

## (12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 49033 B1**
- (51) Cl. internationale : **A61K 38/20; C07K 16/28; C07K 14/55; A61K 39/00**
- (43) Date de publication : **31.10.2022**
- 
- (21) N° Dépôt : **49033**
- (22) Date de Dépôt : **29.03.2018**
- (30) Données de Priorité : **03.04.2017 EP 17164533**
- (86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/EP2018/058034 29.03.2018**
- (71) Demandeur(s) : **F. Hoffmann-La Roche AG, Grenzacherstrasse 124 4070 Basel (CH)**
- (72) Inventeur(s) : **KLEIN, Christian ; SEEBER, Stefan ; WALDHAUER, Inja ; UMAÑA, Pablo ; CODARRI DEAK, Laura ; LAUENER, Laura ; NICOLINI, Valeria G.**
- (74) Mandataire : **SABA & CO., TMP**
- (86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation: EP18715008.1**
- 
- (54) Titre : **IMMUNOCONJUGUÉ D'UN ANTICORPS CONTRE PD-1 AVEC IL-2 MUTÉE OU AVEC IL-15**
- (57) Abrégé : La présente invention concerne de manière générale des immunoconjugués, en particulier des immunoconjugués comprenant un polypeptide d'interleukine-2 mutant et un anticorps qui se lie à PD-1. De plus, la présente invention concerne des molécules de polynucléotides codant pour de tels immunoconjugués, et des vecteurs et des cellules hôtes comprenant de telles molécules de polynucléotides. L'invention concerne enfin des procédés de production des immunoconjugués mutants, des compositions pharmaceutiques les comprenant, ainsi que leurs utilisations.

IMMUNOCONJUGUÉ D'UN ANTICORPS CONTRE PD-1 AVEC IL-2 MUTÉE OU AVEC IL-15

### Revendications

1. Immunoconjugué comprenant (i) un anticorps qui se lie à PD-1 et (ii) un polypeptide d'IL-2 mutée,
- 5 dans lequel le polypeptide d'IL-2 mutée est un polypeptide d'IL-2 humaine comprenant les substitutions d'acides aminés F42A, Y45A et L72G, la numérotation étant relative à la séquence d'IL-2 humaine SEQ ID NO : 19.
2. Immunoconjugué selon la revendication 1, dans lequel le polypeptide d'IL-2 est un polypeptide d'IL-2 mutée,
- 10 dans lequel le polypeptide d'IL-2 mutée est une molécule d'IL-2 humaine comprenant les substitutions d'acides aminés F42A, Y45A et L72G, la numérotation étant relative à la séquence d'IL-2 humaine SEQ ID NO : 19 ; et
- dans lequel l'anticorps comprend (a) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant une HVR-H1 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 1, une HVR-H2
- 15 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 2, une HVR-H3 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 3 et une FR-H3 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 7 en positions 71 à 73 selon la numérotation de Kabat, et (b) une région variable de chaîne légère (VL) comprenant une HVR-L1 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 4, une HVR-L2 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID
- 20 NO : 5 et une HVR-L3 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 6.
3. Immunoconjugué selon la revendication 1, dans lequel le polypeptide d'IL-2 est un polypeptide d'IL-2 mutée,
- dans lequel le polypeptide d'IL-2 mutée est une molécule d'IL-2 humaine comprenant les substitutions d'acides aminés F42A, Y45A et L72G, la numérotation étant relative à la séquence
- 25 d'IL-2 humaine SEQ ID NO : 19 ; et
- dans lequel l'anticorps comprend (a) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant une HVR-H1 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 8, une HVR-H2 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 9 et une HVR-H3 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 10 et (b) une région variable de chaîne légère (VL)
- 30 comprenant une HVR-L1 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 11, une HVR-L2 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 12 et une HVR-L3 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 13.

4. Immunoconjugué selon la revendication 1, dans lequel le polypeptide d'IL-2 est un polypeptide d'IL-2 mutée,  
dans lequel le polypeptide d'IL-2 mutée est une molécule d'IL-2 humaine comprenant les substitutions d'acides aminés F42A, Y45A et L72G, la numérotation étant relative à la séquence  
5 d'IL-2 humaine SEQ ID NO : 19 ; et  
dans lequel l'anticorps comprend (a) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant une séquence d'acides aminés qui est au moins environ 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ou 100 % identique à la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 14 et (b) une région variable de chaîne légère (VL) comprenant une séquence d'acides aminés qui est au moins environ 95 %,  
10 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ou 100 % identique à une séquence d'acides aminés choisie dans le groupe constitué par SEQ ID NO : 15, SEQ ID NO : 16, SEQ ID NO : 17 et SEQ ID NO : 18.
5. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel le polypeptide d'IL-2 mutée comprend en outre la substitution d'acide aminé T3A et/ou la substitution d'acide aminé C125A.
- 15 6. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans lequel le polypeptide d'IL-2 mutée comprend la séquence de SEQ ID NO : 20.
7. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans lequel l'immunoconjugué ne comprend pas plus d'un polypeptide d'IL-2 mutée.
8. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, dans lequel l'anticorps  
20 comprend un domaine Fc composé d'une première et d'une seconde sous-unité.
9. Immunoconjugué selon la revendication 8, dans lequel le domaine Fc est un domaine Fc de la classe des IgG, en particulier de la sous-classe IgG<sub>1</sub>.
10. Immunoconjugué selon la revendication 8 ou 9, dans lequel le domaine Fc est un domaine Fc humain.
- 25 11. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans lequel l'anticorps est une immunoglobuline de la classe des IgG, en particulier de la sous-classe IgG<sub>1</sub>.
12. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 8 à 11, dans lequel le domaine Fc comprend une modification favorisant l'association de la première et de la seconde sous-unité du domaine Fc.

13. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 8 à 12, dans lequel dans le domaine CH3 de la première sous-unité 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 de la première sous-unité qui peut être positionnée dans une cavité au sein du domaine CH3 de la seconde sous-unité, et dans le domaine CH3 de la seconde sous-unité 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 de la seconde sous-unité au sein de laquelle la protubérance dans le domaine CH3 de la première sous-unité peut être positionnée.
14. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 8 à 13, dans lequel dans la première sous-unité du domaine Fc le résidu thréonine en position 366 est remplacé par un résidu tryptophane (T366W), et dans la seconde sous-unité du domaine Fc le résidu tyrosine en position 407 est remplacé par un résidu valine (Y407V) et éventuellement le résidu thréonine en position 366 est remplacé par un résidu sérine (T366S) et le résidu leucine en position 368 est remplacé par un résidu alanine (L368A), la numérotation étant effectuée selon l'indice EU de Kabat.
15. Immunoconjugué selon la revendication 14, dans lequel dans la première sous-unité du domaine Fc en outre le résidu sérine en position 354 est remplacé par un résidu cystéine (S354C) ou le résidu acide glutamique en position 356 est remplacé par un résidu cystéine (E356C), et dans la seconde sous-unité du domaine Fc en outre le résidu tyrosine en position 349 est remplacé par un résidu cystéine (Y349C), la numérotation étant effectuée selon l'indice EU de Kabat.
16. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 8 à 15, dans lequel le polypeptide d'IL-2 mutée est fusionné au niveau de son acide aminé d'extrémité amino-terminale à l'acide aminé d'extrémité carboxy-terminale de l'une des sous-unités du domaine Fc, en particulier la première sous-unité du domaine Fc, éventuellement par le biais d'un lieu peptidique.
17. Immunoconjugué selon la revendication 16, dans lequel le lieu peptidique a la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 21.
18. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 8 à 16, dans lequel le domaine Fc comprend une ou plusieurs substitutions d'acide aminé qui diminuent la liaison à un

récepteur Fc, en particulier un récepteur Fc $\gamma$ , et/ou une fonction effectrice, en particulier la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC).

19. Immunoconjugué selon la revendication 18, dans lequel ladite ou lesdites substitutions d'acides aminés sont au niveau d'une ou de plusieurs positions choisies dans le groupe constitué  
5 par L234, L235 et P329, la numérotation étant effectuée selon l'indice EU de Kabat.

20. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 8 à 19, dans lequel chaque sous-unité du domaine Fc comprend les substitutions d'acides aminés L234A, L235A et P329G, la numérotation étant effectuée selon l'indice EU de Kabat.

21. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, comprenant un  
10 polypeptide comprenant une séquence d'acides aminés qui est au moins environ 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ou 100 % identique à la séquence de SEQ ID NO : 22, un polypeptide comprenant une séquence d'acides aminés qui est au moins environ 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ou 100 % identique à la séquence de SEQ ID NO : 23 ou  
15 SEQ ID NO : 24, et un polypeptide comprenant une séquence d'acides aminés qui est au moins environ 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ou 100 % identique à la séquence de SEQ ID NO : 25.

22. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 21, essentiellement constitué d'un polypeptide d'IL-2 mutée et d'une molécule d'immunoglobuline IgG<sub>1</sub>, liés par une séquence de liaison.

20 23. Polynucléotide isolé ou polynucléotides isolés codant pour l'immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 22.

24. Vecteur ou vecteurs, en particulier vecteurs d'expression, comprenant le ou les polynucléotides selon la revendication 23.

25 25. Cellule hôte comprenant le ou les polynucléotides selon la revendication 23 ou le ou les vecteurs selon la revendication 24.

26. Procédé de production d'un immunoconjugué comprenant un polypeptide d'IL-2 mutée et un anticorps qui se lie à PD-1, comprenant (a) la culture de la cellule hôte selon la revendication 25 dans des conditions appropriées pour l'expression de l'immunoconjugué, et éventuellement (b) la récupération de l'immunoconjugué.

27. Composition pharmaceutique comprenant l'immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 22 et un excipient pharmaceutiquement acceptable.
28. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 22 pour une utilisation comme médicament.
- 5 29. Immunoconjugué selon l'une quelconque des revendications 1 à 22 pour une utilisation dans le traitement d'une maladie, dans lequel ladite maladie est un cancer.