(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202290364 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.05.30

(22) Дата подачи заявки
2020.07.31

(51) Int. Cl. ***A61K 39/395*** (2006.01)
A61K 31/365 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) СХЕМА ДОЗИРОВАНИЯ ДЛЯ ИНГИБИТОРА IDO

(31) **62/881,518**
(32) **2019.08.01**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/044533**
(87) **WO 2021/022172 2021.02.04**

(71) Заявитель:
ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
Смит Майкл, Ньютон Роберт С., Оуэнс Шерри (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к схемам дозирования для лечения рака путем введения эпакадостата в комбинации с антителом или его фрагментом, связывающимся с PD-1.

202290364 A1

202290364 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-572914EA/061

СХЕМА ДОЗИРОВАНИЯ ДЛЯ ИНГИБИТОРА IDO

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка заявляет приоритет по Предварительной заявке США серийный номер 62/881,518, поданной 1 августа 2019 года, описание которой включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к схемам дозирования для лечения рака путем введения эпакадостата в комбинации с антителом или его фрагментом, связывающимся с PD-1.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Триптофан (Trp) - незаменимая аминокислота, необходимая для биосинтеза белков, ниацина и нейротрансмиттера 5-гидрокситриптамина (серотонина). Фермент индоламин-2,3-диоксигеназа (также известный как INDO, IDO или IDO1) катализирует первый и ограничивающий скорость шаг в деградации L-триптофана до N-формил-кинуренина. В клетках человека истощение Trp в результате активности IDO является важным антимикробным эффекторным механизмом, вызываемым гамма-интерфероном (IFN-γ). Стимуляция IFN-γ вызывает активацию IDO, что приводит к истощению Trp, тем самым останавливая рост Trp-зависимых внутриклеточных патогенов, таких как Toxoplasma gondii и Chlamydia trachomatis. Активность IDO также оказывает антипролиферативное действие на многие опухолевые клетки, а индукция IDO наблюдалась in vivo во время отторжения аллогенных опухолей, что указывает на возможную роль этого фермента в процессе отторжения опухоли (Daubener, et al., 1999, Adv. Exp. Med. Biol., 467: 517-24; Taylor, et al., 1991, FASEB J., 5: 2516-22).

Было замечено, что клетки HeLa, культивируемые вместе с лимфоцитами периферической крови (ЛПК), приобретают иммуноингибирующий фенотип через повышение активности IDO. Считалось, что снижение пролиферации ЛПК при лечении интерлейкином-2 (IL2) является результатом высвобождения IDO опухолевыми клетками в ответ на секрецию IFNG ЛПК. Этот эффект был обращен вспять при лечении 1-метил-триптофаном (1MT), специфическим ингибитором IDO. Было высказано предположение, что активность IDO в опухолевых клетках может служить для ослабления противоопухолевого ответа (Logan, et al., 2002, Immunology, 105: 478-87).

В последнее время большое внимание уделяется иммунорегуляторной роли истощения Trp. Несколько доказательств свидетельствуют о том, что IDO участвует в индукции иммунологической толерантности. Исследования беременности млекопитающих, устойчивости опухолей, хронических инфекций и аутоиммунных заболеваний показали, что клетки, экспрессирующие IDO, могут подавлять ответы Т-клеток и способствовать толерантности. Например, повышенные уровни интерферонов и повышенные уровни метаболитов Trp в моче наблюдаются при аутоиммунных

заболеваниях; предполагается, что системное или местное истощение Trp, происходящее при аутоиммунных заболеваниях, может быть связано с симптомами дегенерации и истощения при этих заболеваниях.

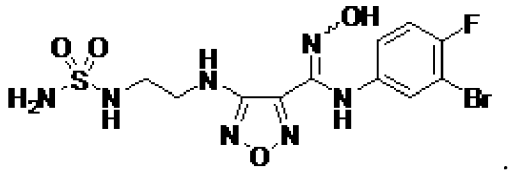
Дальнейшим доказательством механизма иммунной резистентности опухолей, основанного на деградации триптофана под действием IDO, является наблюдение, что большинство человеческих опухолей конститутивно экспрессируют IDO, и что экспрессия IDO иммуногенными опухолевыми клетками мышей предотвращает их отторжение предварительно иммунизированными мышами. Этот эффект сопровождается отсутствием накопления специфических Т-клеток в месте опухоли и может быть частично обращен вспять путем системного лечения мышей ингибитором IDO при отсутствии заметной токсичности. Таким образом, было высказано предположение, что эффективность терапевтической вакцинации раковых больных может быть повышена при одновременном приеме ингибитора IDO (Uyttenhove et al., 2003, Nature Med., 9: 1269-74). Также было показано, что ингибитор IDO, 1-MT, может взаимодействовать с химиотерапевтическими препаратами для снижения роста опухоли у мышей, что позволяет предположить, что ингибирование IDO может также усиливать противоопухолевую активность обычных цитотоксических препаратов (Muller et al., 2005, Nature Med., 11: 312-9).

Одним из механизмов, способствующих иммунологической невосприимчивости к опухолям, может быть презентация опухолевых антигенов толерогенными АПК хозяина. Также была описано подгруппа человеческих IDO-экспрессирующих антигенпрезентирующих клеток (АПК), которые коэкспрессировали CD123 (IL3RA) и CCR6 и подавляли пролиферацию Т-клеток. Как зрелые, так и незрелые CD123-позитивные дендритные клетки подавляли активность Т-клеток, и эта супрессивная активность IDO блокировалась 1MT (Munn, et al., 2002, Science, 297: 1867-70). Также было продемонстрировано, что лимфатические узлы мыши, дренирующие опухоль (TDLN), содержат подгруппу плазмацитоидных дендритных клеток (пДК), которые конститутивно экспрессируют иммуносупрессивный уровень IDO. Несмотря на то, что они составляют всего 0,5% клеток лимфатических узлов, in vitroэти пДК мощно подавляли Т-клеточный ответ на антигены, представленные самими пДК, а также, доминирующим образом, подавляли Т-клеточный ответ на сторонние антигены, представленные не подавляющими АПК. В популяции пДК большая часть функциональной IDO-опосредованной супрессорной активности было обособлена от новой подгруппы пДК, экспрессирующей маркер В-линии CD19. Таким образом, была выдвинута гипотеза, что IDO-опосредованное подавление пДК в TDLN создает локальную микросреду, которая мощно подавляет противоопухолевые Т-клеточные ответы хозяина (Munn, et al., 2004, J. Clin. Invest., 114(2): 280-90).

IDO разрушает индольную молекулу триптофана, серотонина и мелатонина и инициирует производство нейроактивных и иммунорегуляторных метаболитов, известных под общим названием кинуренины. Путем локального истощения триптофана и увеличения проапоптотических кинуренинов IDO, экспрессируемый дендритными

клетками (ДК), может значительно влиять на пролиферацию и выживание Т-клеток. Индукция IDO в ДК может быть общим механизмом делеционной толерантности, управляемой регуляторными Т-клетками. Поскольку можно ожидать, что такие толерогенные реакции будут действовать при различных физиопатологических состояниях, метаболизм триптофана и выработка кинуренина могут представлять собой важнейшую область взаимодействия между иммунной и нервной системами (Grohmann, et al., 2003, Trends Immunol., 24: 242-8). При состояниях постоянной иммунной активации доступность свободного Trp в сыворотке снижается, и, как следствие снижения выработки серотонина, серотонинергические функции также могут быть нарушены (Wirleitner, et al., 2003, Curr. Med. Chem., 10: 1581-91).

В свете экспериментальных данных, указывающих на роль IDO в иммуносупрессии и резистентности и/или отторжении опухолей, желательны терапевтические средства, направленные на подавление деградации триптофана путем ингибирования активности IDO. Одним из мощных ингибиторов IDO1 является эпакадостат (INCB24360; 4-({2-[(аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-(3-бром-4-фторфенил)-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид), который имеет следующую формулу:



.

В настоящее время сохраняется потребность в новых схемах лечения рака с использованием ингибиторов IDO1. Настоящее изобретение направлено на решение этой и других задач.

СУЩЕНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение предоставляет, среди прочего, способы лечения рака у пациента, включающие введение указанному пациенту:

эпакадостата или его фармацевтически приемлемой соли в дозе от около 400 мг до около 700 мг на основе свободного основания 2 раза в день; и

антитела, связывающегося с PD-1 человека, где антитело содержит (ii-1) вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий область, определяющую комплементарность (CDR)1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH; и (ii-2) вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL; где:

CDR1 VH содержит аминокислотную последовательность SYWMN (**SEQ ID NO:6**);

CDR2 VH содержит аминокислотную последовательность VIHPSDSETWLDQKFKD (**SEQ ID NO:7**);

CDR3 VH содержит аминокислотную последовательность EHYGTSPFAY (**SEQ ID NO:8**);

CDR1 VL содержит аминокислотную последовательность

RASESVDNYGMSFMNW (**SEQ ID NO:9**);

CDR2 VL содержит аминокислотную последовательность AASNQGS (**SEQ ID NO:10**); и

CDR3 VL содержит аминокислотную последовательность QQSKEVPYT (**SEQ ID NO:11**).

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 600 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение дополнительно предоставляет, среди прочего, способ лечения рака у пациента, включающий введение указанному пациенту:

(i) эпакадостата или его фармацевтически приемлемой соли в дозе от около 400 мг до около 700 мг на основе свободного основания 2 раза в день; и

(ii) антитела, связывающегося с человеческим PD-1, которое представляет собой АНТИТЕЛО X.

АНТИТЕЛО X представляет собой ретифанлимаб. Неожиданно было показано, что дозы эпакадостата в способах настоящего изобретения (например, 600 мг) неожиданно снижают уровень кинуренина по сравнению с более низкими дозами (например, 100 мг 2 раза в день) (см. Пример 1 infra) при введении в комбинации с АНТИТЕЛОМ X. Не желая быть связанными какой-либо конкретной теорией, заявленные дозы эпакадостата, как предполагается, работают путем блокирования дополнительной активности IDO1, индуцированной стимулятором иммунной системы, таким как АНТИТЕЛО X.

Аминокислотная последовательность белка PD-1 человека (Номер доступа Genbank NP_005009):
MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSN
TSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRN
DSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVGVVGG
LLGSLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTP
EPPVPCVPEQTEYATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL (**SEQ ID NO:1**).

АНТИТЕЛО X представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое связывается с PD-1 человека (*см.* WO2017019846, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей зрелого АНТИТЕЛА X описаны ниже.

Определяющие комплементарность области (CDR) 1, 2 и 3 вариабельного домена тяжелой цепи (VH) и вариабельного домена легкой цепи (VL) показаны в порядке от N до C-конца зрелых последовательностей VL и VH, подчеркнуты и выделены жирным шрифтом. Антитело, состоящее из зрелой тяжелой цепи (**SEQ ID NO:2**) и зрелой легкой цепи (**SEQ ID NO:3**), перечисленных ниже, называется АНТИТЕЛО X.

Тяжелая цепь (HC) зрелого АНТИТЕЛА X

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**SYWMN**WVRQAPGQGLEWIG**VIH PSDSETWLDQKFKD**RVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EHYGTSPFAY**W GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG (**SEQ ID NO:2**)

Легкая цепь (LC) зрелого АНТИТЕЛА X

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASESVDNYGMSFMNW**FQQKPGQPPKLLIH**A ASNQGS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFC**QQSKEVPYT**FGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (**SEQ ID NO:3**)

Вариабельный домен тяжелой цепи (VH) АНТИТЕЛА X имеет следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT**SYWMN**WVRQAPGQGLEWIG**VIH PSDSETWLDQKFKD**RVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**EHYGTSPFAY**W GQGTLVTVSS (**SEQ ID NO:4**)

Вариабельный домен легкой цепи (VL) АНТИТЕЛА X имеет следующую аминокислотную последовательность:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASESVDNYGMSFMNW**FQQKPGQPPKLLIH**A ASNQGS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFC**QQSKEVPYT**FGGGTKVEIK (**SEQ ID NO:5**)

Аминокислотные последовательности CDR VH АНТИТЕЛА X перечислены ниже:

CDR1 VH: SYWMN (**SEQ ID NO:6**);

CDR2 VH: VIHPSDSETWLDQKFKD (**SEQ ID NO:7**);

CDR3 VH: EHYGTSPFAY (**SEQ ID NO:8**)

Аминокислотные последовательности CDR VL АНТИТЕЛА X перечислены ниже:

CDR1 VL: RASESVDNYGMSFMNW (**SEQ ID NO:9**);

CDR2 VL: AASNQGS (**SEQ ID NO:10**); и

CDR3 VL: QQSKEVPYT (**SEQ ID NO:11**).

Соответственно, настоящее изобретение предоставляет, среди прочего, способы лечения рака у пациента, включающие введение указанному пациенту:

(i) эпакадостата или его фармацевтически приемлемой соли в дозе от около 400 мг до около 700 мг на основе свободного основания 2 раза в день; и

(ii) антитела, связывающегося с PD-1 человека, где антитело содержит (ii-1) вариабельный домен (VH) тяжелой цепи, включающий область, определяющую комплементарность (CDR)1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH; и (ii-2) вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL; где:

(a) CDR1 VH содержит аминокислотную последовательность SYWMN (**SEQ ID**

NO:6);

(b) CDR2 VH содержит аминокислотную последовательность VIHPSDSETWLDQKFKD (**SEQ ID NO:7**);

(c) CDR3 VH содержит аминокислотную последовательность EHYGTSPFAY (**SEQ ID NO:8**);

(d) CDR1 VL содержит аминокислотную последовательность RASESVDNYGMSFMNW (**SEQ ID NO:9**);

(e) CDR2 VL содержит аминокислотную последовательность AASNQGS (**SEQ ID NO:10**); и

(f) CDR3 VL содержит аминокислотную последовательность QQSKEVPYT (**SEQ ID NO:11**).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область, где Fc-область имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область изотипа IgG4 и петлевой домен IgG4, который содержит стабилизирующую мутацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит Fc-область изотипа IgG4 и шарнирный домен IgG4, содержащий замену S228P *(см., например,* , **SEQ ID NO:13**: ESKYGPPCPPCP, (Lu et al, (2008) "The Effect Of A Point Mutation On The Stability Of IgG4 As Monitored By Analytical Ultracentrifugation," J. Pharmaceutical Sciences 97:960-969) для снижения частоты обмена цепями.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль и АНТИТЕЛО X вводятся пациенту одновременно или последовательно. В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль и АНТИТЕЛО X вводятся пациенту одновременно. В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль и АНТИТЕЛО X вводятся пациенту последовательно.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:4**.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, причем тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:2**.

В некоторых вариантах осуществления домен VL содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:5**.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит легкую цепь, где легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:3**.

В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:4**, и домен VL содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:5**.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, и где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:2**, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, указанную в

SEQ ID NO:3.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гуманизированное антитело.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе от около 500 мг до около 700 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе от около 400 мг до около 600 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе от около 500 мг до около 600 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе от около 400 мг до около 600 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе от около 550 мг до около 650 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе от около 575 мг до около 625 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 400 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 425 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 450 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 475 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 500 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 525 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически

приемлемая соль вводится в дозе около 550 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 575 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 600 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 625 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 650 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 675 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводится в дозе около 700 мг на основе свободного основания 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат назначается в виде свободного основания.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 400 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 425 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 450 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 475 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 500 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 525 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 550 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 575 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 600 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 625 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 650 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 675 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат вводится в дозе около 700 мг 2 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводятся в виде фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводятся перорально. В некоторых вариантах осуществления эпакадостат или его фармацевтически приемлемая соль вводятся в виде твердой пероральной лекарственной формы. В некоторых вариантах осуществления твердая пероральная лекарственная форма представляет собой таблетку или капсулу. В некоторых вариантах осуществления твердая пероральная лекарственная форма представляет собой таблетку. В некоторых вариантах осуществления для достижения желаемой дозы назначают несколько таблеток.

Антитело анти-PD-1 или его антиген-связывающий фрагмент можно вводить субъекту, например, нуждающемуся в этом субъекту, например, человеку, различными способами. Для многих применений способ введения является одним из следующих: внутривенная инъекция или инфузия (ВВ), подкожная инъекция (ПК), внутрибрюшинная (ВБ) или внутримышечная инъекция. Также возможно использование внутрисуставной доставки. Можно использовать и другие способы парентерального введения. Примеры таких способов включают: внутриартериальное, интратекальное, внутрикапсульное, внутриорбитальное, внутрисердечное, внутрикожное, транстрахеальное, подкожное, внутрисуставное, подкапсульное, субарахноидальное, внутриспинальное, эпидуральное и интрастернальное введение. В некоторых случаях введение может быть пероральным.

Путь и/или способ введения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента также может быть подобран для конкретного случая, например, путем наблюдения за субъектом, например, с помощью томографической визуализации, например, для визуализации опухоли.

Антитело или антигенсвязывающий фрагмент можно вводить в фиксированной дозе или в дозе мг/кг веса пациента. Доза также может быть подобрана таким образом, чтобы уменьшить или избежать выработки антител против антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Схемы дозирования корректируются для обеспечения желаемого ответа, например, терапевтического ответа или комбинаторного терапевтического эффекта. Как правило, дозы антитела или антигенсвязывающего фрагмента (и, необязательно, второго агента) могут быть использованы для обеспечения субъекта агентом в биодоступных количествах. Например, могут быть введены дозы в диапазоне около 0,1-100 мг/кг, около 0,5-100 мг/кг, около 1 мг/кг -100 мг/кг, около 0,5-20

мг/кг, около 0,1-10 мг/кг или около 1-10 мг/кг. Можно использовать и другие дозы. В конкретных вариантах осуществления субъекту, нуждающемуся в лечении, вводят антитело или антигенсвязывающий фрагмент в дозе около 1 мг/кг, около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 10 мг/кг, около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг или около 40 мг/кг. Что касается доз или дозировок, термин «около» предназначен для обозначения диапазона, составляющего ± 10% от указанной дозы, так что, например, доза около 3 мг/кг будет составлять от 2,7 мг/кг до 3,3 мг/кг веса пациента.

Композиция может содержать от 1 мг/мл до 100 мг/мл, или от 10 мг/мл до 100 мг/мл, или от 50 до 250 мг/мл, или от 100 до 150 мг/мл, или от 100 до 250 мг/мл антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

Форма разовой дозировки или «фиксированная доза» или «доза, не требующая перерасчета противоопухолевого средства исходя из площади поверхности тела пациента», как используется здесь, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве унитарных доз для субъектов, подлежащих лечению; каждая единица содержит заранее определенное количество активного соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта в ассоциации с необходимым фармацевтическим носителем и, по желанию, в ассоциации с другим агентом. Можно вводить разовые или многократные дозы. Альтернативно или дополнительно, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить путем непрерывной инфузии. Примерные фиксированные дозы включают около 375 мг, около 500 мг и около 750 мг. Что касается доз или дозировок, термин «около» предназначен для обозначения диапазона, составляющего ± 10% от указанной дозы, так что, например, доза около 375 мкг будет составлять от 337,5 мкг до 412,5 мкг.

Дозу антитела или антигенсвязывающего фрагмента можно вводить, например, периодически в течение периода времени (курс лечения), достаточного для того, чтобы охватить по меньшей мере 2 дозы, 3 дозы, 5 доз, 10 доз или более, например, один или 2 раза в день, или от одного до четырех раз в неделю, или предпочтительно еженедельно, раз в две недели (каждые две недели), каждые три недели, ежемесячно, например, в течение от 1 до 12 недель, предпочтительно от 2 до 8 недель, более предпочтительно от 3 до 7 недель, и еще более предпочтительно в течение 4, 5 или 6 недель. Факторы, которые могут повлиять на дозировку и время, необходимые для эффективного лечения субъекта, включают, например, тяжесть заболевания или расстройства, состав препарата, способ доставки, предыдущее лечение, общее состояние здоровья и/или возраст субъекта, а также наличие других заболеваний. Кроме того, лечение субъекта терапевтически эффективным количеством соединения может включать одно лечение или, предпочтительно, может включать ряд лечений.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в фиксированной дозе около 375 мг один раз в 3 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов

антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в фиксированной дозе около 500 мг один раз в 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в фиксированной дозе около 750 мг один раз в 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в дозе около 1 мг/кг один раз в 2 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в дозе около 3 мг/кг один раз в 2 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в дозе около 3 мг/кг один раз в 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в дозе около 10 мг/кг один раз в 2 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в дозе около 10 мг/кг один раз в 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в фиксированной дозе около 375 мг один раз в 3 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в фиксированной дозе около 500 мг один раз в 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеперечисленных аспектов антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в фиксированной дозе около 750 мг один раз в 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления термин «около» относится к плюс-минус 10% от значения. Специалисту в данной области известно, что значения, представленные в настоящем документе, могут изменяться в зависимости от условий проведения экспериментов, таких как вариабельность сбора данных или приборов.

Эпакадостат

Эпакадостат может быть синтезирован, как описано в патентах США №№ 8,088,803 и 9,321,755, которые включены в настоящий документ путем ссылки во всей своей полноте.

Настоящее изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли эпакадостата, описанного в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления эпакадостат и его соли по существу

выделены. Под «по существу выделенным» подразумевается, что соединение, по меньшей мере, частично или существенно отделено от среды, в которой оно было образовано или обнаружено. Частичное разделение может включать, например, композицию, обогащенную эпакадостатом. Существенное разделение может включать композиции, содержащие по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 97% или по меньшей мере около 99% по весу эпакадостата или его соли. Способы выделения соединений и их солей являются обычными в данной области.

Эпакадостат может существовать в различных твердых формах. В данном документе «твердая форма» означает твердое вещество, характеризующееся одним или несколькими свойствами, такими как, например, температура плавления, растворимость, стабильность, кристалличность, гигроскопичность, содержание воды, характеристики TGA, характеристики DSC, характеристики DVS, характеристики XRPD и т.д. Твердые формы, например, могут быть аморфными, кристаллическими или их смесями.

Различные кристаллические твердые формы обычно имеют различные кристаллические решетки (например, элементарные ячейки) и, как следствие, обладают различными физическими свойствами. В некоторых случаях различные кристаллические твердые формы имеют разное содержание воды или растворителя. Различные кристаллические решетки могут быть идентифицированы с помощью способов определения характеристик твердого тела, таких как рентгеновская порошковая дифракция (XRPD). Другие способы определения характеристик, такие как дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC), термогравиметрический анализ (TGA), динамическая сорбция паров (DVS) и т.п., помогают определить твердую форму, а также стабильность и содержание растворителя/воды.

В некоторых вариантах осуществления твердая форма представляет собой кристаллическое твердое вещество. В некоторых вариантах осуществления эпакадостат представляет собой кристаллическое твердое вещество, как описано в патенте США № 8,088,803. В некоторых вариантах осуществления твердая форма является практически безводной (например, содержит менее около 1% воды, менее около 0,5% воды, менее около 1,5% воды, менее около 2% воды). Например, содержание воды определяется титрованием по Карлу Фишеру. В некоторых вариантах осуществления твердая форма характеризуется температурой плавления или эндотермой DSC с центром при температуре от около 162 до около 166 °C. В некоторых вариантах осуществления твердая форма характеризуется температурой плавления или эндотермой DSC с центром при температуре около 164 °C. В некоторых вариантах осуществления твердая форма имеет потерю веса 0,3% при нагревании от 20°C до 150°C при скорости нагрева 10 °C/мин.

В дополнительных вариантах осуществления твердая форма имеет по меньшей мере один, два или три пика XRPD, в пересчете на 2-тета, выбранных из примерно 18,4°, примерно 18,9°, примерно 21,8°, примерно 23,9°, примерно 29,2° и примерно 38,7°.

В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма имеет один или несколько пиков из списка пиков 2-тета, представленного в таблице ниже.

2-Тета	**Высота**	**H%**
3,9	74	1,1
7,2	119	1,8
13,4	180	2,8
14,0	150	2,3
15,9	85	1,3
18,4	903	13,9
18,9	1469	22,7
21,3	519	8
21,8	6472	100
22,7	516	8
23,9	2515	38,9
24,8	804	12,4
25,3	182	2,8
27,4	476	7,4
28,6	354	5,5
29,2	1767	27,3
29,9	266	4,1
30,6	773	11,9
31,2	379	5,8
31,6	291	4,5
32,7	144	2,2
33,5	221	3,4
36,4	469	7,2
37,6	152	2,3
38,7	1381	21,3
41,0	153	2,4
42,1	382	5,9
43,6	527	8,1
44,4	1080	16,7

XRPD картина отражений (пиков) обычно считается отпечатком конкретной кристаллической формы. Хорошо известно, что относительная интенсивность пиков

XRPD может сильно варьировать в зависимости, в частности, от технологии подготовки образца, распределения кристаллов по размерам, различных используемых фильтров, процедуры монтажа образца и конкретного используемого прибора. В некоторых случаях могут наблюдаться новые пики или исчезать существующие пики, в зависимости от типа прибора или настроек. Как используется в данном документе, термин «пик» относится к отражению, имеющему относительную высоту/интенсивность по меньшей мере 4% от максимальной высоты/интенсивности пика. Более того, колебания прибора и другие факторы могут влиять на значения 2-тета. Таким образом, распределение пиков, как указано в настоящем документе, может варьироваться плюс-минус около 0,2° (2 тета), и термин «в основном», используемый в контексте XRPD в настоящем документе, означает охват вышеупомянутых вариаций.

Точно так же показания температуры при проведении ДСК, ТГА или других термических экспериментов могут отличаться примерно на ±3°C в зависимости от прибора, конкретных настроек, подготовки образца и т.д.

Фармацевтическая композиция может включать «терапевтически эффективное количество» агента, описанного в настоящем документе. Такие эффективные количества могут быть определены на основе действия вводимого агента или комбинаторного действия агентов, если используется более одного агента. Терапевтически эффективное количество агента может также варьировать в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания, возраст, пол и вес человека, а также способность соединения вызывать желаемый ответ у человека, например, улучшение по меньшей мере одного параметра расстройства или улучшение по меньшей мере одного симптома расстройства. Терапевтически эффективное количество также является таким, при котором любые токсические или вредные эффекты композиции перевешиваются терапевтически полезными эффектами.

Получение антител и фармацевтических композиций антител

В некоторых вариантах осуществления антитела, связывающиеся с PD-1 человека, содержат константную область тяжелой цепи и легкой цепи человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи содержит домен CH1 и шарнирную область. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи содержит домен CH3. Если константная область тяжелой цепи содержит замены, такие замены изменяют свойства антитела (например, увеличивают или уменьшают одно или несколько из: связывания с Fc-рецептором, гликозилирования антитела, количества остатков цистеина, функции эффекторных клеток или функции комплемента). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG. В конкретных вариантах осуществления антитело выбрано из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

Антитела, такие как АНТИТЕЛО X, могут быть получены, например, путем подготовки и экспрессии синтетических генов, которые кодируют указанные аминокислотные последовательности, или путем мутации зародышевых генов человека

для получения гена, который кодирует указанные аминокислотные последовательности. Более того, это антитело и другие антитела, связывающиеся с PD-1 человека, могут быть получены, например, с помощью одного или нескольких из следующих способов.

Гуманизированные антитела могут быть получены путем замены последовательностей вариабельной области Fv, которые не участвуют непосредственно в связывании антигена, на эквивалентные последовательности из вариабельных областей Fv человека. Общие способы получение гуманизированных антител представлены Morrison, S. L., Science, 229:1202-1207 (1985), Oi et al., BioTechniques,4:214 (1986) и а Патентах США №№ 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; 5,859,205; и 6,407,213. Эти способы включают выделение, манипулирование и экспрессию последовательностей нуклеиновых кислот, которые кодируют все или часть вариабельных областей Fv иммуноглобулина по меньшей мере одной из тяжелой или легкой цепи. Источники такой нуклеиновой кислоты хорошо известны специалистам в данной области и, например, могут быть получены из гибридомы, продуцирующей антитело против заранее определенной мишени, как описано выше, из генов иммуноглобулинов зародышевой линии или из синтетических конструкций. Затем рекомбинантную ДНК, кодирующую гуманизированное антитело, можно клонировать в соответствующий вектор экспрессии.

Последовательности зародышевой линии человека, например, раскрыты в Tomlinson, I.A. et al., J. Mol. Biol., 227:776-798 (1992); Cook, G. P. et al., Immunol. Today, 16: 237-242 (1995); Chothia, D. et al., J. Mol. Bio. 227:799-817 (1992); и Tomlinson et al., EMBO J., 14:4628-4638 (1995). Каталог V BASE предоставляет полный каталог последовательностей вариабельной области иммуноглобулина человека (составлен Tomlinson, LA. et al. MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK). Эти последовательности могут быть использованы в качестве источника человеческих последовательностей, например, для каркасных областей и CDR. Также можно использовать консенсусные каркасные области человека, например, как описано в патенте США №6,300,064.

Можно использовать и другие способы гуманизации антител. Например, другие способы могут учитывать трехмерную структуру антитела, положения каркаса, находящиеся в трехмерной близости к связывающим детерминантам, и иммуногенные пептидные последовательности. См., например, WO 90/07861; патенты США №№ 5,693,762; 5,693,761; 5,585,089; 5,530,101; и 6,407,213; Tempest et al. (1991) Biotechnology 9:266-271. Еще один способ называется «очеловечивание» и описан, например, в U.S. 2005-008625.

Антитело может содержать человеческую Fc-область, например, Fc-область дикого типа или Fc-область, содержащую одно или несколько изменений. В одном варианте осуществления константная область изменена, например, мутирована, для изменения свойств антитела (например, для увеличения или уменьшения одного или нескольких из: связывания с Fc-рецептором, гликозилирования антитела, количества остатков цистеина, функции эффекторных клеток или функции комплемента). Например, константная

область IgG1 человека может быть мутирована в одном или нескольких остатках, например, в одном или нескольких из остатков 234 и 237 (в соответствии с нумерацией Кабата). Антитела могут иметь мутации в области CH2 тяжелой цепи, которые снижают или изменяют эффекторную функцию, например, связывание с Fc-рецептором и активацию комплемента. Например, антитела могут иметь мутации, такие как описанные в патентах США №№ 5,624,821 и 5,648,260. Антитела также могут иметь мутации, стабилизирующие дисульфидную связь между двумя тяжелыми цепями иммуноглобулина, например, мутации в шарнирной области IgG4, как раскрыто в данной области техники (например, в Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105-08). См. также, например, U.S. 2005-0037000.

Антитела, связывающиеся с PD-1 человека или PD-L1 человека, могут быть в виде полноразмерных антител или в виде низкомолекулярных форм (например, биологически активных фрагментов антител или минител) антител, связывающихся с PD-1 человека или PD-L1 человека, например, Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, Fd, dAb, scFv и sc(Fv)2. Другие антитела, охватываемые настоящим изобретением, включают однодоменные антитела (sdAb), содержащие одну вариабельную цепь, например, VH или VL, или их биологически активный фрагмент. См., например, Moller et al., J. Biol. Chem., 285(49): 38348-38361 (2010); Harmsen et al., Appl. Microbiol. Biotechnol., 77(1):13-22 (2007); U.S. 2005/0079574 и Davies et al. (1996) Protein Eng., 9(6):531-7. Как и цельное антитело, sdAb способен избирательно связываться со специфическим антигеном. Имея молекулярную массу всего 12-15 кДа, sdAb намного меньше обычных антител и даже меньше Fab-фрагментов и одноцепочечных вариабельных фрагментов.

В данном документе представлены композиции, содержащие смесь антитела, связывающегося с PD-1 человека или PD-L1 человека, или его антигенсвязывающего фрагмента, и одного или нескольких кислых вариантов, например, где количество кислого варианта(ов) составляет менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5% или 1%. Также представлены композиции, содержащие антитело, связывающееся с PD-1 человека или PD-L1 человека, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее по меньшей мере один сайт деамидирования, при этом pH композиции составляет от около 5,0 до около 6,5, так что, например, по меньшей мере около 90% антител не деамидированы (т.е. менее около 10% антител деамидированы). В некоторых вариантах осуществления менее чем около 5%, 3%, 2% или 1% антител являются деамидированными. pH может быть от 5,0 до 6,0, например, 5,5 или 6,0. В некоторых вариантах осуществления pH композиции составляет 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5.

«Кислотный вариант» представляет собой вариант представляющего интерес полипептида, который является более кислым (например, по результатам катионообменной хроматографии), чем представляющий интерес полипептид. Примером кислотного варианта является деамидированный вариант.

«Деамидированный» вариант полипептидной молекулы представляет собой полипептид, в котором один или несколько остатков аспарагина исходного полипептида

были преобразованы в аспартат, т. е., нейтральная амидная боковая цепь была преобразована в остаток с общим кислотным характером.

Термин «смесь», используемый в настоящем документе в отношении композиции, содержащей антитело, связывающееся с PD-1 или PD-L1 человека или его антигенсвязывающим фрагментом, означает присутствие как желаемого антитела, связывающегося с PD-1 или PD-L1 человека или его антигенсвязывающим фрагментом, так и одного или нескольких его кислотных вариантов. Кислотные варианты могут включать преимущественно деамидированное антитело, связывающееся с PD-1 или PD-L1 человека, с незначительным количеством другого кислотного варианта (вариантов).

В определенных вариантах осуществления аффинность связывания (K_D), скорость ассоциации (K_D on) и/или скорость диссоциации (K_D off) антитела, которое было мутировано для устранения деамидирования, аналогична таковой у антитела дикого типа, например, разница составляет менее 5 раз, 2 раз, 1 раз (100%), 50%, 30%, 20%, 10%, 5%, 3%, 2% или 1%.

Фрагменты антител

Фрагменты антител (например, Fab, Fab', F(ab')2, Facb и Fv) могут быть получены путем протеолитического расщепления интактных антител. Например, фрагменты антител могут быть получены путем обработки целого антитела ферментом, таким как папаин, пепсин или плазмин. Расщепление целых антител папаином дает F(ab)2 или Fab фрагменты; расщепление целых антител пепсином дает F(ab')2 или Fab'; расщепление целых антител плазмином дает Facb фрагменты.

В качестве альтернативы фрагменты антител могут быть получены рекомбинантным путем. Например, нуклеиновые кислоты, кодирующие интересующие фрагменты антител, могут быть сконструированы, введены в экспрессионный вектор и экспрессированы в подходящих клетках-хозяевах. См., например, Co, M.S. et al., J. Immunol., 152:2968-2976 (1994); Better, M. and Horwitz, A.H., Methods in Enzymology, 178:476-496 (1989); Plueckthun, A. and Skerra, A., Methods in Enzymology, 178:476-496 (1989); Lamoyi, E., Methods in Enzymology, 121:652-663 (1989); Rousseaux, J. et al., Methods in Enzymology, (1989) 121:663-669 (1989) и Bird, R.E. et al., TIBTECH, 9:132-137 (1991)). Фрагменты антител могут экспрессироваться в E. coliи выделяться из нее, что позволяет легко получать большое количество этих фрагментов. Фрагменты антител могут быть выделены из фаговых библиотек антител. Альтернативно, Fab'-SH фрагменты могут быть непосредственно выделены из E. coli и химически соединены с образованием F(ab)2 фрагментов (Carter et al., Bio/Technology, 10:163-167 (1992)). Согласно другому подходу, фрагменты F(ab')2 могут быть выделены непосредственно из культуры рекомбинантных клеток-хозяев. Фрагмент Fab и фрагмент F(ab') 2 с увеличенным периодом полужизни in vivo, содержащие остатки эпитопа, связывающегося с рецептором, описаны в Патенте США № 5,869,046.

Минитела

Минитела антител, которые связываются с PD-1 человека или PD-L1 человека,

включают диатела, одноцепочечные (scFv) и одноцепочечные (Fv)2 (sc(Fv)2).

«Диатело» - это бивалентное минитело, созданное путем слияния генов (см., например, Holliger, P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 90:6444-6448 (1993); EP 404,097; WO 93/11161). Диатела представляют собой димеры, состоящие из двух полипептидных цепей. Домены VL и VH каждой полипептидной цепи диатела связаны линкерами. Количество аминокислотных остатков, составляющих линкер, может составлять от 2 до 12 остатков (например, 3-10 остатков или пять или около пяти остатков). Линкеры полипептидов в диателе обычно слишком коротки, чтобы позволить VL и VH связываться друг с другом. Таким образом, VL и VH, закодированные в одной полипептидной цепи, не могут образовывать одноцепочечный фрагмент вариабельной области, а вместо этого образуют димер с другим одноцепочечным фрагментом вариабельной области. В результате диатело имеет два антигенсвязывающих участка.\

scFv представляет собой одноцепочечное полипептидное антитело, полученное путем соединения VH и VL с помощью линкера (см., например, Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 85:5879-5883 (1988); и Plickthun, “The Pharmacology of Monoclonal Antibodies” Vol.113, Ed Resenburg and Moore, Springer Verlag, New York, pp.269-315, (1994)). Порядок расположения VH и VL, подлежащих соединению, не является особо ограниченным, и они могут быть расположены в любом порядке. Примеры расположения включают: [VH] линкер [VL]; или [VL] линкер [VH]. Область V цепи H и область V цепи L в scFv могут быть получены из любого антитела, связывающегося с PD-1 человека или PD-L1 человека, или их антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе.

Sc(Fv)2 представляет собой минитело, в котором два VH и два VL соединены линкером с образованием одной цепи (Hudson, et al., J. Immunol. Methods, (1999) 231: 177-189 (1999)). Sc(Fv)2 может быть приготовлен, например, путем соединения scFv с линкером. Sc(Fv)2 настоящего изобретения включают антитела, предпочтительно, в которых два VH и два VL расположены в порядке: VH, VL, VH и VL ([VH] линкер [VL] линкер [VH] линкер [VL]), начиная с N-конца одноцепочечного полипептида; однако порядок двух VH и двух VL не ограничивается вышеуказанным расположением, и они могут быть расположены в любом порядке.

Биспецифические антитела

Биспецифические антитела представляют собой антитела, обладающие специфичностью связывания по меньшей мере с двумя различными эпитопами. Примерные биспецифические антитела могут связываться с двумя различными эпитопами белка PD-1. Другие такие антитела могут сочетать сайт связывания PD-1 с сайтом связывания другого белка. Биспецифические антитела могут быть приготовлены в виде полноразмерных антител или их низкомолекулярных форм (например, F(ab')2 биспецифические антитела, sc(Fv) $_2$ биспецифические антитела, диатела и биспецифические антитела).

Традиционное производство биспецифических полноразмерных антител основано

на совместной экспрессии двух пар иммуноглобулинов тяжелая цепь-легкая цепь, где две цепи имеют различную специфичность (Millstein et al., Nature, 305:537-539 (1983)). В другом подходе вариабельные домены антител с желаемой специфичностью связывания сливаются с последовательностями константного домена иммуноглобулина. ДНК, кодирующие слияния тяжелой цепи иммуноглобулина и, при желании, легкой цепи иммуноглобулина, вводятся в отдельные векторы экспрессии и подвергаются совместной трансфекции в подходящую клетку-хозяина. Это обеспечивает большую гибкость в регулировании пропорций трех полипептидных фрагментов. Однако можно вставлять кодирующие последовательности для двух или всех трех полипептидных цепей в один вектор экспрессии, когда экспрессия по меньшей мере двух полипептидных цепей в равных соотношениях приводит к высоким выходам.

Согласно другому подходу, описанному в Патенте США № 5,731,168, интерфейс между парой молекул антител может быть спроектирован таким образом, чтобы максимизировать процент гетеродимеров, которые извлекаются из рекомбинантной клеточной культуры. Предпочтительная область взаимодействия включает по меньшей мере часть домена C_{H3}. В этом способе одна или несколько небольших боковых цепей аминокислот из интерфейса первой молекулы антитела заменяются на более крупные боковые цепи (например, тирозин или триптофан). Компенсационные «полости» идентичного или сходного размера с большой боковой цепью (цепями) создаются на интерфейсе второй молекулы антитела путем замены больших боковых цепей аминокислот на меньшие (например, аланин или треонин). Это обеспечивает механизм увеличения выхода гетеродимера по сравнению с другими нежелательными конечными продуктами, такими как гомодимеры.

Биспецифические антитела включают сшитые или «гетероконъюгированные» антитела. Например, одно из антител в гетероконъюгате может быть соединено с авидином, а другое - с биотином. Гетероконъюгированные антитела могут быть получены с использованием любых удобных способов сшивания.

Технология «диател» обеспечивает альтернативный механизм создания биспецифических фрагментов антител. Фрагменты состоят из VH, соединенного с VL линкером, который слишком короткий, чтобы обеспечить сопряжение между двумя доменами на одной цепи. Соответственно, домены VH и VL одного фрагмента вынуждены объединяться с комплементарными доменами VL и VH другого фрагмента, образуя таким образом два антигенсвязывающих сайта.

Мультивалентные антитела

Мультивалентное антитело может быть интернализовано (и/или катаболизировано) быстрее, чем бивалентное антитело клеткой, экспрессирующей антиген, с которым связываются антитела. Описанные в данном документе антитела могут быть мультивалентными антителами с тремя или более сайтами связывания антигена (например, четырехвалентными антителами), которые могут быть легко получены путем рекомбинантной экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептидные цепи

антитела. Мультивалентное антитело может содержать домен димеризации и три или более участков связывания антигена. Примерный домен димеризации содержит (или состоит из) Fc-области или шарнирной области. Мультивалентное антитело может включать (или состоять из) от трех до около восьми (например, четырех) сайтов связывания антигена. Мультивалентное антитело необязательно содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (например, по меньшей мере две полипептидные цепи), где полипептидная цепь (цепи) содержит два или более вариабельных домена. Например, полипептидная цепь(и) может содержать VD1-$(X1)_n$-VD2-$(X2)_n$-Fc, где VD1 представляет собой первый вариабельный домен, VD2 представляет собой второй вариабельный домен, Fc представляет собой полипептидная цепь области Fc, X1 и X2 представляют собой аминокислотный или пептидный спейсер, а n равен 0 или 1.

Конъюгированные антитела

Антитела, раскрытые в настоящем документе, могут быть конъюгированными антителами, которые связаны с различными молекулами, включая макромолекулярные вещества, такие как полимеры (например, полиэтиленгликоль (PEG), полиэтиленимин (PEI), модифицированный PEG (PEI-PEG), полиглутаминовая кислота (PGA) (N-(2-гидроксипропил) метакриламид (HPMA) сополимеры), гиалуроновая кислота, радиоактивные материалы (например, ^{90}Y, ^{131}I) флуоресцентные вещества, люминесцентные вещества, гаптены, ферменты, хелаты металлов, лекарства и токсины (например, кальхеамицин, экзотоксин Pseudomonas A, рицин (например, дегликозилированная цепь рицина A)).

В одном из вариантов осуществления для улучшения цитотоксического действия антител, связывающихся с PD-1 или PD-L1 человека, и, соответственно, их терапевтической эффективности, антитела конъюгируют с высокотоксичными веществами, включая радиоизотопы и цитотоксические агенты. Эти конъюгаты могут селективно доставлять токсический груз к участку-мишени (т.е. клеткам, экспрессирующим антиген, распознаваемый антителом), в то время как клетки, не распознаваемые антителом, остаются в стороне. Чтобы минимизировать токсичность, конъюгаты обычно разрабатываются на основе молекул с коротким периодом полураспада в сыворотке крови (поэтому используются мышиные последовательности и изотипы IgG3 или IgG4).

В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с PD-1 человека или PD-L1 человека, или их антигенсвязывающий фрагмент модифицированы мотивом, который улучшает их стабилизацию и/или удержание в кровотоке, например, в крови, сыворотке или других тканях, например, по меньшей мере в 1,5, 2, 5, 10 или 50 раз. Например, антитело, связывающееся с PD-1 человека или PD-L1 человека, или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть связаны с (например, конъюгированы с) полимером, например, практически неантигенным полимером, таким как полиалкиленоксид или полиэтиленоксид. Подходящие полимеры будут существенно отличаться по весу. Можно использовать полимеры со средним молекулярным числом от

около 200 до около 35000 дальтонов (или от около 1000 до около 15000, от около 2000 до около 12500). Например, антитело, связывающееся с PD-1 человека или PD-L1 человека, или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть конъюгированы с водорастворимым полимером, например, гидрофильным поливиниловым полимером, например, поливиниловым спиртом или поливинилпирролидоном. Примеры таких полимеров включают гомополимеры полиалкиленоксида, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ) или полипропиленгликоли, полиоксиэтилированные полиолы, их сополимеры и блок-сополимеры, при условии, что растворимость блок-сополимеров в воде сохраняется. Дополнительные полезные полимеры включают полиоксиалкилены, такие как полиоксиэтилен, полиоксипропилен и блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена; полиметакрилаты; карбомеры; и разветвленные или неразветвленные полисахариды.

Описанные выше конъюгированные антитела могут быть получены путем проведения химических модификаций антител или их низкомолекулярных форм, описанных в настоящем документе. Способы модификации антител хорошо известны в данной области (например, US 5057313 и US 5156840).

Способы получения антител

Антитела могут вырабатываться в бактериальных или эукариотических клетках. Некоторые антитела, например, Fab, могут вырабатываться в бактериальных клетках, например, в клетках *E. coli*. Антитела также могут быть получены в эукариотических клетках, таких как трансформированные клеточные линии (например, CHO, 293E, COS). Кроме того, антитела (например, scFv) могут быть экспрессированы в дрожжевой клетке, такой как Pichia (см., например, Powers et al., J Immunol Methods. 251:123-35 (2001)), Hanseula, или Saccharomyces. Для получения интересующего антитела конструируют полинуклеотид, кодирующий антитело, вводят его в экспрессионный вектор и затем экспрессируют в подходящих клетках-хозяевах. Для приготовления рекомбинантного вектора экспрессии, трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев и восстановления антитела используются стандартные методики молекулярной биологии.

Если антитело должно быть экспрессировано в бактериальных клетках (например, E. coli), вектор экспрессии должен иметь характеристики, позволяющие амплифицировать вектор в бактериальных клетках. Кроме того, если в качестве хозяина используется E. coli, такая как JM109, DH5α, HB101 или XL1-Blue, вектор должен иметь промотор, например, промотор lacZ (Ward et al., 341:544-546 (1989), промотор araB (Better et al., Science, 240:1041-1043 (1988)), или промотор T7, обеспечивающий эффективную экспрессию в E. coli. Примеры таких векторов включают, например, векторы серии M13, векторы серии pUC, pBR322, pBluescript, pCR-Script, pGEX-5X-1 (Pharmacia), «QIAexpress system» (QIAGEN), pEGFP и pET (когда используется этот вектор экспрессии, хозяином предпочтительно является BL21, экспрессирующий РНК-полимеразу T7). Вектор экспрессии может содержать сигнальную последовательность для секреции антитела. Для

производства в периплазму E. coli, сигнальная последовательность pelB (Lei et al., J. Bacteriol., 169:4379 (1987)) может использоваться в качестве сигнальной последовательности для секреции антител. Для бактериальной экспрессии можно использовать методики хлорида кальция или электропорации для введения вектора экспрессии в бактериальную клетку.

Если антитело должно быть экспрессировано в животных клетках, таких как клетки CHO, COS и NIH3T3, вектор экспрессии включает промотор, необходимый для экспрессии в этих клетках, например, промотор SV40 (Mulligan et al., Nature, 277:108 (1979)), промотор MMLV-LTR, промотор EF1α (Mizushima et al., Nucleic Acids Res., 18:5322 (1990)) или промотор CMV. В дополнение к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей иммуноглобулин или его домен, рекомбинантные экспрессионные векторы могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, регулирующие репликацию вектора в клетках хозяина (например, точки начала репликации) и селектируемые маркерные гены. Селектируемый маркерный ген облегчает отбор клеток-хозяев, в которые был введен вектор (см., например, патенты США №№ 4,399,216, 4,634,665 и 5,179,017). Например, обычно ген селективного маркера придает устойчивость к лекарственным препаратам, таким как G418, гигромицин или метотрексат, клетке-хозяину, в которую был введен вектор. Примеры векторов с селективными маркерами включают pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV и pOP13.

В одном варианте осуществления антитела производятся в клетках млекопитающих. Примерные клетки хозяина-млекопитающего для экспрессии антитела включают клетки яичника китайского хомячка (клетки CHO) (включая клетки dhfr$^-$ CHO, описанные в Urlaub and Chasin (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, используемые с селективным маркером DHFR, например, как описано в Kaufman and Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621), клетки эмбриональной почки человека 293 (например, 293, 293E, 293T), клетки COS, клетки NIH3T3, лимфоцитарные клеточные линии, например, клетки миеломы NS0 и клетки SP2, и клетку от трансгенного животного, например, трансгенного млекопитающего. Например, клетка представляет собой эпителиальную клетку млекопитающего.

В примерной системе для экспрессии антител рекомбинантный вектор экспрессии, кодирующий как тяжелую цепь антитела, так и легкую цепь антитела, связывающегося с PD-1 человека или PD-L1 человека (например, АНТИТЕЛО X), вводится в dhfr$^-$ клетки CHO путем трансфекции, опосредованной фосфатом кальция. В рекомбинантном векторе экспрессии гены тяжелой и легкой цепи антитела оперативно связаны с усиливающими/промоторными регуляторными элементами (например, полученными из SV40, CMV, аденовируса и т. п., такими как усиливающий/промоторный регуляторный элемент CMV или усиливающий/промоторный регуляторный элемент SV40) для обеспечения высокого уровня транскрипции генов. Рекомбинантный экспрессионный вектор также несет ген DHFR , что позволяет отбирать клетки CHO, трансфицированные вектором, с помощью селекции/амплификации метотрексатом. Отобранные

трансформированные клетки-хозяева культивируются для обеспечения экспрессии тяжелой и легкой цепей антитела, и антитело извлекается из культуральной среды.

Антитела также могут быть получены с помощью трансгенного животного. Например, в патенте США № 5,849,992 описывает способ экспрессии антитела в молочной железе трансгенного млекопитающего. Конструируется трансген, содержащий промотор, специфичный для молока, и нуклеиновые кислоты, кодирующие интересующее антитело и сигнальную последовательность для секреции. Молоко, производимое самками таких трансгенных млекопитающих, включает секретируемое в него интересующее антитело. Антитело может быть очищено от молока или, в некоторых случаях, использовано напрямую. Также предоставляются животные, содержащие одну или более нуклеиновых кислот, описанных в настоящем документе.

Антитела настоящего изобретения могут быть выделены изнутри или снаружи (например, из среды) клетки-хозяина и очищены как по существу чистые и гомогенные антитела. Способы выделения и очистки, обычно используемые для очистки антител, могут быть использованы для выделения и очистки антител и не ограничиваются каким-либо конкретным способом. Антитела могут быть выделены и очищены путем соответствующего выбора и сочетания, например, колоночной хроматографии, фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, осаждения растворителем, экстракции растворителем, дистилляции, иммунопреципитации, SDS-полиакриламидного гель-электрофореза, изоэлектрического фокусирования, диализа и перекристаллизации. Хроматография включает, например, аффинную хроматографию, ионообменную хроматографию, гидрофобную хроматографию, гель-фильтрацию, обращенно-фазовую хроматографию и адсорбционную хроматографию (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996). Хроматографию можно проводить с помощью жидкофазной хроматографии, такой как ВЭЖХ и ЖХБР. Колонки, используемые для аффинной хроматографии, включают колонку с протеином A и колонку с протеином G. Примеры колонок с белком A включают Hyper D, POROS и Sepharose FF (GE Healthcare Biosciences). Настоящее изобретение также включает антитела, которые являются высокоочищенными с помощью этих способов очистки.

Антитела с измененным гликозилированием

Различные гликоформы могут существенно влиять на свойства терапевтического средства, включая фармакокинетику, фармакодинамику, взаимодействие с рецепторами и тканеспецифическое нацеливание (Graddis et al., 2002, Curr Pharm Biotechnol. 3: 285-297). В частности, для антител олигосахаридная структура может влиять на свойства, связанные с устойчивостью к протеазам, сывороточным периодом полужизни антитела, опосредованным рецептором FcRn, фагоцитозом и обратной связью антитела, в дополнение к эффекторным функциям антитела (например, связывание с комплексом комплемента C1, который вызывает КЗЦ, и связывание с рецепторами FcγR, которые отвечают за модуляцию пути АЗКЦ) (Nose and Wigzell, 1983; Leatherbarrow and Dwek,

1983; Leatherbarrow et al.,1985; Walker et al., 1989; Carter et al., 1992, PNAS, 89: 4285-4289).

Соответственно, другой способ модуляции эффекторной функции антител включает изменение гликозилирования константной области антитела. Измененное гликозилирование включает, например, уменьшение или увеличение количества гликозилированных остатков, изменение структуры или расположения гликозилированных остатков, а также изменение структуры (структур) сахара. Олигосахариды, содержащиеся в IgG человека, влияют на степень их эффекторной функции (Raju, T.S. BioProcess International April 2003. 44-53); микрогетерогенность олигосахаридов IgG человека может влиять на такие биологические функции, как КЗЦ и АЗКЦ, связывание с различными Fc-рецепторами и связывание с белком C1q (Wright A. & Morrison SL. TIBTECH 1997, 15 26-32; Shields et al. J Biol Chem. 2001 276(9):6591-604; Shields et al. J Biol Chem. 2002; 277(30):26733-40; Shinkawa et al. J Biol Chem. 2003 278(5):3466-73; Umana et al. Nat Biotechnol. 1999 Feb; 17(2): 176-80). Например, способность IgG связывать C1q и активировать каскад комплемента может зависеть от наличия, отсутствия или модификации углеводной связи, расположенной между двумя доменами CH2 (которая обычно закреплена на Asn297) (Ward and Ghetie, Therapeutic Immunology 2:77-94 (1995).

Участки гликозилирования в Fc-содержащем полипептиде, например, в антителе, таком как антитело IgG, могут быть идентифицированы стандартными способами. Идентификация сайта гликозилирования может быть экспериментальной или основанной на анализе последовательности или данных моделирования. Были описаны консенсусные мотивы, то есть аминокислотные последовательности, распознаваемые различными гликозилтрансферазами. Например, консенсусный мотив для мотива N-связанного гликозилирования часто представляет собой NXT или NXS, где X может быть любой аминокислотой, кроме пролина. Также было описано несколько алгоритмов для поиска потенциального мотива гликозилирования. Соответственно, чтобы определить потенциальные сайты гликозилирования в антителе или Fc-содержащем фрагменте, последовательность антитела изучается, например, с помощью общедоступных баз данных, таких как веб-сайт, предоставленный Центром анализа биологических последовательностей (см. сервисы NetNGlyc для предсказания сайтов N-связанного гликозилирования и NetOGlyc для предсказания сайтов O-связанного гликозилирования).

Исследования in vivo подтвердили снижение эффекторной функции агликозильных антител. Например, агликозильное анти-CD8 антитело не способно истощать CD8-содержащие клетки у мышей (Isaacs, 1992 J. Immunol. 148: 3062), а агликозильное анти-CD3 антитело не вызывает синдром высвобождения цитокинов у мышей или людей (Boyd, 1995 supra; Friend, 1999 Transplantation 68:1632). Агликозилированные формы антитела PD-1 также обладают пониженной эффекторной функцией.

Важно отметить, что удаление гликанов в домене CH2 оказывает значительное влияние на эффекторную функцию, однако другие функциональные и физические свойства антитела остаются неизменными. В частности, было показано, что удаление

гликанов практически не влияет на период полураспада в сыворотке и связывание с антигеном (Nose, 1983 supra; Tao, 1989 supra; Dorai, 1991 supra; Hand, 1992 supra; Hobbs, 1992 Mol. Immunol. 29:949).

Антитела, связывающиеся с человеческим PD-1 или человеческим PD-L1 настоящего изобретения, могут быть модифицированы или изменены таким образом, чтобы вызывать повышенную или пониженную эффекторную функцию (функции) (по сравнению со вторым PD-1-специфическим антителом). Способы изменения участков гликозилирования антител описаны, например, в US 6,350,861 и US 5,714,350, WO 05/18572 и WO 05/03175; эти способы могут быть использованы для получения антител настоящего изобретения с измененным, уменьшенным или отсутствующим гликозилированием.

Солидные опухоли и раки

Описанные в данном документе способы включают лечение раковых заболеваний, предпочтительно солидных опухолей.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль выбрана из рака кожи, рака легкого, лимфомы, саркомы, рака мочевого пузыря, рака мочеточника, уретры и мочеиспускательного канала, рака желудка, рака шейки матки, рака печени, рака молочной железы, рака почки, плоскоклеточной карциномы, колоректального рака, рака эндометрия, анального рака, а также опухоли с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI-H), дефицитом репарации несоответствия (dMMR) и положительного по мутации домена экзонуклеазы ε ДНК-полимеразы заболевания.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль выбрана из холангиокарциномы, меланомы, немелкоклеточного рака легких, мелкоклеточного рака легких, лимфомы Ходжкина, уротелиальной карциномы, рака желудка, гепатоцеллюлярной карциномы, карциномы клеток Меркеля, трижды негативного рака молочной железы, почечно-клеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи и колоректального рака.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль является микросателлит-стабильной (MSS). В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль является PD-L1-позитивной. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль является микросателлит-стабильной (MSS) и PD-L1-позитивной. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак эндометрия (например, карциному эндометрия). В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак мочевого пузыря (например, немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, такой как невосприимчивый к Bacillus Calmette-Guerin немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря).

Примеры раковых заболеваний, которые поддаются лечению с использованием способов и схем лечения настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими, рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, кожную или внутриглазную злокачественную меланому, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки,

рак анальной области, рак желудка, рак яичек, рак матки, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, рак эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, болезнь Ходжкина, неходжкинскуюя лимфому, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак мочеточника, уретры и мочеиспускательного канала, рак желудка, рак полового члена, хронические или острые лейкозы, включая острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарную лимфому, рак мочевого пузыря, рак почки или уретры, карциному почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, глиому ствола мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, экологически индуцированные раки, включая рак, индуцированный асбестом, и комбинации указанных видов рака. Способы настоящего изобретения также полезны для лечения метастатического рака, особенно метастатического рака, который экспрессирует PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак эндометрия. В некоторых вариантах осуществления рак эндометрия является микросателлит-стабильным (MSS). В некоторых вариантах осуществления рак эндометрия является PD-L1-позитивным. В некоторых вариантах осуществления рак эндометрия является микросателлит-стабильным (MSS) и PD-L1-позитивным. В некоторых вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой метастатический рак эндометрия. В некоторых вариантах осуществления рак эндометрия является метастатическим, микросателлит-стабильным (MSS) и PD-L1-позитивным раком эндометрия (например, метастатическая, микросателлит-стабильная (MSS) и PD-L1-позитивная карцинома эндометрия).

В некоторых вариантах осуществления настоящая заявка предоставляет способ лечения микросателлит-стабильного (MSS), PD-L1-позитивного рака эндометрия (например, микросателлит-стабильной (MSS), PD-L1-позитивной карциномы эндометрия) у пациента, включающий введение указанному пациенту:

(I) эпакадостата или его фармацевтически приемлемой соли в дозе около 600 мг на основе свободного основания 2 раза в день; и

(ii) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывается с PD-1 человека, где антитело содержит (ii-1) вариабельный домен (VH) тяжелой цепи, содержащий область определения комплементарности (CDR)1, CDR2 VH и CDR3 VH; и (ii-2) вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL; где:

(a) CDR1 VH содержит аминокислотную последовательность SYWMN (**SEQ ID NO:6**);

(b) CDR2 VH содержит аминокислотную последовательность

VIHPSDSETWLDQKFKD (**SEQ ID NO:7**);

(c) CDR3 VH содержит аминокислотную последовательность EHYGTSPFAY (**SEQ ID NO:8**);

(d) CDR1 VL содержит аминокислотную последовательность RASESVDNYGMSFMNW (**SEQ ID NO:9**);

(e) CDR2 VL содержит аминокислотную последовательность AASNQGS (**SEQ ID NO:10**); и

(f) CDR3 VL содержит аминокислотную последовательность QQSKEVPYT (**SEQ ID NO:11**);

причем антитело вводится в фиксированной дозе около 375 мг один раз в три недели или около 500 мг один раз в четыре недели. В некоторых вариантах осуществления микросателлит-стабильный (MSS), PD-L1-позитивный рак эндометрия представляет собой метастатический микросателлит-стабильный (MSS), PD-L1-позитивный рак эндометрия.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления рак мочевого пузыря представляет собой немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря (например, невосприимчивый к Bacillus Calmette-Guerin немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря).

В некоторых вариантах осуществления настоящая заявка предоставляет способ лечения немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря у пациента, включающий введение указанному пациенту:

(i) эпакадостата или его фармацевтически приемлемой соли в дозе около 600 мг на основе свободного основания 2 раза в день; и

(ii) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывается с PD-1 человека, где антитело содержит (ii-1) вариабельный домен (VH) тяжелой цепи, содержащий область определения комплементарности (CDR)1, CDR2 VH и CDR3 VH; и (ii-2) вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL; где:

(a) CDR1 VH содержит аминокислотную последовательность SYWMN (**SEQ ID NO:6**);

(b) CDR2 VH содержит аминокислотную последовательность VIHPSDSETWLDQKFKD (**SEQ ID NO:7**);

(c) CDR3 VH содержит аминокислотную последовательность EHYGTSPFAY (**SEQ ID NO:8**);

(d) CDR1 VL содержит аминокислотную последовательность RASESVDNYGMSFMNW (**SEQ ID NO:9**);

(e) CDR2 VL содержит аминокислотную последовательность AASNQGS (**SEQ ID NO:10**); и

(f) CDR3 VL содержит аминокислотную последовательность QQSKEVPYT (**SEQ ID NO:11**);

причем антитело вводится в фиксированной дозе около 375 мг один раз в три

недели или около 500 мг один раз в четыре недели.

В некоторых вариантах осуществления рак мочевого пузыря представляет собой невосприимчивый к Bacillus Calmette-Guerin немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря (например, невосприимчивый к БЦЖ немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря). В некоторых вариантах осуществления рак мочевого пузыря представляет собой невосприимчивый к БЦЖ немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря высокого риска. В некоторых вариантах осуществления рак мочевого пузыря представляет собой невосприимчивый к БЦЖ немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря высокого риска с карциномой in situ (CIS) (например, с папиллярными опухолями или без них). В некоторых вариантах осуществления пациент с немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря не подходит для проведения цистэктомии или было принято решении ее не проводить.

В некоторых вариантах осуществления рак, поддающийся лечению способами настоящего изобретения, включает опухоли с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI-H), дефицитом репарации несоответствия (dMMR) или положительное по мутации домена экзонуклеазного домена ДНК-полимеразы ε заболевание.

В некоторых вариантах осуществления рак имеет соотношение индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO) по меньшей мере 10.

В некоторых вариантах осуществления рак имеет соотношение индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO) по меньшей мере 50%.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки.

В некоторых вариантах осуществления рак почки представляет собой светлоклеточную карциному почки.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легкого.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой аденокарциному легкого.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному легкого.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи.

В некоторых вариантах осуществления рак, поддающийся лечению способами настоящего изобретения, включает меланому (например, метастатическая злокачественная меланома), рак почки (например, светлоклеточная карцинома), рак простаты (например, гормонорефрактерная аденокарцинома простаты), рак молочной железы, рак толстой кишки, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого и

мелкоклеточный рак легкого), плоскоклеточный рак головы и шеи, уротелиальный рак (например, мочевого пузыря) и рак с высокой микросателлитной нестабильностью (MSIhigh). Кроме того, изобретение включает рефрактерные или рецидивирующие злокачественные опухоли, рост которых может быть подавлен с помощью способов изобретения.

В некоторых вариантах осуществления раковые заболевания, которые можно лечить с помощью способов настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими, солидные опухоли (например, рак простаты, рак толстой кишки, рак пищевода, рак эндометрия, рак яичников, рак матки, рак почек, рак печени, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак молочной железы, рак легких, рак головы и шеи, рак щитовидной железы, глиобластома, саркома, рак мочевого пузыря и т. д.), гематологические раки (например, лимфома, лейкемия, такая как острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (CML), DLBCL, мантийноклеточную лимфому, неходжкинскую лимфому (включая рецидивирующую или рефрактерную NHL и рецидивирующую фолликулярную), лимфому Ходжкина или множественную миелому) и комбинации указанных видов рака.

В некоторых вариантах осуществления раковые заболевания, которые поддаются лечению с использованием способов и схем лечения настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими, холангиокарциному, рак желчных протоков, рак желчевыводящих путей, тройной негативный рак молочной железы, рабдомиосаркома, мелкоклеточный рак легкого, лейомиосаркому, гепатоцеллюлярную карциному, саркому Юинга, рак мозга, опухоль мозга, астроцитому, нейробластому, нейрофиброму, базальноклеточную карциному, хондросаркому, эпителиоидную саркому, рак глаза, рак фаллопиевой трубы, рак желудочно-кишечного тракта, гастроинтестинальные стромальные опухоли, волосатоклеточный лейкоз, рак кишечника, рак островковых клеток, рак полости рта, рак ротовой полости, рак горла, рак гортани, рак губы, мезотелиому, рак шеи, рак носовой полости, рак глаз, меланому глаза, рак таза, рак прямой кишки, почечно-клеточную карциному, рак слюнных желез, рак пазух, рак позвоночника, рак языка, тубулярную карциному, рак уретры и рак мочеточника.

В некоторых вариантах осуществления заболевания и признаки, которые поддаются лечению с помощью способов и схем лечения настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими, гематологические раки, саркомы, раки легких, раки желудочно-кишечного тракта, раки мочеполовой системы, раки печени, раки костей, раки нервной системы, гинекологические раки и раки кожи.

Примерные гематологические раки включают лимфомы и лейкемии, такие как острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), острый промиелоцитарный лейкоз (APL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ), диффузную крупноклеточную В-лимфому (ДЛБКЛ), мантийноклеточную лимфому, неходжкинскую лимфому (включая

рецидивирующую или рефрактерную НХЛ и рецидивирующую фолликулярную), лимфому Ходжкина, миелопролиферативные заболевания (например, первичный миелофиброз (ПМФ), истинную полицитемию (ИП), пост-эссенциальный тромбоцитемический миелофиброз, истинный пост-полицитемический миелофиброз, истинную пост-полицитемию/эссенциальную тромбоцитемию миелофиброз и эссенциальный тромбоцитоз (ЭТ)), синдром миелодисплазии (СДС), Т-клеточную острую лимфобластную лимфому (T-ALL) и множественную миелому (ММ).

Примерные саркомы включают хондросаркому, саркому Юинга, опухоль Аскина, остеосаркому, рабдомиосаркому, ангиосаркому, фибросаркому, липосаркому, миксому, рабдомиому, рабдосаркому, фиброму, липому, гарматому, тератома, гроздевидную саркому, хондросаркому, злокачественную гемангиоэндотелиому, злокачественную шванному, альвеолярную саркому мягких тканей, филлоидную цистосаркому, выбухающую дерматофибросаркому, десмоидную опухоль, десмопластическую мелкоклеточную круглоклеточную опухоль, эпителиоидную саркому, внекостную хондросаркому, внекостную остеосаркому, гастроинтестинальную стромальную опухоль (GIST), гемангиоперицитому, гемангиосаркому, саркому Капоши, лейомиосаркому, лимфангиосаркому, лимфосаркому, злокачественную опухоль оболочки периферического нерва (MPNST), нейрофибросаркому, синовиальную саркому и недифференцированную плеоморфную саркому.

Примерные виды рака легких включают немелкоклеточный рак легких (NSCLC) (например, плоскоклеточный NSCLC), мелкоклеточный рак легких, бронхогенную карциному (плоскоклеточную, недифференцированную мелкоклеточную, недифференцированную крупноклеточную, аденокарциному), альвеолярную (бронхиолярную) карциному, бронхиальную аденому, хондроматозную гамартому и мезотелиому.

Примерные виды рака желудочно-кишечного тракта включают рак пищевода (карцинома, плоскоклеточная карцинома, аденокарцинома, лейомиосаркома, лимфома), желудка (карцинома, лимфома, лейомиосаркома, аденокарцинома), поджелудочной железы (протоковая аденокарцинома, инсулинома, глюкагонома, гастринома, карциноидные опухоли, випома), тонкого кишечника (аденокарцинома, лимфома, карциноидные опухоли, саркома Капоши, лейомиома, гемангиома, липома, нейрофиброма, фиброма), толстого кишечника (аденокарцинома, тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, гамартома, лейомиома) и колоректальный рак (например, колоректальная аденокарцинома).

Примерные виды рака мочеполовых путей включают рак почки (аденокарцинома, опухоль Вильма [нефробластома]), мочевого пузыря и уретры (плоскоклеточная карцинома, переходноклеточная карцинома, аденокарцинома), простаты (аденокарцинома, саркома) и яичек (семинома, тератома, эмбриональная карцинома, тератокарцинома, хориокарцинома, саркома, интерстициальная клеточная карцинома, фиброма, фиброаденома, аденоматоидные опухоли, липома). В некоторых вариантах осуществления

рак представляет собой урологический рак (например, папиллярная карцинома почки, тестикулярный герминогенный рак, хромофобная почечно-клеточная карцинома, прозрачно-клеточная карцинома почки или аденокарцинома предстательной железы).

Примерные виды рака печени включают гепатому (гепатоцеллюлярную карциному), холангиокарциному, гепатобластому, ангиосаркому, гепатоцеллюлярную аденому и гемангиому.

Примерные виды рака костей включают, например, остеогенную саркому (остеосаркому), фибросаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, хондросаркому, саркому Юинга, злокачественную лимфому (ретикулоклеточную саркому), множественную миелому, злокачественная гигантоклеточную опухоль хордому, остеохронфрому (остеокартилагинозные экзостозы), доброкачественную хондрому, хондробластому, хондромиксофиброму, остеоидную остеому и гигантоклеточные опухоли.

Примерные виды рака нервной системы включают раки черепа (остеома, гемангиома, гранулема, ксантома, деформирующий остеит), оболочки головноо мозга (менингиома, менингиосаркома, глиоматоз), мозга (астроцитома, медуобластома, глиома, эпендимома, герминома (пинеалома), глиобластома, мультиформная глиобластома, олигодендроглиома, шваннома, ретинобластома, врожденные опухоли) и спинного мозга (нейрофиброма, менингиома, глиома, саркома), а также нейробластома и болезнь Лермитта-Дюкло.

Примерные гинекологические раки включают рак матки (карцинома эндометрия), шейки матки (карцинома шейки матки, предопухолевая дисплазия шейки матки), яичников (карцинома яичников (серозная цистаденокарцинома, серозная аденокарцинома, муцинозная цистаденокарцинома, неклассифицированная карцинома), гранулоса-текальные клеточные опухоли, опухоли клеток Сертоли-Лейдига, дисгерминома, злокачественная тератома), вульвы (плоскоклеточная карцинома, интраэпителиальная карцинома, аденокарцинома, фибросаркома, меланома), влагалища (прозрачно-клеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома, гроздевидная саркома (эмбриональная рабдомиосаркома) и маточных труб (карцинома).

Примерные виды рака кожи включают меланому, базальноклеточную карциному, плоскоклеточную карциному (например, кожную плоскоклеточную карциному), саркому Капоши, родинки, диспластические невусы, липому, ангиому, дерматофиброму и келоиды. В некоторых вариантах осуществления заболевания и признаки, которые можно лечить с помощью способов и схем лечения настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими, серповидно-клеточную болезнь (например, серповидно-клеточную анемию), трижды негативный рак молочной железы (TNBC), миелодиспластические синдромы, рак яичек, рак желчных протоков, рак пищевода и уротелиальную карциному.

В некоторых вариантах роеализации заболевания и признаки, которые можно лечить с помощью способов и схем лечения настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими, опухоль надпочечников, СПИД-ассоциированный рак,

альвеолярную саркому мягких тканей, астроцитарную опухоль, рак мочевого пузыря, рак костей, рак головного и спинного мозга, метастатическую опухоль головного мозга, рак молочной железы, опухоль тела сонной артерии, рак шейки матки, хондросаркому, хордому, хромофобную почечно-клеточную карциному, светло-клеточную карциному, рак толстой кишки, колоректальный рак, кожную доброкачественную фиброзную гистиоцитому, десмопластическую мелкоклеточную круглоклеточную опухоль, эпендимому, опухоль Юинга, внекостную миксоидную хондросаркому, несовершенный костный фиброгенез, фиброзную дисплазию кости, рак желчного пузыря или желчных протоков, рак желудка, гестационную трофобластическую болезнь, опухоль зародышевых клеток, рак головы и шеи, гепатоцеллюлярную карциному, опухоль островковых клеток, саркому Капоши, рак почки, лейкемию, липому/доброкачественную липоматозную опухоль, липосаркому/злокачественную липоматозную опухоль, рак печени, лимфома, рак легкого, медуллобластому, меланому, менингиому, множественную эндокринную неоплазию, множественную миелому, миелодиспластический синдром, нейробластому, нейроэндокринные опухоли, рак яичников, рак поджелудочной железы, папиллярную карциному щитовидной железы, опухоль паращитовидной железы, детский рак, опухоль оболочки периферического нерва, феохромоцитому, опухоль гипофиза, рак предстательной железы, постериальную увеальную меланому, редкое гематологическое заболевание, метастатический рак почки, рабдоидную опухоль, рабдомисаркому, саркому, рак кожи, саркому мягких тканей, плоскоклеточный рак, рак желудка, синовиальную саркому, рак яичка, тимическую карциному, тимому, метастатический рак щитовидной железы и рак матки.

В некоторых вариантах осуществления способы и схемы лечения рака настоящего изобретения выбраны из следующего, но не ограничиваются ими, колоректальный рак, гепатоцеллюлярная карцинома, глиома, рак почки, рак молочной железы, множественной миелома, рак мочевого пузыря, нейробластома; саркома, неходжкинская лимфома, немелкоклеточный рак легких, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, острый миелоидный лейкоз (AML), хронический миелогенный лейкоз (CML), острый В-лимфобластный лейкоз (B-ALL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), бластная плазмацитоидная дендритноклеточная неоплазма (BPDCN), неходжкинские лимфомы (NHL), включая мантейноклеточный лейкоз (MCL) и малую лимфоцитарную лимфому (SLL), лимфома Ходжкина, системный мастоцитоз и лимфома Беркитта.

Как используется в настоящем документе, термин «клетка» означает клетку, находящуюся in vitro, ex vivo или in vivo. В некоторых вариантах осуществления клетка ex vivo может быть частью образца ткани, извлеченного из организма, например, млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления клетка in vitro может быть клеткой в культуре клеток. В некоторых вариантах осуществления клетка in vivo представляет собой клетку, живущую в организме, например, млекопитающего.

Как используется в настоящем документе, термин «приведение в контакт»

относится к сближению указанных молекул в системе in vitro или in vivo . Например, « приведение в контакт» фермента IDO с эпакадостатом включает введение эпакадостата индивидууму или пациенту, например, человеку, имеющему IDO, а также, например, введение эпакадостата в образец, содержащий клеточный или очищенный препарат, содержащий фермент IDO.

Используемый в настоящем документе термин «субъект», «индивидуум» или «пациент», используемый взаимозаменяемо, относится к любому животному, включая млекопитающих, предпочтительно мышей, крыс, других грызунов, кроликов, собак, кошек, свиней, крупный рогатый скот, овец, лошадей или приматов, и наиболее предпочтительно людей.

Как используется в настоящем документе, термин «процесс лечения» или «лечение» означает 1) подавление заболевания; например, подавление заболевания, состояния или расстройства у человека, который испытывает или демонстрирует патологию или симптоматику заболевания, состояния или расстройства (т. е, остановка дальнейшего развития патологии и/или симптоматики), или 2) смягчение заболевания; например, смягчение заболевания, состояния или расстройства у человека, который испытывает или проявляет патологию или симптоматику заболевания, состояния или расстройства (т. е., обратное развитие патологии и/или симптоматики).

Как используется в настоящем документе, термин «предотвращение» или «профилактика» относится к предотвращению заболевания, состояния или расстройства у человека, который может быть предрасположен к заболеванию, состоянию или расстройству, но еще не испытывает или не проявляет патологию или симптоматику заболевания.

Плоскоклеточная карцинома анального канала

Плоскоклеточная карцинома анального канала (ПКАК) составляет почти 3% раковых заболеваний пищеварительной системы и все чаще встречается в связи с ее ассоциацией с инфекцией вирусом герпеса и ВИЧ. Хотя у большинства пациентов заболевание локализуется, системные метастазы развиваются примерно у 25% пациентов, и 5-летняя выживаемость у этих индивидуумов низкая. Резервная химиотерапия с использованием схем на основе платины является общепринятым стандартом лечения; однако ответы не являются стойкими, а выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость после такого лечения измеряется лишь месяцами. Не существует общепринятых резервных способов лечения для пациентов, прогрессирующих после химиотерапии первой линии.

Карцинома клеток Меркеля

Карцинома клеток Меркеля представляет собой редкую, агрессивную, кожную злокачественную опухоль, обусловленную множеством факторов, таких как полиомавирус клеток Меркеля, УФ-облучение и иммуносупрессия. Это заболевание обычно встречается у пожилых людей со светлым типом кожи и имеет плохой прогноз с более низкой выживаемостью по сравнению с другими злокачественными опухолями

кожи. Хирургия и/или лучевая терапия показана и потенциально целесообразна при местно-регионарном заболевании, но рецидивы встречаются часто.

Показатели 5-летней выживаемости пациентов с ККМ составляют 75%, 59% и 25% для первичных локализованных опухолей, опухолей с метастазами в регионарные лимфатические узлы (или местными рецидивами) и опухолей с отдаленными метастазами, соответственно. У более чем у 30% пациентов развивается отдаленное метастатическое заболевание, а 5-летняя выживаемость для этих пациентов составляет всего около 10%.

Исторически метастатическая ККМ лечилась химиотерапевтическими схемами, аналогичными тем, которые используются при мелкоклеточном раке легкого. Химиотерапия на основе платины обеспечивает высокую частоту первоначального ответа, который длится недолго. Преимущество химиотерапии при этом заболевании в выживаемости не доказано. Химиотерапия также связана с риском тяжелой токсичности и токсической смерти, особенно среди пожилых пациентов.

Рак эндометрия

Рак эндометрия является четвертым по распространенности раком, поражающим американских женщин: по оценкам, диагностировано 60050 новых случаев; по оценкам, произойдет 10470 смертей, связанных с раком эндометрия, что делает его шестым по распространенности раком, поражающим американских женщин. Во всем мире это четвертая по распространенности причина смерти от рака среди женщин. Рак эндометрия является наиболее распространенной гинекологической злокачественной опухолью, поражающей женщин, при этом наиболее распространенной гистологической патологией является аденокарцинома. Раковые заболевания, диагностированные на ранних стадиях, имеют хороший прогноз с возможностью хирургического и/или лучевого лечения, однако агрессивные раковые заболевания на поздних стадиях имеют ограниченные терапевтические возможности лечения, при этом пятилетняя выживаемость колеблется в пределах 20-60%. Стандартные способы лечения местно-распространенного или метастатического рака включают системные способы лечения, такие как гормональная терапия, химиотерапия одним агентом, например, доксорубицин, или комбинированные химиотерапевтические схемы на основе платины, например, карбоплатин и доцетаксел. Учитывая плохой долгосрочный прогноз для этих пациентов, необходимы дополнительные и более новые способы лечения.

Фармацевтические композиции

В некоторых вариантах осуществления соединение эпакадостат может быть включено в состав фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с PD-1 человека или PD-L1 человека, может быть включено в состав фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции, содержащие соединение и антитело, связывающееся с человеческим PD-1 или человеческим PD-L1, или их антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут быть разработаны в виде фармацевтических композиций для введения субъекту, например, для лечения расстройства, описанного в настоящем документе. Как правило,

фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель. Как используется в настоящем документе, «фармацевтически приемлемый носитель» включает любые и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и задерживающие всасывание агенты и тому подобное, которые являются физиологически совместимыми. Композиция может содержать фармацевтически приемлемую соль, например, соль кислотного дополнения или соль щелочного дополнения (см., например, Berge, S.M., et al. (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19).

Фармацевтический состав является хорошо известной в области техники и более подробно описан, например, в Gennaro (ed.), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2000) (ISBN: 0683306472); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Ed., Lippincott Williams & Wilkins Publishers (1999) (ISBN: 0683305727) и Kibbe (ed.), Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association, 3rd ed. (2000) (ISBN: 091733096X).

Фармацевтические композиции могут быть в различных формах. К ним относятся, например, жидкие, мягкие и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, инъекционные и инфузионные растворы), дисперсии или суспензии, таблетки, пилюли, порошки, липосомы и суппозитории. Предпочтительная форма может зависеть от предполагаемого способа введения и терапевтического применения. Обычно композиции для описанных в данном документе агентов находятся в форме инъекционных или инфузионных растворов.

Композиция может быть представлена в виде раствора, микроэмульсии, дисперсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, пригодной для стабильного хранения при высокой концентрации. Стерильные инъекционные растворы могут быть приготовлены путем включения описанного в настоящем документе агента в необходимом количестве в соответствующий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, по мере необходимости, с последующей стерилизацией фильтрованием. Как правило, дисперсии готовятся путем включения агента, описанного в настоящем документе, в стерильное средство, содержащее основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных инъекционных растворов предпочтительными способами приготовления являются вакуумная сушка и сублимационная сушка, которые позволяют получить порошок описанного в настоящем документе агента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из предварительно стерильно отфильтрованного раствора. Надлежащая текучесть раствора может поддерживаться, например, за счет использования покрытия, такого как лецитин, поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и использования поверхностно-активных веществ. Длительное всасывание инъекционных композиций может быть достигнуто путем включения в композицию агента, задерживающего всасывание, например, солей моностеарата и желатина.

В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с PD-1 человека или PD-L1 человека, или его антигенсвязывающий фрагмент может быть приготовлено с носителем, который будет защищать соединение от быстрого высвобождения, например, с составом с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микрокапсулированные системы доставки. Можно использовать биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфиры и полимолочная кислота. Многие способы приготовления таких составов запатентованы или общеизвестны. См, например, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1978).

В некоторых вариантах осуществления соединение входит в состав фармацевтической композиции, дополнительно включающей по меньшей мере одно вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах осуществления при изготовлении композиций, представленных в настоящем документе, соединение смешивают с вспомогательным веществом, разбавляют вспомогательным веществом или заключают в такой носитель в виде, например, капсулы, саше, бумажного или другого контейнера. Когда вспомогательное вещество служит в качестве разбавителя, оно может быть твердым, мягким или жидким материалом, который действует как транспортное средство, носитель или среда для активного ингредиента. Так, композиции могут быть в форме таблеток, пилюль, порошков, пастилок, пакетиков, саше, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в твердом или жидком виде), мазей, содержащих, например, до 10% по массе активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиториев, стерильных инъекционных растворов и стерильных расфасованных порошков.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, находятся в форме таблеток.

При приготовлении состава соединение может быть измельчено для получения частиц соответствующего размера перед соединением с другими ингредиентами. В некоторых вариантах осуществления соединение может быть измельчено до размера частиц менее 200 меш. В некоторых вариантах осуществления размер частиц может быть отрегулирован путем измельчения для обеспечения практически равномерного распределения в составе, например, около 40 меш.

Некоторые примеры подходящих вспомогательных веществ включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмал, камедь акации, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Составы могут дополнительно включать: смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие вещества; эмульгирующие и суспендирующие вещества; консервирующие вещества, такие как метил- и пропилгидрокси-бензоаты;

подслащивающие вещества; ароматизаторы. Композиции, представленные в настоящем документе, могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить быстрое, устойчивое или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с помощью процедур, известных в данной области.

Композиции могут быть составлены в форме единичной лекарственной формы. Термин «единичные лекарственные формы» относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для людей и других млекопитающих, каждая из которых содержит заранее определенное количество соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта (например, желаемого профиля PK), в сочетании с подходящим фармацевтическим вспомогательным веществом.

В некоторых вариантах осуществления для приготовления твердых композиций, таких как таблетки, соединение смешивают с фармацевтическим вспомогательным веществом для получения твердой композиции субстанции-кандидата, содержащей гомогенную смесь соединения. Когда речь идет о композициях субстанций-кандидатов, соединение обычно равномерно распределено по всей композиции, так что композиция может быть легко разделена на одинаково эффективные единичные лекарственные формы, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Затем эта твердая субстанция-кандидат разделяется на единичные лекарственные формы.

Таблетки или пилюли настоящего изобретения могут быть покрыты оболочкой или иным образом составлены для получения лекарственной формы, обеспечивающей преимущество пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля может состоять из внутреннего дозированного компонента и внешнего дозированного компонента, причем последний может быть в виде оболочки над первым. Эти два компонента могут быть разделены энтеральным слоем, который служит для сопротивления распаду в желудке и позволяет внутреннему компоненту пройти неповрежденным в двенадцатиперстную кишку или задержаться в высвобождении. Для таких энтеральных слоев или покрытий могут быть использованы различные материалы, включая ряд полимерных кислот и смеси полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которые могут быть включены описанные в данном документе композиции для приема внутрь, включают водные растворы, подходящие ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии, ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и подобные фармацевтические средства.

В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе композиции стерилизуются обычными способами стерилизации или могут быть стерильно отфильтрованы. Водные растворы могут быть упакованы для использования как есть или лиофилизированы, при этом лиофилизированный препарат перед введением соединяется со стерильным водным носителем. pH препаратов соединения обычно составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 и наиболее предпочтительно от 7

до 8. Следует понимать, что использование некоторых из вышеперечисленных вспомогательных веществ, носителей или стабилизаторов приводит к образованию фармацевтических солей.

Комбинированная терапия

I. Противоопухолевые терапии

На рост и выживание раковых клеток может влиять дисфункция многочисленных сигнальных путей. Таким образом, для лечения таких состояний полезно комбинировать различные ингибиторы ферментов/белков/рецепторов, проявляющие различные предпочтения в отношении мишеней, активность которых они модулируют. Нацеливание более чем на один сигнальный путь (или более чем на одну биологическую молекулу, участвующую в данном сигнальном пути) может снизить вероятность возникновения лекарственной устойчивости в популяции клеток и/или уменьшить токсичность лечения.

Один или несколько дополнительных фармацевтических агентов, таких как, например, химиотерапевтические средства, противовоспалительные средства, стероиды, иммунодепрессанты, иммуноонкологические средства, ингибиторы метаболических ферментов, ингибиторы хемокиновых рецепторов и ингибиторы фосфатаз, а также целевые терапии, такие как Bcr-Abl, Flt-3, EGFR, HER2, JAK, c-MET, VEGFR, PDGFR, c-Kit, IGF-1R, RAF, FAK, CDK2 и CDK4/6 ингибиторы киназ, такие как, например, описанные в WO 2006/056399, могут быть использованы в сочетании со способами и схемами лечения настоящего изобретения для лечения рака и солидных опухолей. Другие агенты, такие как терапевтические антитела, могут быть использованы в комбинации со способами и схемами лечения настоящего изобретения для лечения рака и солидных опухолей. Один или несколько дополнительных фармацевтических агентов могут вводиться пациенту одновременно или последовательно.

Способы лечения, раскрытые в настоящем документе, могут быть использованы в комбинации с одним или несколькими другими способами терапии ингибиторами ферментов/белков/рецепторов для лечения заболеваний, таких как рак и другие заболевания или расстройства, описанные в настоящем документе. Например, способы и схемы лечения настоящего изобретения могут быть объединены с одним или несколькими ингибиторами следующих киназ для лечения рака: Akt1, Akt2, Akt3, BCL2, CDK2, CDK4/6, TGF-βR, PKA, PKG, PKC, CaM-киназа, киназа фосфорилазы, MEKK, ERK, MAPK, mTOR, EGFR, HER2, HER3, HER4, INS-R, IDH2, IGF-1R, IR-R, PDGFαR, PDGFβR, PI3K (альфа, бета, гамма, дельта и множественные или селективные), CSF1R, KIT, FLK-II, KDR/FLK-1, FLK-4, flt-1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, c-Met, PARP, Ron, Sea, TRKA, TRKB, TRKC, киназы TAM (Axl, Mer, Tyro3), FLT3, VEGFR/Flt2, Flt4, EphA1, EphA2, EphA3, EphB2, EphB4, Tie2, Src, Fyn, Lck, Fgr, Btk, Fak, SYK, FRK, JAK, ABL, ALK и B-Raf. Неограничивающие примеры ингибиторов, которые могут быть объединены со способами и схемами лечения настоящего изобретения для лечения рака, включают ингибитор FGFR (FGFR1, FGFR2, FGFR3 или FGFR4, например, пемигатиниб (INCY54828), INCB62079), ингибитор EGFR (также известный как ErB-1 или HER-1;

например, эрлотиниб, гефитиниб, вандетаниб, орсимертиниб, цетуксимаб, нецитумумаб или панитумумаб), ингибитор VEGFR или блокатор пути (например. бевацизумаб, пазопаниб, сунитиниб, сорафениб, акситиниб, регорафениб, понатиниб, кабозантиниб, вандетаниб, рамуцирумаб, ленватиниб, зив-афлиберцепт), ингибитор PARP (например, олапариб, рукапариб, велпариб или нирапариб), ингибитор JAK (JAK1 и/или JAK2, например, руксолитиниб, *барицитиниб, итацитиниб (INCB39110)*, ингибитор LSD1 (например, INCB59872 и INCB60003), ингибитор TDO, ингибитор PI3K-дельта (например, INCB50465 и INCB50797), ингибитор PI3K-гамма, такой как селективный ингибитор PI3K-гамма, ингибитор Pim (например, INCB53914), ингибитор CSF1R, ингибитор тирозинкиназ рецепторов TAM (Tyro-3, Axl и Mer), антагонист аденозиновых рецепторов (например, антагонист рецепторов A2a/A2b), ингибитор HPK1, ингибитор хемокиновых рецепторов (например. CCR2 или CCR5), ингибитор фосфатазы SHP1/2, ингибитор деацетилазы гистонов (HDAC), такой как ингибитор HDAC8, ингибитор ангиогенеза, ингибитор рецептора интерлейкина, ингибиторы бромо- и экстратерминальных членов семейства (например, ингибиторы бромодомена или ингибиторы BET, такие как INCB54329 и INCB57643), или их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе способы лечения сочетаются с введением ингибитора PI3Kδ. В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе способы лечения сочетаются с введением ингибитора JAK. В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе способы лечения сочетаются с приемом ингибитора JAK1 или JAK2 (например, барицитиниба или руксолитиниба). В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе способы лечения сочетаются с введением ингибитора JAK1. В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе способы лечения сочетаются с введением ингибитора JAK1, который избирательно действует на JAK2.

Примеры антител, которые могут быть назначены в комбинированной терапии, включают, но не ограничиваются ими, трастузумаб (например, анти-HER2), ранибизумаб (например, анти-VEGF-A), бевацизумаб (AVASTIN™, например, анти-VEGF), панитумумаб (например, анти-EGFR), цетуксимаб (например, анти-EGFR), ритуксан (например, анти-CD20) и антитела, направленные на c-MET.

Один или несколько из следующих агентов могут быть назначены пациенту в сочетании со способами лечения настоящего изобретения и представлены в качестве неограничивающего списка: цитостатический агент, цисплатин, доксорубицин, таксотер, таксол, этопозид, иринотекан, камптостар, топотекан, паклитаксел, доцетаксел, эпотилоны, тамоксифен, 5-фторурацил, метокстрексат, темозоломид, циклофосфамид, SCH 66336, R115777, L778,123, BMS 214662, IRESSA™(гефитиниб), TARCEVA™ (эрлотиниб), антитела к EGFR, интрон, ara-C, адриамицин, цитоксан, гемцитабин, урациловый горчичник, хлорметин, ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, пипоброман, триэтиленмеламин, триэтилентиофосфорамин, бусульфан, кармустин, ломустин, стрептозоцин, дакарбазин, флоксуридин, цитарабин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин,

флударабина фосфат, оксалиплатин, лейковирин, ELOXATIN™ (оксалиплатин), пентостатин, винбластин, винкристин, виндезин, блеомицин, дактиномицин, даунорубицин, доксорубицин, эпирубицин, идарубицин, митрамицин, дезоксикоформицин, митомицин-С, L-аспарагиназа, тенипозид 17. альфа.-этинилэстрадиол, диэтилстильбэстрол, тестостерон, преднизон, флуоксиместерон, дромостанолона пропионат, тестолактон, мегестролацетат, метилпреднизолон, метилтестостерон, преднизолон, триамцинолон, хлортрианизен, гидроксипрогестерон, аминоглютетимид, эстрамустин, медроксипрогестеронацетат, лейпролид, флутамид, торемифен, гозерелин, карбоплатин, гидроксимочевина, амсакрин, прокарбазин, митотан, митоксантрон, левамизол, навельбен, анастразол, летразол, капецитабин, релоксафин, дролоксафин, гексаметилмеламин, авастин, HERCEPTIN™ (трастузумаб), BEXXAR™ (тоситумомаб), VELCADE™ (бортезомиб), ZEVALIN™ (ибритумомаб тиуксетан), TRISENOX™ (триоксид мышьяка), XELODA™ (капецитабин), винорелбин, порфимер, ERBITUX™ (цетуксимаб), тиотепа, алтретамин, мелфалан, трастузумаб, лерозол, фулвестрант, экземестан, ифосфомид, ритуксимаб, С225 (цетуксимаб), Campath (алемтузумаб), клофарабин, кладрибин, афидиколон, ритуксан, сунитиниб, дазатиниб, тезацитабин, Sml1, флударабин, пентостатин, триапин, дидокс, тримидокс, амидокс, 3-АП и MDL-101,731.

Способы лечения и схемы настоящего изобретения могут далее использоваться в комбинации с другими способами лечения рака, например, химиотерапией, лучевой терапией, терапией, направленной на опухоль, адъювантной терапией, иммунотерапией или операцией. Примеры иммунотерапии включают лечение цитокинами (например, интерфероны, GM-CSF, G-CSF, IL-2), иммунотерапия CRS-207, противоопухолевая вакцина, моноклональное антитело, биспецифическое или мультиспецифическое антитело, конъюгат антитело-препарат, адоптивный перенос Т-клеток, агонисты рецепторов Toll, агонисты RIG-I, онколитическая виротерапия и иммуномодулирующие малые молекулы, включая талидомид или ингибитор JAK1/2, ингибитор PI3Kδ и тому подобное. Соединения могут вводиться в комбинации с одним или несколькими противоопухолевыми препаратами, например, химиотерапевтическим средством. Примеры химиотерапевтических средств включают любое из: абареликс, альдеслейкин, алемтузумаб, алитретиноин, аллопуринол, алтретамин, анастрозол, триоксид мышьяка, аспарагиназа, азацитидин, бевацизумаб, бексаротин, барицитиниб, блеомицин, бортезомиб, бусульфан внутривенно, бусульфан перорально, калустерон, капецитабин, карбоплатин, кармустин, цетуксимаб, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, клофарабин, циклофосфамид, цитрабин, дакарбазин, дактиномицин, далтепарин натрия, дазатиниб, даунорубицин, децитабин, денилейкин, денилейкин дифтитокс, дексразоксан, доцетаксел, доксорубицин, дромостанолон пропионат, экулизумаб, эпирубицин, эрлотиниб, эстрамустин, этопозид фосфат, этопозид, экземестан, фентанил цитрат, филграстим, флоксуридин, флударабин, флуороурацил, фулвестрант, гефитиниб, гемцитабин, гемтузумаб озогамицин, гозерелин ацетат, гистрелин ацетат, ибритумомаб тиуксетан,

идарубицин, ифосфамид, иматиниб мезилат, интерферон альфа 2а, иринотекан, лапатиниб дитозилат, леналидомид, летрозол, лейковорин, лейпролид ацетат, левамизол, ломустин, меклорэтамин, мегестрола ацетат, мелфалан, меркаптопурин, метотрексат, метоксален, митомицин С, митотан, митоксантрон, нандролон фенпропионат, неларабин, нофетумомаб, оксалиплатин, паклитаксел, памидронат, панитумумаб, пегаспаргаза, пегфилграстим, пеметрексед дисодиум, пентостатин, пипоброман, пликамицин, прокарбазин, хинакрин, расбуриказа, ритуксимаб, руксолитиниб, сорафениб, стрептозоцин, сунитиниб, сунитиниб малеат, тамоксифен, темозоломид, тенипозид, тестолактон, талидомид, тиогуанин, тиотепа, топотекан, торемифен, тоситумомаб, трастузумаб, третиноин, урациловая горчица, вальрубицин, винбластин, винкристин, винорелбин, вориностат и золедронат.

Дополнительные примеры химиотерапевтических препаратов включают ингибиторы протеосом (например, бортезомиб), талидомид, ревлимид и агенты, повреждающие ДНК, такие как мелфалан, доксорубицин, циклофосфамид, винкристин, этопозид, кармустин и тому подобное.

Пример стероидов включает кортикостероиды, такие как дексаметазон или преднизон.

Примерные ингибиторы Bcr-Abl включают иматиниб мезилат (GLEEVAC™), нилотиниб, дазатиниб, босутиниб и понатиниб, а также фармацевтически приемлемые соли.Другие примеры подходящих ингибиторов Bcr-Abl включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли из родов и видов, раскрытых в патенте США № 5,521,184, WO 04/005281 и США, сер. № 60/578,491.

Пример подходящих ингибиторов Flt-3 включает мидостаурин, лестауртиниб, линифаниб, сунитиниб, сунитиниб, малеат, сорафениб, квизартиниб, креноланиб, пакритиниб, тандутиниб, PLX3397 и ASP2215, а также их фармацевтически приемлемые соли. Другие примеры подходящих ингибиторов Flt-3 включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в WO 03/037347, WO 03/099771 и WO 04/046120.

Пример подходящих ингибиторов RAF включает дабрафениб, сорафениб и вемурафениб, а также их фармацевтически приемлемые соли. Другие примеры подходящих ингибиторов RAF включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в WO 00/09495 и WO 05/028444.

Пример подходящих ингибиторов FAK включает VS-4718, VS-5095, VS-6062, VS-6063, BI853520, и GSK2256098, и их фармацевтически приемлемые соли.Другие примеры подходящих ингибиторов FAK включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 и WO 01/014402.

Пример подходящих ингибиторов CDK4/6 включает палбоциклиб, рибоциклиб, трилациклиб, лероциклиб и абемациклиб, а также их фармацевтически приемлемые соли. Другие примеры подходящих ингибиторов CDK4/6 включают соединения и их

фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в WO 09/085185, WO 12/129344, WO 11/101409, WO 03/062236, WO 10/075074 и WO 12/061156.

В некоторых вариантах осуществления соединения изобретения можно использовать в комбинации с одним или несколькими другими ингибиторами киназы, включая иматиниб, в частности для лечения пациентов, резистентных к иматинибу или другим ингибиторам киназы.

В некоторых вариантах осуществления способы лечения изобретения могут быть использованы в комбинации с химиотерапевтическим средством при лечении рака и могут улучшить ответ на лечение по сравнению с ответом только на химиотерапевтическое средство без усиления его токсических эффектов. В некоторых вариантах осуществления способы лечения изобретения могут быть использованы в комбинации с химиотерапевтическим средством, представленным в настоящем документе. Например, дополнительные фармацевтические агенты, используемые в лечении множественной миеломы, могут включать, без ограничений, мелфалан, мелфалан плюс преднизон [MP], доксорубицин, дексаметазон и Velcade (бортезомиб). Другие дополнительные агенты, используемые в лечении множественной миеломы, включают ингибиторы киназ Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK. В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой алкилирующий агент, ингибитор протеасомы, кортикостероид или иммуномодулирующий агент. Примеры алкилирующих агентов включают циклофосфамид (CY), мелфалан (MEL) и бендамустин. В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеасомы представляет собой карфилзомиб. В некоторых вариантах осуществления кортикостероид представляет собой дексаметазон (DEX). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующий агент представляет собой леналидомид (LEN) или помалидомид (POM). Аддитивные или синергические эффекты являются желательными результатами объединения способов лечения настоящего изобретения с дополнительным агентом.

Агенты могут быть объединены с эпакадостатом и/или антителом, связывающимся с человеческим PD-1 или человеческим PD-L1, или их антигенсвязывающим фрагментом в настоящих способах лечения в одной или непрерывной лекарственной форме, или агенты могут быть введены одновременно или последовательно в виде отдельных лекарственных форм.

В некоторых вариантах осуществления кортикостероид, такой как дексаметазон, назначается пациенту в сочетании со способами лечения согласно раскрытию , при этом дексаметазон назначается периодически, а не постоянно.

Описанные здесь способы лечения можно комбинировать с другим иммуногенным агентом, таким как раковые клетки, очищенные опухолевые антигены (включая рекомбинантные белки, пептиды и углеводные молекулы), клетки и клетки, трансфицированные генами, кодирующими иммуностимулирующие цитокины. Неограничивающие примеры опухолевых вакцин, которые могут быть использованы, включают пептиды антигенов меланомы, такие как пептиды gp100, антигены MAGE, Trp-

2, MARTI и/или тирозиназы, или опухолевые клетки, трансфицированные для экспрессии цитокина GM-CSF.

Описанные в данном документе способы лечения могут быть использованы в сочетании с протоколом вакцинации для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления опухолевые клетки трансдуцированы для экспрессии GM-CSF. В некоторых вариантах осуществления вакцины против опухолей включают белки вирусов, связанных с раком человека, таких как вирусы папилломы человека (HPV), вирусы гепатита (HBV и HCV) и вирус герпеса саркомы Капоши (KHSV). В некоторых вариантах осуществления способы и схемы лечения настоящего изобретения могут быть использованы в комбинации с опухолеспецифическим антигеном, таким как белки теплового шока, выделенные из самой опухолевой ткани. В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе способы лечения могут быть объединены с иммунизацией дендритными клетками для активации мощного противоопухолевого ответа.

Способы и схемы лечения настоящего изобретения могут быть использованы в сочетании с биспецифическими макроциклическими пептидами, которые нацеливают эффекторные клетки, экспрессирующие рецепторы Fe альфа или Fe гамма, на опухолевые клетки. Способы и схемы лечения настоящего изобретения также могут быть объединены с макроциклическими пептидами, которые активируют иммунную реактивность хозяина.

В некоторых дополнительных вариантах осуществления способы лечения раскрытого изобретения сочетаются с введением других терапевтических агентов пациенту до, во время и/или после трансплантации костного мозга или трансплантации стволовых клеток. Способы и схемы лечения настоящего изобретения могут быть использованы в сочетании с трансплантацией костного мозга для лечения различных опухолей кроветворного происхождения.

Когда пациенту назначается более одного фармацевтического агента, как описано в любом из вышеприведенных вариантов реализации, они могут назначаться одновременно, отдельно, последовательно или в комбинации (например, для более чем двух агентов).

Способы безопасного и эффективного введения большинства этих химиотерапевтических агентов известны специалистам в данной области. Кроме того, их введение описано в стандартной литературе. Например, применение многих химиотерапевтических средств описано в «Physicians' Desk Reference» (PDR, e.g., 1996 edition, Medical Economics Company, Montvale, NJ), изобретение которого включено в настоящий документ посредством ссылки, как если бы оно было изложено во всей своей полноте.

II. Терапии иммунных контрольных точек

Способы лечения настоящего изобретения могут быть использованы в сочетании с введением одного или более ингибиторов или агонистов иммунных контрольных точек (например, антител или малых молекул) для лечения заболеваний, таких как рак. Примерные молекулы иммунных контрольных точек включают CBL-B, CD20, CD28,

CD40, CD70, CD122, CD96, CD73, CD47, CDK2, GITR, CSF1R, JAK, PI3K-дельта, PI3K-гамма, TAM, аргиназа, HPK1, CD137 (также известный как 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, TLR (TLR7/8), TIGIT, CD112R и VISTA. В некоторых вариантах осуществления иммунная контрольная молекула представляет собой стимулирующую контрольную молекулу, выбранную из CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR и CD137 (4-1BB). В некоторых вариантах осуществления соединения, представленные в настоящем документе, можно использовать в комбинации с одним или несколькими агентами, выбранными из ингибиторов KIR, ингибиторов TIGIT, ингибиторов LAIR1, ингибиторов CD160, ингибиторов 2B4 и ингибиторов TGFR бета.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор KIR, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 или TGFR бета.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CTLA-4, например, антитело против CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления антитело анти-CTLA-4 представляет собой ипилимумаб, тремелимумаб, AGEN1884 или CP-675,206.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор представляет собой MCLA-145.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор LAG3, например, антитело против LAG3. В некоторых вариантах осуществления антитело анти-LAG3 представляет собой BMS-986016, LAG525, INCAGN2385 или эфтилагимоб альфа (IMP321).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CD73. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD73 представляет собой олеклумаб.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор TIGIT. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TIGIT представляет собой OMP-31M32.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор VISTA. В некоторых вариантах осуществления ингибитор VISTA представляет собой JNJ-61610588 или CA-170.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор B7-H3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор B7-H3 представляет собой эноблитузумаб, MGD009 или 8H9.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор KIR. В некоторых вариантах осуществления ингибитор KIR представляет собой лирилумаб или IPH4102.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор A2aR. В некоторых вариантах осуществления ингибитор A2aR представляет собой CPI-444.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной

контрольной точки представляет собой ингибитор TGF-бета. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TGF-бета представляет собой трабедерсен, галусертиниб или M7824.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PI3K-гамма. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K-гамма представляет собой IPI-549.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CD47. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD47 представляет собой Hu5F9-G4 или TTI-621.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CD73. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD73 представляет собой MEDI9447.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CD70. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD70 представляет собой кусатузумаб или BMS-936561.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор TIM3, например, антитело против TIM3. В некоторых вариантах осуществления антитело анти-TIM3 представляет собой INCAGN2390, MBG453 или TSR-022.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CD20, например, антитело против CD20. В некоторых вариантах осуществления антитело анти-CD20 представляет собой обинутузумаб или ритуксимаб.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой агонист OX40, CD27, CD28, GITR, ICOS, CD40, TLR7/8 и CD137 (также известен как 4-1BB).

В некоторых вариантах осуществления агонист CD137 представляет собой урелумаб. В некоторых вариантах осуществления агонист CD137 представляет собой утомилумаб.

В некоторых вариантах осуществления агонист молекулы иммунной контрольной точки представляет собой агонист GITR. В некоторых вариантах осуществления агонист GITR представляет собой TRX518, MK-4166, INCAGN1876, MK-1248, AMG228, BMS-986156, GWN323, MEDI1873 или MEDI6469.

В некоторых вариантах осуществления агонист молекулы иммунной контрольной точки является агонистом OX40, например, антитело-агонист OX40 или слитый белок OX40L. В некоторых вариантах осуществления антитело-агонист OX40 представляет собой INCAGN01949, MEDI0562 (таволимаб), MOXR-0916, PF-04518600, GSK3174998, BMS-986178 или 9B12. В некоторых вариантах осуществления агонист слитого белка OX40L представляет собой MEDI6383.

В некоторых вариантах осуществления агонист молекулы иммунной контрольной

точки представляет собой агонист CD40. В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой CP-870893, ADC-1013, CDX-1140, SEA-CD40, RO7009789, JNJ-64457107, APX-005M или Chi Lob 7/4.

В некоторых вариантах осуществления агонист молекулы иммунной контрольной точки представляет собой агонист ICOS. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ICOS представляет собой GSK-3359609, JTX-2011 или MEDI-570.

В некоторых вариантах осуществления агонист молекулы иммунной контрольной точки представляет собой агонист CD28. В некоторых вариантах осуществления агонист CD28 представляет собой терализумаб.

В некоторых вариантах осуществления агонист молекулы иммунной контрольной точки представляет собой агонист CD27. В некоторых вариантах осуществления агонист CD27 представляет собой варлилумаб.

В некоторых вариантах осуществления агонист молекулы иммунной контрольной точки представляет собой агонист TLR7/8. В некоторых вариантах осуществления агонист TLR7/8 представляет собой MEDI9197.

Способы и схемы лечения настоящего изобретения могут быть использованы в комбинации с биспецифическими антителами. В некоторых вариантах осуществления один из доменов биспецифического антитела нацелен на PD-1, PD-L1, CTLA-4, GITR, OX40, TIM3, LAG3, CD137, ICOS, CD3 или рецептор TGFβ. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело связывается с PD-1 и PD-L1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело, связывающееся с PD-1 и PD-L1, представляет собой MCLA-136. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело связывается с PD-L1 и CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело, связывающееся с PD-L1 и CTLA-4, представляет собой AK104.

В некоторых вариантах осуществления соединения изобретения могут использоваться в комбинации с одним или несколькими ингибиторами метаболических ферментов. В некоторых вариантах осуществления ингибитор метаболического фермента является ингибитором TDO или аргиназы.

Как предусмотрено далее, дополнительные соединения, ингибиторы, агенты и т.д. могут быть объединены с настоящим соединением в одной или непрерывной лекарственной форме, или они могут вводиться одновременно или последовательно в виде отдельных лекарственных форм.

Меченое соединение

Другой аспект настоящего изобретения относится к меченому эпакадостату (радиомеченому, флуоресцентно-меченому, изотопно-меченому и т.д.), который будет полезен не только в способах визуализации, но и в анализах, как in vitro, так и in vivo, для локализации и количественного определения IDO1 в образцах тканей, включая человеческие.

Настоящее изобретение дополнительно включает эпакадостат, меченный изотопом.

«Изотопно» или «радиомеченым» соединением является эпакадостат, в котором один или несколько атомов заменены или замещены атомом, имеющим атомную массу или массовый номер, отличающийся от атомной массы или массового номера, обычно находящихся в природе (т.е. встречающихся в природе). Подходящие радионуклиды, которые могут быть включены в соединения настоящего изобретения , включают, но не ограничиваются ими, ^{2}H (также записывается как D для дейтерия), ^{3}H (также записывается как T для трития), ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{13}N, ^{15}N, ^{15}O, ^{17}O, ^{18}O, ^{18}F, ^{35}S, ^{36}Cl, ^{82}Br, ^{75}Br, ^{76}Br, ^{77}Br, ^{123}I, ^{124}I, ^{125}I и ^{131}I. Например, один или несколько атомов водорода в соединении настоящего изобретения могут быть по выбору замещены атомами дейтерия.

Один или несколько составных атомов эпакадостата могут быть заменены или замещены изотопами атомов в природном или неприродном изобилии. В некоторых вариантах осуществления эпакадостат включает по меньшей мере один атом дейтерия. Например, один или несколько атомов водорода в соединении, представленном в настоящем документе, могут быть заменены или замещены дейтерием. В некоторых вариантах осуществления соединение включает два или более атомов дейтерия. В некоторых вариантах осуществления соединение включает 1-2, 1-3, 1-4, 1-5 или 1-6 атомов дейтерия. В некоторых вариантах осуществления все атомы водорода в соединении могут быть заменены или замещены атомами дейтерия.

Синтетические способы включения изотопов в органические соединения известны в данной области техники (Deuterium Labeling in Organic Chemistry by Alan F. Thomas (New York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange by Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey and Jochen Zimmermann, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labelling by James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011). Изотопно меченные соединения могут быть использованы в различных исследованиях, таких как ЯМР-спектроскопия, эксперименты с метаболизмом и/или анализы.

Замена на более тяжелые изотопы, такие как дейтерий, может дать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например, увеличенный период полураспада in vivo или уменьшенные требования к дозировке, и, следовательно, может быть предпочтительной в некоторых обстоятельствах (см. e.g., A. Kerekes et al. J. Med. Chem. 2011, 54, 201-210; R. Xu et al. J. Label Compd. Radiopharm. 2015, 58, 308-312). В частности, замена в одном или нескольких участках метаболизма может обеспечить одно или несколько терапевтических преимуществ.

Подразумевается, что «радиомеченное» или «меченое соединение» - это соединение, в которое включен по меньшей мере один радионуклид. В некоторых вариантах осуществления радионуклид выбирается из группы, состоящей из ^{3}H и ^{14}C. В некоторых вариантах осуществления радионуклид выбирается из группы, состоящей из ^{11}C, ^{18}F, ^{75}Br, ^{76}Br и ^{77}Br.

Наборы

Настоящее изобретение также включает фармацевтические наборы, полезные,

например, для лечения рака и солидных опухолей, упомянутых в настоящем документе, которые включают один или несколько контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, описанную в настоящем документе. Такие наборы могут дополнительно включать, при желании, один или несколько различных обычных компонентов фармацевтических наборов, таких как, например, контейнеры с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры и т.д., как будет очевидно специалистам в данной области. В набор также могут быть включены инструкции, либо в виде вкладышей, либо в виде этикеток, указывающие количество компонентов для введения, рекомендации по введению и/или рекомендации по смешиванию компонентов.

Ниже приведены примеры практического применения изобретения. Они не должны быть истолкованы как ограничивающие объем изобретения каким-либо образом.

ПРИМЕРЫ

Следующие примеры приведены для лучшей иллюстрации заявленного изобретения и не должны толковаться как ограничивающие объем изобретения. Если упоминаются конкретные материалы, то это делается лишь в целях иллюстрации и не предназначено для ограничения изобретения. Специалист в данной области может разработать эквивалентные средства или реактивы без проявления изобретательских способностей и без отхода от объема изобретения.

Пример 1. Исследование фазы 1b эпакадостата в комбинации с АНТИТЕЛОМ X

Общий дизайн исследования

Исследование является открытым, нерандомизированным, многоцентровым исследованием фазы 1b с независимыми группами лечения. Исследование состоит из двух частей: 1) эскалация дозы для определения максимально переносимой дозы (МПД)/рекомендованной дозы фазы 2 (РДФ2) комбинации АНТИТЕЛА X и эпакадостата, и 2) расширение дозы при выбранной дозе для дальнейшего изучения безопасности и предварительных доказательств клинической активности.

Для эскалации дозы используется байесовский оптимальный интервальный дизайн (BOIN) с размером когорты примерно в 3 оцениваемых участника. Целевой уровень дозолимитирующей токсичности (ДЛТ), предполагается на уровне 30% для каждой комбинации. На каждый уровень дозы набирается не более 9 участников. Уровни доз для комбинации АНТИТЕЛА X с эпакадостатом приведены в **таблице**1.

Таблица 1: Уровни доз для комбинации АНТИТЕЛА X с эпакадостатом

Когорта	Доза АНТИТЕЛА X	Доза эпакадостата
-1	500 мг 1 раз в 4 недели	50 мг 2 раза в день
1 (начальная доза)	**500 мг 1 раз в 4 недели**	**100 мг 2 раза в день**
2	500 мг 1 раз в 4 недели	300 мг 2 раза в день

Когорта	Доза АНТИТЕЛА X	Доза эпакадостата
3	500 мг 1 раз в 4 недели	400 мг 2 раза в день
4	500 мг 1 раз в 4 недели	600 мг 2 раза в день
5	500 мг 1 раз в 4 недели	900 мг 2 раза в день
6	500 мг 1 раз в 4 недели	1200 мг 2 раза в день

Группы лечения набираются параллельно нерандомизированным способом, при этом участники распределяются по открытым когортам спонсором или уполномоченным лицом. Приоритет отдается открытым когортам с эскалацией дозы. Если имеется более одной когорты расширения дозы, участники назначаются поочередно с учетом имеющихся данных о комбинациях при данном типе опухоли участника до завершения набора. На основании новых фармакокинетических (ФК) или фармакодинамических данных (включая результаты исследовательских иммуноанализов) могут быть изучены дополнительные уровни дозы или схемы, некоторые из когорт эскалации дозы могут быть расширены или не быть открытыми. Для сбора дополнительных данных по безопасности, ФК и фармакодинамике могут быть изучены промежуточные уровни доз или альтернативные схемы дозирования. Также может быть исследован промежуточный уровень дозы, если более высокий уровень дозы превышает МПД.

Участники когорты эскалации дозы наблюдаются в течение 28 дней для выявления ДЛТ. Участники, получающие АНТИТЕЛО X в комбинации с эпакадостатом, должны получить по меньшей мере 75% пероральной дозы, чтобы можно было оценить ДЛТ.

После определения РДФ2 комбинации, участнику, получающему более низкие дозы, может быть разрешено повысить дозу до РДФ2 с разрешения медицинского наблюдателя, если участник соответствует критериям приемлемости протокола на момент повышения дозы, переносит текущие дозы без связанной с препаратом токсичности $\geq$ степени 2, и исследователь определяет, что участник может получить потенциальную пользу от более высокой дозы.

МПД определяется как самая высокая доза, при которой менее чем у одной трети участников наблюдаются ДЛТ. Дозолимитирующая токсичность, возникающая в течение первых 28 дней лечения, определяет эскалацию дозы и определение МПД и РДФ2. Кроме того, при выборе каждого комбинированного препарата РДФ2 учитываются участники с поздними событиями безопасности, соответствующими определению ДЛТ, или участники, у которых наблюдалась непереносимая стойкая токсичность более низкого класса, обусловленная одним из исследуемых препаратов (например, периферическая нейропатия 2 класса). РДФ2 может быть выбрана из любого из доступных уровней дозы, которые не превышают МПД. Если МПД не достигнута, РДФ2 выбирается из имеющихся доз на основе данных по безопасности, фармакокинетике (ФК) и трансляционным данным.

Для всех участников получены исходные образцы биопсии опухоли. Циклы

лечения составляют 28 дней, если не указано иное. В начале каждого цикла лечения после цикла 1 участник должен соответствовать следующим критериям:

Гемоглобин ≥ 8 г/дл

АЧН (абсолютное число нейтрофилов) ≥ $1,0 \times 10^9$/л

Количество тромбоцитов ≥ 75×10^9/л

АЛТ/АСТ/билирубин ≤ степени 2

Разрешение всех нежелательных явлений, связанных с иммунитетом, возникших на фоне лечения (НЯФЛ) до степени ≤ 1 (за исключением гипергликемии [допускается до степени 2] и эндокринопатии, которая контролируется заместительной гормональной терапией)

Разрешение всех НЯФЛ, не связанных с иммунитетом, до степени ≤ 1 или исходного уровня (за исключением алопеции степени 2). Преходящие бессимптомные лабораторные повышения ≤ 3 степени не требуют прерывания дозы, если участник бессимптомный и если повышение клинически незначимо и было проведено обсуждение с медицинским наблюдателем.

Продолжительность лечения в рамках исследования составляет до 2 лет при отсутствии клинического прогрессирования или непереносимой токсичности. Исследование закончится, когда последний участник в каждой группе будет находиться под наблюдением в течение около 6 месяцев.

Участники могут быть включены в исследование только при наличии всех следующих критериев:

Способность понимать и готовность подписать письменную ФИС для участия в исследовании.

Взрослые мужчины и женщины в возрасте 18 лет и старше (или в соответствии с требованиями страны).

Участники с гистологически доказанными, местнораспространенными нерезектабельными или метастатическими солидными опухолями, для которых не существует утвержденной терапии с доказанной клинической пользой, или участники с непереносимостью или отказом от стандартной терапии.

Измеряемые или неизмеряемые опухолевые поражения согласно RECIST v 1.1. (Примечание: Участники, включенные в когорты эскалации дозы, должны иметь по меньшей мере 1 поражение, которое можно подвергнуть биопсии).

Готовность предоставить свежую или архивную опухолевую ткань для проведения корреляционных исследований.

Показатель общего состояния по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) от 0 до 1.

Готовность избегать беременности или отцовства детей на основе определенных критериев.

Участники исключаются из исследования при наличии любого из следующих критериев:

Получение противоопухолевой терапии в течение 21 дня после первого введения исследуемого препарата, за исключением локализованной лучевой терапии.

Токсичность предшествующей терапии, которая не восстановилась до степени ≤ 1 или исходного уровня (за исключением алопеции и анемии, не требующей трансфузионной поддержки).

Участники с лабораторными показателями при скрининге, определенными в таблице 2.

Активное аутоиммунное заболевание, требующее системной иммуносупрессии, превышающей физиологические поддерживающие дозы кортикостероидов.

Известные активные метастазы в ЦНС и/или карциноматозный менингит.

Известная дополнительная злокачественная опухоль, которая прогрессирует или требует активного лечения, или история другой злокачественной опухоли в течение 2 лет после начала исследования, за исключением излеченной базальноклеточной или плоскоклеточной карциномы кожи, поверхностного рака мочевого пузыря, интраэпителиального новообразования простаты, карциномы in situ шейки матки или другой неинвазивной или медленно растущей злокачественной опухоли, или рака, от которого участник не болел в течение > 1 года после лечения с лечебной целью.

Известный активный гепатит A, B или C, определяемый по повышенным трансаминазам, со следующей серологией: позитивность на антитела IgM к вирусу гепатита A, антитела—к вирусу гепатита C, антитела—к основному антигену IgG или IgM к вирусу гепатита B, или поверхностный антиген гепатита B при отсутствии предварительной иммунизации.

Активные инфекции, требующие применения системных антибиотиков.

Любая токсичность ≥ степени 2, связанная с иммунитетом, во время получения предшествующей иммунотерапии.

Известная повышенная чувствительность к любому из исследуемых препаратов, вспомогательным веществам или другому моноклональному антителу, которую невозможно контролировать стандартными мерами (например, антигистаминными препаратами и кортикостероидами).

Участники с нарушенной функцией сердца или клинически значимым заболеванием сердца:

Кардиологическое заболевание III или IV класса по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца, включая предшествующую клинически значимую желудочковую аритмию, застойную сердечную недостаточность или кардиомиопатию

Нестабильная стенокардия ≤ 6 месяцев до участия в исследовании.

Острый инфаркт миокарда ≤ 6 месяцев до начала исследования.

Другие клинически значимые заболевания сердца (т.е. гипертония ≥ 3 степени, лабильная гипертония в анамнезе или плохое соблюдение антигипертензивного режима) должны быть восстановлены (до исходного уровня или ≤ 1 степени) после токсичности, связанной с предшествующим лечением.

Беременные женщины или женщины, кормящие грудью.

Если участнику была проведена серьезная операция, то до начала лечения в рамках исследования он должен адекватно восстановиться от токсичности и/или осложнений после вмешательства.

Получивший живую вакцину в течение 30 дней после запланированного начала лечения в рамках исследования.

Признаки интерстициального заболевания легких или активного неинфекционного пневмонита.

Текущее использование запрещенных препаратов, включая другие противоопухолевые терапии, в том числе исследуемые; иммуносупрессия, превышающая физиологические поддерживающие дозы кортикостероидов (за исключением острого лечения НЯ); переливания лейкоцитов; живые вакцины во время исследования и в течение 5 полужизней; препараты, содержащие ацетил-пара-аминофенол в количестве, превышающем 2 г или 2000 мг общей суточной дозы; любые ингибиторы моноаминоксидазы или препараты, связанные со значительной ингибирующей моноаминоксидазной активностью, запрещены в период от 21 дня до начала лечения в рамках исследования до 14 дней после приема последней дозы эпакадостата; антикоагулянты на основе кумарина.

Любое состояние, которое, по мнению исследователя, будет препятствовать полноценному участию в исследовании, включая назначение лечения и посещение необходимых визитов; представлять значительный риск для участника; или препятствовать интерпретации данных исследования.

У участников не должно быть истории серотонинового синдрома после приема 1 или более серотонинергических препаратов.

Участники, о которых известно, что они являются ВИЧ-положительными, если не соблюдены все следующие критерии:

Число CD4+ $\geq$ 300/мкл.

Неопределяемая вирусная нагрузка.

Получение высокоактивной антиретровирусной терапии.

Участники не должны иметь в анамнезе заболевания желудочно-кишечного тракта (например, воспалительные заболевания кишечника, болезнь Крона, язвенный колит), которые могут повлиять на всасывание препарата.

Таблица 2

Лабораторный параметр		Критерий исключения
Гематология		
a	Тромбоциты	$< 100 \times 10^9$/л
b	Гемоглобин	< 8 г/л
c	АЧН	$< 1,5 \times 10^9$/л

Лабораторный параметр		Критерий исключения
Печеночные пробы		
d	АЛТ	> 2 × ВПН
e	АСТ	> 2 × ВПН
f	Билирубин	≥ 1,5 × ВПН если конъюгированный билирубин ≤ ВПН (конъюгированный билирубин необходимо исследовать только в том случае, если общий билирубин превышает ВПН). Если нет институционального ВПН, то прямой билирубин должен составлять < 40% от общего билирубина
Почечные пробы		
g	Сывороточный креатинин	> 1,5 × институционального ВПН ИЛИ измеренный или рассчитанный клиренс креатинина (скорость гломерулярной фильтрации также может быть использована вместо креатинина или клиренса креатинина) < 50 мл/мин
Коагуляция		
h	МНО или ПВ	> 1,5 × ВПН, если не принимаются терапевтические антикоагулянты
i	АЧТВ	> 1,5 × ВПН

В таблице 3 представлена информация о лечении для инфузионного и перорального исследуемого препарата. На визитах, где пероральный препарат для исследования вводится в клинике, пероральный препарат для исследования вводится непосредственно перед началом инфузии АНТИТЕЛА Х.

Таблица 3

Название исследования лечения:	**АНТИТЕЛО Х**	**Эпакадостат**
Состав дозировки:	жидкий состав	таблетки 25 мг, 100 мг (обе без покрытия) и 300 мг (покрытые оболочкой)
Активность(и) единицы дозы/	500 мг 1 раз в 4 недели	50 мг 2 раза в день 100 мг 2 раза в день 300 мг 2 раза в

уровень(ни) дозировки:		день 400 мг 2 раза в день 600 мг 2 раза в день 900 мг 2 раза в день 1200 мг 2 раза в день
Способ применения:	внутривенный	пероральный
Указания по введению:	ВВ, в течение 60 (+15 минут).	Два раза в день с водой без учета приема пищи, за исключением утренних визитов в клинику для исследования ФК
Упаковка и маркировка:	АНТИТЕЛО X 25 мг/мл поставляется в стеклянном флаконе для однократного использования. Каждый флакон будет маркирован в соответствии с требованиями страны.	Таблетки будут упакованы в бутылки из полиэтилена высокой плотности. Каждый флакон/блистер будет маркирован в соответствии с требованиями страны.
Хранение:	В вертикальном положении в холодильнике при температуре 2°C-8°C (36°F-46°F) Защищенный от света	Комнатная температура, 15°C-30°C (59°F-86°F)

Дозолимитирующая токсичность

ДЛТ определяется как проявление любого из перечисленных в таблице 4 токсических состояний, которые возможно, вероятно или определенно связаны с лечением в рамках исследования и возникли с начала лечения до 28-го дня включительно. Все ДЛТ будут оцениваться исследователем с использованием Общих терминологических критериев неблагоприятных событий: Версия 5 (CTCAE v5). Участники, получающие АНТИТЕЛО X в комбинации с пероральным исследуемым препаратом, должны получить по меньшей мере 75% пероральной дозы, чтобы можно было оценить ДЛТ. Если лечение в рамках исследования прерывается из-за токсичности, связанной с приемом препарата, это будет считаться ДЛТ.

Таблица 4. Определение дозолимитирующей токсичности

Общие положения
Любая смерть, не связанная с основным заболеванием или посторонними причинами. Любая токсичность степени 2, которая (по мнению исследователя) является потенциально опасной для жизни и не поддается контролю с помощью стандартных мер (например, кортикостероидов).

Связанное с лекарственным средством НЯ любой степени, наблюдаемое в период оценки ДЛТ, который приводит к непрерывному прерыванию приема препарата и не позволяет участнику получить по меньшей мере 75% запланированных доз лечения, определенных для когорты, или является основной причиной для постоянного прекращения лечения в рамках исследования.
Гематологическая токсичность
Тромбоцитопения 4 степени или тромбоцитопения ≥ 3 степени с клинически значимым кровотечением (требующим госпитализации, переливания препаратов крови или другого срочного медицинского вмешательства). Нейтропения ≥ 4 степени продолжительностью > 5 дней или сопровождающаяся лихорадкой. Анемия 4 степени, не объясняемая основным заболеванием или не связанными с ним болезнями (например, гемолизом).
Негематологическая токсичность
Любая негематологическая токсичность ≥ 3 степени ИСКЛЮЧАЯ следующее: Преходящие (≤ 72 часов) аномальные лабораторные показатели, не требующие лечения (например, амилаза). Тошнота/рвота степени 3 или диарея < 72 часов при адекватной противорвотной и другой поддерживающей терапии. Усталость степени 3<1 недели. Бессимптомные изменения липидного профиля или уровня глюкозы в крови. Алопеция. События, соответствующие критериям закона Хая (определяются как повышение АСТ или АЛТ > 3 × ВПН и общего билирубина > 2 × ВПН, когда не может быть найдена другая причина, объясняющая такое сочетание повышений).

В начале каждого цикла лечения участник должен соответствовать критериям продолжения лечения, указанным выше, до начала инфузии АНТИТЕЛА Х. Если критерии не соблюдены, лечение в рамках исследования (оба препарата исследования) прерывается. Участники выбывают из активной части исследования, если критерии продолжения лечения не выполняются в течение 28 дней после запланированного начала цикла. Если один из исследуемых препаратов в комбинации должен быть отменен из-за неприемлемой токсичности, то участник отменяет оба исследуемых препарата (т.е. лечение в рамках исследования) и переходит в последующую часть исследования.

Для АНТИТЕЛА Х и эпакадостата снижение дозы не допускается .

Оценка ответа

Для оценки ответа при солидных опухолях используются критерии оценки ответа

при солидных опухолях (RECIST) v1.1. Рекомендуемый способ измерения и последующего наблюдения за опухолевой нагрузкой определяется с помощью компьютерной томографии, которая выполняется с использованием последовательных методик и оборудования. Альтернативные методики исследования (например, МРТ) могут быть заменены на КТ по усмотрению исследователя при условии, что один и тот же способ используется на протяжении всего исследования, а методика соответствует RECIST v1.1. Первичная визуализация опухоли проводится в течение 28 дней до получения первой дозы исследуемого лечения. Опухолевые поражения, расположенные в ранее облученной области или в области, подвергшейся другой локорегиональной терапии, не выбираются в качестве целевых поражений. Кроме того, рекомендуется, чтобы опухолевые поражения, отобранные для биопсии, не были выбраны в качестве целевых поражений.

Иммунотерапевтические средства могут оказывать противоопухолевое действие путем потенцирования эндогенного раково-специфического иммунного ответа. Характер ответа, наблюдаемый при таком подходе, может выходить за рамки типичного времени ответа, наблюдаемого при использовании цитотоксических агентов, и может проявиться клинический ответ после первоначального увеличения опухолевого бремени или даже появления новых очагов поражения. Стандартный RECIST v1.1 не может обеспечить полностью точную оценку ответа на иммунотерапевтические препараты и может потребовать отстранения от лечения участников, которые в противном случае могли бы получить пользу от дальнейшего лечения иммунотерапией. Поэтому общие принципы модифицированной версии RECIST v1.1 для иммунотерапевтических препаратов, названной iRECIST, используются в данном исследовании для оценки ответа участников в исследовательском качестве. Использование iRECIST учитывает особенности ответа на иммунотерапию и включает требование подтверждения прогрессирования, чтобы исключить или подтвердить псевдопрогрессирование.

Нежелательные явления контролируются, все серьезные нежелательные явления (СНЯ) регистрируются и сообщаются. Проводятся клинические лабораторные исследования, включая измерение уровня кинуренина в плазме крови и образцах опухоли.

Уровень кинуренина в плазме измерялся способом ЖХ-МС/МС в World Wide Clinical Trials, Inc. Образцы пациентов были получены до приема дозы и в определенные сроки после лечения. Уровень кинуренина в плазме крови может быть измерен по существу так, как описано Huang, et al., Bioanalysis, 2013; 5(11): 1397-1407.

Уровень кинуренина в образцах опухоли, замороженных во вспышке, будет измерен с помощью количественной масс-спектрометрической визуализации или ЖХ-МС/МС. Биопсия опухоли будет получена до начала лечения и на 5-й неделе лечения.

Анализ при последующем наблюдении

Участники, прекратившие лечение по причине, отличной от прогрессирования заболевания, переходят в период наблюдения за состоянием болезни и должны каждые 12 недель ± 7 дней проходить радиологическую визуализацию для контроля состояния

болезни. Можно приложить усилия для сбора информации о состоянии заболевания до начала новой противоопухолевой терапии; прогрессирования заболевания; смерти; окончания исследования; потери участника для последующего наблюдения. После того, как участник получил последнюю дозу лечения в рамках исследования, подтвердил прогрессирование заболевания или начал новую противоопухолевую терапию, он переходит в период наблюдения за выживаемостью, и с ним следует связываться по телефону, электронной почте или посещать его не реже одного раза в 12 недель для оценки состояния выживаемости вплоть до смерти, отзыва согласия или окончания исследования, в зависимости от того, что произойдет раньше.

Результаты

В вышеуказанном исследовании две группы по три пациента в каждой (группа 1 и группа 2), страдающие солидными опухолями, получали АНТИТЕЛО X (500 мг 1 раз в 4 недели) в комбинации с эпакадостатом 100 мг 2 раза в день или 600 мг 2 раза в день. Пациентам группы 1 назначался эпакадостат в дозе 100 мг 2 раза в день, а группе 2 - эпакадостат в дозе 600 мг 2 раза в день. У пациентов группы 2 наблюдалось более значительное снижение уровня кинуренина в плазме крови по сравнению с тремя пациентами группы 1 на 8-й день лечения, причем у 2/3 наблюдалось устойчивое снижение после 5 недель лечения. Это свидетельствует о том, что более высокие дозы эпакадостата приводят к более высоким уровням ингибирования IDO1.

Такое снижение уровня кинуренина в плазме крови при применении эпакадостата 600 мг 2 раза в день было неожиданным, учитывая результаты предыдущих клинических испытаний эпакадостата 300 мг 2 раза в день в комбинации с другим анти-PD-1 антителом пембролизумабом (200 мг/кг 1 раз в 3 недели), которые показали значения I_{max}, I_{min} и I_{avg} 97%, 76% и 88%.

Термин «I_{max}» относится к максимальному проценту рассчитанного ингибирования IDO во всех временных точках ФК. I_{max} представляет собой максимальный или самый высокий процент ингибирования IDO между моментом введения препарата и его минимумом (например, самой низкой концентрацией препарата, присутствующей у субъекта). Например, при приеме дважды в день, I_{max} относится к наибольшему проценту ингибирования IDO в период между 0 часом (до приема дозы) и 12-ым часом после приема.

Термин «I_{min}» относится к минимальному проценту рассчитанного ингибирования IDO во всех временных точках ФК. I_{min} предсталяет собой процент ингибирования IDO при достижении минимума (например, обычно на 12-ый час при приеме препарата дважды в день). Например, $I_{min} \geq 50$ означает, что ингибирование IDO составляет 50% или более на минимуме (например, на 12-ый час).

Термин «I_{avg}» относится к среднему проценту ингибирования IDO в период от момента введения препарата до его минимума. Он рассчитывается как площадь под кривой ингибирования со временем (AUC) (рассчитанная линейно-трапециевидным способом), деленная на интервал дозирования (например, 12 часов при дозировке 2 раза в

день).

Рассчитанные значения I_{max}, I_{min} и I_{avg} для каждого субъекта были суммированы как среднее ± стандартное отклонение (среднее геометрическое) стандартных статистических расчетов для каждой группы доз.

Комбинация АНТИТЕЛА X и эпакадостата была оценена в исследовании по определению дозы (INCMGA 0012-102, NCT03059823). 31 участник получал лечение комбинацией АНТИТЕЛА X 500 мг 1 раз в 4 недели и эпакадостата в дозах 100 мг, 400 мг, 600 мг и 900 мг 2 раза в день. Эпакадостат 900 мг 2 раза в день превысил МПД на основании развития сыпи степени 3 у 2 из 3 участников, причем у третьего участника сыпь появилась сразу после определенного протоколом окна ДЛТ. Нежелательные явления, возникшие на фоне лечения (НЯФЛ), о которых сообщили более 10% участников, включали усталость, тошноту, боль в животе, зуд, макуло-папулезную сыпь и диарею. Серьезные нежелательные явления (СНЯ) произошли у 8 участников (25,8%), однако ни одно СНЯ не произошло более чем у 1 участника. У трех участников наблюдалась дозолимитирующая токсичность (ДЛТ), все из которых были макуло-папулезной сыпью степени 3 (одна ДЛТ произошла при дозе эпакадостата 400 мг 2 раза в день в комбинации с АНТИТЕЛОМ X и две - при дозе эпакадостата 900 мг 2 раза в день). Эпакадостат 600 мг 2 раза в день хорошо переносился в комбинации с АНТИТЕЛОМ X 500 мг 1 раз в 4 недели в первой когорте участников и в настоящее время проходит дальнейшую оценку. Кроме того, эпакадостат 600 мг 2 раза в день привел к стойкой нормализации уровня кинуренина в предварительных наблюдениях.

На ФИГ. 1 показаны результаты определения кинуренина в плазме крови пациентов, получавших АНТИТЕЛО X в сочетании с указанными дозами эпакадостата (100 мг 2 раза в день; 400 мг 2 раза в день; 600 мг 2 раза в день; 900 мг 2 раза в день). Плазменный кинуренин измерялся до лечения (C1D1) и во время указанных визитов. На ФИГ. 1 показано, что лечение 600 мг 2 раза в день привело к устойчивому (до 4 месяцев) снижению уровня кинуренина в плазме у большинства пациентов.

Пример 2. Исследование 2-й фазы АНТИТЕЛА X в комбинации с эпакадостатом у пациентов с рецидивирующим или распространенным PD-L1-позитивным микросателлит-стабильным раком эндометрия

Общий дизайн исследования

Это многоцентровое, открытое, нерандомизированное исследование фазы 2 АНТИТЕЛО X в комбинации с эпакадостатом у участников с распространенным или метастатическим раком эндометрия, который является микросателлит-стабильным (MSS) и PD-L1 позитивным и который прогрессировал во время или после химиотерапии на основе платины. Участники будут получать АНТИТЕЛО X 500 мг 1 раз в 4 недели (внутривенное введение) в сочетании с эпакадостатом 600 мг 2 раза в день (пероральное введение) в течение 26 циклов. В рамках данного исследования будет проведен один промежуточный анализ на предмет бесперспективности после зачисления 24 участников. В таблице 5 описаны цели и конечные точки данного исследования.

Таблица 5.

Цели	Конечные точки
Первичные	
Определить эффективность АНТИТЕЛА X в комбинации с эпакадостатом у участников с распространенным или метастатическим MSS, PD-L1 позитивным раком эндометрия.	Частота объективного ответа (ORR), определяемая как процент участников с лучшим общим ответом в виде подтвержденного полного ответа (CR) или частичного ответа (PR), определенного независимой централизованной оценкой (ICR) согласно RECIST v1.1
Вторичные	
Дальнейшая оценка клинической эффективности комбинации АНТИТЕЛА X и эпакадостата.	Продолжительность ответа (DOR), определяемая как время от первого подтвержденного объективного ответа (CR или PR) в соответствии с RECIST v1.1 (как определено ICR) до прогрессирования заболевания или смерти по любой причине. Частота контроля заболевания (DCR), определяемая как доля участников с лучшим общим подтвержденным ответом CR или PR, или SD в течение по меньшей мере 24 недель (по определению ICR).
Исследовательские	
Оценить фармакокинетику (ФК) АНТИТЕЛА X в комбинации с эпакадостатом.	Будут обобщены данные о ФК АНТИТЕЛА X в комбинации с эпадостатом (включая C_{max}, T_{max}, C_{min}и AUC_{0-t}).
Оценка ФК эпакадостата при введении в комбинации с АНТИТЕЛОМ X.	Будут обобщены данные о ФК эпакадостата в комбинации с АНТИТЕЛОМ X (включая C_{max}, T_{max}, C_{min}и AUC_{0-t}).
Определить эффективность АНТИТЕЛА X в комбинации с эпакадостатом по оценке	ОРР, определяемый как процент участников с лучшим общим ответом,

исследователя у участников с распространенным или метастатическим MSS, PD-L1-позитивным раком эндометрия.	подтвержденным CR или PR, определенный исследователем согласно RECIST v1.1 и iRECIST DOR, определяемый как время от первого подтвержденного объективного ответа (CR или PR) в соответствии с RECIST v1.1 (по определению исследователя) до прогрессирования заболевания или смерти по любой причине. DCR, определяемая как доля участников с лучшим общим подтвержденным ответом CR или PR, или SD в течение по меньшей мере 24 недель (по определению исследователя) согласно RECIST v1.1 и iRECIST. Выживаемость без прогрессирования (PFS), определяемая как время от первой дозы исследуемого лечения до прогрессирования заболевания (по определению ICR) или смерти по любой причине по ICR в соответствии с RECIST v1.1 и iRECIST. Общая выживаемость (OS), определяемая как время с момента получения первой дозы исследуемого лечения до смерти по любой причине.
Дальнейшая оценка клинической эффективности комбинации АНТИТЕЛА X и эпакадостата путем оценки ICR у участников с распространенным или метастатическим MSS, PD-L1 позитивным раком эндометрия.	OPP, определяемый как процент участников с лучшим общим ответом, подтвержденным CR или PR, определенный ICR согласно iRECIST. DOR, определяемая как время от первого подтвержденного объективного ответа (CR или PR) в соответствии с iRECIST по определению IRC, до прогрессирования заболевания или смерти по любой

	причине. DCR, определяемая как доля участников с лучшим общим подтвержденным ответом CR или PR, или SD в течение по меньшей мере 24 недель (по определению IRC) согласно и iRECIST. PFS определяемое как время от первой дозы лечения в рамках исследования до прогрессирования заболевания, определенного по RECISTv1.1 и iRECIST (по определению ICR), или смерти по любой причине.

После прекращения лечения лечебная часть исследования закончится, и участник перейдет к периоду последующего наблюдения. Последующее наблюдение состоит из трех частей: наблюдение за безопасностью, наблюдение за состоянием заболевания и наблюдение за выживаемостью. Участники прослеживаются для обеспечения безопасности в течение 90 дней после последней дозы исследуемого лечения или до начала новой противоопухолевой терапии, в зависимости от того, что произойдет раньше. Участники, прекратившие лечение в рамках исследования по причине, не связанной с прогрессированием заболевания, переходят в период наблюдения за состоянием заболевания и должны продолжать проходить оценку 1 раз в 8 недель для мониторинга состояния заболевания до начала новой противоопухолевой терапии, прогрессирования заболевания, смерти, окончания исследования или потери участника для последующего наблюдения.

Предпосылки и обоснование

Блокада иммунных ингибирующих путей становится важным терапевтическим способом лечения рака, о чем свидетельствуют клинические ответы, наблюдаемые при использовании антител к PD-1/PD-L1. Хотя эти отдельные агенты обладают противоопухолевой активностью, в микроокружении опухоли одновременно присутствуют многочисленные иммунные ингибирующие механизмы, что позволяет предположить, что для достижения оптимального терапевтического эффекта может потребоваться комбинированная терапия (Quezada & Peggs, Br. J. Cancer. 2013, 108:1560-1565). Цель данного исследования - изучить безопасность и эффективность АНТИТЕЛА X, ингибитора PD-1, в комбинации с эпакадостатом, ингибитором IDO1, что может повысить терапевтическую эффективность монотерапии анти-PD-1 у пациентов с PD-L1-позитивным, MSS раком эндометрия.

Рак эндометрия (РЭ) является наиболее распространенным гинекологическим раком в развитых странах (Colombo et al, Int. J. Gynecol. Cancer 2016, 26:2-30). В 2018 году

в мире было диагностировано около 380 000 новых случаев рака эндометрия, и, по оценкам, 90 000 женщин во всем мире умерли от этого заболевания. Это шестой по распространенности вид рака у женщин во всем мире (Brey et al, CA Cancer J. Clin. 2018, 68:394-424). В 2020 году в США ожидается около 65 620 новых случаев и 12 590 смертей от рака эндометрия. Две трети новых случаев заболевания диагностируются на ранней стадии. Средний возраст наступления заболевания - 60 лет, и оно редко встречается у женщин моложе 45 лет. Показатели заболеваемости раком эндометрия увеличиваются с течением времени и в последующих поколениях во многих странах мира, особенно в странах с быстрыми социально-экономическими преобразованиями (Lortet-Tieulent et al, J. Natl. Cancer Inst. 2018, 110:354-361). В то время как 5-летняя выживаемость составляет 95% при локализованном заболевании, только 17% женщин с отдаленными метастатическими заболеваниями выживут через 5 лет после постановки диагноза.

Факторы риска развития рака эндометрия включают повышенный уровень эстрогена (вызванный ожирением, диабетом и диетой с высоким содержанием жиров), ранний возраст наступления менархе, отсутствие беременности, поздний возраст менопаузы, пожилой возраст (≥ 55 лет) и применение тамоксифена (Van den Bosch et al, Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2012, 26:257-66; Kitchener & Trimble, Int. J. Gynecol. Cancer, 2009, 19:134-140; Dinkelspiel et al, Obstet. Gynecol. Int. 2013, 2013:583891; Obermair et al, Int. J. Cancer, 2010, Dec 1, 127:2678-2684). Ожирение с ИМТ более 30 является причиной до 81% вновь диагностированных случаев рака эндометрия (Nevadunsky et al, Obstet. Gynecol. 2014, 124:300-306). Заболеваемость раком эндометрия растет в первую очередь из-за увеличения частоты ожирения и вызванной им гиперинсулинемии.

Большинство случаев рака эндометрия являются спорадическими, но 2-5% случаев являются семейными и имеют зародышевые мутации в генах репарации несоответствия (Lynch et al, Nat. Rev. Cancer, 2015, 15:181-194). Четыре молекулярных кластера РЭ были выявлены в ходе комплексного исследования 373 РЭ с помощью Атласа генома рака (TCGA) (Kandoth et al, Nature, 2013, 497:67-73). К ним относятся: (1) ультрамутированный/полимеразаε(POLE)-мутированный; (2) гипермутированный/ MSI (MSI-H); (3) с низким числом копий (микросателлитостабильный [MSS]); и (4) с высоким числом копий. Опухоли POLE имели наилучшую PFS, а опухоли с высоким числом копий - наихудшую. К сожалению, способы секвенирования генома, используемые в TCGA, не подходят для более широкого клинического применения. Локализованный рак эндометрия можно вылечить путем хирургической резекции. Системная терапия применяется при более запущенном заболевании. Гормональная терапия предпочтительна при гормоноположительном заболевании низкой степени тяжести, которое быстро не прогрессирует. Она не рекомендуется для пациентов с висцеральными и быстро прогрессирующими заболеваниями (см. Colombo et al, Int. J. Gynecol. Cancer, 2016, 26:2-30). Рак эндометрия чувствителен к химиотерапии, поэтому при метастатическом, рецидивирующем заболевании или заболевании высокого риска предпочтительнее использовать многоагентную химиотерапию (Colombo et al, Int. J. Gynecol. Cancer, 2016,

26:2-30; National Comprehensive Care Network. Clinical Practice Guidelines in Oncology. Uterine Neoplasms. Version 3.2019-11 February 2019). Антрациклины, таксаны и соединения на основе платины были широко изучены при этом заболевании. Комбинация карбоплатина и паклитаксела обычно используется в качестве терапии первой линии при распространенном ЭК и имеет ОРР около 50%, PFS 13 месяцев и OS 3 года (Miller et al, Gynecol. Oncol. 2012, 125:771-773; Colombo et al, Int. J. Gynecol. Cancer, 2016, 26:2-30).

Возможности лечения после неудачи химиотерапии первой линии ограничены (Fleming et al, J. Clin. Oncol. 2015, 33:3535-3540). После неудачи первичной химиотерапии при этом заболевании не существует активного препарата второй линии. Паклитаксел имеет самую высокую частоту ответа 25% у пациентов, ранее лечившихся комбинацией цисплатина и доксорубицина. Частота ответа с доцетакселом у пациентов, получавших паклитаксел в первой линии терапии, составляет всего 8%. 5-летняя выживаемость при распространенном/рецидивирующем измеримом заболевании после второй линии терапии составляет <10% (Moxeley et al, The Oncologist, 2010, 15:1026-1033; Dizon et al, J. Clin. Oncol. 2009, 27:3104-3108; и Garcia et al, Gynecol. Oncol. 2008, 111:22-26). Эверолимус плюс летрозол и бевацизумаб также показали скромную активность в небольших неконтролируемых исследованиях, как и монотерапия ингибиторами PD-1 и в комбинации с другими видами терапии в опухолях, которые не были отобраны по нарушениям в репарации ДНК (Ott et al, J. Immunother. Cancer 2017, 5:16; и Oaknin et al, Gynecol. Oncol. 2019, 154(1 suppl):Abstract 33). Дефицит MMR, в частности, был связан с устойчивостью к широко используемым химиотерапевтическим средствам (Guillotin & Martin, Exper. Cell Res. 2014, 329:110-115). Приблизительно в 25-30% РЭ являются MMR-дефицитными или MSI-H (Murali et al, Lancet Oncol. 2014, Jun;15(7):e268-278; Karamurzin and Rutgers, Int. J. Gynecol. Pathol. 2009, 28:239-255). Многообещающая клиническая активность подходов, основанных на иммунотерапии, наблюдается в опухолях, характеризующихся нарушениями в репарации ДНК (например, MSI-H, dMMR или ультрамутированные опухоли POLE), которые ассоциируются с высокой неоантигенной нагрузкой (Mittica et al, Oncotarget, 2017, 8:90532-90544; Brooks et al, CA Cancer J. Clin. 2019, 69:258-279; и Di Tucci et al, J. Gynecol. Oncol. 2019, 30:e46). Пембролизумаб показал свою эффективность в лечении опухолей с дефицитом MMP, включая рак эндометрия с дефицитом MMP (Le et al, N. Engl. J. Med. 2015, 372:2509-2520). Он одобрен в США для лечения рака эндометрия с дефицитом MSI-H или MMR, который прогрессировал после предшествующей терапии. ORR для РЭ составила 36%, а продолжительность ответа варьировалась от 4 до 17 месяцев.

Однако большая часть РЄ состоит из опухолей MSS. Существует неудовлетворенная потребность в более эффективном лечении рака эндометрия MSS, который прогрессирует после первоначальной химиотерапии на основе платины. Клетки РЄ сверхэкспрессируют PD-1 и PD-L1 в 25-75% случаев, что является самым высоким показателем среди всех гинекологических раков (Herzog et al, Gynecol. Oncol. 2015, 137:204-205). Клиническая активность монотерапии антителами против PD-(L)-1 при

опухолях MCC без нарушений в репарации ДНК скромная, и преимущества в выживаемости не установлено (Ott et al, J. Immunother. Cancer, 2017, 5:16; Marcus et al, Clin. Cancer Res. 2019, 25:3753-3758; и Fleming et al, J. Clin. Onc. 2017, 35(15 suppl):Abstract 5585.

Комбинированная терапия с антителами против PD-1 может быть более эффективной. Недавно пембролизумаб в комбинации с ленватинибом показал дополнительные преимущества при опухолях MSI-H и MSS после прогрессирования на предшествующих системных терапиях: общая частота ответов на 24-й неделе при опухолях MSI-H составила 63,6%, а у участников с опухолями MSS - 36,2% (Makker et al, J. Clin. Oncol. 2020; DOI: 10.1200/JCO.19.02627). Нежелательные явления степени 3 или 4 были зарегистрированы у 66,9% участников, а 21% прекратили лечение из-за нежелательных явлений. В этой популяции необходимо оценить больше комбинированных схем лечения, чтобы повысить безопасность и эффективность имеющихся в настоящее время способов терапии.

Кроме того, было показано, что при раке эндометрия количество индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) в воспаленной ткани значительно выше, чем триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO). IDO и TDO представляют собой два основных фермента, которые регулируют первый и лимитирующий этап пути кинуренина. Как описано выше, локальное истощение триптофана и накопление проапоптотических кинуренинов может значительно повлиять на пролиферацию и выживание Т-клеток. Поэтому раковые опухоли, которые экспрессируют гораздо большее количество IDO по сравнению с TDO, могут лучше реагировать на лечение ингибитором IDO и антителом PD-1, таким как АНТИТЕЛО X. Текущий набор трансляционных данных показывает, что рак эндометрия экспрессирует в 40 раз больше IDO по сравнению с TDO и 60% IDOhi/TDOlow, что делает его более восприимчивым к лечению ингибитором IDO, таким как эпакадостат. Другие виды рака с высоким соотношением IDO:TDO включают рак шейки матки (IDO:TDO 79:1 и 60% IDOhi/TDOlow), рак почек (или почечная почечно-светлоклеточная карцинома (KIRC) (IDO:TDO 45:1 и 60% IDOhi/TDOlow), рак легких, включая аденокарциному легких (IDO:TDO 7,5:1 и >25% IDOhi/TDOlow),

и рак головы и шеи (плоскоклеточная карцинома головы и шеи) (IDO:TDO 8:1 и 20% IDOhi/TDOlow). Поскольку в примере 1 показано, что более высокие дозы эпакадостата (до 600 мг) приводят к устойчивому (до 4 месяцев) снижению уровня кинуренина в плазме у большинства пациентов, эти виды рака должны лучше реагировать на лечение эпакадостатом, чем рак с низким уровнем IDO по сравнению с TPO.

Критерии включения

Участники могут быть включены в исследование только при наличии всех следующих критериев:

Способность понимать и готовность подписать письменную ФИС для участия в исследовании.

Взрослые мужчины и женщины в возрасте 18 лет и старше (или, как применимо, в

соответствии с требованиями страны).

Гистологически подтвержденный диагноз распространенного или метастатического рака эндометрия (кроме карциносаркомы и саркомы матки).

Радиологическое подтверждение прогрессирования заболевания после лечения не более чем 1 платиносодержащей схемой по поводу распространенного или метастатического заболевания.

Допускается проведение одной неоадъювантной/адъювантной химиотерапии на ранней стадии заболевания. Участники могут получить в общей сложности до 2 схем химиотерапии на основе платины, при условии, что одна из них будет проведена в рамках неоадъювантного или адъювантного лечения. Предшествующая гормональная терапия допустима при любом заболевании.

Готовность предоставить образец опухолевой ткани (свежий или архивный). Опухолевая ткань будет централизованно проверена на статус MSS и PD-L1.

Опухоли должны быть PD-L1-позитивными и являться MSS для включения в исследование, как определено по результатам центрального тестирования.

Должно быть по меньшей мере 1 измеримого опухолевого поражения согласно RECIST v1.1.

Показатель общего состояния по шкале ECOG 0 или 1.

Готовность избегать беременности на основании приведенных ниже критериев.

Женщины с детородным потенциалом должны иметь отрицательный сывороточный тест на беременность при скрининге и должны согласиться принимать соответствующие меры предосторожности, чтобы избежать беременности (по меньшей мере, с 99% уверенностью) в период скрининга и в течение 6 месяцев после последней дозы лечения в рамках исследования. Разрешенные способы, которые по меньшей мере на 99% эффективны для предотвращения беременности, должны быть доведены до сведения участниц и подтверждено их понимание.

К участию допускаются женщины, не имеющие возможности вынашивания ребенка (т. е. хирургически бесплодные, перенесшие гистерэктомию и/или двустороннюю оофорэктомию ИЛИ с аменореей ≥ 12 месяцев и в возрасте по меньшей мере 50 лет).

Информация о лечении исследования

В таблице 6 описана информация о лечении в рамках исследования. На визитах, где эпакадостат вводится в клинике, он должен вводиться непосредственно перед началом инфузии АНТИТЕЛА Х. Изменение дозы АНТИТЕЛА Х и эпакадостата не допускается. Если прерывание дозы необходимо для лечения связанных с препаратом НЯФЛ, АНТИТЕЛО Х будет вновь назначено в дозе 500 мг 1 раз в 4 недели.

Таблица 6. Информация о исследовании лечения

Название исследования лечения:	**АНТИТЕЛО Х**	**Эпакадостат**
Механизм действия:	Ингибитор PD-1	Ингибитор IDO1

Состав дозировки:	Жидкий состав	Таблетки 300 мг
Активность(и) единицы дозы/ уровень(ни) дозировки:	500 мг 1 раз в 4 недели	600 мг 2 раза в день
Указания по введению:	Внутривенно, в течение 30 (+15) минут, используя фильтр	2 таблетки дважды в день без учета приема пищи

Пример 3. Исследование 2/3 фазы ретифанлимаб плюс эпакадостат против ретифанлимаб плюс плацебо у участников с высоким риском невосприимчивого к БЦЖ немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря

Общий дизайн исследования

Это многоцентровое рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование фазы 2/3 АНТИТЕЛА X (т. е. ретифанлимаба) и эпакадостата у участников с невосприимчивым к БЦЖ немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря (НМИРМП) высокого риска с карциномой in situ (CIS) с папиллярными опухолями или без них, которые не имеют права на цистэктомию или решили не проводить ее, проводимое в соответствии с надлежащей клинической практикой. Участники будут стратифицированы по статусу PD-L1 (PD-L1-позитивный против PD-L1-негативного) и по статусу папиллярного заболевания (папиллярное против непапиллярного заболевания, имеющегося на исходном уровне). Исследование состоит из 2 групп лечения:

Группа A: ретифанлимаб 500 мг 1 раз в 4 недели плюс плацебо 2 раза в день

Группа B: ретифанлимаб 500 мг 1 раз в 4 недели плюс эпакадостат 600 мг 2 раза в день

Данное исследование будет состоять из 2 фаз. Фаза 2 начнется с рандомизации участников в соотношении 2:1 для получения ретифанлимаба и плацебо или ретифанлимаба и эпакадостата, соответственно. После набора 150 участников будет сделана пауза в наборе для наблюдения за реакцией участников на лечение в течение 6 месяцев. Если результаты анализа в конце фазы 2 будут соответствовать желаемым критериям, исследование откроет фазу 3 с рандомизацией 1:2 для дополнительных 150 участников для получения ретифанлимаба и плацебо или ретифанлимаба и эпакадостата соответственно.

После прекращения лечения лечебная часть исследования закончится, и участник перейдет к периоду последующего наблюдения. Последующее наблюдение состоит из 2 частей: наблюдение за безопасностью, наблюдение за состоянием заболевания и наблюдение за выживаемостью. Участники прослеживаются для обеспечения безопасности в течение 90 дней после последней дозы исследуемого лечения или до начала новой противоопухолевой терапии, в зависимости от того, что произойдет раньше. Участники, прекратившие лечение в рамках исследования по причине, не связанной с

прогрессированием заболевания, переходят в период наблюдения за состоянием заболевания и должны продолжать проходить оценку 1 раз в 12 недель для мониторинга состояния заболевания до начала новой противоопухолевой терапии, прогрессирования заболевания, смерти, окончания исследования или потери участника для последующего наблюдения.

Критерии включения

Участники могут быть включены в исследование только при наличии всех следующих критериев:

1. Способность понимать и готовность подписать письменную ФИС для участия в исследовании.

2. Взрослые мужчины и женщины в возрасте 18 лет и старше (или, как применяется, в соответствии с требованиями страны).

3. Патологически подтвержденный НМИРМП высокого риска, определяемый как карцинома-in-situ (CIS) с папиллярными опухолями или без них (высокозлокачественный Ta или T1),

Преобладающим гистологическим компонентом (>50%) должна быть уротелиальная (переходноклеточная) карцинома

4. Демонстрация отсутствия реакции на БЦЖ (согласно руководству FDA от февраля 2018 года),

Невосприимчивый к БЦЖ НМИРМП высокого риска определяется как: Персистирующий или рецидивирующий CIS отдельно или с рецидивирующим заболеванием Ta/T1 (неинвазивная папиллярная болезнь/опухоль инвазирует субэпителиальную соединительную ткань) в течение 12 месяцев после завершения адекватной терапии БЦЖ. Адекватная терапия БЦЖ определяется как минимум 5 из 6 доз вводного курса (адекватная индукция) плюс 2 из 3 доз поддерживающего курса или 2 из 6 доз второго вводного курса.

5. Прошли ≥2 цистоскопических процедур, причем последняя из них - за 8 недель до начала исследования, подтверждающая наличие НМИРМП высокого риска, как определено в критериях включения № 4, включая полную трансуретальную резекцию опухоли мочевого пузыря.

6. Полностью резецированная папиллярная болезнь на момент начала исследования; остаточная CIS допустима.

7. Готовность предоставить образец опухолевой ткани (архивный или свежий биоптат, содержащий CIS). Архивные ткани должны быть доступны и достаточны для анализа биомаркеров. Образцы должны быть взяты в течение 6 месяцев после скрининга и включать ткани из каждой части мочевого пузыря, подозрительной на заболевание CIS.

8. Непригодность к радикальной цистэктомии или отказ от нее.

9. Показатель общего состояния по шкале ECOG от 0 до 1.

10. Готовность избегать беременности на основании приведенных ниже критериев.

Мужчины с детородным потенциалом должны согласиться принять

соответствующие меры предосторожности, чтобы избежать отцовства детей (по меньшей мере, с 99% уверенностью) с момента скрининга до 90 дней после последней дозы лечения в рамках исследования и воздержаться от сдачи спермы в течение этого периода. Разрешенные способы, которые по меньшей мере на 99% эффективны для предотвращения беременности, должны быть доведены до сведения участниц и подтверждено их понимание.

Женщины с детородным потенциалом должны иметь отрицательный сывороточный тест на беременность при скрининге и должны согласиться принимать соответствующие меры предосторожности, чтобы избежать беременности (по меньшей мере, с 99% уверенностью) в период скрининга и в течение 6 месяцев после последней дозы лечения в рамках исследования. Разрешенные способы, которые по меньшей мере на 99% эффективны для предотвращения беременности, должны быть доведены до сведения участниц и подтверждено их понимание.

К участию допускаются женщины, не имеющие возможности вынашивания ребенка (т. е. хирургически бесплодные, перенесшие гистерэктомию и/или двустороннюю оофорэктомию ИЛИ с аменореей ≥ 12 месяцев и в возрасте по меньшей мере 50 лет).

Информация о лечении исследования

В таблице 7 представлена информация о лечении в рамках исследования для ретифанлимаба и эпакадостата, соответственно. На визитах, где эпакадостат вводится в клинике, он должен вводиться непосредственно перед началом инфузии ретифанлимаба. Изменение дозы ретифанлимаба и эпакадостата не допускается.

Таблица 7. Информация о лечении исследования

Название исследования лечения:	**Ретифанлимаб**	**Эпакадостат**
Механизм действия:	Ингибитор PD-1	Ингибитор IDO1
Состав дозировки:	Жидкий состав	Таблетки 300 мг
Активность(и) единицы дозы/ уровень(ни) дозировки:	500 мг 1 раз в 4 недели	600 мг 2 раза в день
Указания по введению:	Внутривенно, в течение 30 (+15) минут, используя фильтр	2 таблетки перорально 2 раза в день без учета приема пищи

Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Хотя способы и материалы,

аналогичные или эквивалентные описанным в настоящем документе, могут быть использованы в практике или испытаниях настоящего изобретения, ниже описаны примерные способы и материалы. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, упомянутые в настоящем документе, включены в него путем ссылки во всей своей полноте. В случае противоречия, настоящее изобретение, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у пациента, включающий введение указанному пациенту:

(i) эпакадостата или его фармацевтически приемлемой соли в дозе от около 400 мг до около 700 мг на основе свободного основания 2 раза в день; и

(ii) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывается с PD-1 человека, где антитело содержит (ii-1) вариабельный домен (VH) тяжелой цепи, содержащий область определения комплементарности (CDR)1, CDR2 VH и CDR3 VH; и (ii-2) вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL; где:

(a) CDR1 VH содержит аминокислотную последовательность SYWMN (**SEQ ID NO:6**);

(b) CDR2 VH содержит аминокислотную последовательность VIHPSDSETWLDQKFKD (**SEQ ID NO:7**);

(c) CDR3 VH содержит аминокислотную последовательность EHYGTSPFAY (**SEQ ID NO:8**);

(d) CDR1 VL содержит аминокислотную последовательность RASESVDNYGMSFMNW (**SEQ ID NO:9**);

(e) CDR2 VL содержит аминокислотную последовательность AASNQGS (**SEQ ID NO:10**); и

(f) CDR3 VL содержит аминокислотную последовательность QQSKEVPYT (**SEQ ID NO:11**).

2. Способ по п. 1, в котором эпакадостат вводится в качестве свободного основания.

3. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 400 мг 2 раза в день.

4. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 425 мг 2 раза в день.

5. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 450 мг 2 раза в день.

6. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 475 мг 2 раза в день.

7. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 500 мг 2 раза в день.

8. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 525 мг 2 раза в день.

9. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 550 мг 2 раза в день.

10. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 575 мг 2 раза в день.

11. Способ по п. 2, в котором эпакадостат вводится в дозе около 600 мг 2 раза в

день.

12. Способ по любому из пп. 1-11, в котором антитело вводится в дозе около 500 мг.

13. Способ по любому из пп. 1-11, в котором антитело вводится в фиксированной дозе около 500 мг один раз в каждые четыре недели.

14. Способ по любому из пп. 1-11, в котором антитело вводится в дозе около 375 мг один раз в каждые 3 недели.

15. Способ по любому из пп. 1-14, в котором антитело вводится путем внутривенного введения.

16. Способ по любому из пп. 1-15, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:4**.

17. Способ по любому из пп. 1-16, в котором антитело содержит тяжелую цепь и где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:2**.

18. Способ по любому из пп. 1-17, в котором домен VL содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:5**.

19. Способ по любому из пп. 1-18, в котором антитело содержит легкую цепь, и где легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:3**.

20. Способ по любому из пп. 1-19, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:4** и домен VL содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:5**.

21. Способ по любому из пп. 1-20, в котором антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, и в котором тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:2**, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, указанную в **SEQ ID NO:3**.

22. Способ по любому из пп. 1-21, в котором антитело содержит Fc-область изотипа IgG4 и шарнирный домен IgG4, который содержит стабилизирующую мутацию.

23. Способ по любому из пп. 1-22, в котором антитело представляет собой гуманизированное антитело.

24. Способ по любому из пп. 1-23, в котором рак представляет собой солидную опухоль.

25. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой рак кожи, рак легкого, лимфому, саркому, рак мочевого пузыря, рак мочеточника, уретры и мочеиспускательного канала, рак желудка, рак шейки матки, рак печени, рак молочной железы, рак почки, рак головы и шеи, плоскоклеточную карциному, колоректальный рак, рак эндометрия, анальный рак, а также опухоль с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI-H), дефицитом репарации несоответствия (dMMR) или положительное по мутации домена экзонуклеазы ε ДНК-полимеразы заболевание.

26. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой холангиокарциному, меланому, немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак

легкого, лимфому Ходжкина, уротелиальный карциномагастральный рак, гепатоцеллюлярную карциному, карциному клеток Меркеля, трижды негативный рак молочной железы, почечно-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному головы и шеи и колоректальный рак.

27. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой плоскоклеточную карциному анального канала.

28. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой карциному из клеток Меркеля.

29. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой рак эндометрия.

30. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой рак шейки матки.

31. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой рак почки.

32. Способ по п. 31, в котором рак представляет собой почечную светлоклеточную карциному.

33. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой рак легкого.

34. Способ по п. 33, в котором рак представляет собой аденокарциному легкого.

35. Способ по п. 33, в котором рак представляет собой плоскоклеточную карциному легкого.

36. Способ по п. 33, в котором рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

37. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой рак головы и шеи.

38. Способ по п. 37, в котором рак представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи.

39. Способ по любому из пп. 1-24, в котором рак представляет собой рак мочевого пузыря.

40. Способ по п. 39, в котором рак мочевого пузыря представляет собой невосприимчивый к БЦЖ немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря высокого риска.

41. Способ по любому из пп. 1-40, в котором рак является микросателлитно-стабильным (MSS).

42. Способ по любому из пп. 1-40, в котором рак является PD-L1-позитивным.

43. Способ по любому из пп. 1-41, в котором рак является микросателлитно-стабильным (MSS) и PD-L1-позитивным.

По доверенности