



(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 39266 B1** (51) Cl. internationale : **A61K 39/395; C07K 16/46; C07K 16/28; A61P 35/00**
- (43) Date de publication : **31.01.2017**

(21) N° Dépôt : **39266**

(211) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation : EP15179545.7

(22) Date de Dépôt : **03.08.2015**

(30) Données de Priorité : **04.08.2014 EP 14179705.0**

(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT : **PCT/EP2015/067841 03.08.2015**

(71) Demandeur(s) : **ENGMAB AG, Etzelstrasse 27 8808 Pfäffikon (CH)**

(72) Inventeur(s) : **HOSSE, Ralf ; MOESSNER, Ekkehard ; UMANA, Pablo ; KLEIN, Christian ; BACAC, Marina ; SCHAEFER, Wolfgang ; VU, Minh, Diem ; STREIN, Klaus ; AST, Oliver ; HANISCH, Lydia, Jasmin ; FAUTI, Tanja ; FREIMOSER-GRUNDSCHOBBER, Anne ; MOSER, Samuel ; MURR, Ramona ; JUNG-IMHOF, Sabine ; KLOSTERMANN, Stefan ; MOLHOJ, Michael ; REGULA, Joerg**

(74) Mandataire : **ABU - GHAZALEH INTELLECTUAL PROPRETY (TMPS AGENT)**

(54) Titre : **ANTICORPS BISPÉCIFIQUES ANTI CD3EPSILON ET BCMA**

(57) Abrégé : La présente invention concerne un anticorps bispécifique bi- ou trivalent se liant spécifiquement aux deux cibles que sont le domaine extracellulaire de l'antigène de maturation des lymphocytes B humain (BCMA) et la CD3epsilon humaine, où les domaines variables VL et VH dans une chaîne légère et la chaîne lourde respective sont remplacés les uns par les autres, caractérisé en ce qu'il comprend un domaine constant CL dans lequel l'acide aminé à la position 124 est remplacé indépendamment par la lysine (K), l'arginine (R) ou l'histidine (H) (numérotation selon Kabat), et dans le domaine constant respectif CH1 l'acide aminé à la position 147 et l'acide aminé en position 213 est remplacé indépendamment par l'acide glutamique (E), ou l'acide aspartique (D) (numérotation selon Kabat) L'invention concerne également la fabrication et l'utilisation dudit anticorps.

Revendications

1. Un anticorps bispécifique se liant spécifiquement aux deux cibles qui sont le domaine
5 extracellulaire de l'antigène de maturation des cellules B humaines (également nommé
« BCMA » ci-après) et le CD3ε humain (également nommé « CD3 » ci-après), caractérisé en
ce qu'il comprend
- a) la première chaîne légère et la première chaîne lourde d'un premier anticorps qui se
lie spécifiquement au BCMA ; et
- 10 b) la seconde chaîne légère et la seconde chaîne lourde d'un second anticorps qui se lie
spécifiquement au CD3, et où les domaines variables VL et VH dans la seconde chaîne
légère et dans la seconde chaîne lourde du second anticorps sont remplacés l'un par
l'autre ; et où
- c) dans le domaine constant CL de la première chaîne légère sous a) l'acide aminé en
15 position 124 est substitué indépendamment par la lysine (K), l'arginine (R) ou
l'histidine (H) (numérotation selon Kabat), et où dans le domaine constant CH1 de la
première chaîne lourde sous a) l'acide aminé en position 147 et l'acide aminé en
position 213 est substitué indépendamment par l'acide glutamique (E), ou l'acide
aspartique (D) (numérotation selon Kabat).
- 20
2. Un anticorps bispécifique se liant spécifiquement aux deux cibles qui sont le domaine
extracellulaire du BCMA humain et le CD3 humain, caractérisé en ce qu'il comprend
- a) la première chaîne légère et la première chaîne lourde d'un anticorps qui se lie
spécifiquement au BCMA ; et
- 25 b) la seconde chaîne légère et la seconde chaîne lourde d'un second anticorps qui se lie
spécifiquement au CD3, et où les domaines variables VL et VH dans la seconde chaîne
légère and et la seconde chaîne lourde du second anticorps sont remplacés l'un par
l'autre ; et où
- c) dans le domaine constant CL de la seconde chaîne légère sous b) l'acide aminé en
30 position 124 est substitué indépendamment par la lysine (K), l'arginine (R) ou
l'histidine (H) (numérotation selon Kabat), et où dans le domaine constant CH1 de la
seconde chaîne lourde sous b) l'acide aminé en position 147 et l'acide aminé en
position 213 est substitué indépendamment par l'acide glutamique (E), ou l'acid
aspartique (D) (numérotation selon Kabat).

3. Un anticorps bispécifique selon la revendication 1, caractérisé en ce que ledit anticorps bispécifique comprend en outre un fragment Fab dudit premier anticorps (également nommé « BCMA-Fab » ci-après) et dans le domaine constant CL dudit BCMA-Fab l'acide aminé en position 124 est substitué indépendamment par la lysine (K), l'arginine (R) ou l'histidine (H) (numérotation selon Kabat), et où dans le domaine constant CH1 dudit BCMA-Fab l'acide aminé en position 147 et l'acide aminé en position 213 est substitué indépendamment par l'acide glutamique (E), ou l'acide aspartique (D) (numérotation selon Kabat).
- 5
- 10 4. Un anticorps bispécifique selon la revendication 2, caractérisé en ce que ledit anticorps bispécifique comprend en outre un second fragment Fab dudit premier anticorps (« BCMA-Fab »).
5. Un anticorps bispécifique selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'en outre du remplacement d'acide aminé en position 124 dans le domaine constant CL l'acide aminé en position 123 est substitué indépendamment par la lysine (K), l'arginine (R) ou l'histidine (H).
- 15
6. Un anticorps bispécifique selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que l'acide aminé 124 est K, l'acide aminé 147 est E, l'acide aminé 213 est E, et l'acide aminé 123 est R.
- 20
7. Un anticorps bispécifique se liant spécifiquement au domaine extracellulaire du BCMA humain et au CD3 humain, caractérisé en ce qu'il comprend un jeu de chaîne lourde et légère choisi dans le groupe consistant en les polypeptides
- 25
- i) SEQ ID NO :43, SEQ ID NO :44, SEQ ID NO :45, et SEQ ID NO:46 (jeu 1),
ii) SEQ ID NO :45, SEQ ID NO :47, SEQ ID NO :48, et SEQ ID NO:49 (jeu 2), et
iii) SEQ ID NO :45, SEQ ID NO :50, SEQ ID NO :51, et SEQ ID NO:52 (jeu 3).
- 30 8. Un anticorps selon la revendication 7, caractérisé en ce que dans la partie de l'anticorps se liant spécifiquement au CD3 humain le domaine variable VH est remplacé par un domaine variable VH comprenant les CDR de chaîne lourde de SEQ ID NO : 1, 2 et 3 en tant que respectivement le CDR1, CDR2 et CDR3 de la chaîne lourde et le domaine variable VL est remplacé par un domaine variable VL comprenant les CDR de chaîne légère de SEQ ID NO :

4, 5 et 6 en tant que respectivement le CDR1, CDR2 et CDR3 de la chaîne légère de l'anticorps anti CD3ε.

9. Un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le
5 domaine CH3 d'une chaîne lourde et le domaine CH3 de l'autre chaîne lourde chacun se rencontrent dans une interface qui comprend une interface originale entre les domaines CH3 d'anticorps ; où ladite interface est altérée de façon à promouvoir la formation de l'anticorps bispécifique, où l'altération est caractérisée en ce que :
- a) le domaine CH3 d'une chaîne lourde est altéré de façon à ce que dans l'interface
10 originale le domaine CH3 d'une chaîne lourde qui rencontre l'interface originale du domaine CH3 de l'autre chaîne lourde dans l'anticorps bispécifique, un résidu d'acide aminé est remplacé par un résidu d'acide aminé ayant un volume de chaîne latérale supérieur, générant ainsi une protubérance dans l'interface du domaine CH3 d'une chaîne lourde qui est positionnable dans la cavité dans l'interface du domaine CH3 de
15 l'autre chaîne lourde et
- b) le domaine CH3 de l'autre chaîne lourde est altéré de façon à ce que dans l'interface originale du second domaine CH3 qui rencontre l'interface originale du premier domaine CH3 dans l'anticorps bispécifique un résidu d'acide aminé est remplacé avec un résidu d'acide aminé ayant un volume de chaîne latérale inférieur, générant ainsi une cavité
20 dans l'interface du second domaine CH3 dans laquelle est positionnable la protubérance dans l'interface du premier domaine CH3.
10. Un procédé pour la préparation d'un anticorps bispécifique selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 comprenant les étapes
- 25 a) transformer une cellule hôte avec des vecteurs comprenant des molécules d'acide nucléique codants la chaîne légère et la chaîne lourde d'un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 9,
- b) cultiver la cellule hôte dans des conditions qui permettent la synthèse de ladite molécule d'anticorps ; et
- 30 c) récupérer ladite molécule anticorps de ladite culture.
11. Une cellule hôte comprenant des vecteurs comprenant des molécules d'acide nucléique codant la chaîne légère et la chaîne lourde d'un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 9.

12. Une composition pharmaceutique comprenant un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 et un excipient pharmaceutiquement acceptable.
- 5 13. Un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 ou la composition pharmaceutique de la revendication 12 pour l'utilisation en tant que médicament.
- 10 14. Un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 ou la composition pharmaceutique de la revendication 12 pour l'utilisation en tant que médicament dans le traitement de troubles des cellules plasmatiques tel que le myélome multiple.