп. 1-5, где иделалисиб и антитело, специфичное к CD19, вводят одновременно.

13. Применение по любому из предыдущих пунктов в лечении неходжкинской лимфомы.

14. Применение по п. 13, где неходжкинская лимфома представляет собой фолликулярную лимфому.

15. Применение по п. 13, где неходжкинская лимфома представляет собой малую лимфоцитарную лимфому.

16. Применение по п. 13, где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек.

17. Применение по п. 13, где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому маргинальной зоны.

18. Применение по п. 13, где неходжкинская лимфома представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому.

19. Применение по п. 13, где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому Беркитта.

20. Применение по п. 13, где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому из клеток мантии.

21. Применение по любому из пп. 1-12 в лечении хронического лимфоцитарного лейкоза.

22. Применение по любому из пп. 1-12 в лечении острого лимфобластного лейкоза.

23. Способ лечения неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и/или острого лимфобластного лейкоза, ассоциированных с экспрессией CD19, у субъекта, нуждающегося в лечении, включающий введение терапевтически эффективного количества антитела, специфичного к CD19, где указанное антитело содержит участок HCDR1 с последовательностью SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2 с последовательностью NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3 с последовательностью GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1 с последовательностью RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2 с последовательностью RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), участок LCDR3 с последовательностью MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6), и терапевтически эффективного количества иделалисиба.

24. Способ лечения по п. 23, где антитело содержит переменную тяжелую цепь с последовательностью

EVQLVESGGGLV KPGGSLKLS CAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY N DGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSED TAMY YCARGTYYYGTRVFDYWG QGTLVTVSS (SEQ ID NO: 10) и переменную легкую цепь с последовательностью DI VMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS GVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 11).

25. Способ лечения по любому из пп. 23 и 24, где антитело содержит константный домен тяжелой цепи с последовательностью

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPDPVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYT

LPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12).

26. Способ лечения по любому из пп. 23-25, где антитело содержит константный
домен легкой цепи с последовательностью

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:
13).

27. Способ лечения по любому из пп. 23-26, где антитело, специфичное к CD19, и
иделалисиб вводят в разных фармацевтических композициях.

28. Способ лечения по любому из пп. 23-27, где указанное антитело, специфичное к
CD19, и иделалисиб вводят отдельно.

29. Способ лечения по п. 28, где введение указанного антитела, специфичного к CD19,
и иделалисиба разделено физически.

30. Способ лечения по п. 28, где введение указанного антитела, специфичного к CD19,
и иделалисиба разделено во времени.

31. Способ лечения по любому из пп. 23-27, где указанное антитело, специфичное к
CD19, и иделалисиб вводят вместе.

32. Способ лечения по любому из пп. 23-27, где иделалисиб вводят до введения
антитела, специфичного к CD19.

33. Способ лечения по любому из пп. 23-27, где иделалисиб вводят после введения
антитела, специфичного к CD19.

34. Способ лечения по любому из пп. 23-27, где иделалисиб и антитело, специфичное
к CD19, вводят одновременно.

35. Способ лечения по любому из пп. 23-34, где субъект имеет неходжкинскую
лимфому.

36. Способ лечения по п. 35, где неходжкинская лимфома представляет собой
фолликулярную лимфому.

37. Способ лечения по п. 35, где неходжкинская лимфома представляет собой малую
лимфоцитарную лимфому.

38. Способ лечения по п. 35, где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому
лимфоидной ткани слизистых оболочек.

39. Способ лечения по п. 35, где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому
маргинальной зоны.

40. Способ лечения по п. 35, где неходжкинская лимфома представляет собой
диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому.

41. Способ лечения по п. 35, где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому
Беркитта.

42. Способ лечения по п. 35, где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому
из клеток мантии.

43. Способ лечения по любому из пп. 23-34, где субъект имеет хронический
лимфоцитарный лейкоз.

44. Способ лечения по любому из пп. 23-34, где субъект имеет острый лимфобластный
лейкоз.

ФИГУРА 1

Аминокислотная последовательность переменных доменов тяжелой цепи
MOR00208:
(CDR выделены жирным шрифтом и подчеркнуты)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTF**SYVMHW**VRQAPGKGLEWIGY**INPY**
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCAR**GTYYYGTRVFDY**WG
QGTLTVSS (SEQ ID NO: 10)

Аминокислотная последовательность переменных доменов легкой цепи
MOR00208:
(CDR выделены жирным шрифтом и подчеркнуты)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSC**RSSKSLQNVNGNTYLY**WFQKPGQSPQLLI**YR**
MSNLNSGVPRDFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCM**MQHLEY**PITFGAGTKLEIK (SEQ
ID NO: 11)

Аминокислотная последовательность HCDR1 MOR00208: SYVMH (SEQ ID NO:
1)

Аминокислотная последовательность HCDR2 MOR00208: NPYNDG (SEQ ID
NO: 2)

Аминокислотная последовательность HCDR3 MOR00208: GTYYYGTRVFDY
(SEQ ID NO: 3)

Аминокислотная последовательность LCDR1 MOR00208:
RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4)

Аминокислотная последовательность LCDR2 MOR00208: RMSNLNS (SEQ ID
NO: 5)

Аминокислотная последовательность LCDR3 MOR00208: MQHLEYIPIT (SEQ ID
NO: 6)

ФИГУРА 2

Последовательность Fc участков

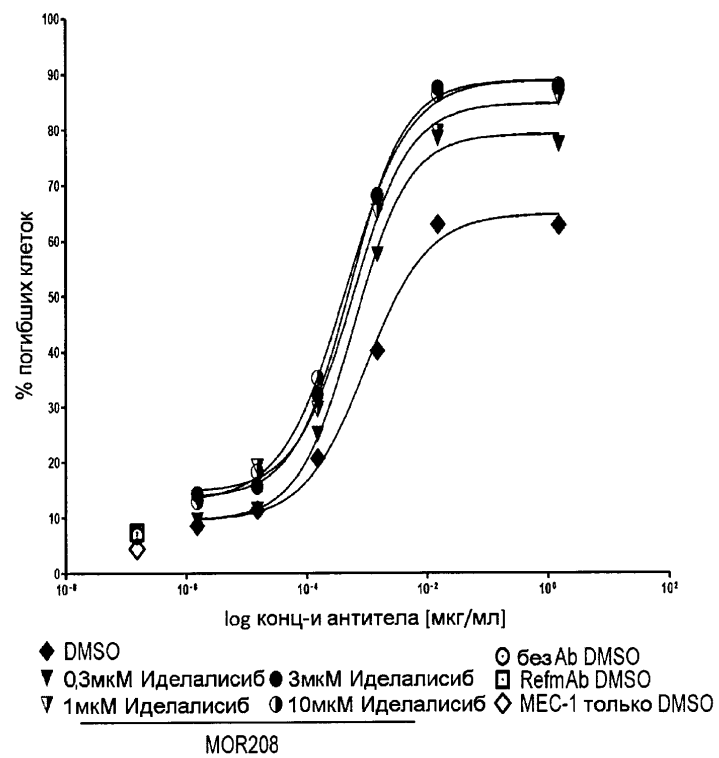
Аминокислотная последовательность Fc участка тяжелой цепи MOR00208:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12).

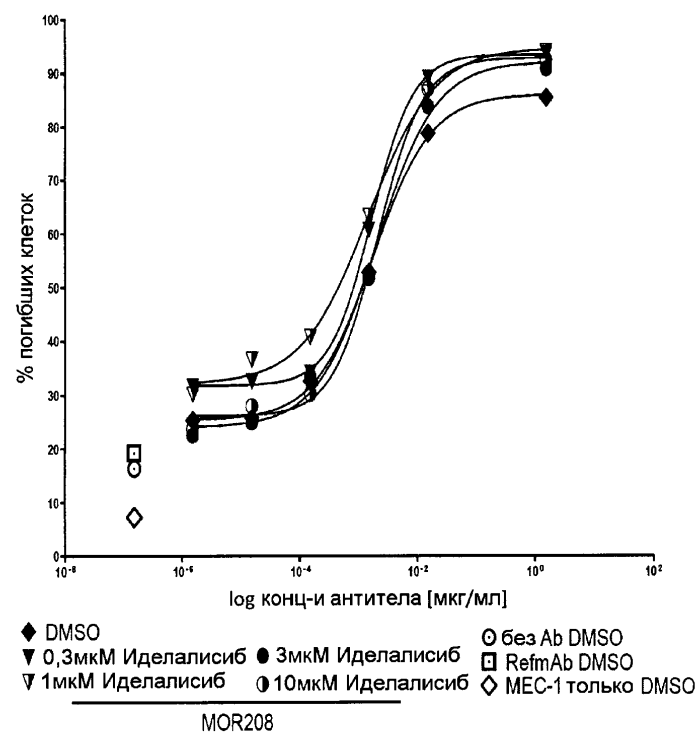
Аминокислотная последовательность Fc участка легкой цепи MOR00208:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

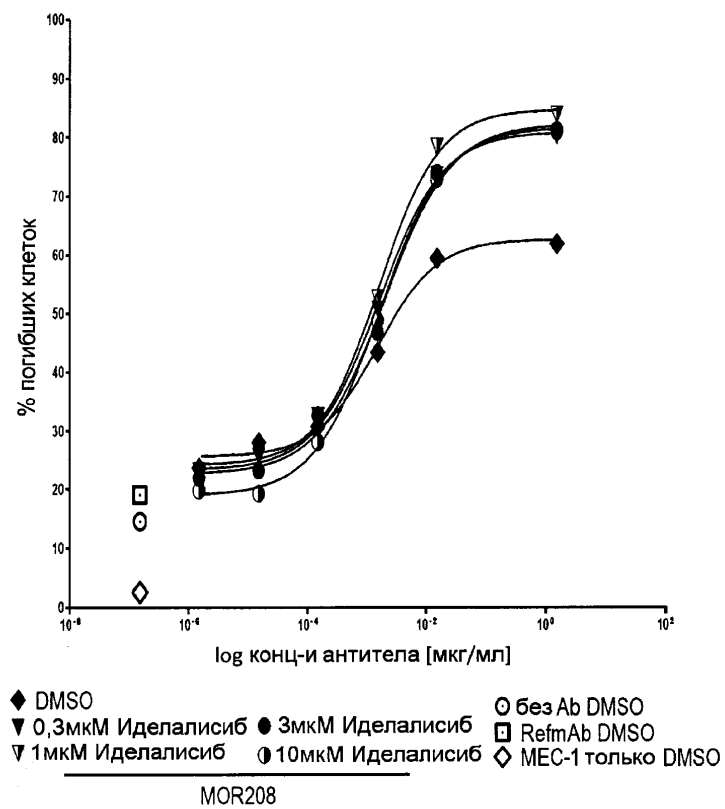
ФИГУРА 3



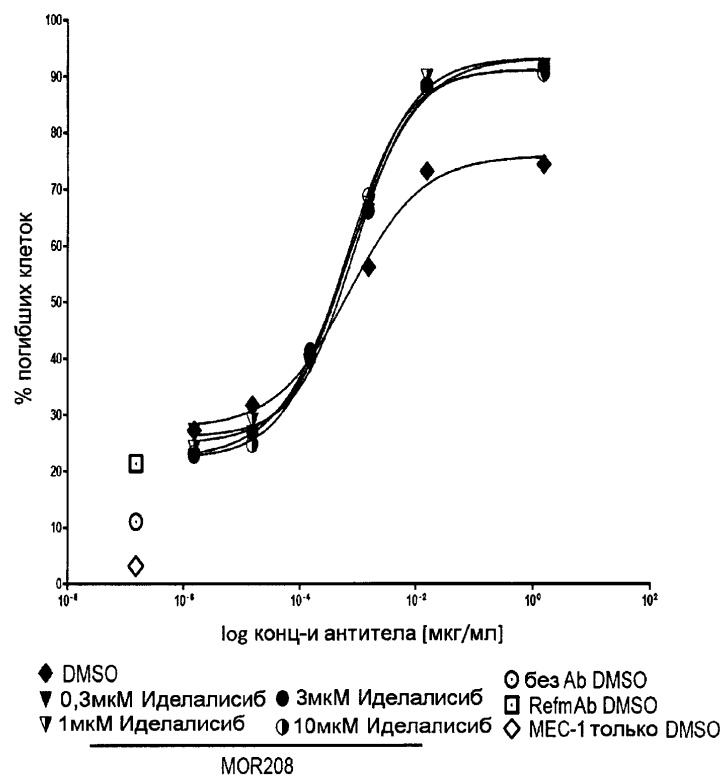
ФИГУРА 4



ФИГУРА 5

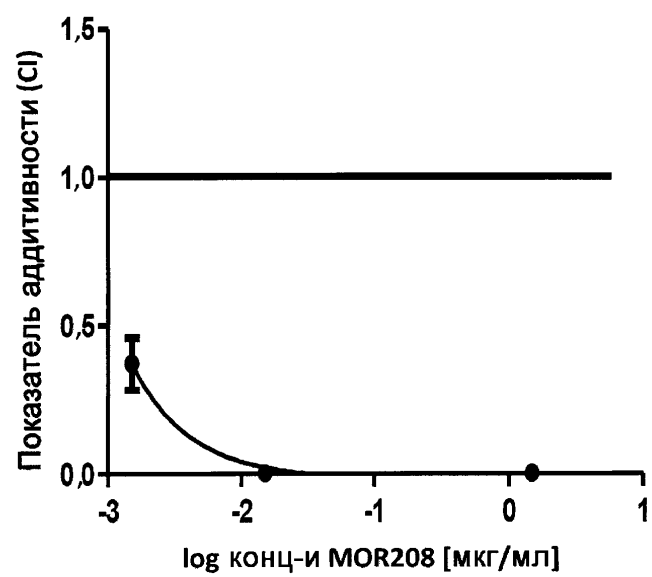


ФИГУРА 6

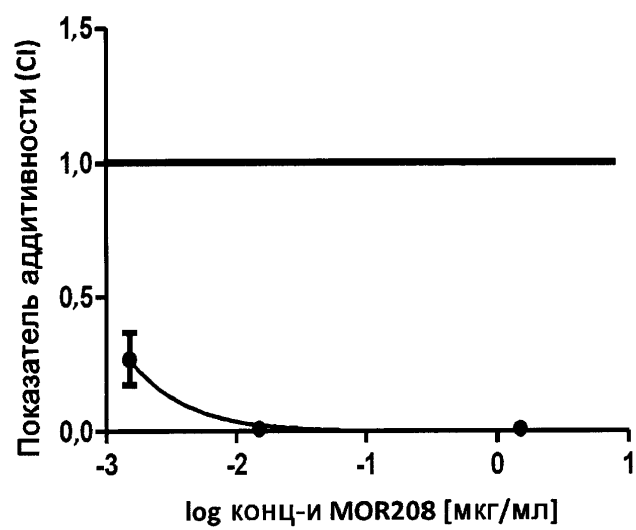


ФИГУРА 7

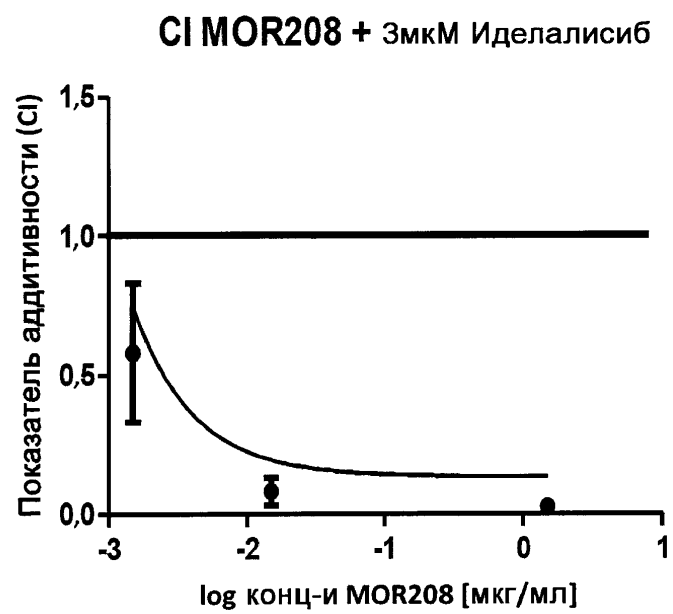
CI MOR208 + 0,3мкМ Иделалисиб



ФИГУРА 8

CI MOR208 + 1мкМ Иделалисиб

ФИГУРА 9



ФИГУРА 10

CI MOR208 + 10_{мкМ} Иделалисиб