

(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 47671 B1** (51) Cl. internationale : **A61K 39/395; A61P 35/00; C07K 16/40; C07K 16/28; C07K 16/30; C07K 14/705**
- (43) Date de publication : **31.05.2021**

-
- (21) N° Dépôt : **47671**
- (22) Date de Dépôt : **13.11.2015**
- (30) Données de Priorité : **14.11.2014 EP 14193260**
- (71) Demandeur(s) : **F. Hoffmann-La Roche AG, Grenzacherstrasse 124 4070 Basel (CH)**
- (72) Inventeur(s) : **MOESSNER, Ekkehard ; KLEIN, Christian ; BRUENKER, Peter ; FERRARA KOLLER, Claudia ; GRAU-RICHARDS, Sandra ; REGULA, Joerg Thomas ; UMAÑA, Pablo ; AMANN, Maria ; CLAUS, Christina ; LEVITSKI, Viktor**
- (74) Mandataire : **SABA & CO., TMP**
- (86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation: EP18207248.8**
-
- (54) Titre : **MOLÉCULES DE LIAISON D'ANTIGÈNE COMPRENANT UN TRIMÈRE DE LIGAND DE LA FAMILLE TNF**
- (57) Abrégé : L'invention concerne de nouvelles molécules de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF comprenant (a) au moins un fragment capable de se lier spécifiquement à CD19 et (b) un premier et un second polypeptide qui sont liés l'un à l'autre par une liaison disulfure, caractérisés en ce que le premier polypeptide comprend deux ectodomains d'un membre de la famille des ligands du TNF ou des fragments de ceux-ci qui sont reliés entre eux par un lieu peptidique et en ce que le second polypeptide comprend un seul ectodomaine dudit membre de la famille des ligands du TNF ou un fragment de celui-ci, dans lequel le Le membre de la famille des ligands du TNF est le 4-1BBL.

MOLÉCULES DE LIAISON D'ANTIGÈNE COMPRENANT UN TRIMÈRE DE LIGAND
DE LA FAMILLE TNF

Revendications

1. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF
5 comprenant
- (a) au moins une molécule Fab capable de se lier spécifiquement à CD19,
(b) un premier et un second polypeptide qui sont liés l'un à l'autre par une liaison
disulfure, dans laquelle la molécule de liaison d'antigène est caractérisée en ce que
- (i) le premier polypeptide contient un domaine CH1 ou CL et le second polypeptide
10 contient un domaine CL ou CH1, respectivement, dans laquelle le second
polypeptide est lié au premier polypeptide par une liaison disulfure entre les
domaines CH1 et CL, et dans laquelle le premier polypeptide comprend deux
ectodomaines de 4-1BBL comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le
groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la
15 SEQ ID NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et
la SEQ ID NO : 375 qui sont reliés l'un à l'autre et au domaine CH1 ou CL par un
lieur peptidique et dans laquelle le second polypeptide comprend un ectodomaine
dudit 4-1BBL comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe
constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID
20 NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et la SEQ
ID NO : 375 relié au moyen d'un lieu peptidique au domaine CL ou CH1 dudit
polypeptide, ou
- (ii) le premier polypeptide contient un domaine CH3 et le second polypeptide
25 contient un domaine CH3, respectivement, et dans laquelle le premier polypeptide
comprend deux ectodomaines de 4-1BBL comprenant la séquence d'acides
aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2,
la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la
SEQ ID NO : 374 et la SEQ ID NO : 375 qui sont reliés l'un à l'autre et à
l'extrémité C-terminale du domaine CH3 par un lieu peptidique et dans laquelle
30 le second polypeptide comprend un seul ectodomaine dudit 4-1BBL comprenant
la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID
NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID NO : 4, la SEQ ID
NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et la SEQ ID NO : 375 relié

au moyen d'un lieu peptidique à l'extrémité C-terminale du domaine CH3 dudit polypeptide, ou

(iii) le premier polypeptide contient un domaine VH-CL ou un domaine VL-CH1 et le second polypeptide contient un domaine VL-CH1 ou un domaine VH-CL,

5 respectivement, dans laquelle le second polypeptide est lié au premier polypeptide par une liaison disulfure entre les domaines CH1 et CL, et dans laquelle le premier polypeptide comprend deux ectodomaines de 4-1BBL comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et la SEQ ID NO : 375 qui sont reliés l'un à l'autre et à VH ou VL par un lieu peptidique et dans laquelle le second polypeptide comprend un ectodomaine dudit 4-1BBL comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et la SEQ ID NO : 375 relié au moyen d'un lieu peptidique à VL ou VH dudit polypeptide, et

(c) un domaine Fc composé d'un premier et d'un second sous-motif capables d'une association stable.

2. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon les revendications 1 ou 2, dans laquelle l'ectodomaine de 4-1BBL comprend la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 1 ou de SEQ ID NO : 96.

3. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon les revendications 1 ou 2, dans laquelle l'ectodomaine de 4-1BBL comprend la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 96.

25 4. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, comprenant

(a) au moins une molécule Fab capable de se lier spécifiquement à CD19, et

(b) un premier et un second polypeptide qui sont liés l'un à l'autre par une liaison disulfure, dans laquelle la molécule de liaison d'antigène est caractérisée en ce que le premier polypeptide comprend la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 5, la SEQ ID NO : 97, la SEQ ID NO : 98 et la SEQ ID NO : 99 et en ce que le second polypeptide comprend la séquence d'acides aminés

choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 3 et la SEQ ID NO : 4.

5. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, comprenant
 - 5 (a) au moins une molécule Fab capable de se lier spécifiquement à CD19, et
 - (b) un premier polypeptide contenant un domaine CH1 ou CL et un second polypeptide contenant un domaine CL ou CH1, respectivement, dans laquelle le second polypeptide est lié au premier polypeptide par une liaison disulfure entre les domaines CH1 et CL, et
- 10 polypeptide comprend deux ectodomains de 4-1BBL comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et la SEQ ID NO : 375 qui sont reliés l'un à l'autre et au domaine CH1 ou CL par un lieu peptidique et en ce que le second polypeptide comprend un seul
- 15 ectodomaine dudit 4-1BBL comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et la SEQ ID NO : 375 relié au moyen d'un lieu peptidique au domaine CL ou CH1 dudit polypeptide.
- 20 6. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans laquelle le domaine Fc est un domaine Fc d'IgG, en particulier un domaine Fc d'IgG1 ou un domaine Fc d'IgG4.
7. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle le domaine Fc est un domaine
- 25 Fc d'IgG1 comprenant les substitutions d'acides aminés en positions 234 et 235 (numérotation EU) et/ou 329 (numérotation EU).
8. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, dans laquelle la molécule de liaison d'antigène comprend
- 30 une première chaîne lourde et une première chaîne légère, toutes deux comprenant une molécule Fab capable de se lier spécifiquement à CD19,

- un premier peptide comprenant deux ectodomaines de 4-1BBL comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et la SEQ ID NO : 375 reliés l'un à l'autre par un premier lieu
- 5 peptidique fusionné au niveau de son extrémité C-terminale par un deuxième lieu peptidique à une seconde chaîne lourde ou légère,
- et un second peptide comprenant un ectodomaine dudit 4-1BBL comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 2, la SEQ ID NO : 3, la SEQ ID NO : 4, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID
- 10 NO : 373, la SEQ ID NO : 374 et la SEQ ID NO : 375 fusionné au niveau de son extrémité C-terminale par un troisième lieu peptidique à une seconde chaîne légère ou lourde, respectivement.
9. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, dans laquelle la molécule de liaison
- 15 d'antigène comprend
- (a) une première chaîne lourde et une première chaîne légère, toutes deux comprenant une molécule Fab capable de se lier spécifiquement à CD19,
- (b) une seconde chaîne lourde comprenant une séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 5, la SEQ ID NO : 97, la SEQ ID NO : 98 et la
- 20 SEQ ID NO : 99, et une seconde chaîne légère comprenant une séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 1, la SEQ ID NO : 96, la SEQ ID NO : 3 et la SEQ ID NO : 4.
10. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans laquelle la molécule Fab capable de se
- 25 lier spécifiquement à CD19 comprend un domaine VH comprenant (i) une CDR-H1 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 195 ou de SEQ ID NO : 252, (ii) une CDR-H2 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 196 ou de SEQ ID NO : 253 et (iii) une CDR-H3 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ
- 30 ID NO : 197 ou de SEQ ID NO : 254 et un domaine VL comprenant (iv) une CDR-L1 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 198 ou de SEQ ID NO : 249, (v) une CDR-L2 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 199 ou de SEQ ID NO : 250 et (vi) une CDR-L3 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 200 ou de SEQ ID NO : 251.

11. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans laquelle la molécule Fab capable de se lier spécifiquement à CD19 comprend une chaîne lourde variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 201 et une chaîne légère variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 202 ou dans laquelle la molécule Fab capable de se lier spécifiquement à CD19 comprend une chaîne lourde variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 357 et une chaîne légère variable comprenant une séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 358.
12. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle la molécule de liaison d'antigène comprend
- (i) une première chaîne lourde comprenant le domaine VH comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 201 et une première chaîne légère comprenant le domaine VL comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 202 ou une première chaîne lourde comprenant le domaine VH comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 357 et une première chaîne légère comprenant le domaine VL comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 358,
- (ii) une seconde chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 14, la SEQ ID NO : 108, la SEQ ID NO : 111 et la SEQ ID NO : 113, et
- (iii) une seconde chaîne légère comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 15, SEQ ID NO : 109, SEQ ID NO : 110, SEQ ID NO : 112 et SEQ ID NO : 114.
13. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle la molécule de liaison d'antigène comprend
- (i) une première chaîne lourde comprenant le domaine VH comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 201 et une première chaîne légère comprenant le domaine VL comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 202 ou une première chaîne lourde comprenant le domaine VH comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 357 et une première chaîne légère comprenant le domaine VL comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 358,
- (ii) une seconde chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 115, la SEQ ID NO : 117, la SEQ ID NO : 119 et

la SEQ ID NO : 173, et

(iii) une seconde chaîne légère comprenant la séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par la SEQ ID NO : 116, la SEQ ID NO : 118, la SEQ ID NO : 120 et la SEQ ID NO : 174.

- 5 14. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 ou 13, comprenant une première chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 205, une première chaîne légère comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 206, une seconde chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 119 et
10 une seconde chaîne légère comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 120.
- 15 15. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 ou 13, comprenant une première chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 306, une première chaîne légère comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 279, une seconde chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 119 et
15 une seconde chaîne légère comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 120.
- 20 16. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle la molécule de liaison d'antigène comprend
25 (i) une première chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 209, une seconde chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 210 et deux chaînes légères comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 206, ou
(ii) une première chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 213, une seconde chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 214 et deux chaînes légères comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 206, ou
30 (iii) une première chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 309, une seconde chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 310 et deux chaînes légères comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ

ID NO : 279, ou

(iv) une première chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 313, une seconde chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 314 et deux chaînes légères comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 279.

5

17. Polynucléotide isolé codant pour la molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.

18. Vecteur, en particulier un vecteur d'expression, comprenant le polynucléotide isolé selon la revendication 16.

10 19. Cellule hôte comprenant le polynucléotide isolé selon la revendication 17 ou le vecteur selon la revendication 18.

20. Procédé de production de la molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, comprenant les étapes de

15 (i) culture de la cellule hôte selon la revendication 19 dans des conditions appropriées pour l'expression de la molécule de liaison d'antigène, et
(ii) récupération de la molécule de liaison d'antigène.

20 21. Composition pharmaceutique comprenant la molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 16 et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

22. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, ou composition pharmaceutique selon la revendication 21, pour une utilisation comme médicament.

25 23. Molécule de liaison d'antigène contenant un trimère de ligand de la famille TNF selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, ou composition pharmaceutique selon la revendication 21, pour une utilisation dans le traitement d'un cancer.