

## (12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 40972 B1** (51) Cl. internationale : **A61K 39/395; C07K 16/46; C07K 16/28; A61P 35/00**
- (43) Date de publication : **30.11.2020**

- 
- (21) N° Dépôt : **40972**
- (22) Date de Dépôt : **17.11.2015**
- (30) Données de Priorité : **20.11.2014 EP 14194147**
- (86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/EP2015/076739 17.11.2015**
- (86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation: **EP15797970.9**
- (71) Demandeur(s) : **F. Hoffmann-La Roche AG, Grenzacherstrasse 124 4070 Basel (CH)**
- (72) Inventeur(s) : **HOSSE, Ralf ; MOESSNER, Ekkehard ; UMANA, Pablo ; KLEIN, Christian ; BACAC, Marina ; WEINZIERL, Tina ; BRUENKER, Peter ; FREIMOSER-GRUNDSCHOBBER, Anne**
- (74) Mandataire : **SABA & CO., TMP**

- 
- (54) Titre : **MOLÉCULES BISPÉCIFIQUES DE LIAISON À L'ANTIGÈNE ACTIVANT LES LYMPHOCYTES T CIBLANT FOLR1 ET CD3**
- (57) Abrégé : La présente invention concerne de manière générale de nouvelles molécules bispécifiques de liaison à l'antigène destinées à activer les lymphocytes T et à les rediriger vers des cellules cibles spécifiques. De plus, la présente invention concerne des polynucléotides codant pour ces molécules bispécifiques de liaison à l'antigène, ainsi que des vecteurs et des cellules hôtes comprenant ces polynucléotides. L'invention concerne par ailleurs des méthodes pour produire les molécules bispécifiques de liaison à l'antigène précitées, et des méthodes pour les utiliser dans le traitement de maladies.

MOLÉCULES BISPÉCIFIQUES DE LIAISON À L'ANTIGÈNE ACTIVANT LES  
LYMPHOCYTES T CIBLANT FOLR1 ET CD3

**Revendications**

1. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T comprenant

5 (i) une première fraction de liaison à l'antigène qui est une molécule Fab capable de se lier spécifiquement à CD3, et qui comprend au moins une séquence d'acides aminés de région déterminant la complémentarité (CDR) de chaîne lourde choisie dans le groupe constitué par SEQ ID NO : 37, SEQ ID NO : 38 et SEQ ID NO : 39 et au moins une CDR de chaîne légère choisie dans le groupe de SEQ ID NO : 32, SEQ ID NO : 10 33, SEQ ID NO : 34 ;

(ii) une deuxième fraction de liaison à l'antigène capable de se lier spécifiquement au récepteur de folate 1 (FolR1) ;

15 dans laquelle la fraction de liaison à l'antigène capable de se lier spécifiquement à FolR1 comprend :

a) la CDR1 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 16, la CDR2 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 17, la CDR3 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 18, la CDR1 de chaîne légère de SEQ ID NO : 32, la CDR2 de chaîne légère de SEQ ID NO : 33 et la CDR3 de chaîne légère de SEQ ID NO : 34 ;

20 b) la CDR1 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 8, la CDR2 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 56, la CDR3 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 57, la CDR1 de chaîne légère de SEQ ID NO : 59, la CDR2 de chaîne légère de SEQ ID NO : 60 et la CDR3 de chaîne légère de SEQ ID NO : 65 ; ou

25 c) la CDR1 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 16, la CDR2 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 275, la CDR3 de chaîne lourde de SEQ ID NO : 315, la CDR1 de chaîne légère de SEQ ID NO : 32, la CDR2 de chaîne légère de SEQ ID NO : 33 et la CDR3 de chaîne légère de SEQ ID NO : 34.

2. Molécule de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon la revendication 1, dans laquelle la première fraction de liaison à l'antigène comprend une chaîne lourde variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 36 et une chaîne légère variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 31.
- 5 3. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon la revendication 1 ou 2, comprenant en outre
  - (iii) une troisième fraction de liaison à l'antigène capable de se lier spécifiquement à FolR1.
- 10 4. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon la revendication 3, dans laquelle la troisième fraction de liaison à l'antigène est identique à la deuxième fraction de liaison à l'antigène.
5. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 3 ou 4, dans laquelle au moins l'une des deuxième et troisième fractions de liaison à l'antigène est une molécule Fab.
- 15 6. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, comprenant en outre
  - (iv) un domaine Fc composé d'un premier et d'un second sous-motif capables d'une association stable.
- 20 7. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle la fraction de liaison à l'antigène capable de se lier spécifiquement à FolR1 comprend une chaîne lourde variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 15 et une chaîne légère variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 31.
- 25 8. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle la fraction de liaison à l'antigène capable de se lier spécifiquement à FolR1 comprend une chaîne lourde variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 55 et une chaîne légère variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 64.

9. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle la fraction de liaison à l'antigène capable de se lier spécifiquement à FolR1 comprend une chaîne lourde variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 274 et une chaîne légère variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 31.
- 5
10. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon la revendication 8, dans laquelle la première fraction de liaison à l'antigène est une molécule Fab croisée dans laquelle les régions variables ou les régions constantes de la chaîne légère de Fab et de la chaîne lourde de Fab sont échangées.
- 10 11. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 6 à 10, dans laquelle le domaine Fc est un domaine Fc d'une immunoglobuline de la classe des IgG, spécifiquement d'une IgG1 ou d'une IgG4.
12. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 6 à 11, dans laquelle le domaine Fc est un domaine Fc humain.
- 15
13. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 6 à 12, dans laquelle le domaine Fc comprend une modification favorisant l'association du premier et du second sous-motif du domaine Fc.
- 20
14. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon la revendication 13, dans laquelle dans le domaine CH3 du premier sous-motif du domaine Fc un résidu d'acide aminé est remplacé par un résidu d'acide aminé ayant un plus grand volume de chaîne latérale, générant ainsi une protubérance au sein du domaine CH3 du premier sous-motif qui est positionnable dans une cavité au sein du domaine CH3 du second sous-motif, et dans le domaine CH3 du second sous-motif du domaine Fc un résidu d'acide aminé est remplacé par un résidu d'acide aminé ayant un plus petit volume de chaîne latérale, générant ainsi une cavité au sein du domaine CH3 du second sous-motif au sein de laquelle la protubérance au sein du domaine CH3 du
- 25

premier sous-motif est positionnable.

15. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 6 à 14, dans laquelle le domaine Fc comprend au moins une substitution d'acide aminé qui réduit la liaison à un récepteur Fc et/ou une fonction effectrice, par comparaison à un domaine Fc d'IgG1 native.  
5
16. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon la revendication 15, dans laquelle chaque sous-motif du domaine Fc comprend trois substitutions d'acide aminé qui réduisent la liaison à un récepteur Fc d'activation et/ou une fonction effectrice dans laquelle lesdites substitutions d'acide aminé sont L234A, L235A et P329G (numérotation de Kabat).  
10
17. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 276 et comprenant en outre la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 277 et de SEQ ID NO : 35.
18. Polynucléotide isolé codant pour la molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 1 à 17.  
15
19. Vecteur, en particulier un vecteur d'expression, comprenant le polynucléotide selon la revendication 18.
20. Cellule hôte comprenant le polynucléotide selon la revendication 18 ou le vecteur selon la revendication 19.
- 20 21. Procédé de production de la molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T capable de se lier spécifiquement à CD3 et un antigène de cellule cible, comprenant les étapes de a) culture de la cellule hôte selon la revendication 20 dans des conditions appropriées pour l'expression de la molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T et b) récupération de la molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T.  
25
22. Composition pharmaceutique comprenant la molécule bispécifique de liaison à

l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 1 à 17 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

23. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 1 à 17 ou composition pharmaceutique selon la revendication 22 pour une utilisation comme médicament.
24. Molécule bispécifique de liaison à l'antigène activant les lymphocytes T selon l'une quelconque des revendications 1 à 17 ou composition pharmaceutique selon la revendication 22 pour une utilisation dans le traitement d'un cancer.