

## **REIVINDICACIONES**

1. Una molécula biespecífica que posee uno o más sitios de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un/unos epítopos de PD-1 y uno o más sitios de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un/unos epítopos de CTLA-4, caracterizado porque la molécula comprende:

(A) un Dominio Variable de Cadena Pesada y un Dominio Variable de Cadena Ligera de un anticuerpo que une PD-1; y

(B) un Dominio Variable de Cadena Pesada y un Dominio Variable de Cadena Ligera de un anticuerpo que une CTLA-4;

en donde la molécula es:

(i) un diacuerpo, el diacuerpo siendo un complejo enlazado de forma covalente que comprende dos, tres, cuatro o cinco cadenas de polipéptidos; o

(ii) una molécula de unión trivalente, la molécula de unión trivalente siendo un complejo enlazado de forma covalente que comprende tres, cuatro, cinco o más cadenas de polipéptidos.

2. La molécula biespecífica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque la molécula muestra una actividad que se intensifica en relación con tal actividad mostrada por dos moléculas monoespecíficas una de las cuales posee el Dominio Variable de Cadena Pesada y el Dominio Variable de Cadena Ligera del anticuerpo que une PD-1 y la otra de las cuales posee el Dominio Variable de Cadena Pesada y el Dominio Variable de Cadena Ligera del anticuerpo que une CTLA-4.

3. La molécula biespecífica de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, caracterizada porque la molécula obtiene pocos eventos adversos inmunes relacionados (irAE) cuando se administra a un sujeto en necesidad de la misma en relación con tales irAE obtenidos por la administración de un anticuerpo monoespecífico que une CTLA-4.

4. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, caracterizada porque la molécula comprende una Región de Fc.

5. La molécula biespecífica de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque la Región de Fc es una Región de Fc variante que comprende:

(A) una o más modificaciones de aminoácidos que reducen la afinidad de la Región de Fc variante para una FcγR; y/o

(B) una o más modificaciones de aminoácidos que intensifican la vida media en suero de la Región Fc variante.

6. La molécula biespecífica de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque las modificaciones que reducen la afinidad de la Región de Fc variante para una FcγR comprenden la sustitución de L234A; L235A; o L234A y L235A, en donde la numeración es aquella del índice EU como en Kabat.

7. La molécula biespecífica de conformidad con la reivindicación 5 o 6, caracterizada porque las modificaciones que intensifican la vida media en suero de la Región de Fc variante comprenden la sustitución de M252Y; M252Y y S254T; M252Y y T256E; M252Y, S254T y T256E; o K288D y H435K, en donde la numeración es aquella del índice EU como en Kabat.

8. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, caracterizada porque la molécula es el diacuerpo y comprende dos sitios de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de PD-1 y dos sitios de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de CTLA-4.

9. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera

de las reivindicaciones 1-7, caracterizada porque la molécula es la molécula de unión trivalente y comprende dos sitios de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de PD-1 y un sitio de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de CTLA-4.

10. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, caracterizada porque la molécula es capaz de unirse a las moléculas de PD-1 y CTLA-4 presentes en la superficie celular.

11. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, caracterizada porque la molécula es capaz de unirse de forma simultánea un PD-1 y CTLA-4.

12. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, caracterizada porque la molécula promueve la estimulación de células inmunes.

13. La molécula biespecífica de conformidad con la reivindicación 12, caracterizada porque la estimulación de células inmunes resulta en:

- (A) proliferación de células inmunes; y/o
- (B) producción y/o liberación de células inmunes de al menos una citocina; y/o
- (C) producción y/o liberación de células inmunes de al menos una molécula lítica; y/o
- (D) expresión de células inmunes de al menos un marcador de activación.

14. La molécula biespecífica de conformidad con la reivindicación 12 ó 13, caracterizada porque las células inmunes son un linfocito T o una célula NK.

15. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-14, caracterizada porque los sitios de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de PD-1 que comprende:

(A) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 6-I de PD-1 de VH (**SEQ ID NO:86**) y el Dominio de VL de mAb 6-SQ de PD-1 de VL (**SEQ ID NO:87**); o

(B) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 1 de PD-1 (**SEQ ID NO:47**) y el Dominio de VL de mAb 1 de PD-1 (**SEQ ID NO:48**); o

(C) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 2 de PD-1 (**SEQ ID NO:49**) y el Dominio de VL de mAb 2 de PD-1 (**SEQ ID NO:50**); o

(D) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 3 de PD-1 (**SEQ ID NO:51**) y el Dominio de VL de mAb 3 de PD-1 (**SEQ ID NO:52**); o

(E) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 4 de PD-1 (**SEQ ID NO:53**) y el Dominio de VL de mAb 4 de PD-1 (**SEQ ID NO:54**); o

(F) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 5 de PD-1 (**SEQ ID NO:55**) y el Dominio de VL de mAb 5 de PD-1 (**SEQ ID NO:56**); o

(G) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 6 de PD-1 (**SEQ ID NO:57**) y el Dominio de VL de mAb 6 de PD-1 (**SEQ ID NO:58**); o

(H) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 7 de PD-1 (**SEQ ID NO:59**) y el Dominio de VL de mAb 7 de PD-1 (**SEQ ID NO:60**); o

(I) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 8 de PD-1 (**SEQ ID NO:61**) y el Dominio de VL de mAb 8 de PD-1 (**SEQ ID NO:62**).

16. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-15, caracterizada porque el sitio de unión a los epítopos capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de CTLA-4 comprende:

(A) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 3 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:90**) y el Dominio de VL de mAb 3 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:91**); o

(B) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 1 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:76**) y el Dominio de VL de mAb 1 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:77**); o

(C) las seis CDR del Dominio de VH de mAb 2 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:78**) y el Dominio de VL de mAb 2 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:79**).

17. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-16, caracterizada porque los sitios de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de PD-1 que comprende:

(A) el Dominio de VH de mAb 6-I de PD-1 de VH (**SEQ ID NO:86**) y el Dominio de VL de mAb 6-SQ de PD-1 de VL (**SEQ ID NO:87**); o

(B) el Dominio de VH de mAb 1 de PD-1 (**SEQ ID NO:47**) y el Dominio de VL de mAb 1 de PD-1 (**SEQ ID NO:48**); o

(C) el Dominio de VH de mAb 2 de PD-1 (**SEQ ID NO:49**) y el Dominio de VL de mAb 2 de PD-1 (**SEQ ID NO:50**); o

(D) el Dominio de VH de mAb 3 de PD-1 (**SEQ ID NO:51**) y el Dominio de VL de mAb 3 de PD-1 (**SEQ ID NO:52**); o

(E) el Dominio de VH de mAb 4 de PD-1 (**SEQ ID NO:53**) y el Dominio de VL de mAb 4 de PD-1 (**SEQ ID NO:54**); o

(F) el Dominio de VH de mAb 5 de PD-1 (**SEQ ID NO:55**) y el Dominio de VL de mAb 5 de PD-1 (**SEQ ID NO:56**); o

(G) el Dominio de VH de mAb 6 de PD-1 (**SEQ ID NO:57**) y el Dominio de VL de mAb 6 de PD-1 (**SEQ ID NO:58**); o

(H) el Dominio de VH de mAb 7 de PD-1 (**SEQ ID NO:59**) y el Dominio de VL de mAb 7 de PD-1 (**SEQ ID NO:60**); o

(I) el Dominio de VH de mAb 8 de PD-1 (**SEQ ID NO:61**) y el Dominio de VL de mAb 8 de PD-1 (**SEQ ID NO:62**).

18. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, caracterizada porque el sitio de unión a los epítopos capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de CTLA-4 comprende:

(A) el Dominio de VH de mAb 3 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:90**) y el Dominio de VL de mAb 3 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:91**); o

(B) el Dominio de VH de mAb 1 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:76**) y el

Dominio de VL de mAb 1 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:77**); o

(C) el Dominio de VH de mAb 2 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:78**) y el Dominio de VL de mAb 2 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:79**).

19. La molécula biespecífica de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque:

(A) los sitios de unión al epítipo capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de PD-1 comprenden el Dominio de VH de mAb 6-I de PD-1 de VH (**SEQ ID NO:86**) y el Dominio de VL de mAb 6-SQ de PD-1 (**SEQ ID NO:87**); y

(B) el sitio de unión a los epítopos capaces de unión inmuno-específica a un epítipo de CTLA-4 comprenden el Dominio de VH de mAb 3 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:90**) y el Dominio de VL de mAb 3 de CTLA-4 (**SEQ ID NO:91**).

20. La molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-19, caracterizada porque la molécula comprende:

(A) dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:99**, y dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:100**; o

(B) una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:104**, una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:105**, una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:106**, y una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:107**; o

(C) dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:101**, y dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:100**; o

(D) una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:108**, una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:105**, una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:109**, y una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:107**; o

(E) dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:95**, y dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:96**; o

(F) dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:97**,

y dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:98**; o (G)  
dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:102**, y  
dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:103**.

21. Una molécula biespecífica que comprende dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:99** y dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:100**.

22. Una molécula biespecífica que comprende una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:104**, una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:105**, una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:106**, y una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:107**.

23. Una molécula biespecífica que comprende dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:101**, y dos cadenas de polipéptidos que comprenden **SEQ ID NO:100**.

24. Una molécula biespecífica que comprende una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:108**, una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:105**, una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:109**, y una cadena de polipéptidos que comprende **SEQ ID NO:107**.

25. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende una cantidad efectiva de la molécula biespecífica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-24 y un portador farmacéuticamente aceptable.