



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.02.03

(21) Номер заявки
201490779

(22) Дата подачи заявки
2012.10.11

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)

**(54) ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРТУЗУМАБА В КОМБИНАЦИИ С ТРАСТУЗУМАБОМ
И ХИМИОТЕРАПИЕЙ ДЛЯ НЕОАДЬЮВАНТНОГО ЛЕЧЕНИЯ HER2-
ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА РАННЕЙ СТАДИИ**

(31) 61/547,535; 61/567,015; 61/657,669;
61/682,037; 61/694,584

(32) 2011.10.14; 2011.12.05; 2012.06.08;
2012.08.10; 2012.08.29

(33) US

(43) 2015.11.30

(86) PCT/US2012/059683

(87) WO 2013/055874 2013.04.18

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖЕНЕНТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Алаватгам Сридхара, Амлер Лукас К.
(US), Де Толедо Пелизон Кристина Х.
(CH), Беньюнс Марк К. (US), Кларк
Эмма Л. (GB), Квонг Гловер Зефания
В. (US), Митчелл Лада (CH), Ратнаяк
Джаянтха, Росс Грэхам А. (GB), Уокер
Ру-Амир (US)**

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

(56) Genentech: "Pertuzumab Combined with Herceptin and Chemotherapy Significantly Extended the Time People with HER2-Positive Metastatic Breast Cancer Lived without Their Disease Getting Worse", 14 July 2011 (2011-07-14), XP002690525, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.gene.com/media/press-releases/13547/2011-07-14/pertuzumab-combined-with-herceptin-and-c/> [retrieved on 2013-01-17], the whole document

US-A1-2008102069

GIANNI L. ET AL.: "Neoadjuvant Pertuzumab (P) and Trastuzumab (H): Antitumor and Safety Analysis of a Randomized Phase II Study ('NeoSphere')", CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 70, no. 24, Suppl. 2, 15 December 2010 (2010-12-15), XP009166330, ISSN: 0008-5472, abstract

EUGENE R. AHN ET AL.: "Dual HER2-targeted approaches in HER2-positive breast cancer", BREAST CANCER RESEARCH AND TREATMENT, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO, vol. 131, no. 2, 29 September 2011 (2011-09-29), pages

371-383, XP019994873, ISSN: 1573-7217, DOI: 10.1007/S10549-011-1781-Y

D. LENIHAN ET AL.: "Pooled analysis of cardiac safety in patients with cancer treated with pertuzumab", ANNALS OF ONCOLOGY, vol. 23, no. 3, 10 June 2011 (2011-06-10), pages 791-800, XP055056836, ISSN: 0923-7534, DOI: 10.1093/annonc/mdr294, epub 10 June 2011, abstract, pages 798, 799

C. C. PORTERA ET AL.: "Cardiac Toxicity and Efficacy of Trastuzumab Combined with Pertuzumab in Patients with Trastuzumab-Insensitive Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Metastatic Breast Cancer", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 14, no. 9, 1 May 2008 (2008-05-01), pages 2710-2716, XP055056840, ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4636, the whole document in particular, abstract; pg. 2715, right-hand col., last paragraph

DENNIS SLAMON ET AL.: "Adjuvant Trastuzumab in HER2-Positive Breast Cancer", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 365, no. 14, 6 October 2011 (2011-10-06), pages 1273-1283, XP055056923, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa0910383, the whole document, in particular, abstract

YUNG-JUE BANG ET AL.: "Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial", THE LANCET, LANCET LIMITED; LONDON, GB, vol. 376, no. 9742, 28 August 2010 (2010-08-28), pages 687-697, XP027406316, ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X [retrieved on 2010-08-28], abstract, pg. 689, left-hand column

YAMASHITA-KASHIMA YORIKO ET AL.: "Pertuzumab in combination with trastuzumab shows significantly enhanced antitumor activity in HER2-positive human gastric cancer xenograft models", CLINICAL CANCER RESEARCH, THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 17, no. 15, 1 August 2011 (2011-08-01), pages 5060-5070, XP009168221, ISSN: 1078-0432 [retrieved on 2011-06-23], the whole document in particular abstract, figure 2, pg. 5069, last paragraph

M. PISHVAIAN ET AL.: "A global, multicenter phase II trial of lapatinib plus capecitabine in gastric cancer", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 29, no. 4 suppl., 88, February 2011 (2011-02), XP009168225, abstract

BASELGA JOSÉ ET AL.: "CLEOPATRA: a phase III evaluation of pertuzumab and trastuzumab for HER2-positive metastatic breast cancer", CLINICAL BREAST

CANCER, vol. 10, no. 6, 1 December 2010 (2010-12-01), pages 489-491, XP009168129, ISSN: 1938-0666, DOI: 10.3816/CBC.2010.N.065 [retrieved on 2011-08-11], the whole document

HOFFMAN-LA ROCHE: "A Phase III, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of Pertuzumab + Trastuzumab + Docetaxel vs. Placebo + Trastuzumab + Docetaxel in Previously Untreated Her2-Positive Metastatic Breast Cancer", TRIAL PROTOCOL no. WO20698/A, 8 December 2011 (2011-12-08), pages 1-20, XP007921677, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1113216> [retrieved on 2011-12-07], in particular Pg. 3; page 1-20

JOSE BASELGA ET AL.: "Pertuzumab plus Trastuzumab plus Docetaxel for Metastatic Breast Cancer", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 366, no. 2, 12 January 2012 (2012-01-12),

pages 109-119, XP055057318, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1113216, the whole document

SCHNEEWEISS A. ET AL.: "Neoadjuvant Pertuzumab and Trastuzumab Concurrent or Sequential with an Anthracycline-Containing or Concurrent with an Anthracycline-Free Standard Regimen: A Randomized Phase II Study (TRYPHAENA)", CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 71, no. 24, Suppl.3, 15 December 2011 (2011-12-15), XP009168120, ISSN: 0008-5472, abstract

WO-A1-2009154651

JAVIER CORTES ET AL.: "Docetaxel combined with targeted therapies in metastatic breast cancer", CANCER TREATMENT REVIEWS, vol. 38, no. 5, 27 August 2011 (2011-08-27), pages 387-396, XP055057516, ISSN: 0305-7372, DOI: 10.1016/j.ctrv.2011.08.001, the whole document, epub Aug 27, 2011

-
- (57) Изобретение относится к применению пертузумаба в комбинации с трастузумабом и химиотерапией, включающему доцетаксел и карбоплатин, на основе карбоплатина для неоадьювантного лечения HER2-положительного рака молочной железы на ранней стадии у пациента, где HER2-положительный рак молочной железы на ранней стадии не распространяется за пределы молочной железы или подмышечных лимфоузлов и где химиотерапия на основе карбоплатина включает доцетаксел и карбоплатин.

Эта непредварительная заявка, поданная согласно 37 CFR § 1.53(b), в соответствии с 35 USC § 119 (е) испрашивает приоритет по предварительной патентной заявке США с серийным № 61/547535, поданной 14 октября 2011 г., предварительной патентной заявке США с серийным № 61/567015, поданной 5 декабря 2011 г., предварительной патентной заявке США с серийным № 61/657669, поданной 8 июня 2012 г., предварительной патентной заявке США с серийным № 61/682037, поданной 10 августа 2012 г., и предварительной патентной заявке США с серийным № 61/694584, поданной 29 августа 2012 г., содержание которых включено в настоящий документ путем ссылки во всей своей полноте.

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к применению пертузумаба в качестве промышленных изделий и к промышленным изделиям, включающим в себя пертузумаб, наилучший в своем классе ингибитор димеризации HER2.

В частности, изобретение относится к продлению выживаемости без прогрессирования в популяции пациентов с HER2-положительным раком молочной железы; к сочетанию двух антител против HER2 для лечения HER2-положительного рака без повышения кардиотоксичности; к лечению ранней стадии HER2-положительного рака молочной железы; к лечению HER2-положительного рака путем совместного введения смеси пертузумаба и трастузумаба из одного пакета для внутривенного введения; к лечению HER2-положительного метастатического рака желудка; к лечению HER2-положительного рака молочной железы пертузумабом, трастузумабом и винорелбином; к лечению HER2-положительного рака молочной железы пертузумабом, трастузумабом и ингибитором ароматазы; и к лечению злокачественной опухоли яичника с низким уровнем HER3, первичной перитонеальной злокачественной опухоли или злокачественной опухоли фаллопиевых труб.

Изобретение также относится к промышленному изделию, включающему флакон с пертузумабом внутри и вкладыш в упаковку, предоставляющий данные по безопасности и/или данные по эффективности; к способу производства промышленного изделия и способу для обеспечения безопасного и эффективного применения пертузумаба, относящемуся к изделию.

Кроме того, изобретение относится к пакету для внутривенного (в/в) введения, содержащему стабильную смесь пертузумаба и трастузумаба, подходящую для введения пациенту с раком.

Предшествующий изобретению уровень техники

Члены семейства рецепторов тирозиназ HER представляют собой важные медиаторы клеточного роста, дифференцировки и выживания. Семейство рецепторов включает четыре отдельных члена, в том числе рецептор эпидермального фактора роста (EGFR, ErbB1, или HER1), HER2 (ErbB2 или p185^{neu}), HER3 (ErbB3) и HER4 (ErbB4 или tyro2). Члены семейства рецепторов вовлечены в различные типы злокачественных новообразований человека.

Рекомбинантная гуманизированная версия мышиного антитела к HER2 4D5 (huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, трастузумаб или Герцептин®; патент США № 5821337) является клинически активной у пациентов с метастатическими раками молочной железы с повышенной экспрессией HER2, которые ранее получали дополнительную противоопухолевую терапию (Baselga et al., J. Clin. Oncol. 14:737-744 (1996)).

Трастузумаб получил разрешение на продажу от Управления по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами (FDA) 25 сентября 1998 г. для лечения пациентов с метастатическим раком молочной железы, у которых опухоли сверхэкспрессируют белок HER2. В настоящее время трастузумаб одобрен для применения в качестве отдельного вещества или в комбинации с химиотерапией или гормональной терапией в условиях метастазирования, и в качестве отдельного вещества или в комбинации с химиотерапией в качестве адъювантного лечения для пациентов с ранней стадией HER2-положительного рака молочной железы. Терапия на основе трастузумаба сейчас является рекомендованным лечением для пациентов с ранней стадией HER2-положительного рака молочной железы, у которых нет противопоказаний к его применению (Герцептин®, инструкция по применению; рекомендации Национальной онкологической сети США (NCCN), версия 2.2011). Трастузумаб плюс доцетаксел (или паклитаксел) представляет собой зарегистрированный стандарт терапии первой линии для лечения метастатического рака молочной железы (метастатический РМЖ) (Slamon et al. N Engl J Med. 2001; 344 (11): 783-792; Marty et al. J Clin. Oncol. 2005; 23(19): 4265-4274).

Хотя введение трастузумаба приводит к превосходным результатам при лечении рака молочной железы, недавние данные клинического испытания лапатиниба, по-видимому, позволяют предположить, что даже при введении трастузумаба HER2 играет активную роль в биологии опухоли (Geyer et al., N Engl J Med 2006; 355: 2733-2743).

Пациенты, которых лечили антителом к HER2 трастузумабом, были выбраны для терапии на основании экспрессии HER2. См., например, WO 99/31140 (Paton et al), US 2003/0170234A1 (Hellmann, S.), и US 2003/0147884 (Paton et al); а также WO 01/89566, US 2002/0064785 и US 2003/0134344 (Mass et al). См., также, патент США № 6573043, патент США № 6905830 и US 2003/0152987, Cohen et al., относительно иммуногистохимии (IHC) и флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) для выявления амплификации и сверхэкспрессии HER2. Таким образом, оптимальная тактика терапии метастатического рака молочной железы в настоящее время принимает в расчет не только общее состояние пациента, историю

болезни (анамнез) и статус рецепторов, но также и статус HER2.

Пертузумаб (также известный как рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело 2C4 (rhuMAb 2C4); Genentech, Inc, South San Francisco) является наилучшим в новом классе веществ, известных как ингибиторы димеризации HER (HDI) и действует, ингибируя способности HER2 формировать активные гетеродимеры или гомодимеры с другими рецепторами HER (такими как EGFR/HER1, HER2, HER3 и HER4). См., например, Harari and Yarden *Oncogene* 19:6102-14 (2000); Yarden and Sliwkowski. *Nat Rev Mol. Cell Biol* 2:127-37 (2001); Sliwkowski *Nat Struct Biol* 10:158-9 (2003); Cho et al. *Nature* 421: 756-60 (2003) and Malik et al. *Pro Am Soc Cancer Res* 44: 176-7 (2003).

Блокада пертузумабом образования гетеродимеров HER2-HER3 в опухолевых клетках была продемонстрирована для ингибирования крайне важного сигнального пути в клетке, результатом которого является пролиферация и выживание опухоли (Agus et al. *Cancer Cell* 2:127-37 (2002)).

Пертузумаб тестировали в качестве одиночного препарата в клинике в исследовании фазы I у пациентов с распространенными злокачественными опухолями и в исследованиях фазы II у пациентов с раком яичников и раком молочной железы, а также раком легкого и раком предстательной железы. В фазе I исследования, пациентов с не поддающимися лечению, местнораспространенными, рецидивирующими или метастатическими солидными опухолями, которые прогрессировали во время или после стандартной терапии, лечили, вводя внутривенно пертузумаб каждые 3 недели. Пертузумаб, как правило, хорошо переносился. Была достигнута регрессия опухоли у 3 из 20 пациентов с возможностью оценки ответа. У двух пациентов был подтвержден частичный ответ. Стабильное течение заболевания в период 2,5 месяца наблюдали у 6 из 21 пациента (Agus et al. *Pro Am Soc Clin. Oncol.* 22:192 (2003)). При дозах 2,0-15 мг/кг фармакокинетика пертузумаба была линейной и средний период полувыведения находился в диапазоне от 2,69 до 3,74 мл/сутки/кг, средний конечный период полувыведения находился в диапазоне от 15,3 до 27,6 дней. Антитела к пертузумабу выявлены не были (Allison et al. *Pro Am Soc Clin. Oncol.* 22:197 (2003)).

US 2006/0034842 описывает способы лечения злокачественной опухоли, экспрессирующей ErbB, при помощи комбинаций антител к ErbB2. US 2008/0102069 описывает применение трастузумаба и пертузумаба для лечения HER2-положительной метастатической злокачественной опухоли, такой как рак молочной железы. Baselga et al., *J Clin. Oncol.*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I, Col. 25, № 18S (June 20 Supplement), 2007:1004 сообщает о лечении комбинацией трастузумаба и пертузумаба пациентов с ранее леченным HER2-положительным раком молочной железы, который прогрессировал во время лечения трастузумабом. Portera et al., *J Clin. Oncol.*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I, Vol.25, № 18S (June 20 Supplement), 2007:1028 оценивает эффективность и безопасность комбинированного лечения трастузумаб + пертузумаб у пациентов с HER2-положительным раком молочной железы, у которых было прогрессирование заболевания при терапии на основе трастузумаба. Авторы сделали вывод, что требуется дополнительная оценка эффективности комбинированного лечения, для того, чтобы определить риск в целом и преимущество этой схемы лечения.

Пертузумаб оценивали в исследованиях фазы II в комбинации с трастузумабом у пациентов с HER2-положительным метастатическим раком молочной железы, которые ранее получали трастузумаб для метастатического заболевания. Одно исследование, проведенное Национальным институтом рака (NCI), включало 11 пациентов с ранее леченным HER2-положительным метастатическим раком молочной железы. Два из 11 пациентов продемонстрировали частичный ответ (PR) (Baselga et al., *J Clin. Oncol.* 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings; 25:18S (июня 20 Supplement): 1004. Результаты фазы II неoadъювантного исследования, оценивающего действие новой комбинированной схемы лечения пертузумабом и трастузумабом плюс химиотерапия (доцетаксел) у женщин с ранними стадиями HER2-положительного рака молочной железы, представленные на CTRC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS), 8-12 декабря, 2010, показали, что два антитела к HER2 плюс доцетаксел, которые давали по схеме неoadъювантного лечения перед хирургическим вмешательством, значительно улучшали уровень полного исчезновения опухоли (частота полного патологического ответа, pCR, 45,8 процента) в молочной железе более чем наполовину по сравнению с трастузумабом плюс доцетаксел (pCR 29,0 процента), p=0,014.

Патентные публикации относительно антител к HER2 включают: патенты США №№ 5720937; 5720954; 5725856; 5770195; 5772997; 6165464; 6387371; 6399063; 6015567; 6333169; 4968603; 5821337; 6054297; 6407213; 6639055; 6719971; 6800738; 8075890; 5648237; 7018809; 6267958; 6685940; 6821515; 7060268; 7682609; 7371376; 6127526; 6333398; 6797814; 6339142; 6417335; 6489447; 7074404; 7531645; 7846441; 7892549; 8075892; 6573043; 6905830; 7129051; 7344840; 7468252; 7674589; 7919254; 6949245; 7485302; 7498030; 7501122; 7537931; 7618631; 7862817; 7041292; 6627196; 7371379; 6632979; 7097840; 7575748; 6984494; 7279287; 7811773; 7993834; 8076066; 8044017; 7435797; 7850966; 7485704; 7807799; 8142784; 7560111; 7879325; 8241630; 7449184; 8163287; 7700299; 7981418; 8247397; и US 2010/0016556; US 2005/0244929; US 2001/001432 6; US 2003/0202972; US 2006/0099201; US 2010/0158899; US 2011/0236383; US 2011/00334 60; US 2008/028 6280; US 2005/0063972; US 2006/0182739; US 2009/0220492; US 2003/0147884; US 2004/0037823; US 2005/0002928; US 2007/0292419; US 2008/0187533; US 2011/0250194; US 2012/0034213; US 2003/0152987; US 2005/0100944; US 2006/0183150; US 2008/0050748; US 2009/0155803; US 2010/0120053; US 2005/0244417; US 2007/002 6001; US

2008/0160026; US 2008/024114 6; US 2005/0208043; US 2005/0238640; US 2006/0034842; US 2006/0073143; US 2006/0193854; US 2006/0198843; US 2011/0129464; US 2007/0184055; US 2007/0269429; US 2008/0050373; US 2006/0083739; US 2009/0087432; US 2006/0210561; US 2002/0035736; US 2002/0001587; US 2008/022 6659; US 2002/0090662; US 2006/004 6270; US 2008/0108096; US 2007/0166753; US 2008/0112958; US 2009/0239236; US 2012/0034609; US 2012/0093838; US 2004/0082047; US 2012/0065381; US 2009/0187007; US 2011/0159014; US 2004/0106161; US 2011/0117096; US 2004/0258 685; US 2009/0148402; US 2009/0099344; US 2006/0034840; US 2011/0064737; US 2005/027 6812; US 2008/0171040; US 2009/0202536; US 2006/0013819; US 2012/0107391; US 2006/0018899; US 2009/0285837; US 2011/0117097; US 2006/0088523; US 2010/0015157; US 2006/0121044; US 2008/0317753; US 2006/0165702; US 2009/0081223; US 2006/0188509; US 2009/0155259; US 2011/0165157; US 2006/0204505; US 2006/0212956; US 2006/0275305; US 2012/0003217; US 2007/0009976; US 2007/0020261; US 2007/0037228; US 2010/0112603; US 2006/0067930; US 2007/0224203; US 2011/0064736; US 2008/0038271; US 2008/0050385; US 2010/0285010; US 2011/0223159; US 2008/0102069; US 2010/0008975; US 2010/0245103; US 2011/0246399; US 2011/0027190; US 2010/0298156; US 2011/0151454; US 2011/0223619; US 2012/0107302; US 2009/0098135; US 2009/0148435; US 2009/0202546; US 2009/0226455; US 2009/0317387; US 2011/0044977; US 2012/0121586.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к применению пертузумаба в комбинации с трастузумабом и химиотерапией, включающему доцетаксел и карбоплатин, для неоадьювантного лечения HER2-положительного рака молочной железы на ранней стадии, который не распространяется за пределы молочной железы или подмышечных лимфоузлов.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлено схематическое изображение структуры белка HER2 и аминокислотные последовательности для доменов I-IV (SEQ ID NO:1-4, соответственно) его внеклеточного домена.

Фиг. 2A и 2B показывают выравнивание аминокислотных последовательностей варибельного домена легкой цепи (V_L) (фиг. 2A) и варибельного домена тяжелой цепи (V_H) (фиг. 2B) моноклонального антитела мыши 2C4 (SEQ ID NO: 5 и 6 соответственно); V_L и V_H домены варианта 574/пертузумаб (SEQ ID NO:7 и 8, соответственно) и консенсусной последовательности каркаса V_L и V_H человека (hum k1, легкая цепь каппа подгруппа I; hum III, тяжелая цепь подгруппа III) (SEQ ID NO:9 и 10 соответственно). Звездочки отмечают различия между варибельными доменами пертузумаба и мышинового моноклонального антитела 2C4 или между варибельными доменами пертузумаба и каркасными областями человека. Определяющие комплементарность области (CDR) находятся в скобках.

Фиг. 3A и 3B показывают аминокислотные последовательности легкой цепи (фиг. 3A; SEQ ID NO:11) и тяжелой цепи (фиг. 3B; SEQ ID NO:12) пертузумаба. CDR выделены жирным. Рассчитанные молекулярные массы легкой цепи и тяжелой цепи составляют 23,526,22 Да и 49,216,56 Да (цистеины в восстановленной форме). Углеродная группа присоединена к Asn 299 тяжелой цепи.

Фиг. 4A и 4B показывают аминокислотные последовательности легкой цепи (фиг. 4A; SEQ ID NO:13) и тяжелой цепи (фиг. 4B; SEQ ID NO:14) трастузумаба, соответственно. Границы варибельных доменов легкой и тяжелой цепей указаны стрелками.

Фиг. 5A и 5B показывают вариантную последовательность легкой цепи пертузумаба (фиг. 5A; SEQ ID NO:15) и вариантную последовательность тяжелой цепи (фиг. 5B; SEQ ID NO:16) пертузумаба соответственно.

На фиг. 6 представлена схема исследования из примера 1. ECOG = Восточная объединенная онкологическая группа; PD = прогрессирующее заболевание. Примечания: трастузумаб, пертузумаб и цисплатин вводят посредством внутривенного вливания в день 1 каждого 3-недельного цикла. Капецитабин вводят перорально дважды в сутки, начиная с вечера дня 1 до утра дня 15 каждого 3-недельного цикла, (a) HER2-положительная опухоль определена или как IHC 3+ или IHC 2+ в комбинации с ISH + (т.е. IHC 3+ /ISH+ или IHC 2+ /ISH+); (b) трастузумаб в ударной дозе 8 мг/кг для цикла 1 и в дозе 6 мг/кг для последующих циклов; (c) пертузумаб в день 1 каждого цикла, в ударной дозе 840 мг для цикла 1 и в дозе 420 мг для циклов 2-6.

Фиг. 7 показывает отбор в исследование, популяцию по назначенному лечению и популяцию по оценке безопасности, и исключение пациентов из исследования в примере 3.

Фиг. 8 представляет собой кривую Каплана-Мейера для выживаемости без прогрессирования (PFS) по оценке независимого аналитического учреждения (IRF) для исследования в примере 3.

Фиг. 9 показывает PFS субгруппы пациентов для исследования в примере 3.

Фиг. 10 показывает общую выживаемость для исследования в примере 3.

Фиг. 11 представляет собой общий обзор режима дозирования у пациентов с HER2-положительным, неоадьювантным раком молочной железы с низкими кардиологическими факторами риска в примере 5. Дополнительная лучевая терапия, гормональная терапия и химиотерапия после хирургического вмешательства и во время адьювантного лечения трастузумабом были разрешены, если исследователь считал это необходимым.

Фиг. 12 показывает среднее изменение в ФВЛЖ (центральные чтения) для исследования в примере 5.

На фиг. 13 представлен полный патологический ответ (pCR) для исследования в примере 5.

Фиг. 14 показывает полный патологический ответ (pCR) по статусу рецепторов гормонов в исследовании в примере 5.

Фиг. 15 показывает профиль SEK пертузумаба в смеси пертузумаб/трастузумаб (840 мг) при 30° в 0,9% физиологическом растворе в полиолефиновых пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч. Развернутый вид; полный вид (врезка).

На фиг. 16 представлен профиль SEK трастузумаба в смеси пертузумаб/трастузумаб (840 мг) при 30°C в 0,9% физиологическом растворе в полиолефиновых пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч. Развернутый вид; полный вид (врезка).

На фиг. 17 представлен IEC профиль пертузумаба в смеси пертузумаб/трастузумаб (840 мг) при 30°C в 0,9% физиологическом растворе в полиолефиновых пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч. Полный вид.

Фиг. 18 показывает IEC профиль трастузумаба в смеси пертузумаб/трастузумаб при 30°C в 0,9% физиологическом растворе в ПО пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч. Развернутый вид; полный вид (врезка).

Фиг. 19 показывает CE-SDS LIF профиль не восстановленной смеси пертузумаб/трастузумаб при 30°C в 0,9% физиологическом растворе в ПО пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч. Развернутый вид.

На фиг. 20 представлен CE-SDS LIF профиль восстановленной смеси пертузумаб/трастузумаб при 30°C в 0,9% физиологическом растворе в ПО пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч. Развернутый вид.

Фиг. 21 представляет собой CZE смеси пертузумаб/трастузумаб при 30°C в 0,9% физиологическом растворе в ПО пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч. Полный вид.

На фиг. 22 представлен iCIEF смеси пертузумаб/трастузумаб при 30°C в 0,9% физиологическом растворе в ПО пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч. Полный вид.

На фиг. 23 представлены кривые активности доза-ответ (мкг/мл относительно ОЕФ) смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно в 0,9% физиологическом растворе в ПО пакетах для в/в введений (1) Время = 0; (2) Время = 24 ч.

Фиг. 24 показывает профиль SEK пертузумаба в смеси пертузумаб/трастузумаб (1560 мг) в 0,9% физиологическом растворе в пакетах для в/в введений (1) ПО 5°C T0 ч; (2) ПО 5°C T24 ч; (3) ПО 30°C T0 ч; (4) ПО 30°C T24 ч; (5) PBX 5°C T0 ч; (6) PBX 5°C T24 ч; (7) PBX 30°C T0 ч; (8) PBX 30°C T24 ч. Развернутый вид; полный вид (врезка).

На фиг. 25 представлен профиль SEK трастузумаба в смеси пертузумаб/трастузумаб (1560 мг) в 0,9% физиологическом растворе в пакетах для в/в введений (1) ПО 5°C T0 ч; (2) ПО 5°C T24 ч; (3) ПО 30°C T0 ч; (4) ПО 30°C T24 ч; (5) PBX 5°C T0 ч; (6) PBX 5°C T24 ч; (7) PBX 30°C T0 ч; (8) PBX 30°C T24 ч. Развернутый вид; полный вид (врезка).

На фиг. 26 представлен IEC профиль пертузумаба (быстрая IEC) смеси пертузумаб/трастузумаб (1560 мг) в 0,9% физиологическом растворе в пакетах для в/в введений (1) ПО 5°C T0 ч; (2) ПО 5°C T24 ч; (3) ПО 30°C T0 ч; (4) ПО 30°C T24 ч; (5) PBX 5°C T0 ч; (6) PBX 5°C T24 ч; (7) PBX 30°C T0 ч; (8) PBX 30°C T24 часа. Полный вид.

На фиг. 27 представлен IEC профиль трастузумаба смеси пертузумаб/трастузумаб (1560 мг) в 0,9% физиологическом растворе в пакетах для в/в введений (1) ПО 5°C T0 ч; (2) ПО 5°C T24 ч; (3) ПО 30°C T0 ч; (4) ПО 30°C T24 ч; (5) PBX 5°C T0 ч; (6) PBX 5°C T24 ч; (7) PBX 30°C T0 ч; (8) PBX 30°C T24 ч. Полный вид.

Фиг. 28 показывает схему исследования из примера 7.

На фиг. 29 представлен дизайн исследования из примера 8.

На фиг. 30 представлен дизайн исследования для части 1 из примера 11.

На фиг. 31 представлен дизайн исследования для части 2 из примера 11.

На фиг. 32 представлены взятые образцы и временные точки для исследования фазы IIа рака желудка (РЖ) в примере 1.

На фиг. 33 представлены демографические показатели популяции пациентов в двух группах по исследованию РЖ, которых лечили 420 мг (группа А) или 840 мг (группа В) пертузумаба.

На фиг. 34 представлена история болезни пациентов с РЖ в группах А и В, соответственно.

На фиг. 35 представлено распределение пациентов с РЖ в группах А и В, соответственно.

На фиг. 36 представлена суммарная эффективность терапии в группах А и В из исследования РЖ, соответственно.

На фиг. 37 представлены результаты оценки концентрации пертузумаба в день 42 при раке желудка (РЖ) по сравнению с метастатическим раком молочной железы (метастатический РМЖ). Остаточная концентрация в день 42 была ~37% при РЖ (JOSHUA 840/420 мг) по сравнению с метастатическим РМЖ (CLEO 840/420 мг). Обе схемы лечения JOSHUA 840/420 мг и 840/840 мг привели к остаточной концен-

трации в день $42 \geq 20$ мкг/мл у 90% пациентов. Схема лечения JOSHUA 840/840 мг привела к остаточной концентрации в день 42 при РЖ, сравнимой с наблюдаемыми остаточными концентрациями при метастатическом РМЖ (CLEO 840/420 мг).

Подробное описание предпочтительных вариантов осуществления

Словарь некоторых сокращений, использованных в настоящем документе: нежелательная реакция на лекарственное средство (ADR), нежелательное событие (AE), щелочная фосфатаза (ЩФ), абсолютное число нейтрофилов (ANC), площадь под кривой концентрация-время (AUC), капиллярный зонный электрофорез (CZE), цвет, внешний вид и прозрачность (CAC), клиническая оценка пертузумаба и трастузумаба (CLEOPATRA), доверительный интервал (CI), хромогенная гибридизация in situ (CISH), максимальная концентрация ($C_{\max}$), полный ответ (CR), индивидуальная регистрационная карта (CRF), компьютерная томография (КТ), общая терминология критериев для нежелательных явлений (CTCAE), доцетаксел (D), лимитирующая дозу токсичность (DLT), комитет по этике (EC), эпирубицин, цисплатин и 5-фторурацил (ECF), эхокардиограмма (ЭхоЭКГ), рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), Европейский Союз (ЕС), рецептор эстрогена (ER), 5-фторурацил, метотрексат и доксорубицин (FAMTX), флуоресцентная гибридизация in situ (FISH), 5-фторурацил (5-ФУ), соотношение рисков (HR), рецептор эпидермального фактора роста человека (EGFR), рак желудка (РЖ), надлежащая клиническая практика (GCP), рецептор эпидермального фактора роста 2 человека (HER2), ионообменная хроматография (IEC), иммуногистохимия (IHC), независимое наблюдательное учреждение (IRF), экспертный совет организации (IRB), гибридизация in situ (ISH), внутривенный (в/в), капиллярное изoeлектрическое фокусирование с детекцией в капилляре (iCIEF), фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ), митомицин С, цисплатин, и 5-фторурацил (MCF), магнитно-резонансное изображение (MRI), метастатический рак молочной железы (МРМЖ), радиоизотопная вентрикулография (MUGA), не значимый (NS), общая выживаемость (OS), полный патологический ответ (pCR), полиолефин (ПО), поливинилхлорид (ПВХ), прогрессирование заболевания (PD), выживаемость без прогрессирования (PFS), фармакокинетический (ФК), частичный ответ (PR), рецептор прогестерона (PgR), критерии оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), серьезный побочный эффект (SAE), эксклюзионная хроматография (SEK), стабильное заболевание (SD), группа организации исследования (SMT), стерильная вода для инъекций (SWFI), время достижения максимальной концентрации в плазме ($t_{\max}$), верхняя граница нормы (ULN).

I. Определения

Применяемый в настоящем документе термин "химиотерапия" относится к лечению, включающему введение химиотерапии, как определено в настоящем документе ниже.

"Выживаемость" относится к пациенту, который остается живым, и включает в себя общую выживаемость, а также выживаемость без прогрессирования.

"Общая выживаемость" или "OS" относится к пациенту, который остается живым в течение определенного периода времени, такого как 1 год, 5 лет и т.п. со времени постановки диагноза или начала лечения. Для целей клинического испытания, описанного в примере, общую выживаемость (OS) определяют как время от даты рандомизации популяции пациентов до даты смерти от любой причины.

"Выживаемость без прогрессирования" или "PFS" относится к пациенту, который остается живым без ухудшения состояния или прогрессирования злокачественной опухоли. Для целей клинического испытания, описанного в примере, выживаемость без прогрессирования (PFS) определяют как время от даты рандомизации исследуемой популяции до первого документально подтвержденного прогрессирования заболевания, или неконтролируемой токсичности, или смерти от любой причины, чтобы ни случилось первым. Прогрессирование заболевания может быть документально подтверждено любыми клинически приемлемыми способами, такими как, например, рентгенографическое прогрессирование заболевания, документально подтвержденное Критериями оценки ответа солидных опухолей (RECIST) (Therasse et al., J Natl Ca Inst 2000; 92 (3): 205-216), карциноматозный менингит, диагностированный путем цитологического исследования спинномозговой жидкости, и/или медицинская фотография для контроля повторного возникновения подкожных бляшек стенок грудной клетки.

Под "увеличением выживаемости" подразумевают увеличение общей выживаемости или выживаемости без прогрессирования у пациента, которого лечили в соответствии с настоящим изобретением, по сравнению с нелеченным пациентом и/или по сравнению с пациентом, которого лечили одним или несколькими одобренными противоопухолевыми агентами, но который не получал лечение в соответствии с настоящим изобретением. В конкретном примере "увеличение выживаемости" означает продолжительную выживаемость без прогрессирования (PFS) и/или общую выживаемость (OS) пациентов со злокачественной опухолью, получающих комбинированное лечение по настоящему изобретению (например, лечение комбинацией пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии) по сравнению с пациентами, которых лечили только трастузумабом и химиотерапией. В другом конкретном примере "увеличение выживаемости" означает продолжительную выживаемость без прогрессирования (PFS) и/или общую выживаемость (OS) пациентов со злокачественной опухолью, получающих комбинированное лечение по настоящему изобретению (например, лечение комбинацией пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии) по сравнению с пациентами, которых лечили только пертузумабом и химиотерапией.

"Объективный ответ" относится к измеряемому ответу, включая полный ответ (CR) или частичный

ответ (PR).

Под "полным ответом" или "CR" подразумевают исчезновение всех признаков злокачественной опухоли в ответ на лечение. Это не всегда означает, что злокачественная опухоль была вылечена.

"Частичный ответ" или "PR" относится к уменьшению размера одной или нескольких опухолей или образований, или к уменьшению распространения злокачественной опухоли в организме в ответ на лечение.

"Рецептор HER" представляет собой рецептор протеинтирозинкиназы, который принадлежит к семейству рецепторов HER и включает рецепторы EGFR, HER2, HER3 и HER4. Рецептор HER, как правило, содержит внеклеточный домен, который может связываться с лигандом HER и/или димеризоваться с другой молекулой рецептора HER; липофильный трансмембранный домен; консервативный внутриклеточный тирозинкиназный домен; и карбоксиконцевой сигнальный домен, содержащий несколько остатков тирозина, которые могут быть фосфорилированы. Рецептор HER может представлять собой "нативную последовательность" рецептора HER или его "вариантную аминокислотную последовательность". Предпочтительно рецептор HER представляет собой нативную последовательность рецептора HER человека.

Выражения "ErbB2" и "HER2" используются взаимозаменяемо в настоящем документе и относятся к белку человека HER2, описанному, например, у Semba et al., PNAS (USA) 82: 6497-6501 (1985) и Yamamoto et al. Nature 319:230-234 (1986) (Genebank, номер доступа X03363). Термин "erbB2" относится к гену, кодирующему ErbB2 человека и "neu" относится к гену, кодирующему p185^{neu} крысы. Предпочтительно HER2 представляет собой нативную последовательность HER2 человека.

В настоящем документе "внеклеточный домен HER2" или "HER2 ECD" относится к домену HER2, который находится снаружи клетки, или присоединен к клеточной мембране, или находится в циркуляции, включая его фрагменты. Аминокислотная последовательность HER2 показана на фиг. 1. В одном из вариантов осуществления внеклеточный домен HER2 может содержать четыре домена: "Домен I" (аминокислотные остатки приблизительно от 1-195; SEQ ID NO: 1), "Домен II" (аминокислотные остатки приблизительно от 196-319; SEQ ID NO: 2), "Домен III" (аминокислотные остатки приблизительно от 320-488; SEQ ID NO: 3) и "Домен IV" (аминокислотные остатки приблизительно от 489-630; SEQ ID NO: 4) (нумерация остатков без сигнального пептида). См. Garrett et al. Mol. Cell. 11: 495-505 (2003), Cho et al. Nature All: 756-760 (2003), Franklin et al. Cancer Cell 5: 317-328 (2004), and Plowman et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 90: 1746-1750 (1993), а также фиг. 6 в настоящем документе.

"HER3" или "ErbB3" в настоящем документе относятся к рецептору, описанному, например, в патентах США №№ 5183884 и 5480968, а также Kraus et al. PNAS (USA) 86: 9193-9197 (1989).

Злокачественная опухоль с "низким HER3" представляет собой опухоль, которая экспрессирует HER3 на уровне, меньшем чем средний уровень экспрессии HER3 в данном типе злокачественной опухоли. В одном из вариантов осуществления злокачественная опухоль с низким HER3 представляет собой эпителиальную злокачественную опухоль яичников, брюшины или фаллопиевой трубы. Можно оценивать уровень ДНК, белка и/или мРНК HER3 в злокачественной опухоли, для того чтобы определить, является ли злокачественная опухоль опухолью с низким HER3. См., например, патент США № 7981418 для дополнительной информации о злокачественной опухоли с низким HER3. Необязательно, проводят анализ экспрессии мРНК HER3 для того, чтобы определить, является ли злокачественная опухоль опухолью с низким HER3. В одном из вариантов осуществления уровень мРНК HER3 в злокачественной опухоли оценивают, например, при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР), такой как количественная ПЦР с обратной транскрипцией (qRT-ПЦР). Необязательно злокачественная опухоль экспрессирует HER3 в соотношении концентраций, равном или меньшем чем приблизительно 2,81 по оценке qRT-ПЦР, например, с использованием прибора COBAS z480®.

"Димер HER" в настоящем документе представляет собой нековалентно связанный димер, содержащий по меньшей мере два рецептора HER. Такие комплексы могут формироваться, когда клетка, экспрессирующая два или более рецепторов HER, подвергается воздействию лиганда HER, и их можно выделить при помощи иммунопреципитации и исследовать при помощи SDS-PAGE, как описано, например, в Sliwkowski et al., J. Biol. Chem., 269(20): 14661-14665 (1994). С димером могут быть связаны другие белки, такие как субъединица рецептора цитокинов (например, gp130). Предпочтительно димер HER включает HER2.

"Гетеродимер HER" в настоящем документе представляет собой нековалентно связанный гетеродимер, содержащий по меньшей мере два различных рецептора HER, такой как гетеродимеры EGFR-HER2, HER2-HER3 или HER2-HER4.

"Антитело к HER" представляет собой антитело, которое связывается с рецептором HER. Необязательно антитело к HER дополнительно мешает активации или функционированию HER. Предпочтительно антитело к HER связывается с рецептором HER2. Антителами к HER2, представляющими интерес, в настоящем документе являются пертузумаб и трастузумаб.

"Активация HER" относится к активации или фосфорилированию любого одного или нескольких рецепторов HER.

Как правило, результатом активации HER является передача сигнала (например, вызванная посред-

ством внутриклеточного киназного домена рецептора HER, фосфорилирующего тирозиновые остатки в рецепторе HER или полипептиде субстрата). Активация HER может быть опосредована связыванием лиганда HER с димером HER, состоящим из интересующего рецептора HER. Связывание лиганда HER с димером HER может активировать киназный домен одного или нескольких рецепторов HER в димере и, таким образом, приводить к фосфорилированию тирозиновых остатков в одном или нескольких рецепторах HER и/или фосфорилированию тирозиновых остатков в дополнительном полипептиде(-ах) субстрата, таком как внутриклеточные киназы Akt или MAPK.

"Фосфорилирование" относится к добавлению одной или нескольких фосфатных групп в белок, такой как рецептор HER или его субстрат.

Антитело, которое "ингибирует димеризацию HER" представляет собой антитело, которое ингибирует или препятствует образованию димера HER. Предпочтительно такое антитело связывается с HER2 в его гетеродимерном участке связывания. Наиболее предпочтительным антителом, ингибирующим димеризацию, в настоящем документе является пертузумаб или MAb 2C4. Другие примеры антител, которые ингибируют димеризацию HER, включают антитела, которые связываются с EGFR и ингибируют его димеризацию с одним или несколькими другими рецепторами HER (например, моноклональное антитело 806 к EGFR, MAb 806, которое связывается с активированным или "свободным" EGFR; см. Johns et al., J. Biol. Chem. 279 (29): 30375-30384 (2004)); антитела, которые связываются с HER3 и ингибируют его димеризацию с одним или несколькими другими рецепторами HER; и антитела, которые связываются с HER4 и ингибируют его димеризацию с одним или несколькими другими рецепторами HER.

"Ингибитор димеризации HER2" представляет собой агент, который ингибирует образование димера или гетеродимера, включающего в себя HER2.

"Гетеродимерный участок связывания" на HER2 относится к области внеклеточного домена HER2, которая контактирует или взаимодействует с областью внеклеточного домена EGFR, HER3 или HER4 при образовании димера с ними. Эта область находится в домене II HER2 (SEQ ID NO: 15). Franklin et al. Cancer Cell 5: 317-328 (2004).

Антитело к HER2, которое "связывается с гетеродимерным участком связывания" HER2, связывается с остатками в домене II (SEQ ID NO:2) и необязательно также связывается с остатками в других доменах внеклеточного домена HER2, таких как домены I и III (SEQ ID NO:1 и 3), и может пространственно помешать, по меньшей мере, в некоторой степени, образованию гетеродимера HER2-EGFR, HER2-HER3 или HER2-HER4. Franklin et al. Cancer Cell 5: 317-328 (2004) характеризует кристаллическую структуру HER2-Пертузумаб, хранящуюся в базе данных белков RCSB (ID Code 1S78), иллюстрируя пример антитела, которое связывается с гетеродимерным участком связывания HER2.

Антитело, которое "связывается с доменом II" HER2, связывается с остатками в домене II (SEQ ID NO: 2) и необязательно, с остатками в другом домене(ах) HER2, таком как домены I и III (SEQ ID NO:1 и 3 соответственно). Предпочтительно антитело, которое связывается с доменом II, связывается с соединением между доменами I, II и III HER2.

Для целей настоящего документа "пертузумаб" и "rhuMAb 2C4", которые используют взаимозаменяемо, относятся к антителу, содержащему аминокислотные последовательности вариабельной легкой и вариабельной тяжелой цепей из SEQ ID NO: 7 и 8 соответственно. Когда пертузумаб представляет собой интактное антитело, он предпочтительно включает антитело IgG1, в одном из вариантов осуществления, включающего аминокислотную последовательность легкой цепи из SEQ ID NO: 11 или 15, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи из SEQ ID NO: 12 или 16. Антитело необязательно производится рекомбинантными клетками китайского хомячка (CHO). Термины "пертузумаб" и "rhuMAb 2C4" в настоящем документе включают биоэквивалентные версии лекарственного средства с наименованием препарата по справочнику национальных непатентованных названий США (US AN) или международным непатентованным названием (INN): пертузумаб.

Для целей настоящего документа "трастузумаб" и rhuMAb4D5", которые используют взаимозаменяемо, относятся к антителу, содержащему аминокислотные последовательности вариабельной легкой и вариабельной тяжелой цепей из SEQ ID NO: 13 и 14 соответственно. Когда трастузумаб представляет собой интактное антитело, он предпочтительно включает антитело IgG1, в одном из вариантов осуществления, включающего аминокислотную последовательность легкой цепи из SEQ ID NO:13 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи из SEQ ID NO: 14. Антитело необязательно производится рекомбинантными клетками китайского хомячка (CHO). Термины "трастузумаб" и "rhuMAb4D5" в настоящем документе включают биоэквивалентные версии лекарственного средства с наименованием препарата по справочнику национальных непатентованных названий США (US AN) или международным непатентованным названием (INN): трастузумаб.

Термин "антитело" в настоящем документе применяется в самом широком смысле и конкретно включает моноклональные антитела, поликлональные антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) и фрагменты антител, при условии, что они проявляют желательную биологическую активность.

"Гуманизированные" формы не принадлежащих человеку антител (например, грызунов) представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из не

принадлежащего человеку иммуноглобулина. Преимущественно, гуманизированные антитела представляют собой иммуноглобулины человека (реципиентное антитело), в котором остатки из гипервариабельной области реципиента замещены остатками из гипервариабельной области видов, не являющихся человеком (донорное антитело), таких как мышь, крыса, кролик или не являющийся человеком примат, имеющими желаемую специфичность, аффинность и потенциал. В некоторых случаях остатки каркасной области (FR) иммуноглобулина человека замещены соответствующими остатками, не принадлежащими человеку. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которых нет в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации сделаны для дополнительного улучшения производительности антитела. Как правило, гуманизированное антитело содержит по существу все из по меньшей мере одного, и, как правило, двух вариабельных доменов, в которых все или по существу все гипервариабельные петли соответствуют петлям иммуноглобулина, не принадлежащего человеку, и все или по существу все из FR являются FR из последовательности иммуноглобулина человека. Гуманизированное антитело необязательно также содержит по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, из иммуноглобулина человека. Более подробно, см. Jones et al., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); и Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2: 593-596 (1992). Гуманизированные антитела к HER2 конкретно включают трастузумаб (ГЕРЦЕПТИН®), как описано в табл. 3 патента США 5821337, прямо включенного в настоящий документ в качестве ссылки, и как определено в настоящем документе; и гуманизированные антитела 2C4, такие как пертузумаб, как описано и определено в настоящем документе.

"Интактное антитело" в настоящем документе представляет собой антитело, которое содержит две антигенсвязывающие области, и Fc-область. Предпочтительно интактное антитело имеет функциональную Fc-область.

"Фрагменты антител" включают часть интактного антитела, предпочтительно содержащую его антигенсвязывающую область. Примеры фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂, и Fv; диантитела; линейные антитела; молекулы одноцепочечного антитела и полиспецифические антитела, образованные из фрагмента антител(a).

"Нативные антитела" представляют собой, как правило, гетеротетрамерные гликопротеины массой приблизительно 150000 Дальтон, состоящие из двух одинаковых легких (L) цепей и двух одинаковых тяжелых (H) цепей. Каждая легкая цепь связана с тяжелой цепью посредством одной ковалентной дисульфидной связи, хотя количество дисульфидных связей варьирует у тяжелых цепей различных изоформ иммуноглобулинов. Каждая тяжелая и легкая цепь также имеет через одинаковые промежутки внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая тяжелая цепь имеет на одном конце вариабельный домен (V_H), с последующим рядом константных доменов. Каждая легкая цепь имеет вариабельный домен на одном конце (V_L) и константный домен на другом конце. Константный домен легкой цепи смыкается с первым константным доменом тяжелой цепи, и вариабельный домен легкой цепи смыкается с вариабельным доменом тяжелой цепи. Как полагают, конкретные аминокислотные остатки образуют границу между легкой цепью и вариабельными доменами тяжелых цепей.

Термин "гипервариабельная область", используемый в настоящем документе, относится к аминокислотным остаткам антитела, которые отвечают за связывание с антигеном. Гипервариабельная область, в основном, содержит аминокислотные остатки из "определяющей комплементарности области" или "CDR" (например, остатки 24-34 (L1), 50-56 (L2) и 89-97 (L3) в вариабельном домене легкой цепи и 31-35 (H1), 50-65 (H2) и 95-102 (H3) в вариабельном домене тяжелой цепи; Rabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) и/или такие остатки из "гипервариабельной петли" (например, остатки 26-32 (L1), 50-52 (L2) и 91-96 (L3) в вариабельном домене легкой цепи и 26-32 (H1), 53-55 (H2) и 96-101 (H3) в вариабельном домене тяжелой цепи; Chothia и Lesk J. *Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Остатки "каркасной области" или "FR" представляют собой остатки вариабельного домена, иные, чем остатки гипервариабельной области, определенные в настоящем документе.

Термин "Fc-область" в настоящем документе применяют для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая нативную последовательность Fc-области и вариантную Fc-область. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулина могут варьировать, Fc-область тяжелой цепи IgG человека, как правило, определяют как простирающуюся от аминокислотного остатка в положении Cys226, или от Pro230 до карбоксильного конца. C-концевой лизин Fc-области (остаток 447 согласно системе нумерации EU) может быть удален, например, во время производства или очистки антитела, или путем рекомбинантной инженерии нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Таким образом, композиция интактных антител может содержать популяции антител со всеми удаленными остатками K447, популяции антител с неудаленными остатками K447 и популяции антител, включающие смесь антител с остатком или без остатка K447.

Если не указано иначе, в настоящем документе нумерация остатков в тяжелой цепи иммуноглобулина соответствует индексу EU, как у Rabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), напрямую включенному в настоящий документ в качестве ссылки. "Индекс EU, как у Rabat" относится к Европейской нумерации остат-

ков антитела IgG1 человека.

"Функциональная Fc-область" обладает "эффекторной функцией" нативной последовательности Fc-области.

Типичные "эффекторные функции" включают связывание с Clq; обусловленную комплементом цитотоксичность; связывание с Fc-рецептором; антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; негативную регуляцию рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора; BCR) и т.д. Такие эффекторные функции, в основном, требуют сочетания Fc-области со связывающим доменом {например, вариабельным доменом антитела) и могут быть оценены с использованием различных анализов, описанных, например, в настоящем документе.

"Нативная последовательность Fc-области" содержит аминокислотную последовательность идентичную аминокислотной последовательности Fc-области, которая встречается в природе. Нативная последовательность Fc-области человека включает в себя нативную последовательность Fc-области IgG1 человека (не-A и A аллотипы), нативную последовательность Fc-области IgG2 человека, нативную последовательность Fc-области IgG3 человека и нативную последовательность Fc-области IgG4 человека, а также их природные варианты.

"Вариантная Fc-область" содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-области за счет по меньшей мере одной аминокислотной модификации, предпочтительно замены одной или нескольких аминокислот. Предпочтительно вариантная Fc-область имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с нативной последовательностью Fc-области или по сравнению с Fc-областью родительского полипептида, например, приблизительно от одной до приблизительно десяти замен аминокислот и предпочтительно приблизительно от одной до приблизительно пяти замен аминокислот в нативной последовательности Fc-области или в Fc-области родительского полипептида. Вариантная Fc-область в настоящем документе предпочтительно обладает, по меньшей мере, приблизительно 80% гомологией с нативной последовательностью Fc-области и/или с Fc-областью родительского полипептида, и наиболее предпочтительно по меньшей мере приблизительно 90% гомологией с ними, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 95% гомологией с ними.

В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей, интактные антитела могут быть отнесены к различным "классам". Существует 5 главных классов интактных антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них могут быть дополнительно разделены на "подклассы" (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA и IgA2. Константные домены тяжелой цепи, которые соответствуют различным классам антител, называются α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Структура субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны.

"Голое антитело" представляет собой антитело, которое не конъюгировано с гетерологичной молекулой, такой как цитотоксическая функциональная группа или радиоактивная метка.

"Аффинно-зрелое" антитело представляет собой антитело с одним или несколькими изменениями в его одной или нескольких гипервариабельных областях, что приводит к улучшению сродства антитела к антигену, по сравнению с родительским антителом, которое не обладает такими изменениями. Предпочтительно аффинно зрелые антитела имеют наномолярные или даже пикомолярные аффинности к целевому антигену. Аффинно-зрелые антитела производят известными в данной области способами. Marks et al. *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) описывает созревание аффинности путем случайного перемешивания VH и VL доменов. Случайный мутагенез CDR и/или каркасных остатков описан у Barbas et al. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91: 3809-3813 (1994); Schier et al. *Gene* 169: 147-155 (1995); Yelton et al. *J. Immunol.* 155: 1994-2004 (1995); Jackson et al., *J. Immunol.* 154 (7): 3310-9 (1995) и Hawkins et al., *J. Mol. Biol.* 226: 889-896 (1992).

"Дезамидированное" антитело представляет собой антитело, в котором один или несколько аспарагиновых остатков были преобразованы в производное, например, в аспарагиновую кислоту, сукцинимид или изоаспарагиновую кислоту.

Термины "злокачественная опухоль" и "злокачественный" относятся к физиологическому состоянию или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое, как правило, характеризуется нерегулируемым клеточным ростом.

"Рак желудка" конкретно включает метастатический или местно распространенный нерезектабельный рак желудка, в том числе, без ограничений, гистологически подтвержденную аденокарциному желудка или гастроэзофагального соединения с неоперабельным (нерезектабельным) местно распространенным или метастатическим заболеванием, не поддающимся лечебной терапии, и послеоперационный рецидивирующий распространенный рак желудка, такой как аденокарцинома желудка или гастроэзофагального соединения, в случае, когда целью операции было излечение заболевания.

"Распространенная" злокачественная опухоль представляет собой опухоль, которая распространилась за пределы органа или места образования, или путем местной инвазии или метастазирования. Таким образом, термин "распространенная" злокачественная опухоль включает как местно распространенное, так и метастатическое заболевание.

"Рефрактерная" злокачественная опухоль представляет собой опухоль, которая прогрессирует даже, несмотря на противоопухолевый препарат, такой как химиотерапия, который вводят пациенту с раком. Примером рефрактерной злокачественной опухоли является опухоль, которая устойчива к платине.

"Рецидивирующая" злокачественная опухоль представляет собой опухоль, которая выросла снова, или в изначальном месте или на расстоянии, после ответа на начальную терапию, такую как хирургическое вмешательство.

"Местно рецидивирующая" злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль, которая возникла снова после лечения на том же месте, что и ранее леченная злокачественная опухоль.

"Неоперабельную" или "нерезектабельную" злокачественную опухоль невозможно удалить (резецировать) путем хирургии.

"Ранняя стадия рака молочной железы" в настоящем документе относится к раку молочной железы, который не распространяется за пределы молочной железы или подмышечных лимфоузлов. Такую злокачественную опухоль, в основном, лечат при помощи неоадьювантной или адьювантной терапии.

"Неоадьювантная терапия" относится к системной терапии, проводимой перед операцией.

"Адьювантная терапия" относится к системной терапии, проводимой после операции.

"Метастатическая" злокачественная опухоль относится к злокачественной опухоли, которая распространилась из одной части организма (например, молочной железы) в другую часть организма.

В настоящем документе, "пациент" или "индивидуум" является пациентом-человеком. Пациент может быть "пациентом со злокачественной опухолью" т.е. пациентом, который имеет риск развития или страдает от одного или нескольких симптомов злокачественной опухоли, в частности рака желудка или рака молочной железы.

"Популяция пациентов" относится к группе пациентов со злокачественной опухолью. Такие популяции можно использовать для демонстрации статистически значимой эффективности и/или безопасности лекарственного средства, такого как пертузумаб.

Пациент с "рецидивом" представляет собой пациента, у которого есть признаки или симптомы злокачественной опухоли после ремиссии.

Необязательно у пациента возникает рецидив после адьювантной или неоадьювантной терапии.

Злокачественная опухоль или биологический образец, который "демонстрирует экспрессию, амплификацию, или активацию HER", представляет собой тот, который в диагностическом тесте экспрессирует (в том числе, сверхэкспрессирует) рецептор HER, амплифицирует ген HER и/или иным образом демонстрирует активацию или фосфорилирование рецептора HER.

Злокачественная опухоль или биологический образец, который "демонстрирует активацию HER", представляют собой те, которые в диагностическом тесте демонстрируют активацию или фосфорилирование рецептора HER. Такую активацию можно определять прямо (например, путем измерения фосфорилирования HER посредством ELISA) или косвенно (например, путем определения профиля геной экспрессии или путем выявления гетеродимеров HER, как описано в настоящем документе).

Злокачественная клетка со "сверхэкспрессией" или амплификацией рецептора HER", представляет собой клетку, которая имеет значительно более высокие уровни рецептора, белка или гена HER по сравнению с незлокачественной клеткой такого же типа ткани. Такая сверхэкспрессия может быть вызвана амплификацией гена или повышенной транскрипцией или трансляцией. Сверхэкспрессию или амплификацию рецептора HER можно определять в диагностическом или прогностическом анализе путем оценки повышенных уровней белка HER, присутствующего на поверхности клетки (например, посредством иммуногистохимического анализа, ИHC). Альтернативно, или дополнительно, можно измерять в клетке уровни нуклеиновой кислоты, кодирующей HER, например, путем гибридизации *in situ* (ISH), в том числе флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH; см. WO 98/45479, опубликован в октябре 1998) и хромогенной гибридизации *in situ* (CISH; см., например, Tanner et al., Am. J. Pathol. 157(5) :1467-1472 (2000); Bella et al., J. Clin. Oncol. 26: (May 20 suppl; abstr 22147) (2008)), саузерн-блоттинга, или способами полимеразной цепной реакции (ПЦР), такими как количественная ПЦР в реальном времени (qRT-ПЦР). Можно также исследовать сверхэкспрессию или амплификацию рецептора HER путем измерения "слушающегося" с поверхности клетки антигена (например, внеклеточного домена HER) в биологической жидкости, такой как сыворотка (см., например, патент США № 4933294, выданный 12 июня 1990 г.; WO 91/05264, опубликованный 18 апреля 1991 г.; патент США 5401638, выданный 28 марта 1995 г.; и Sias et al. J. Immunol. Methods 132:73-80 (1990)). Помимо вышеуказанных анализов, специалисту в данной области доступны различные анализы *in vivo*. Например, можно подвергать клетки в организме пациента воздействию антитела, которое необязательно помечено детектируемой меткой, например, радиоактивным изотопом, и можно оценивать связывание антитела с клетками пациента, например, путем внешнего сканирования радиоактивности или путем анализа биопсии, взятой у пациента, который ранее подвергался воздействию антитела.

"HER2-положительная" злокачественная опухоль содержит злокачественные клетки, которые имеют уровни HER2, выше, чем нормальные. Примеры HER2-положительного рака включают HER2-положительный рак молочной железы и HER2-положительный рак желудка. Необязательно, HER2-положительная злокачественная опухоль имеет иммуногистохимический (ИHC) показатель 2+ или 3+

и/или соотношение амплификации $\geq 2,0$ при гибридизации in situ (ISH).

В настоящем документе, "противоопухолевый препарат" относится к лекарственному средству, применяемому для лечения злокачественной опухоли. Неограничивающие примеры противоопухолевых препаратов в настоящем документе включают препараты для химиотерапии, ингибиторы димеризации HER, антитела к HER, антитела, направленные против антигенов, ассоциированных с опухолями, противогормональные соединения, цитокины, лекарственные средства против EGFR, антиангиогенные средства, ингибиторы тирозинкиназы, средства и антитела, ингибирующие рост, цитотоксические средства, антитела, которые индуцируют апоптоз, ингибиторы COX, ингибиторы фарнезилтрансферазы, антитела, которые связываются с онкофетальным белком CA125, вакцины против HER2, ингибиторы Raf или gas, липосомальный доксорубин, топотекан, таксен, комбинацию из двух ингибиторов тирозинкиназы, TLK286, EMD-7200, пертузумаб, трастузумаб, эрлотиниб и бевацизумаб.

"Эпитоп 2C4" представляет собой область во внеклеточном домене HER2, с которой связывается антитело 2C4. Для отбора антител, которые связываются преимущественно с эпитопом 2C4 можно проводить обычный перекрестный конкурентный анализ, такой как описан в Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow и David Lane (1988). Предпочтительно антитело блокирует опосредованное 2C4 связывание с HER2 приблизительно на 50% или больше. Альтернативно, картирование эпитопов можно проводить для оценки, связывается ли антитело к HER преимущественно с эпитопом 2C4 на HER2. Эпитоп 2C4 включает остатки из домена II (SEQ ID NO: 2) во внеклеточном домене HER2. 2C4 и пертузумаб связываются с внеклеточным доменом HER2 в месте соединения с доменами I, II и III (SEQ ID NO: 1, 2, и 3 соответственно). Franklin et al. Cancer Cell 5: 317-328 (2004).

"Эпитоп 4D5" представляет собой область во внеклеточном домене HER2, с которой связываются антитело 4D5 (ATCC CRL 10463) и трастузумаб. Этот эпитоп расположен рядом с трансмембранным доменом HER2 и внутри Домена IV HER2 (SEQ ID NO: 4). Для отбора антител, которые связываются преимущественно с эпитопом 4D5, можно проводить обычный перекрестный конкурентный анализ, такой как описан в Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow и David Lane. Альтернативно, картирование эпитопов можно проводить для оценки, связывается ли антитело к HER преимущественно с эпитопом 4D5 на HER2 (например, любой один или несколько остатков в области приблизительно от остатка 529 до приблизительно остатка 625, включая ECD HER2; нумерация остатков, включая сигнальный пептид).

"Лечение" относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическому или к превентивным мерам. Те, кто нуждается в лечении, включают тех, у кого уже есть злокачественная опухоль, а также тех, у кого необходимо предотвратить злокачественную опухоль. Таким образом, пациент, которого нужно лечить, в настоящем документе может иметь диагноз "злокачественная опухоль" или может быть предрасположен или восприимчив к злокачественной опухоли.

Термин "эффективное количество" относится к количеству лекарственного средства, эффективному для лечения злокачественной опухоли у пациента. Эффективное количество лекарственного средства может уменьшать число злокачественных клеток; уменьшать размер опухоли; ингибировать (т.е. замедлять в некоторой степени и предпочтительно останавливать) инфильтрацию злокачественных клеток в периферические органы; ингибировать (т.е. замедлять в некоторой степени и предпочтительно останавливать) метастазирование опухоли; ингибировать, до некоторой степени, рост опухоли; и/или облегчать в некоторой степени один или несколько симптомов, связанных со злокачественной опухолью. В зависимости от степени, в какой лекарственное средство может предотвращать рост и/или убивать существующие злокачественные клетки, оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. Эффективное количество может продлить выживаемость без прогрессирования (например, измеренное посредством Критериев оценки ответа при солидных опухолях, RECIST, или изменений CA-125), приводя к объективному ответу (включая частичный ответ, PR, или полный ответ, CR), увеличить время общей выживаемости, и/или улучшить один или несколько симптомов злокачественной опухоли (например, по оценке FOSI).

Применяемый в настоящем документе термин "цитотоксическое средство" относится к веществу, которое ингибирует или предотвращает функционирование клеток и/или вызывает разрушение клеток. Термин подразумевает включение радиоактивных изотопов (например, At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} и радиоактивных изотопов Lu), химиотерапевтических средств и токсинов, таких как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, в том числе их фрагментов и/или вариантов.

"Химиотерапия" представляет собой применение химического соединения, подходящего для лечения злокачественной опухоли.

Примеры химиотерапевтических средств, применяемых в химиотерапии, включают алкилирующие средства, такие как тиотепа и CYTOXAN® циклофосамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфид, импросульфид и пипосульфид; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, в том числе алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтиленфосфорамид и триметилломеламин; TLK 286 (TELCYTA™); ацетогенины (в частности, бул-

латацин и буллатацинон); дельта-9-тетрагидроканнабиол (дронабинол, MARINOL®); бета-лапахон; лапахол; колхицины; бетулиновую кислоту; камптотecin (в том числе, синтетический аналог топотекан (ГИКАМТИН®), CPT-11 (иринотекан, КАМПТОСАР®), ацетилкамптотecin, скополектин и 9-аминокамптотecin); бриостатин; каллистатин; CC-1065 (включая его синтетические аналоги адоцелезин, карцелезин и бицелезин); подофиллотоксин; подофиллиновую кислоту; тенипозид; криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (в том числе, синтетические аналоги, KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктиин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, мехлорэтамину оксида гидрохлорид, мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацила иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; бисфосфонаты, такие как клодронат; антибиотики, такие как энединные антибиотики (например, калихеамицин, особенно калихеамицин гамма1I и калихеамицин омегаH (см., например, Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)); и антрациклины, такие как аннамицин, AD32, алкарубицин, даунорубицин, декспазоксан, DX-52-1, эпирубицин, GPX-100, идарубицин, KRN5500, меногарил, динемидин, включая динемидин А; эсперамицин; а также хромофор неокарциностантин и сходные с ним хромофоры хромопротеиновых энединных антибиотиков, аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин Адриаамицин® (включая, морфолино-доксорубицин, цианоморфолино-доксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин, липосомальный доксорубицин и дезоксидоксорубицин), эзорубицин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин С, микрофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфирамицин, пуромицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностантин, зорубицин; аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, птероптерин и триметрексат; аналоги пуринов, такие как флударабин, б-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидинов, такие как анцитабин, азацидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепителиостан, тестостерон; антиадреналовые вещества, такие как аминоклутетимид, митотан и трилостан; компенсатор недостатка фолиевой кислоты, такой как фолиевая кислота; ацеглатон; противофолатные противоопухолевые препараты, такие как АЛИМТА®, LY231514 пеметрексед, ингибиторы дигидрофолатредуктазы, так как метотрексат, антиметаболиты, такие как 5-фторурацил (5-ФУ) и их неактивные формы, такие как UFT, S-1 и капецитабин, и ингибиторы тимидилатсинтазы и ингибиторы глицинамидрибонуклеотид формилтрансферазы, такие как ралтитрексед (Томудекс™, TDX); ингибиторы дигидропиримидиндегидрогеназы, такие как энилурацил; альдофосфамида гликозид; аминолевулиновую кислоту; амсакрин; бестрабуцил; бисантрон; эдатраксат; дефофамин; демекольцин; диазиквон; эльфорнитин; эллиптиния ацетат; эпотиолон; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитразин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангвидин); уретан; виндезин (Элдинин®, Филдезин®); дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ara-C"); тиотепа; таксаны, хлорамбуцил; гемцитабин (Гемзар®); 6-тиогуанин; меркаптопурин; платина; аналоги платины или аналоги на основе платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин (ВЕЛБАН®); этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин (Онковин®); алкалоид барвинка; винорелбин (Навелбин®); новантрон; эдатрексат; дауномицин; аминоклутерин; кселода; ибандронат; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; диформетилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанных выше; а также сочетания двух или более из указанных выше, такие как СНОР, сокращение для сочетанной терапии из циклофосфамида, доксорубицина, винкристина и преднизолона, и FOLFOX, сокращение для схемы лечения оксалиплатином (Элоксатин™), в сочетании с 5-ФУ и лейковорином.

Также в это определение включены противогормональные средства, которые действуют как регуляторы или ингибиторы действия гормона на опухоли, такие как антиэстрогенные препараты и селективные модуляторы рецептора эстрогена (SERM), в том числе, например, тамоксифен (включая тамоксифен Нолвадекс®), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон, и торемифен Фарестон®; ингибиторы ароматазы; и антиандрогенные препараты, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, леупролид и гозерелин; а также троксацитабин (1,3-диоксолановый аналог нуклеозида цитозин); антисмысловые олигонуклеотиды, в частности, те, которые ингибируют экспрессию генов пути передачи сигнала, вовлеченных в аномальную клеточную пролиферацию, такие как, например, ФКС-альфа, Raf, H-Ras, и рецептор эпидермального фактора роста (EGF-R); вакцины, такие как генотерапевтические вакцины, например, вакцина ALLOVECTIN®, вакцина LEUVECTIN® и вакцина VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; ингибитор топоизомеразы 1 LURTOTECAN®; ABARELIX®

gmRN; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любых вышеперечисленных веществ.

"Таксан" представляет собой химиотерапию, которая ингибирует митоз и препятствует микротрубочкам.

Примеры таксанов включают паклитаксел (TAKCOL®; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.); состав паклитаксела из наночастиц, связанных с альбуминов, без кремофора или nab-паклитаксел (АБРАКСАН™; American Pharmaceuticals Partners, Schaumburg, Illinois) и доцетаксел (Таксотер®; Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France).

"Антрациклин" представляет собой антибиотик, который производится грибом *Streptococcus peuce-tius*, примеры включают: даунорубин, доксорубин и эпирубин и т.д.

"Химиотерапия на основе антрациклина" относится к химиотерапевтической схеме лечения, которая состоит из одного или нескольких или включает один или несколько антрациклинов. Примеры включают 5-ФУ, эпирубин, и циклофосфамид (FEC); 5-ФУ, доксорубин, и циклофосфамид (FAC); доксорубин и циклофосфамид (AC); эпирубин и циклофосфамид (EC) и т.д.

Для целей настоящего документа "химиотерапия на основе карбоплатина" относится к химиотерапевтической схеме лечения, которая состоит из одного или нескольких или включает один или несколько карбоплатинов. Примером является ТСН (доцетаксел/Таксол®, карбоплатин, и трастузумаб/Герцептин®).

"Ингибитор ароматазы" ингибирует фермент ароматазу, который регулирует выработку эстрогена в надпочечниках. Примеры ингибиторов ароматазы включают: 4(5)-имидазолы, аминоглютетимид, ME-GASE® мегестрол ацетат, Аромазин® экземестан, форместан, фадрозол, RIVISOR® ворозол, Фемара® летрозол и Аримидекс® анастрозол. В одном из вариантов осуществления ингибитор ароматазы в настоящем документе представляет собой летрозол или анастрозол.

"Антиметаболическая химиотерапия" представляет собой использование вещества, которое структурно сходно с метаболитом, но не может использоваться организмом продуктивным образом. Многие из антиметаболических химиотерапии мешают продукции нуклеиновых кислот, РНК и ДНК. Примеры антиметаболических химиотерапевтических средств включают гемцитабин (Гемзар®), 5-фторурацил (5-ФУ), капецитабин (Кселода™), 6-меркаптопурин, метотрексат, 6-тиогуанин, пеметрексед, ралтитрексед, арабинозилцитозин ARA-C цитарабин (Цитозар-U®), дакарбазин (DTIC-DOME®), азцитозин, дезоксицитозин, пиримидин, флударабин (FLUDARA®), кладрабин, 2-дезоксид-глюкоза и т.д.

Под злокачественной опухолью, "устойчивой к химиотерапии", подразумевается, что злокачественная опухоль у пациента прогрессирует, несмотря на получение химиотерапевтической схемы лечения (т.е. пациент "не поддается химиотерапии"), или опухоль прогрессировала в течение 12 месяцев (например, в течение 6 месяцев) после завершения химиотерапевтической схемы лечения.

Термин "препарат платины" применяют в настоящем документе для обозначения химиотерапии на основе платины, включая, без ограничений, цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин.

Термин "фторпиримидин" применяют в настоящем документе для обозначения антиметаболической химиотерапии, включая, без ограничений, капецитабин, флоксуридин и фторурацил (5-ФУ).

"Фиксированная" или "постоянная" доза терапевтического средства в настоящем документе относится к дозе, которую вводят пациенту-человеку безотносительно к массе (WT) или площади поверхности тела (BSA) пациента. Фиксированную или постоянную дозу, таким образом, дают не в виде дозы мг/кг или дозы мг/м², а скорее в виде абсолютного количества терапевтического средства.

"Ударная" доза в настоящем документе, в основном, включает начальную дозу терапевтического средства, вводимую пациенту, с последующей одной или несколькими поддерживающими дозами. В основном, вводят единичную ударную дозу, но в настоящем документе рассматриваются многократные ударные дозы. Как правило, величина вводимой ударной дозы или доз превышает величину вводимой поддерживающей дозы или доз и/или ударную дозу или дозы вводят более часто, чем поддерживающую дозу или дозы, для того чтобы достичь желаемой равновесной концентрации терапевтического средства раньше, чем она может быть достигнута при помощи поддерживающей дозы или доз.

"Поддерживающая" доза в настоящем документе относится к одной или нескольким дозам терапевтического средства, вводимым пациенту в течение периода лечения. Как правило, поддерживающие дозы вводят через определенные интервалы в лечении, такие как приблизительно каждую неделю, приблизительно каждые 2 недели, приблизительно каждые 3 недели, или приблизительно каждые 4 недели, предпочтительно каждые 3 недели.

"Вливание" или "проводить вливание" относится к введению в организм через вену раствора, содержащего лекарственное средство, с терапевтическими целями. Как правило, этого достигают посредством пакета для внутривенного (в/в) введения.

"Пакет для внутривенного введения" или "пакет для в/в введения" представляет собой пакет, который может содержать раствор, который можно вводить через вену пациента. В одном из вариантов осуществления раствор представляет собой физиологический раствор (например, приблизительно 0,9% или приблизительно 0,45% NaCl). Необязательно пакет для в/в введения сделан из полиолефина или поливи-

нилхлорида.

Под "совместным введением" подразумевают внутривенное введение двух (или более) лекарственных средств во время одного введения, а не последовательные вливания двух или более лекарственных средств. Как правило, это включает в себя соединение двух (или более) лекарственных средств в одном пакете для в/в вливания перед их совместным введением.

"Кардиотоксичность" относится к любому токсическому побочному эффекту, возникшему в результате введения лекарственного средства или комбинации лекарственных средств. Кардиотоксичность можно оценивать на основании любого одного или нескольких признаков из: частоты возникновения симптоматической левожелудочковой систолической дисфункции (СДЛЖ) или застойной сердечной недостаточности (ЗСН), или снижения фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ).

Фраза "без увеличения кардиотоксичности" для комбинации лекарственных средств, включающей пертузумаб, относится к частоте встречаемости кардиотоксичности, которая равна или меньше наблюдаемой у пациентов, которых лечили лекарственными средствами, иными чем пертузумаб в комбинации лекарственных средств (например, равна или меньше, чем вызванная введением трастузумаба и химиотерапии, например, доцетаксела).

"Флакон" представляет собой контейнер, подходящий для хранения жидкого или лиофилизированного препарата. В одном из вариантов осуществления флакон представляет собой флакон для одноразового применения, например, флакон объемом 20 см³ для одноразового применения с пробкой.

"Вкладыш в упаковку" представляет собой инструкцию, которая по требованию Управления по контролю за продуктами и лекарственными средствами (FDA) или другого регулирующего органа, должна быть помещена внутрь упаковки каждого рецептурного лекарственного средства. Инструкция, в основном, включает торговое название для лекарственного средства, название его дженерика, и его механизм действия; определяет показания, противопоказания, предупреждения, меры предосторожности, неблагоприятные воздействия, и лекарственные формы; и содержит инструкции по рекомендуемой дозе, времени и пути введения.

Выражение "данные по безопасности" относится к данным, полученным в контролируемом клиническом испытании, показывающим распространенность и тяжесть побочных эффектов, чтобы сориентировать пользователя относительно безопасности лекарственного средства, в том числе руководство о том, как контролировать и предупреждать побочные реакции лекарственного средства. Табл. 3 и 4 в настоящем документе предоставляют данные по безопасности для пертузумаба. Данные по безопасности включают любое одно или несколько (например, два, три, четыре или более) наиболее распространенных нежелательных событий (AE) или нежелательных реакций (ADR) в табл. 3 и 4.

Например, данные по безопасности содержат информацию о нейтропении, фебрильной нейтропении, диарее и/или кардиотоксичности, как описано в настоящем документе.

"Данные по эффективности" относится к данным, полученным в контролируемом клиническом испытании, показывающим, что лекарственное средство эффективно лечит заболевание, такое как злокачественная опухоль. Данные по эффективности для пертузумаба представлены в примерах в настоящем документе. Данные по эффективности для пертузумаба относительно HER2-положительного метастатического или местно рецидивирующего неоперабельного рака молочной железы находятся в табл. 2, табл. 5, фиг. 8 и фиг. 10 в настоящем документе. Данные по безопасности включают любую одну или несколько (например, две, три, четыре или более) первичных конечных точек (выживаемость без прогрессирования, PFS, по оценке IRF) и/или вторичных конечных точек (общая выживаемость (OS); выживаемость без прогрессирования (PFS) по оценке исследователя; частота объективных ответов (ORR), в том числе полного ответа (CR), частичного ответа (PR), стабильность заболевания (SD), и прогрессирование заболевания (PD), и/или длительность ответа) в табл. 2, 5, фиг. 8 и 10. Например, данные по эффективности включают информацию о выживаемости без прогрессирования (PFS) и/или общей выживаемости (OS), как описано в настоящем документе.

"Стабильная смесь" по отношению к смеси двух или более лекарственных средств, таких как пертузумаб и трастузумаб, означает, что каждое из лекарственных средств в смеси по существу сохраняет свою химическую и физическую стабильность при оценке посредством одного или нескольких аналитических анализов. Типичные аналитические анализы для этой цели включают: цвет, внешний вид и прозрачность (CAC), анализ концентрации и мутности, анализ частиц, эксклюзионную хроматографию (SEK), ионообменную хроматографию (IEC), капиллярный зонный электрофорез (CZE), капиллярное изoeлектрическое фокусирование с детекцией в капилляре (iCIEF) и анализ активности. В одном из вариантов осуществления смесь демонстрирует стабильность вплоть до 24 ч при 5 или 30°C.

Лекарственное средство, которое вводят "одновременно" вместе с одним или несколькими другими лекарственными средствами, вводят в течение того же цикла лечения, в тот же самый день лечения, что и одно или несколько других лекарственных средств, и, необязательно, в то же самое время, что и одно или несколько других лекарственных средств. Например, для терапии злокачественной опухоли, проводимой каждые три недели, одновременно вводимые лекарственные средства вводят каждое в день 1 трехнедельного цикла.

II. Композиции антител и химиотерапевтических препаратов

Антиген HER2, применяемый для производства антител может представлять собой, например, растворимую форму внеклеточного домена рецептора HER2 или его части, содержащей желаемый эпитоп. Альтернативно, для производства антител можно использовать клетки, экспрессирующие HER2 на своей поверхности (например, клетки NIH-3T3, трансформированные для сверхэкспрессии HER2; или клеточная линия карциномы, такая как клетки SK-BR-3, см. Stancovski et al. PNAS (USA) 88:8691-8695 (1991)). Другие формы рецептора HER2, подходящие для получения антител, будут очевидны для специалистов в данной области.

Различные способы получения моноклональных антител в настоящем документе известны в данной области. Например, моноклональные антитела можно производить посредством гибридомного способа, впервые описанного Kohler et al., *Nature*, 256:495 (1975), посредством способов рекомбинантной ДНК (патент США № 4816567).

Антитела к HER2, применяемые в соответствии с настоящим изобретением, трастузумаб и пертузумаб, являются коммерчески доступными.

(i) Гуманизированные антитела

Способы для гуманизирования не принадлежащих человеку антител описаны в данной области. Предпочтительно гуманизированное антитело имеет один или несколько аминокислотных остатков, введенных в него из источника, не принадлежащего человеку. Эти не принадлежащие человеку аминокислотные остатки часто обозначают как "импортные" остатки, которые, как правило, взяты из "импортного" варибельного домена. Гуманизация по существу может быть выполнена следующим способом Winter и коллег (Jones et al, *Nature*, 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., *Science*, 239:1534-1536 (1988)), путем замещения последовательностями гиперварибельной области соответствующих последовательностей антитела человека. Таким образом, такие "гуманизированные" антитела представляют собой химерные антитела (патент США № 4816567), где по существу менее чем интактный варибельный домен человека замещен соответствующей последовательностью видов, не являющихся человеком. На практике, гуманизированные антитела, как правило, представляют собой антитела человека, в которых некоторые остатки гиперварибельной области и, возможно, некоторые остатки FR замещены остатками из аналогичных участков антител грызуна.

Выбор варибельных доменов человека, как на легкой, так и на тяжелой цепях, для использования в производстве гуманизированных антител является очень важным для снижения антигенности. Согласно так называемому способу "максимального соответствия", последовательность варибельного домена антитела грызунов отбирают в сопоставлении с полной библиотекой известных последовательностей варибельного домена человека. Последовательность человека, которая является наиболее близкой к последовательности грызуна, принимается в качестве каркасной области (FR) человека для гуманизированного антитела (Sims et al., *J. Immunol*, 151:2296 (1993); Chothia et al., *J. Mol. Biol*, 196:901 (1987)). Другой способ использует конкретную каркасную область, полученную из консенсусной последовательности всех антител человека конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Этот же каркас можно использовать для нескольких различных гуманизированных антител (Carter et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol*, 151:2623 (1993)).

Кроме того, важно, что антитела должны быть гуманизированы с сохранением высокой аффинности к антигену и других благоприятных биологических свойств. Для достижения этой цели, согласно предпочтительному способу, гуманизированные антитела получают в процессе анализа последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с использованием трехмерных моделей родительской и гуманизированной последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов широко доступны и хорошо известны специалистам в данной области. Доступны компьютерные программы, которые иллюстрируют и отображают возможные трехмерные конформационные структуры выбранных кандидатных последовательностей иммуноглобулинов. Изучение этих изображений позволяет анализировать возможную роль остатков для функционирования кандидатной иммуноглобулиновой последовательности, т.е. анализировать остатки, которые влияют на способность кандидатного иммуноглобулина связываться с его антигеном. Таким образом, можно выбирать остатки FR из реципиентной и импортной последовательностей и комбинировать таким образом, чтобы получить желаемую характеристику антитела, такую как повышенная аффинность к целевому антигену(-ам). Как правило, остатки гиперварибельной области непосредственно и наиболее существенно участвуют во влиянии на связывание антигена.

Патент США № 6949245 описывает получение типичных гуманизированных антител к HER2, которые связываются с HER2 и блокируют лигандную активацию рецептора HER.

Гуманизированные антитела к HER2 конкретно включают трастузумаб (Герцептин®), как описано в табл. 3 патента США 5821337, непосредственно включенного в настоящий документ в качестве ссылки, и как определено в настоящем документе; и гуманизированные антитела 2C4, такие как пертузумаб, как описано и определено в настоящем документе.

Гуманизированные антитела в настоящем документе могут, например, содержать остатки гиперварибельной области, не принадлежащей человеку, которые включены в варибельный домен тяжелой

цепи человека, и могут дополнительно содержать замену в каркасной области (FR) в положении, выбранном из группы, состоящей из 69H, 71H и 73H с использованием системы нумерации переменного домена, изложенной у Rabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). В одном из вариантов осуществления гуманизированное антитело содержит замены FR в двух или всех положениях 69H, 71H и 73H.

Типичное гуманизированное антитело, представляющее интерес, в настоящем документе содержит остатки, определяющие комплементарность переменного домена тяжелой цепи GFTFTDYTMX (SEQ ID NO: 17), где X является предпочтительно D или S; DVNPNSGGSIYNQRFKG (SEQ ID NO:18); и/или NLGPSFYFDY (SEQ ID NO:19), необязательно содержит аминокислотные модификации этих остатков CDR, например, модификации, которые по существу поддерживают или улучшают аффинность антитела. Например, варианты антитела для применения в способах по настоящему изобретению могут содержать приблизительно от одной до приблизительно семи или приблизительно пяти замен аминокислот в вышеуказанных последовательностях CDR переменного домена тяжелой цепи. Такие варианты антител можно получать посредством созревания аффинности, например, как описано ниже.

Гуманизированное антитело может содержать остатки, определяющие комплементарность переменного домена легкой цепи KASQDVSIGVA (SEQ ID NO: 20); SASYX¹X²X³, где X¹ является предпочтительно R или L, X² является предпочтительно Y или E, и X³ является предпочтительно T или S (SEQ ID NO:21); и/или QQYYIYPYT (SEQ ID NO:22), например, в дополнение к тем остаткам CDR переменного домена тяжелой цепи в предыдущем абзаце. Такие гуманизированные антитела необязательно содержат аминокислотные модификации вышеуказанных остатков CDR, например, модификации, которые по существу поддерживают или улучшают аффинность антитела. Например, интересные варианты антитела могут содержать приблизительно от одной до приблизительно семи или приблизительно пяти замен аминокислот в вышеуказанных последовательностях CDR переменного домена легкой цепи. Такие варианты антител можно получать посредством созревания аффинности, например, как описано ниже.

Настоящая заявка также относится к аффинно зрелым антителам, которые связываются с HER2. Родительское антитело может представлять собой антитело человека или гуманизированное антитело, например, антитело, содержащее переменные последовательности легкой цепи и/или переменные последовательности тяжелой цепи из SEQ ID NO:7 и 8, соответственно (т.е. содержащее VL и/или VH пертузумаба). Аффинно-зрелый вариант пертузумаба предпочтительно связывается с рецептором HER2 с аффинностью, лучшей чем мышиное 2C4 или пертузумаб (например, аффинность улучшена приблизительно в два или приблизительно в четыре раза, до приблизительно в 100 раз или приблизительно 1000 раз, например, по измерениям с использованием внеклеточного домена (ECD) HER2 (ELISA)). Примеры остатков CDR переменного домена тяжелой цепи для замены включают H28, H30, H34, H35, H64, H96, H99 или комбинацию двух или более (например, два, три, четыре, пять, шесть, или семь этих остатков). Примеры остатков CDR переменного домена легкой цепи, которые могут быть изменены, включают L28, L50, L53, L56, L91, L92, L93, L94, L96, L97 или комбинацию двух или более (например, от двух до трех, четырех, пяти или вплоть до приблизительно десяти этих остатков).

Гуманизация мышиного антитела 4D5 для создания его гуманизированных вариантов, в том числе трастузумаба, описана в патентах США №№ 5821337, 6054297, 6407213, 6639055, 6719971, и 6800738, а также Carter et al. PNAS (USA), 89:4285-4289 (1992). HuMAb4D5-8 (трастузумаб) связывалось с антигеном HER2 в три раза сильнее, чем мышиное антитело 4D5 и имело вторичную иммунную функцию (ADCC), которая дает возможность для направленной цитотоксической активности гуманизированного антитела в присутствии эффекторных клеток человека. HuMAb4D5-8 содержало остатки CDR переменного домена легкой цепи (V_L) вставленные в консенсусную последовательность каркаса V_LK подгруппы I, и остатки CDR переменного домена тяжелой цепи (V_H), вставленные в консенсусную последовательность каркаса V_H подгруппы III. Антитело дополнительно содержало замены в каркасной области (FR) в положениях: 71, 73, 78 и 93 в V_H (нумерация остатков FR по Rabat; и замены в FR в положении 66 в V_L (нумерация остатков FR по Rabat). Трастузумаб содержит Fc-область γ1 человека не А аллотипа.

Рассматриваются различные формы гуманизированного антитела или аффинно зрелого антитела. Например, гуманизированное антитело или аффинно зрелое антитело могут представлять собой фрагмент антитела. Альтернативно, гуманизированное антитело или аффинно зрелое антитело может представлять собой интактное антитело, такое как интактное антитело IgG1.

(ii) Композиции пертузумаба

В одном из вариантов осуществления композиции антитела к HER2, композиция содержит смесь основных видов антитела пертузумаб и одного или нескольких его вариантов. Предпочтительный вариант осуществления в настоящем документе основных видов антитела пертузумаб представляет собой антитело, содержащее аминокислотные последовательности переменной легкой и тяжелой цепей из SEQ ID NO:7 и 8, и наиболее предпочтительно содержащее аминокислотную последовательность легкой цепи из SEQ ID NO:11 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи из SEQ ID NO:12 (включая дезаминированные и/или окисленные варианты таких последовательностей). В одном из вариантов осуществления композиция содержит смесь основных видов антитела пертузумаб и аминокислотную после-

довательность его варианта, содержащую аминоконцевой лидерный удлиняющий сегмент. Предпочтительно аминоконцевой лидерный удлиняющий сегмент находится на легкой цепи вариантных антител (например, на одной или двух легких цепях вариантных антител). Основные виды антител к HER2 или вариантных антител могут представлять собой полноразмерное антитело или фрагмент антитела (например, Fab из фрагментов F(ab=)2), но предпочтительно оба являются полноразмерными антителами. Вариантные антитела в настоящем документе могут содержать аминоконцевой лидерный удлиняющий сегмент на любой одной или нескольких тяжелых или легких цепях.

Предпочтительно аминоконцевой лидерный удлиняющий сегмент находится на одной или двух легких цепях антитела. Аминоконцевой лидерный удлиняющий сегмент предпочтительно содержит или состоит из VHS-. Присутствие аминоконцевого лидерного удлиняющего сегмента в композиции можно выявлять при помощи различных аналитических способов, включая в качестве неограничивающих примеров, анализ N-концевой последовательности, анализ гетерогенности зарядов (например, катионообменная хроматография или капиллярный зонный электрофорез), масс-спектрометрия и т.д. Количество вариантных антител в композиции, в основном, находится в диапазоне от количества, составляющего предел детекции любого анализа (предпочтительно, анализа N-концевой последовательности), применяемого для детекции варианта, до количества, меньшего чем количество основных видов антител. В основном, приблизительно 20% или меньше (например, приблизительно от 1 до приблизительно 15%, например от 5 до приблизительно 15%) молекул антитела в композиции содержат аминоконцевой лидерный удлиняющий сегмент. Такие процентные количества предпочтительно определяют с использованием количественного анализа N-концевой последовательности или катионообменного анализа (предпочтительно с использованием высокоразрешающей колонки со слабой катионообменной смолой, такой как катионообменная колонка PROPAC WCX-10™). Помимо варианта с аминоконцевым лидерным удлиняющим сегментом рассматриваются дополнительные изменения аминокислотной последовательности основных видов антител и/или варианта, включая в качестве неограничивающих примеров антитело, содержащее C-концевой остаток лизина на одной или обеих тяжелых цепях, дезаминированный вариант антитела и т.д.

Кроме того, основные виды антитела или вариант могут дополнительно содержать изменения гликозилирования, неограничивающие примеры которых включают антитело, содержащее олигосахаридную структуру G1 или G2, присоединенную к Fc-области, антитело, содержащее углеводную группу, присоединенную к легкой цепи (например, одну или две углеводных группы, такие как глюкоза или галактоза, присоединенные к одной или двум легким цепям антитела, например присоединенные к одному или нескольким остаткам лизина), антитело, содержащее одну или две негликозилированные тяжелые цепи, или антитело, содержащее сialiрированный олигосахарид, присоединенный к одной или двум тяжелым цепям и т.д.

Композиция может быть получена из генно-инженерной клеточной линии, например, клеточной линии китайского хомячка (CHO), экспрессирующей антитело к HER2, или может быть получена путем пептидного синтеза.

Для дальнейшей информации относительно примеров композиций пертузумаба см. патенты США №№ 7560111 и 7879325, а также US 2009/0202546A1.

(iii) Композиции трастузумаба

Композиция трастузумаба, в основном, содержит смесь основных видов антител (содержащих последовательности легкой и тяжелой цепи из SEQ ID NO: 13 и 14 соответственно), и их вариантыные формы, в частности кислые варианты (включая дезаминированные варианты). Предпочтительно, количество таких кислых вариантов в композиции составляет приблизительно менее чем 25%, или приблизительно менее чем 20%, или приблизительно менее чем 15%. См. патент США № 6339142. См. также, Harris et al., J. Chromatography, B 752:233-245 (2001) относительно форм трастузумаба, разделяемых при помощи катионообменной хроматографии, включая пик А (Asn30, дезаминированный до Asp в обеих легких цепях); пик В (Asn55, дезаминированный до изо-Asp в одной тяжелой цепи); пик 1 (Asn30, дезаминированный до Asp в одной легкой цепи); пик 2 (Asn30, дезаминированный до Asp в одной легкой цепи, и Asp102, изомеризованный до изо-Asp в одной тяжелой цепи); пик 3 (основная пиковая форма, или основные виды антитела); пик 4 (Asp102, изомеризованный до изо-Asp в одной тяжелой цепи) и пик С (Asp102 сукцинимид (Asu) в одной тяжелой цепи). Такие вариантыные формы и композиции включены в изобретение в настоящем документе.

(iv) 5-ФУ и цисплатин

Не существует одной стандартной всемирно признанной схемы химиотерапевтического лечения для распространенного рака желудка, но 5-фторурацил (5-ФУ) плюс цисплатин широко используются для этого показания. В исследованиях фазы II у пациентов без предварительной химиотерапии, 5-ФУ + цисплатин дают частоту ответов приблизительно 40% и медиану общей выживаемости 7-10,6 месяцев (Lacave A.J, Baron F.J, Anton L.M., et al. Ann Oncol. 1991; 2:751-754; Rougier P., Ducreux M., Mahjoubi M., et al. Eur J Cancer 1994; 30A: 1263-1269; Vanhoefer U., Wagner T., Lutz M., et al. Eur J Cancer 2001; 37 Suppl 6: abstract S27).

(v) Капецитабин

Капецитабин широко исследовался у пациентов с распространенным раком желудка. Результаты эффективности из фазы II для монотерапии капецитабином показывают частоту ответов 19 и 26% и общую выживаемость 8,1 и 10,0 месяцев в исследованиях Koizumi et al 2003 (Koizumi W., Kurihara M., Sasai T., et al. Cancer 1993; 72:658-62; Sakamoto J., Chin K., Kondo K. et al. Anti-Cancer Drugs 2006; 17: 2331-6). Существует ряд исследований для капецитабина в комбинации с платиной, показывающих частоту ответов в диапазоне от 28 до 65%, время до прогрессирования от 5,8 до 9 месяцев и общую выживаемость от 10,1 до 12 месяцев (Kang Y., Kang W.K., Shin D.B. et al. J Clin. Oncology 2006; 24 Suppl 18: abstract LBA4018; Park Y., Kim B., Ryoo B. et al. Proc Am Soc Clin. Oncol. 2006; 24 Suppl 18: abstract 4079; Kim T.W., Kang Y.K., Ahn J.H., et al. All Oncol. 2002; 13:1893-8; Park Y.H., Kim B.S., Ryoo B.Y. et al. Br J Cancer 2006; 94:959-63).

III. Отбор пациентов для терапии

Для отбора пациентов для лечения в соответствии с настоящим изобретением можно использовать детекцию HER2. Некоторые одобренные FDA коммерческие анализы способны выявлять пациентов с HER2-положительной злокачественной опухолью. Эти способы включают HERCEPTEST® (Dako) и PATHWAY® HER2® (иммуногистохимические (ИHC) анализы), и PathVysion® и HER2 FISH pharmDx™ (FISH анализы). Пользователям следует обратить внимание на вкладыши в упаковки наборов для конкретного анализа для получения информации о валидации и проведении каждого анализа.

Например, сверхэкспрессию HER2 можно анализировать посредством ИHC, например, с использованием HERCEPTEST® (Dako). Погруженные в парафин тканевые срезы из опухолевых биоптатов можно подвергать анализу ИHC и согласовывать с критериями интенсивности окрашивания белка HER2 следующим образом:

Показатель 0 - наблюдают отсутствие окрашивания или наблюдают окрашивание мембран менее чем у 10% опухолевых клеток.

Показатель 1+ - слабое/едва заметное окрашивание мембран выявлено более чем у 10% опухолевых клеток. У клеток окрашена только часть мембраны.

Показатель 2+ - наблюдают полное окрашивание мембран от слабого до умеренного более чем у 10% опухолевых клеток.

Показатель 3+ - наблюдают полное окрашивание мембран от умеренного до сильного более чем у 10% опухолевых клеток.

Опухоли с показателями для оценки сверхэкспрессии HER2 0 или 1+ могут быть охарактеризованы как HER2-негативные, в то время как опухоли с показателями 2+ или 3+ могут быть охарактеризованы как HER2-положительные.

Опухоли, сверхэкспрессирующие HER2, могут быть оценены по иммуногистохимическим показателям, соответствующим числу копий молекул HER2, экспрессирующимся на клетку, и могут быть определены биохимически:

0 = 0-10,000 копий/клетку,

1+ = по меньшей мере, приблизительно 200000 копий/клетку,

2+ = по меньшей мере, приблизительно 500000 копий/клетку,

3+ = по меньшей мере, приблизительно 2000000 копий/клетку.

Сверхэкспрессия HER2 на уровне 3+, которая приводит к лиганд-независимой активации тирозинкиназы (Hudziak et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84:7159-7163 (1987)), встречается приблизительно у 30% раков молочной железы, и у этих пациентов, безрицидивная выживаемость и общая выживаемость снижены (Slamon et al., Science, 244:707-712 (1989); Slamon et al., Science, 235: 177-182 (1987)).

Наличие сверхэкспрессии белка HER2 и амплификация гена сильно коррелируют, таким образом, альтернативно, или дополнительно, для выявления амплификации гена можно также использовать анализ гибридизации in situ гибридизация (ISH), например, флуоресцентной гибридизации in situ (FISH), для отбора пациентов, подходящих для лечения в соответствии с настоящим изобретением. Анализы FISH, такие как the INFORM™ (продается у Ventana, Arizona) или PathVysion® (Vysis, Illinois) можно проводить на фиксированной формалином, погруженной в парафин опухолевой ткани для определения степени (при наличии) амплификации HER2 в опухоли.

Чаще всего, HER2-положительный статус подтверждают с использованием архивной, погруженной в парафин, опухолевой ткани при помощи любого из указанных выше способов.

Предпочтительно HER2-положительные пациенты, имеющие показатель ИHC 2+ или 3+ или которые являются FISH или ISH-положительными, выбраны для лечения в соответствии с настоящим изобретением.

См. также патент США № 7981418 и пример 11 для альтернативных анализов для отбора пациентов для терапии пертузумабом.

IV. Фармацевтические составы

Терапевтические составы антител к HER2, применяемых в соответствии с настоящим изобретением, получают для хранения путем смешивания антитела с необходимой степенью чистоты с произволь-

ными фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или стабилизаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), в основном в форме лиофилизированных составов или водных растворов.

Рассматриваются также кристаллы антитела (см. патентная заявка США 2002/0136719). Приемлемые носители, эксципиенты, или стабилизаторы нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и включают буферы, такие как фосфатный, цитратный, и другие органические кислоты; антиоксиданты, в том числе аскорбиновая кислота и метионин; консерванты (такие как октадецилдиметилбензил хлорид аммония; гексаметоний хлорид; хлорид бензалкония, хлорид бензетония; фенол, бутил или бензиловый спирт;

алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексано́л; 3-пентанол и m-крезол); низкомолекулярные (менее чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин, или иммуноглобулины;

гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон;

аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин, или лизин; моносахариды, дисахариды, и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу, или декстрины; хелатирующие средства, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексные соединения с металлами (например, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEENTM, ПЛЮРОНИКИTM или полиэтиленгликоль (PEG).

Леофилизированные составы антител описаны в WO 97/04801, прямо включенном в настоящий документ в качестве ссылки.

Леофилизированные составы антител описаны в патентах США №№ 6267958, 6685940 и 6821515, прямо включенных в настоящий документ в качестве ссылки. Предпочтительно состав Герцептин® (трастузумаб) является стерильным, леофилизированным порошком от белого до бледно-желтого цвета без консервантов, предназначенным для внутривенного (в/в) введения, содержащим 440 мг трастузумаба, 400 мг α, α -трегалозы дегидрата, 9,9 мг L-гистидин-HCl, 6,4 мг L-гистидина и 1,8 мг полисорбата 20, Фармакопья США. Восстановление 20 мл бактериостатической водой для инъекций (BWFI), содержащей 1,1% бензилового спирта в качестве консерванта, дает многодозовый раствор, содержащий 21 мг/мл трастузумаба, при pH приблизительно 6,0. Более подробно, см. инструкцию-вкладыш для трастузумаба.

Предпочтительно состав пертузумаба для терапевтического использования содержит 30 мг/мл пертузумаба в 20 мМ гистидин ацетата, 120 мМ сахарозы, 0,02% полисорбата 20, при pH 6,0. Альтернативный состав пертузумаба содержит 25 мг/мл пертузумаба, 10 мМ гистидин-HCl буфер, 240 мМ сахарозы, 0,02% полисорбата 20, pH 6,0.

Состав плацебо, использованный в клинических испытаниях, описанных в примерах, является эквивалентным пертузумабу без активного средства.

Состав в настоящем документе может также содержать более чем одно активное соединение по мере необходимости для конкретного назначения, которое лечат, предпочтительно, активные соединения с дополнительными действиями, которые не оказывают нежелательного влияния друг на друга. Различные лекарственные средства, которые можно комбинировать с ингибитором димеризации HER, описаны в разделе Способ ниже. Такие молекулы предпочтительно присутствуют в комбинации в количествах, которые эффективны для намеченного использования.

Составы, которые будут использованы для введения *in vivo*, должны быть стерильными. Это легко достигается путем фильтрации через стерильные мембраны для фильтрации.

V. Способы лечения

В первом аспекте способа лечения в настоящем документе, предлагается способ для продления выживаемости без прогрессирования (PFS) у популяции пациентов с HER2-положительным раком молочной железы на 6 месяцев или больше, который включает введение пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии (например, таксана, такого как доцетаксел) пациентам в популяции. Необязательно, популяция пациентов включает подходящее число пациентов (например, 200 или более, 300 или более, или 400 или более пациентов), так чтобы можно было оценивать статистически значимое продление PFS в популяции.

Клинические данные фазы III CLEOPATRA в примере 3 ниже демонстрируют, что медиана PFS, вычисленная исследователями, составляла 12,4 месяца с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел и 18,5 месяца с пертузумабом плюс трастузумаб плюс доцетаксел, таким образом, улучшение по медиане PFS составляло 6 месяцев или более (например, 6,1 месяца) по сравнению с пациентами, не получавшими пертузумаб (т.е. пациентами, получавшими только трастузумаб и доцетаксел).

В дополнительном или альтернативном варианте осуществления, предлагается способ получения частоты объективных ответов 80% или более в популяции пациентов с HER2-положительным раком молочной железы, который включает введение пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии (например, таксана, такого как доцетаксел) пациентам в популяции.

В родственном аспекте, предлагается способ сочетания двух антител к HER2 для лечения HER2-

положительного рака без повышения кардиотоксичности в популяции пациентов с HER2-положительной злокачественной опухолью, который включает в себя введение пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии пациентам в популяции. Необязательно, популяция пациентов включает подходящее число пациентов (например, 200 или более, 300 или более или 400 или более пациентов), так чтобы можно было произвести статистически значимую оценку отсутствия кардиотоксичности, возникшую в результате приема комбинации. Клинические данные из Фазы III CLEOPATRA в примере 3 ниже показывают, что сочетание пертузумаба и трастузумаба не обостряет кардиотоксичность. Кардиотоксичность можно оценивать по частоте возникновения симптоматической левожелудочковой систолической дисфункции (СДЛЖ) или застойной сердечной недостаточности (ЗСН), или по снижению фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ), например, как описано в примере 3 ниже.

Необязательно, рак молочной железы представляет собой метастатический или местно рецидивирующий, нерезектабельный рак молочной железы, или стадию IV заболевания *de novo*, определенные иммуногистохимией (ИHC) как 3+ и/или по соотношению амплификации $\geq 2,0$ при флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Необязательно, пациенты в популяции не получали предварительного лечения или у них был рецидив после адъювантной терапии, имеют исходную фракцию выброса левого желудочка (ФВЛЖ) $\geq 50\%$, и/или имеют показатель общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе (ECOG PS) 0 или 1.

В альтернативном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения ранней стадии HER2-положительного рака молочной железы, включающему в себя введение пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии пациенту с раком молочной железы, где химиотерапия включает в себя химиотерапию на основе антрациклина или химиотерапию на основе карбоплатина. Этот аспект изобретения поддерживается клиническими данными в примере 5. В одном из вариантов осуществления химиотерапия включает в себя химиотерапию на основе антрациклина, например, включающую 5-ФУ, эпирубицин и циклофосфамид (FEC). В альтернативном варианте осуществления химиотерапия включает в себя химиотерапию на основе карбоплатина, например, включающую таксан (например, доцетаксел), карбоплатин в дополнение к Герцептин®/трастузумабу (например, схема лечения TCH). В одном из вариантов осуществления пертузумаб вводят одновременно с химиотерапией на основе антрациклина или с химиотерапией на основе карбоплатина, например, где пертузумаб, трастузумаб и химиотерапию вводят в трехнедельных циклах, где пертузумаб, трастузумаб и химиотерапию вводятся в первый день каждого цикла. Данные в примерах в настоящем документе демонстрируют, что введение пертузумаба не увеличивает кардиотоксичность по сравнению с лечением без пертузумаба (т.е. по сравнению с трастузумабом с химиотерапией на основе антрациклина (например, FEC) и без пертузумаба; или по сравнению с трастузумабом с химиотерапией на основе карбоплатина и без пертузумаба (т.е. TCH). Рассматриваемая в настоящем документе терапия ранней стадии HER2-положительного рака молочной железы включает неоадъювантную и адъювантную терапию.

Изобретение в настоящем документе также относится к способу лечения HER2-положительного рака у пациента, включающему совместное введение пациенту смеси пертузумаба и трастузумаба из одного пакета для внутривенного введения. Этот вариант осуществления применим для лечения любой HER2-положительного рака, в том числе HER2-положительного рака молочной железы, HER2-положительного рака желудка, HER2-положительного метастатического или местно рецидивирующего, нерезектабельного рака молочной железы или стадии IV заболевания *de novo*, ранней стадии HER2-положительного рака молочной железы и т.д. Необязательно этот способ дополнительно включает введение пациенту химиотерапии.

В еще одном варианте осуществления способы лечения по настоящему изобретению включают, по существу состоят, или состоят из введения пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии, такой как препараты платины (например, цисплатин) и/или фторпиримидин (например, капецитабин и/или 5-фторурацил (5-ФУ)) для лечения HER2-положительного рака желудка.

В частности, способы лечения по настоящему изобретению включают, по существу состоят, или состоят из введения пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии, такой как препараты платины и/или фторпиримидин, например, цисплатин и/или капецитабин и/или 5-фторурацил (5-ФУ), пациенту-человеку с метастатическим раком желудка, нерезектабельным местно распространенным раком желудка, или рецидивирующим после операции раком желудка. В определенных вариантах осуществления рак желудка не поддается лекарственной терапии.

В альтернативном варианте осуществления предлагается способ лечения HER2-положительного рака молочной железы у пациента, включающий введение пациенту пертузумаба, трастузумаба и винорелбина. Рак молочной железы согласно этому варианту осуществления представляет собой необязательно метастатический или местно распространенный. Необязательно, пациент ранее не получал негормональной системной противоопухолевой терапии по схеме лечения метастатических форм.

В другом аспекте изобретение относится к способу лечения HER2-положительного рака молочной железы у пациента, включающему введение пациенту пертузумаба, трастузумаба и ингибитора аромата-

зы (например, анастразола или летрозоло). Согласно этому варианту осуществления, рак молочной железы представляет собой распространенный рак молочной железы, в том числе рак молочной железы, положительный по рецептору гормона, такому как рецептор эстрогена (ER-положительный) и/или рецептор прогестерона (PgR-положительный). Необязательно, пациент ранее не получал негормональной системной противоопухолевой терапии по схеме лечения метастатических форм. Этот способ лечения необязательно дополнительно содержит введение пациенту индукционной химиотерапии (например, содержащей таксан).

Терапия в соответствии с настоящим изобретением продлевает выживаемость без прогрессирования (PFS) и/или общую выживаемость (OS) пациента, которого лечат.

Антитела и хемовиды терапевтического лечения вводят пациенту-человеку в соответствии с известными способами. Конкретные режимы введения и составы описаны в примерах в настоящем документе.

По одному из вариантов осуществления пертузумаб вводят в дозе, которая создает равновесную концентрацию $C_{min} \geq 20$ мкг/мл у 90% пациентов, получающих пертузумаб и трастузумаб.

По одному конкретному варианту осуществления изобретения, вводят приблизительно 840 мг пертузумаба (ударная доза), с последующей одной или несколькими дозами антитела приблизительно 420 мг (поддерживающая доза(ы)). Поддерживающие дозы предпочтительно вводят приблизительно каждые 3 недели, в общей сложности по меньшей мере две дозы, до наступления клинического прогрессирования заболевания или нерегулируемой токсичности, предпочтительно вплоть до приблизительно 6, или 7, или 8, или 9, или 10, или 11, или 12, или 13, или 14, или 15, или 16, или 17 или более доз. Также рассматриваются более длинные периоды лечения, в том числе больше циклов лечения.

По другому конкретному варианту осуществления пертузумаб вводят в дозе 840 мг для всех циклов лечения.

Трастузумаб, как правило, вводят в виде внутривенной ударной дозы приблизительно 8 мг/кг, с последующим введением доз 6 мг/кг в последующих циклах. Трастузумаб, как правило, вводят каждые 3 недели до наступления клинического прогрессирования заболевания или нерегулируемой токсичности, предпочтительно приблизительно до 17 или более доз.

В конкретном варианте осуществления трастузумаб вводят в виде внутривенной (в/в) инфузии в первый день каждого цикла лечения до прогрессирования заболевания по оценке исследователя или нерегулируемой токсичности, в ударной дозе 8 мг/кг для цикла 1 и дозе 6 мг/кг для последующих циклов.

В другом конкретном варианте осуществления пертузумаб вводят в виде в/в инфузии в первый день каждого цикла, в общей сложности в течение шести циклов или до прогрессирования заболевания по оценке исследователя или нерегулируемой токсичности, чтобы ни произошло первым, или в ударной дозе 840 мг для цикла 1 и дозе 420 мг для последующих циклов, или ударной дозе 840 мг для цикла 1 и дозе 840 мг для последующих циклов.

Для лечения рака желудка, вводят цисплатин 80 мг/м^2 , как правило, в виде в/в инфузии в первый день каждого цикла, в общей сложности, по меньшей мере, в течение шести циклов.

Для лечения рака желудка, вводят капецитабин 1000 мг/м^2 , как правило, перорально дважды в сутки, с вечера первого дня до утра дня 15 каждого цикла, в общей сложности по меньшей мере в течение шести циклов. Введение капецитабина может быть продлено по усмотрению лечащего врача после тщательной оценки соотношения риска и пользы для конкретных пациентов.

Режимы дозирования и схемы применения для химиотерапии, используемой для лечения HER2-положительного рака молочной железы, описаны в примерах ниже, но другие режимы дозирования и схемы применения известны и рассматриваются по изобретению в настоящем документе.

VI. Промышленные изделия

Один из вариантов осуществления промышленного изделия в настоящем документе включает пакет для внутривенного (в/в) введения, содержащий стабильную смесь пертузумаба и трастузумаба, подходящую для введения пациенту с раком. Необязательно, смесь находится в физиологическом растворе, например, содержащем приблизительно 0,9% NaCl или приблизительно 0,45% NaCl. Пример пакета для в/в введения представляет собой полиолефиновый или поливинилхлоридный пакет для введения, например, пакет для в/в введения объемом 250 мл. По одному из вариантов осуществления изобретения смесь содержит приблизительно 420 или приблизительно 840 мг пертузумаба и приблизительно от 200 до приблизительно 1000 мг трастузумаба (например, приблизительно от 400 до приблизительно 900 мг трастузумаба).

Необязательно, смесь в пакете для в/в введения является стабильной вплоть до 24 ч при 5 или 30°C. Стабильность смеси можно оценивать при помощи одного или нескольких анализов, выбранных из группы, состоящей из цвета, внешнего вида и прозрачности (CAC), анализа концентрации и мутности, анализа частиц, эксклюзионной хроматографии (SEK), ионообменной хроматографии (IEC), капиллярного зонного электрофореза (CZE), капиллярного изоэлектрического фокусирования с детекцией в капилляре (iCIEF) и теста для оценки активности.

В альтернативном варианте осуществления изобретение относится к промышленному изделию,

включающему флакон с пертузумабом и вкладыш в упаковку, где вкладыш в упаковку предоставляет данные по безопасности в табл. 3 или 4 и/или данные по эффективности в табл. 2, 5, фиг. 8 или 10.

Необязательно, флакон представляет собой флакон для одноразового применения, содержащий приблизительно 420 мг пертузумаба. В одном из вариантов осуществления флакон поставляется внутри картонной коробки.

В родственном аспекте изобретение относится к способу получения промышленного изделия, включающего совместно упакованные флакон с пертузумабом и вкладыш в упаковку, где вкладыш в упаковку предоставляет данные по безопасности в табл. 3 или 4 и/или данные по эффективности в табл. 2, 5, фиг. 8 или 10.

В дополнительном родственном аспекте изобретение относится к способу обеспечения безопасного и эффективного применения пертузумаба, включающему совместно упакованные флакон с пертузумабом и вкладыш в упаковку, где вкладыш в упаковку предоставляет данные по безопасности в табл. 3 или 4 и/или данные по эффективности в табл. 2, 5, фиг. 8 или 10.

VII. Хранение биологических материалов

Следующие гибридные клеточные линии были сданы на хранение в Американскую коллекцию типовых культур (ATCC), 108 01 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA:

Обозначение антитела	ATCC №	Дата депонирования
4D5	ATCC CRL 10463	24 мая 1990 года
2C4	ATCC HB-12697	8 апреля 1999 года

Более подробно изобретение проиллюстрировано следующими неограничивающими примерами. Раскрытие всех ссылок в описании прямо включено в настоящий документ в качестве ссылки.

Пример 1. Фаза IIa клинического исследования для оценки пертузумаба в комбинации с трастузумабом и химиотерапией у пациентов с HER2-положительным распространенным раком желудка

Несмотря на резкое снижение в мире случаев заболеваемости и снижение смертности во второй половине двадцатого века, рак желудка остается второй основной причиной смертности от злокачественной опухоли в мире после рака легких (Parkin, D. *Oncogene* 23:6329-40 (2004)). Заболеваемость раком желудка широко варьирует в зависимости от географического региона (Kelley et al. *J Clin. Epidemiol.* 56:1-9 (2003); Plummer et al. *Epidemiology of gastric cancer*. In: Butlet et al., editors. *Mechanisms of Carcinogenesis: contribution of molecular epidemiology*. Lyon: LARC Scientific публикации № 157, IARC (2004)). В Японии, Корее, Китае и определенных странах Центральной и Южной Америки частота заболеваемости составляет от 20 до 95 случаев на 100000 человек. Напротив, в Соединенных Штатах Америки, Индии и Таиланде частота заболеваемости составляет от 4 до 8 случаев на 100000 человек. Частота заболеваемости в Западной Европе варьирует в диапазоне от 37 случаев на 100000 человек в некоторых частях Италии до 12 на 100000 человек во Франции. Частота заболеваемости у женщин придерживается аналогичного географического паттерна, но приблизительно на 50% ниже, чем у мужчин. Существуют четкие эпидемиологические различия между злокачественной опухолью, локализованной в кардиальном отделе желудка (желудочно-пищеводное соединение) и опухолью, локализованной в остальных частях желудка. На злокачественную опухоль кардиального отдела приходится 39% случаев рака желудка у белых мужчин в Соединенных Штатах Америки, но только 4% раков желудка у мужчин в Японии.

По неясным причинам встречаемость злокачественных опухолей кардиального отдела желудка и нижнего отдела пищевода резко возросла в развитых странах с 1970-х гг.

На сегодняшний день единственной потенциально излечивающей терапией для рака желудка является хирургия. Коэффициенты выживаемости значительно улучшились за последние годы в Японии в результате более раннего выявления и лучших способов хирургии (Inoue et al. *Postgrad Med J* 81:419-24 (2005)). Однако, в Западной Европе и Северной Америке, рак желудка часто диагностируют на поздних стадиях, когда резекция больше невозможна. Таким образом, общая пятилетняя выживаемость в этих популяциях не превышает 25% (Ajani, J. *The Oncologist* 10 Suppl 3:49-58 (2005); Catalano et al. *Clin Rev Oncol/Hematol.* 54: 209-41 (2005)).

Независимо от географического региона, пациенты с нерезектабельным заболеванием из-за местного распространенного разрастания или распространения метастазов имеют неблагоприятный прогноз с общей пятилетней выживаемостью в диапазоне 5-15% (Cunningham et al., *Annals of Oncology* 16 Suppl 1:i22-3(2005)). Для пациентов с нерезектабельным заболеванием при постановке диагноза и для пациентов с рецидивом заболевания после хирургии основным вариантом терапии является химиотерапия (National Comprehensive Cancer Network. *NCCN clinical practice guidelines in oncology. Gastric cancer. Version 1. National Comprehensive Cancer Network*, (2006)). Было показано, что химиотерапия, которую дают с паллиативной целью превосходит наилучшую поддерживающую терапию у пациентов с распространенным раком желудка (Wagner et al. *J Clin. Oncol.* 24:2903-9 (2006)).

Исследование BO 18255 (ToGA) представляло собой рандомизированную открытую многоцентровую международную сравнительную фазу III клинических исследований, разработанную для оценки эффективности и безопасности трастузумаба в комбинации с химиотерапией по сравнению с химиотерапией

ей по отдельности в качестве терапии первой линии у пациентов с неоперабельной местно распространенной или рецидивирующей и/или метастатической HER2-положительной аденокарциномой желудка или желудочно-пищеводного соединения. Первичной задачей исследования являлось сравнение общей выживаемости для пациентов, которых лечили трастузумабом в сочетании с фторпиримидином (5-ФУ или капецитабин) плюс цисплатин. Результаты исследования BO 18255 продемонстрировали значительное клиническое преимущество, если трастузумаб применяли в комбинации с химиотерапией у пациентов с раком желудка. Общая выживаемость, первичная конечная точка, была значительно улучшена в группе трастузумаб плюс химиотерапия по сравнению с группой только с химиотерапией ($p=0,0045$, логарифмический ранговый критерий; отношение рисков, 0,74). Медиана времени выживания составляла 13,8 месяцев в группе трастузумаб плюс химиотерапия и 11,1 месяцев в группе только с химиотерапией, и риск смерти был снижен на 26% для пациентов в группе трастузумаб плюс химиотерапия. Все остальные вторичные конечные точки продемонстрировали клиническую значимость с аналогичными отношением рисков и отношением шансов. (См., например, Bang et al., Lancet 28; 376 (9742): 687-97 (2010)).

В результате этого исследования трастузумаб в настоящее время показан, включая EU и Соединенные Штаты, в комбинации с цисплатином плюс капецитабин или 5-ФУ для лечения пациентов с HER2-положительной метастатической желудочной аденокарциномой или аденокарциномой желудочно-пищеводного соединения, которые не получали ранее лечения для метастатического заболевания.

В настоящее время, не существует одной стандартной всемирно признанной схемы химиотерапевтического лечения для распространенного рака желудка. Несмотря на успех клинического исследования ToGA, существует большая потребность в обеспечении новыми и эффективными вариантами лечения для этого серьезного состояния. В частности, существует необходимость новых терапевтических подходов, которые нацелены на то, чтобы избежать заболеваемости, связанной с лечением и/или на повышение выживаемости пациентов с раком желудка. Таким образом, этот пример представляет собой рандомизированное многоцентровое открытое исследование для оценки двух различных доз пертузумаба у пациентов с HER2-положительной аденокарциномой желудка или желудочно-пищеводного соединения. Пациенты рандомизируются в соотношении 1:1 по группам с различным лечением. Пациенты в группе А получают ударную дозу пертузумаба 840 мг для цикла 1 и дозу 420 мг для циклов 2-6, а пациенты в группе В получают 840 мг пертузумаба 840 мг для всех шести циклов. Пациенты в обеих группах лечения получали трастузумаб, цисплатин и капецитабин. Схема исследования представлена на фиг. 6. Продолжительность исследования составляет приблизительно 24 месяца (4 месяца для набора пациентов и 20 месяцев последующее наблюдение, после того как набран последний пациент). Исследование заканчивается, когда прогрессирование заболевания происходит у всех пациентов, или все пациенты выбывают или прерывают исследование, чтобы ни произошло раньше.

Целевая популяция

Клиническое исследование включало приблизительно 30 пациентов.

Пациенты должны были отвечать следующим критериям для включения в исследование:

Гистологически подтвержденная аденокарцинома желудка или желудочно-пищеводного соединения с неоперабельным местно распространенным или метастатическим заболеванием, не поддающимся радикальному лечению.

Пациенты с распространенным заболеванием, у которых присутствует постоперационный рецидив (когда целью хирургии было излечение), также подходят для включения.

Заболевание, которое можно измерить согласно Критериям оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), v 1.1, оцененное с использованием способов визуализации (компьютерной томографии (КТ) или магнито-резонансной томографии (МРТ)), или неизмеряемое заболевание, за которым можно наблюдать.

HER2-положительная опухоль, определенная или как IHC 3+ или IHC 2+ в комбинации с ISH+, по оценке первичной или метастатической опухоли центральной лабораторией. Положительность по ISH определяют как отношение $\geq 2,0$ для числа копий гена HER2 к числу сигналов для CEP17.

Обязательной является доступность фиксированной формалином, погруженной в парафин (FFPE) ткани по меньшей мере с 5 мм инвазивной опухоли для централизованного подтверждения отбора HER2.

Показатель общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе (ECOG) 0 или 1.

Исходная фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ) $\geq 55\%$ (измеренная посредством эхокардиограммы (ЭхоЭКГ) или сканограммы радиоизотопной вентрикулографии (MUGA)).

Ожидаемая продолжительность жизни по меньшей мере 3 месяца.

Мужчина или женщина.

Возраст ≥ 18 лет.

Подписанное информированное согласие.

Для женщин детородного возраста и участников-мужчин с партнерами детородного возраста: соглашение об использовании пациентом и/или партнером высокоэффективной негормональной формы контрацепции или двух эффективных форм негормональной контрацепции.

Прием контрацептивов должен продолжаться во время лечения в исследовании и в течение по меньшей мере шести месяцев после последней дозы исследуемого лекарственного препарата.

Пациентов, которые отвечают любому из следующих критериев, исключают из набора в исследование:

Предшествующая химиотерапия для распространенного или метастатического заболевания, за исключением того, что допускается предварительная адъювантная или неоадъювантная терапия, если прошло по меньшей мере 6 месяцев между завершением адъювантной или неоадъювантной терапии и включением в исследование.

Адъювантная или неоадъювантная терапия препаратами платины не допускается.

Потеря физической целостности верхнего отдела желудочно-кишечного тракта или синдром мальабсорбции (например, пациентов с частичной или полной гастроэктомией можно включать в исследование, но не с еюностомой).

Активное (значительное или неконтролируемое) желудочно-кишечное кровотечение.

Остаточная относительная токсичность в результате предыдущей терапии (например, неврологическая токсичность со степенью тяжести ≥ 2 (NCI CTCAE)), за исключением алопеции.

Другое злокачественное новообразование в течение последних пяти лет, за исключением карциномы шейки матки in situ или базально-клеточной карциномы.

Любой из следующих не соответствующих норме лабораторных тестов непосредственно перед рандомизацией:

Общий сывороточный билирубин $>1,5$ раза выше верхнего предела нормы (ULN) или для пациентов с известным синдромом Жильбера общий сывороточный билирубин $>2 \times \text{ULN}$

Для пациентов без метастазов в печень и кости:

ААТ или АЛТ $>2,5 \times \text{ULN}$, и щелочная фосфатаза (ЩФ) $>2,5 \times \text{ULN}$

Для пациентов с метастазами в печени и без метастазов в кости: ААТ или АЛТ $>5 \times \text{ULN}$, и ЩФ $>2,5 \times \text{ULN}$

Для пациентов с метастазами в печени и метастазами в кости: ААТ или АЛТ $>5 \times \text{ULN}$, и ЩФ $>10 \times \text{ULN}$

Для пациентов с метастазами в кости и без метастазов в печень: ААТ или АЛТ $>2,5 \times \text{ULN}$, и ЩФ $>10 \times \text{ULN}$

Альбумин <25 г/л

Клиренс креатинина <60 мл/мин

Общее число лейкоцитов (ОЦЛ) $<2500/\text{мкл}$ ($<2,5 \times 10^9/\text{л}$)

Абсолютное число нейтрофилов (ANC) $<1500/\text{мкл}$ ($<1,5 \times 10^9/\text{л}$)

Тромбоциты $<100000/\text{мкл}$ ($<100 \times 10^9/\text{л}$)

Серьезное заболевание сердца или медицинские состояния, включающие, но не ограничивающиеся: документированную историю сердечной недостаточности или систолической дисфункции (ФВЛЖ $<50\%$);

высокий риск неконтролируемых аритмий, таких как атриальная тахикардия с частотой сердечных сокращения $\geq 100/\text{мин}$ в покое;

значительная желудочковая аритмия (желудочковая тахикардия) или высокая степень АВ-блокады (АВ-блокада второй степени типа 2 (Мобитц II) или АВ-блокада третьей степени);

стенокардия, требующая противоишемических лекарственных препаратов;

клинически значимый порок клапана сердца;

признак трансмурального инфаркта на ЭКГ;

плохо контролируемая гипертензия (например, систолическое артериальное давление >180 мм рт.ст. или диастолическое артериальное давление >100 мм рт.ст.);

одышка в покое из-за осложнений распространенного злокачественного новообразования или другого заболевания, или необходимость поддерживающей терапии кислородом;

длительное лечение кортикостероидами или терапия высокими дозами кортикостероидов;

допускаются ингаляции стероидов и короткие курсы пероральных стероидов для предотвращения рвоты или в качестве стимулятора аппетита;

клинически значимое нарушение слуха; известный дефицит дигидропиримидиндегидрогеназы;

наличие в анамнезе или клинические проявления метастазов головного мозга; серьезное неконтролируемое системное сопутствующее заболевание (например, инфекции или плохо контролируемый диабет).

Беременность или грудное вскармливание

Женщины детородного возраста должны иметь негативный результат теста сыворотки на беременность в пределах 7 дней до рандомизации, независимо от используемого способа контрацепции.

Лучевая терапия в пределах 4 недель до начала лечения в исследовании, или в пределах 2 недель до начала лечения в исследовании, если только паллиативную лучевую терапию не проводили местно на

участок с костным метастазом и пациент полностью восстановился от любой острой токсичности.

Обширное оперативное вмешательство в пределах 4 недель до начала лечения в исследовании, без полного восстановления.

Текущая активная инфекция ВИЧ, вирусом гепатита В или вирусом гепатита С.

Известная гиперчувствительность к любому из исследуемых лекарственных средств.

Неспособность выполнять процедуры или тестирование при последующем наблюдении, как определено исследователем.

Исследуемые лекарственные препараты: дозы, путь введения и схема лечения

Продолжительность циклов лечения составляет три недели.

Трастузумаб вводят в виде внутривенной (в/в) инфузии в первый день каждого цикла лечения до прогрессирования заболевания по оценке исследователя или нерегулируемой токсичности, в ударной дозе 8 мг/кг для цикла 1 и дозе 6 мг/кг для последующих циклов.

Пертузумаб вводят в виде в/в инфузии в первый день каждого цикла, в общей сложности в течение шести циклов или до прогрессирования заболевания по оценке исследователя или нерегулируемой токсичности, чтобы ни произошло первым, как указано далее для каждой группы:

Группа А: пациенты получают пертузумаб в ударной дозе 840 мг для цикла 1 и в дозе 420 мг для циклов 2-6.

Группа В: пациенты получают пертузумаб в дозе 840 мг для циклов 1-6.

Неисследуемые лекарственные препараты

Продолжительность циклов лечения составляет три недели.

Цисплатин 80 мг/м² вводят в виде в/в инфузии в первый день каждого цикла, в общей сложности в течение шести циклов.

Капецитабин 1000 мг/м², вводят перорально дважды в сутки, с вечера первого дня до утра дня 15 каждого цикла, в общей сложности, в течение шести циклов. (Введение капецитабина может быть продлено по усмотрению исследователя после тщательной оценки соотношения риска и пользы для конкретных пациентов.)

Составы

Состав пертузумаба

Каждая партия рекомбинантных антител, произведенная для клинических целей отвечала требованиям вирусной безопасности и требованиям к стерильности Фармакопеи Соединенных Штатов Америки и Европейской фармакопеи. Каждая партия отвечала необходимым требованиям по идентичности, чистоте и специфической активности.

Пертузумаб поставляется в виде состава для однократного использования, содержащего 30 мг/мл пертузумаба в составе с 20 мМ L-гистидин-ацетата (рН 6,0), 120 мМ сахарозы, и 0,02% полисорбата 20. Каждый 20 см³ флакон (14,0 мл раствора на флакон) содержал приблизительно 420 мг пертузумаба.

Состав трастузумаба

Исследуемый трастузумаб поставляется в виде лиофилизированного препарата с номинальным содержанием 150 мг на флакон в большинстве стран (размер флакона варьирует в зависимости от страны).

Трастузумаб комбинируют с гистидином, трегалозой и полисорбатом 20. При восстановлении каждый раствор содержит 21 мг/мл активного лекарственного средства с рН приблизительно 6,0.

Оценки

Эффективность

Ответ опухоли по оценкам исследователя использовали для обобщения наилучшего общего ответа в конце циклов 3 и 6 для каждой группы лечения, определенного как пациенты с полным или частичным ответом, как определено RECIST.

Безопасность

Безопасность оценивали с использованием обзоров побочных эффектов, изменений в результатах лабораторных тестов и изменений жизненно важных показателей.

Фармакокинетика/Фармакодинамика

Оценивали остаточную концентрацию пертузумаба в сыворотке (C_{min}) в день 43. Кроме того, оценивали ФК параметры, такие как CL, V_{ss} , AUC, и полувыведение. Оценка ФК параметров по данным, полученным ко дню 43, сделала возможным моделирование и симуляцию для измеренной дозы, которая предсказывает равновесное состояние с остаточной концентрацией ≥ 20 мкг/мл у 90% пациентов.

Статистические анализы

Фармакокинетические анализы

Индивидуальные и средние данные зависимости концентрации от времени для пертузумаба в сыворотке вносили в таблицу и строили график по уровню дозы. Фармакокинетику пертузумаба в сыворотке обобщали, оценивая суммарное воздействие (площадь под кривой (AUC)), максимальную концентрацию в сыворотке (C_{max}), минимальную концентрацию в сыворотке (C_{min}), время достижения равновесного состояния и C_{min} , общий сывороточный клиренс, объем распределения и период полувыведения ($t_{1/2}$). Оценки для этих параметров вносили в таблицу и обобщали при помощи описательной статистики (среднее, стандартное отклонение, минимум и максимум). В зависимости от наблюдаемых данных зави-

симости концентрации от времени для пертузумаба в сыворотке, можно использовать популяционный ФК метод для оценки дозы, при которой достигаются целевые ФК концентрации.

Наблюдаемые $C_{\max}$ и $C_{\min}$ для трастузумаба вносили в таблицу и обобщали при помощи описательной статистики для каждой установленной временной точки забора ФК образца. Для всех ФК анализов использовали действительное время сбора образцов (а не запланированное).

ФК параметры (AUC , $C_{\max}$, $t_{1/2}$) пертузумаба рассчитывали с использованием некомпартментных способов, а общий клиренс получали из концентраций в плазме с использованием стандартных способов.

Анализ популяций

Популяция по назначенному лечению

Все рандомизированные пациенты, которые получили по меньшей мере одну дозу исследуемого лекарственного препарата, включены в популяцию по назначенному лечению (пациенты будут отмечены в группах лечения, как рандомизированные для целей анализа).

Популяция для оценки безопасности

Все пациенты, которые получили, по меньшей мере, одну дозу исследуемого лекарственного препарата, включены в популяцию для оценки безопасности (пациенты будут отмечены в группах лечения, как леченные).

Размер выборки

Целью этого исследования являлась оценка $C_{\min}$ для пертузумаба в день 43 у пациентов, получавших лечение пертузумабом по двум различным схемам дозирования. Эти данные затем анализировали с использованием популяционной ФК модели для выявления дозы пертузумаба, при которой достигается целевая ФК минимальная равновесная концентрация ≥ 20 мкг/мл приблизительно у 90% пациентов с распространенным раком желудка. Анализ с использованием допущения, что пертузумаб ведет себя аналогично трастузумабу при распространенном раке желудка, позволяет предположить, что с размером выборки в 15 пациентов на группу (с общим количеством 30 пациентов в исследовании), дозу для достижения желаемой целевой концентрации можно оценивать с приемлемой степенью точности (коэффициент вариации $<15\%$).

Клинические результаты

Клинические результаты этой фазы IIa исследования рака желудка (РЖ) представлены на фиг. 32-37. На фиг. 32 представлены взятые образцы и временные точки.

На фиг. 33 представлены демографические показатели популяции пациентов в двух группах в исследовании РЖ, получавших 420 мг (группа А) или 840 мг (группа В) пертузумаба.

На фиг. 34 представлена история болезни пациентов с РЖ в группах А и В соответственно.

На фиг. 35 представлено распределение пациентов в группах А и В соответственно.

На фиг. 36 представлена частота объективных ответов в группах А и В соответственно.

Данные по безопасности

Диарея была наиболее частым событием, встречающимся у 90% индивидуумов и, как правило, представляла собой уровень 1 и 2 с началом в цикле 1; никто из пациентов не прервал терапию из-за диареи.

Нежелательные явления (АЕ) с уровнем тяжести ≥ 3 ($\geq 13\%$) включали диарею, стоматит, утомляемость/астению, пониженный аппетит, гипонатриемию, анемию и нейтропению. За исключением нейтропении и гипонатриемии (выше в группе А) и пониженного аппетита (выше в группе В), частота встречаемости этих событий была сходной для групп со стандартной и высокой дозами пертузумаба.

Бессимптомное изменение во фракции выброса (ЕF), нейтропеническая лихорадка, высыпания и реакция гиперчувствительности к лекарственному средству не были ассоциированы с повышенной дозой пертузумаба.

Серьезные нежелательные явления (SAE) случались у 60% пациентов, и частота встречаемости не была ассоциирована с повышенной дозой пертузумаба.

Хотя большее число пациентов отказалось от лечения в группе В, не очевидно, что это было связано с повышенной дозой пертузумаба, поскольку события, которые привели к отказу продолжать лечение, не были одинаковыми.

Фармакокинетические (ФК) результаты

На фиг. 37 представлены результаты оценки концентрации пертузумаба в день 42 при раке желудка (РЖ) (JOSHUA) по сравнению с метастатическим раком молочной железы (метастатический РМЖ) (CLEOPATRA).

Сущность результатов

Остаточные концентрации пертузумаба ниже при РЖ по сравнению с метастатическим РМЖ.

Концентрации между циклами (т.е. дни 7, 14) согласуются с ожидаемыми концентрациями при метастатическом РМЖ, поскольку клиренс был линейным при этих высоких концентрациях.

Минимальные уровни с дозой 840/420 мг приблизительно на 37% ниже по сравнению с исследованием CLEOPATRA (пример 3), вероятно из-за нелинейного клиренса при низких концентрациях (неполное насыщение рецепторов).

Доза 840/840 мг при РЖ обеспечивает остаточные концентрации, сходные с дозой 840/420 мг при метастатическом РМЖ.

Ковариаты не оказывают влияния на ФК.

Выводы

На основании фармакокинетики пертузумаба при РЖ доза 840/840 мг будет использована для лечения рака желудка. Ожидают, что эта доза будет поддерживать минимальные уровни выше целевого >20 мкг/мл у 90% пациентов и обеспечит минимальные уровни такие же, как и наблюдаемые при метастатическом РМЖ.

Пример 2. Фаза III клинического исследования для оценки пертузумаба в комбинации с трастузумабом и химиотерапией у пациентов с HER2-положительным распространенным раком желудка

Это фаза III рандомизированного, открытого, многоцентрового клинического исследования, разработанного для оценки эффективности пертузумаба в комбинации с трастузумабом и химиотерапией у пациентов с HER2-положительным местнораспространенным или метастатическим раком желудка.

Пациенты в группе лечения получают трастузумаб, цисплатин и капецитабин и/или 5-фторурацил. В другой группе, пациентам дают плацебо или пертузумаб.

Схемы лечения:

Пертузумаб:

Доза 840 мг для циклов 1-6.

Трастузумаб:

Ударная доза 8 мг/кг с последующей 6 мг/кг каждые три недели

Капецитабин:

1000 мг/м² два раза в сутки, дни 1-14 каждые три недели ×6

5-Фторурацил:

800 мг/м²/сутки непрерывная внутривенная инфузия дни 1-5 каждые три недели ×6

Цисплатин:

800 мг/м² каждые три недели ×6

Первичная конечная точка:

Общая выживаемость (OS)

Вторичные конечные точки:

выживаемость без прогрессирования (PFS), время до прогрессирования заболевания (TTP), общая частота ответа (ORR), частота клинического преимущества, длительность ответа, QoL, безопасность, интенсивность боли, употребление анальгетиков, изменение массы, фармакокинетика.

Анкетные критерии отбора пациентов

Критерии включения:

Аденокарцинома желудка или желудочно-пищеводного соединения

Неоперабельное местно распространенное и/или метастатическое заболевание

Измеримое (RECIST), или неизмеримое поддающееся оценке заболевание

HER2-положительная опухоль: IHC 2+ или 3+ и/или ISH+

Адекватное функционирование органов и показатель общего состояния ECOG ≤2

Письменное информированное согласие

Критерии исключения:

Предшествующая адъювантная химиотерапия в пределах 6 месяцев

Химиотерапия для распространенного заболевания

Застойная сердечная недостаточность или исходная ФВЛЖ <50%

Клиренс креатинина ≤60 мл/мин

Ожидается, что способы лечения, описываемые в настоящем документе, включающие введение пертузумаба, трастузумаба и химиотерапии, например цисплатина и капецитабина, будут соответствовать первичной конечной точке (OS). В частности, ожидается, что способы лечения в настоящем документе будут терапевтически эффективными у пациентов с раком желудка, которых лечат, например, за счет увеличения выживаемости, в том числе общей выживаемости (OS) и/или выживаемости без прогрессирования (PFS) и/или времени до прогрессирования заболевания (TTP) и/или общей частоты ответа (OR) по сравнению с лечением только трастузумабом и химиотерапией.

Пример 3.

Результаты фазы III рандомизированного двойного слепого, плацебо-контролируемого предрегистрационного исследования для оценки эффективности и безопасности плацебо + трастузумаб + доцетаксел по сравнению с пертузумаб + трастузумаб + доцетаксел у пациентов с ранее нелеченным HER2-положительным метастатическим раком молочной железы (CLEOPATRA)

Протокол для оценки пертузумаба при HER2-положительном метастатическом раке молочной железы находится на <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00567190> и в US 2009/0137387, а также WO 2009/154651.

Этот пример относится к клиническим данным, полученным в фазе III рандомизированного двой-

ного слепого, плацебо-контролируемого исследования у пациентов с HER2-положительным метастатическим РМЖ, которые не получали химиотерапии или биологической терапии для их метастатического заболевания. Пациенты были рандомизированы 1:1 для получения плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел или пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел. Первичной конечной точкой являлась выживаемость без прогрессирования (PFS), основанная на оценках опухоли. PFS определяли как время с момента рандомизации до первого документированного радиографически прогрессирования заболевания (PD) согласно критериям оценки ответа при солидных опухолях (RECIST) версии 1.0 (Therasse et al. J Natl Cancer Inst 92:205-16 (2000)) или смерти от любой причины, если она произошла в пределах 18 недель с момента последней оценки опухоли пациента.

Вторичные конечные точки включают общую выживаемость (OS), PFS по оценке исследователя, частоту общего ответа (ORR) и безопасность.

Пациенты: подходящие пациенты имели централизованно подтвержденный HER2-положительный (определенный как иммуногистохимия (IHC) 3+ и/или уровень амплификации $\geq 2,0$ при флуоресцентной гибридизации in situ (FISH)) (Carlson et al. J Natl Compr Cane Netw 4 Suppl 3:SI-22 (2006)), местно рецидивирующий, нерезектабельный, или метастатический рак молочной железы, или стадию IV заболевания de novo. Пациенты были в возрасте ≥ 18 лет, имели фракцию выброса левого желудочка (ФВЛЖ) $\geq 50\%$ в начале исследования (определенную при помощи эхокардиограммы или радиоизотопной вентрикулографии), и показатель общего состояния Восточной объединенной онкологической группы (ECOG PS) 0 или 1. Пациенты могли получать одно гормональное лечение для метастатического РМЖ до рандомизации, или неoadъювантную или адъювантную системную терапию рака молочной железы, включая трастузумаб и/или таксаны, при условии, что они переживали интервал без заболевания ≥ 12 месяцев между завершением неoadъювантной или адъювантной терапии и диагнозом метастатического заболевания. Критерии исключения включают терапию для метастатического РМЖ (иную, чем описанная выше); метастазы центральной нервной системы; в анамнезе воздействие накопительной дозы доксорубина >360 мг/м² или его эквивалента; в анамнезе снижение ФВЛЖ до $<50\%$ во время или после предшествующей терапии трастузумабом; существующую неконтролируемую гипертензию; нарушение сердечной функции в анамнезе; нарушение функции костного мозга, почек или печени; текущую известную инфекцию ВИЧ, HBV, или HCV; беременность; лактацию; и отказ использовать негормональную контрацепцию.

Исследования: пациенты получили ударную дозу трастузумаба 8 мг/кг, с последующей поддерживающей дозой 6 мг/кг каждые 3 недели до клинического или радиографического PD по оценке исследователя, или неконтролируемой токсичности. Доцетаксел вводили каждые 3 недели в начальной дозе 75 мг/м², повышая до 100 мг/м² при переносимости. По протоколу, исследователь мог уменьшать дозу на 25% до 55 мг/м² или 75 мг/м² (если пациенту вводили повышенную дозу) для управления переносимостью. Было рекомендовано, чтобы пациенты получили, по меньшей мере, 6 циклов доцетаксела. Пертузумаб или давали в фиксированной ударной дозе 840 мг, с последующей дозой 420 мг каждые 3 недели до клинического или радиографического PD по оценке исследователя, или неконтролируемой токсичности. В случае невозможности продолжать химиотерапию из-за накопившейся токсичности, терапию антителами продолжали до PD, недопустимой токсичности, или отзыва согласия. Все лекарственные средства вводили внутривенно.

Оценки: PFS оценивали при помощи стандартных принятых RECIST способов каждые 9 недель в каждом центре и при помощи IRF до PD по оценке IRF. Оценки ФВЛЖ проводили перед началом исследования, каждые 9 недель в течение периода лечения, при досрочном завершении терапии каждые 6 месяцев в первый год после досрочного завершения терапии, затем ежегодно вплоть до 3 лет в последующий период. Лабораторные параметры и статус ECOG оценивали в каждом цикле. Нежелательные явления (AE) контролировали постоянно и оценивали согласно общей терминологии критериев нежелательных явлений Национального института исследования рака (NCI-CTCAE), версия 3.0. Все сердечные события и серьезные нежелательные явления (SAE), которые продолжались во время досрочного прекращения терапии, отслеживали до их разрешения или стабилизации в течение одного года после финальной дозы. Сердечные события и SAE, связанные с лечением, с манифестацией после лечения.

Результаты

Исследованная популяция: Всего 808 пациентов были включены в исследование и рандомизированы для получения плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел (n=406) или пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел (n=402) (фиг. 7). Основные характеристики были сходны между группами лечения (табл. 1).

Таблица 1. Основные характеристики популяции по назначенному лечению

	Плацебо + трастузумаб + доцетаксел (n=406)	Пертузумаб + трастузумаб + доцетаксел (n=402)
Пол, n (%)		
Женский	404 (99,5)	402 (100,0)
Возраст, лет		
Медиана	54,0	54,0
Диапазон	27-89	22-82
Раса, n (%)		
Азиаты	133 (32,8)	128 (31,8)
Черные	20 (4,9)	10 (2,5)
Белые	235 (57,9)	245 (60,9)
Другие*	18 (4,4)	19 (4,7)
Регион, n (%)		
Азия	128 (31,5)	125 (31,1)
Европа	152 (37,4)	154 (38,3)
Северная Америка	68 (16,7)	67 (16,7)
Южная Америка	58 (14,3)	56 (13,9)
Статус ECOG, n (%)		
0	248 (61,1)	274 (68,2)
1	157 (38,7)	125 (31,1)
≥2	1 (0,2)	3 (0,7)
Статус предшествующего лечения, n (%)		
Метастатический РМЖ de novo†	214 (52,7)	218 (54,2)
Предшествующая адъювантная или неoadъювантная терапия	192 (47,3)	184 (45,8)
Предшествующее лечение трастузумабом, n (%)	41 (10,1)	47 (11,7)
Предшествующее лечение антрациклинами, n (%)	164 (40,4)	150 (37,3)
Предшествующее лечение таксанами, n (%)	94 (23,2)	91 (22,6)
Предшествующее гормональное лечение‡, n (%)	107 (26,4)	114 (28,4)
Тип заболевания при скрининге, n (%)		
Не-висцеральное	90 (22,2)	88 (21,9)
Висцеральное	316 (77,8)	314 (78,1)
Статус рецепторов гормонов, n (%)		

ER и/или PgR положительный	199 (49,0)	189 (47,0)
ER и PgR отрицательный	196 (48,3)	212 (52,7)
Неизвестный	11 (2,7)	1 (0,2)
Статус HER2 по IHC, n (%)	405 (100)	401 (100)
0 и 1+	2 (0,5)	4 (1,0)
2+	32 (7,9)	47 (11,7)
3+	371 (91,6)	350 (87,3)
Статус HER2 по FISH, n (%)	387 (100)	385 (100)
Положительный	383 (99,0)	384 (99,7)
Отрицательный	4 (1,0)	1 (0,3)

*Включают в себя американских индейцев и коренных жителей Аляски.

†Без предшествующей химиотерапии или биологической терапии.

‡При неoadъювантном/адъювантном или метастатическом состоянии.

Выживание без прогрессирования:

Лечение пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел значительно улучшило PFS-IRF, стратифицированную по статусу предшествующего лечения и региону, по сравнению с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел (HR=0,62; 95% CI от 0,51 до 0,75; $p<0,0001$) (фиг. 8). Медиана PFS-IVRF была продлена на 6,1 месяца от 12,4 месяца с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел до 18,5 месяца с пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел. Преимущество PFS от лечения пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел наблюдали во всех предопределенных подгруппах (фиг. 9).

Оценка PFS исследователями полностью соответствовала PFS-IRF. Медиана PFS по оценке исследователей составила 12,4 месяца с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел и 18,5 месяца с пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел (HR=0,65; 95% CI от 0,54 до 0,78; $p=0,0001$).

Ключевые вторичные конечные точки оценки эффективности: промежуточный анализ OS проводили, когда происходило 43% событий ($n=165$), которые планировались для конечного анализа OS. Произошло больше смертей в группе с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел ($n=96$; 23,6%), чем в группе с пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел ($n=69$; 17,2%) (фиг. 10). HR (0,64; 95% CI от 0,47 до 0,88; $p=0,0053$) для OS не удовлетворял критерию досрочного завершения исследования О'Брайен-Флеминг функции зависимости вероятности ошибки I рода от полученной доли необходимой информации Лана-Деметса для этого промежуточного анализа выживаемости (HR $\leq$ 0,603, $p\leq$ 0,0012), и таким образом, не был статистически значим. Однако данные продемонстрировали сильную тенденцию, указывающую на преимущество для выживаемости в пользу пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел. К моменту окончания сбора данных пациенты в обеих группах лечения группы находились под наблюдением за OS с медианой 19,3 месяца (оценка Каплана-Мейера). ORR составлял 69,3 и 80,2% в группе плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел и группе пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел, соответственно. Различия в частоте ответов между группами лечения составило 10,8% (95% CI от 4,2 до 17,5; $p=0,0011$) (табл. 2).

Таблица 2. Частота общего ответа

	Плацебо + трастузумаб + доцетаксел	Пертузумаб + трастузумаб + доцетаксел
Пациенты с поддающимся измерению заболеванием с оценкой IRF на исходном уровне, n (%)	336 (100)	343 (100)
Частота объективных ответов	233 (69,3)	275 (80,2)
Частота полного ответа	14 (4,2)	19 (5,5)
Частота частичного ответа	219 (65,2)	256 (74,6)
Стабильное заболевание	70 (20,8)	50 (14,6)
Прогрессирующее заболевание	28 (8,3)	13 (3,8)
Невозможно оценить	2 (0,6)	2 (0,6)
Нет оценки ответа	3 (0,9)	3 (0,9)

IRF, независимое наблюдательное учреждение.

Воздействие лечения:

Среднее число циклов, проведенных пациенту, составило 15 и 18 со средним временем лечения, которое оценивается в 11,8 и 18,1 месяца для плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел и для пертузумаб

плюс трастузумаб плюс доцетаксел соответственно. Не разрешалось уменьшение доз для плацебо, пертузумаба или трастузумаба. Пациенты получали в среднем восемь циклов доцетаксела в каждой группе. На основании популяции по оценке безопасности, 61 (15,4%) пациенты в группе с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел получали дозу доцетаксела, повышенную до 100 мг/м² в каждом цикле по сравнению с 48 (11,8%) пациентов в группе пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел. Средняя интенсивность дозы доцетаксела составила 24,8 мг/м²/неделю в группе с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел и 24,6 мг/м²/неделю в группе пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел. Причины прекращения приема всех исследуемых препаратов представлены на фиг. 7.

Переносимость и безопасность для сердца: профиль АЕ во время периода лечения был, в основном сбалансирован между группами лечения (табл. 3). Частота встречаемости следующих АЕ (все степени тяжести) была на >5% выше с пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел: диарея, высыпания, воспаление слизистых, фебрильная нейтропения и сухость кожи.

Таблица 3. Нежелательные явления (все степени тяжести) с ≥25% частотой заболеваемости в любой из групп или ≥5% различием между группами и нежелательные явления со степенью тяжести ≥3 с частотой встречаемости ≥2% в популяции по оценке безопасности

	Плацебо + трастузумаб + доцетаксел (n=397)	Пертузумаб + трастузумаб + доцетаксел (n=407)
Наиболее распространенные АЕ (все степени тяжести), n (%)		
Диарея	184 (46,3)	272 (66,8)
Алоpecia	240 (60,5)	248 (60,9)
Нейтропения	197 (49,6)	215 (52,8)
Тошнота	165 (41,6)	172 (42,3)
Утомляемость	146 (36,8)	153 (37,6)
Высыпания	96 (24,2)	137 (33,7)
Снижение аппетита	105 (26,4)	119 (29,2)
Воспаление слизистых	79 (19,9)	113 (27,8)
Астения	120 (30,2)	106 (26,0)
Периферические отеки	119 (30,0)	94 (23,1)
Запор	99 (24,9)	61 (15,0)
Фебрильная нейтропения	30 (7,6)	56 (13,8)
Сухость кожи	17 (4,3)	43 (10,6)
Нежелательные явления со степенью тяжести ≥3 с частотой встречаемости ≥2%, n (%)		
Нейтропения	182 (45,8)	199 (48,9)
Фебрильная нейтропения	30 (7,6)	56 (13,8)
Лейкопения	58 (14,6)	50 (12,3)
Диарея	20 (5,0)	32 (7,9)
Периферическая нейропатия	7 (1,8)	11 (2,7)
Анемия	14 (3,5)	10 (2,5)
Астения	6 (1,5)	10 (2,5)
Утомляемость	13 (3,3)	9 (2,2)
Гранулоцитопения	9 (2,3)	6 (1,5)
Систолическая дисфункция левого желудочка	11 (2,8)	5 (1,2)
Одышка	8 (2,0)	4 (1,0)

АЕ, нежелательное явление

Частота встречаемости следующих АЕ со степенью тяжести ≥3 была на >2% выше с пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел: нейтропения, фебрильная нейтропения, и диарея (табл. 3). Частота встречаемости фебрильной нейтропии со степенью тяжести ≥3 у пациентов из Азии составила 12% в группе с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел и 26% в группе пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел; во всех других географических регионах частота встречаемости была ≤10% в обеих группах.

СДЛЖ (все степени тяжести) встречалась более часто в группе с плацебо плюс трастузумаб плюс

доцетаксел по сравнению с группой пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел (8,3 и 4,4%), соответственно). СДЛЖ со степенью тяжести ≥ 3 встречалась у 2,8% пациентов, получающих плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел и у 1,2% пациентов, получающих пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел. Среди пациентов с оценкой ФВЛЖ после первоначальной, были показаны снижения ФВЛЖ от ≥ 10 процентов от исходного до $< 50\%$ на любой стадии во время лечения у 6,6 и 3,8% пациентов в группе с плацебо плюс трастузумаб плюс доцетаксел и в группе пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел, соответственно.

В популяции по оценке безопасности, большинство смертей в обеих группах лечения было связано с прогрессированием заболевания (PD) (81 (20,4%)) в группе с плацебо, 57 (14,0%) в группе с пертузумабом). Смерти, связанные с иными причинами, чем PD, были, в основном, сбалансированы, и сходное число пациентов умерло из-за АЕ (10 (2,5%) в группе с плацебо, 8 (2,0%) в группе с пертузумабом, при этом инфекции были наиболее распространенными причинами смерти, связанными с АЕ.

Обсуждение

Эти данные показывают, что комбинация моноклональных антител к HER2 пертузумаба и трастузумаба с доцетакселом удлиняет PFS у пациентов с HER2-положительным метастатическим РМЖ в условиях терапии первой линии. Лечение пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел превзошло ожидания, приведя к статистически значимому снижению риска PFS (HR=0,62) и улучшению медианы PFS до 6,1 месяцев.

Комбинация хорошо переносилась, и пертузумаб не повысил уровни симптоматического или бессимптомного нарушения сердечной функции. До получения данных в настоящем документе, ожидалось, что лечение двумя антителами к HER2 может ухудшить кардиотоксичность. Однако эти данные показывают, что это было не так, на основании тестов в настоящем документе для оценки кардиотоксичности: частота встречаемости симптоматической систолической дисфункции левого желудочка (СДЛЖ), включая застойную сердечную недостаточность (ЗН), снижение фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ).

Нежелательные явления, связанные с пертузумабом, в том числе кожные высыпания, воспаление слизистых и сухость кожи были, в основном, легкими. Была повышена частота диареи со степенью тяжести ≥ 3 и фебрильной нейтропении при лечении пертузумаб плюс трастузумаб плюс доцетаксел. Контрольная группа в CLEOPATRA имела PFS, сходную с предыдущими рандомизированными исследованиями, которые показали, что комбинация трастузумаба и доцетаксела при HER2-положительном метастатическом РМЖ дает медиану PFS 11,7 месяца. Marty et al. J Clin. Oncol. 23: 4265-74 (2005).

Без связи с какой-либо теорией эти данные указывают на то, что нацеливание на HER2-положительные опухоли двух моноклональных антител к HER2 с дополняющими механизмами действия приводит к более полной блокаде HER2 и выдвигает на первый план клиническую важность предотвращения лиганд-зависимого образования димеров HER2 для оптимального прекращения передачи сигнала HER2. Это исследование показывает, что комбинированная блокада HER2 трастузумабом и пертузумабом улучшает клинический исход для пациентов с распространенным HER2-положительным заболеванием в условиях терапии первой линии. Эти данные имеют важное значение, потому что они поддерживают первое одобренное применение ингибитора димеризации HER2 для терапии пациентов с HER2-положительной злокачественной опухолью.

Пример 4. Промышленное изделие, включающее в себя пертузумаб

Клинические данные фазы III из примера 3 применяли для разработки промышленного изделия, содержащего флакон (например, флакон с однократной дозой) с пертузумабом и вкладыш в упаковку, обеспечивающий информацию о его безопасности и/или эффективности, а также для способа производства промышленного изделия, содержащего упакованные вместе пертузумаб во флаконе (например, во флаконе с однократной дозой) и вкладыш в упаковку с инструкцией по применению относительно пертузумаба на вкладыше в упаковку, как в настоящем документе ниже.

Пертузумаб представляет собой стерильную прозрачную или слегка опалесцирующую жидкость для в/в инфузии, бесцветную или бледно-желтую. Каждый флакон для однократного применения содержит 420 мг пертузумаба в концентрации 30 мг/мл в 20 mM L-гистидин ацетате (pH 6,0), 120 mM сахарозе и 0,02% полисорбате 20.

Пертузумаб поставляется во флаконе с однократной дозой, содержащем жидкий концентрат без консервантов, с концентрацией 30 мг/мл, готовый для инфузии. Каждый флакон лекарственного продукта пертузумаб содержит в целом 420 мг пертузумаба. Хранить флаконы в холодильнике от 2 до 8°C (от 36 до 46°F) до момента использования. Держите флакон в наружной упаковке, чтобы защитить от света.

Полная инструкция по применению лекарственного препарата

Предупреждение: эмбриофетотоксичность

Воздействие пертузумаба может привести к смерти эмбриона и плода и врожденным дефектам.

Исследования на животных приводили в результате к маловодию, замедленному развитию почек и смерти. Уведомите пациентов об этих рисках и необходимости эффективной контрацепции. (5.1, 8.1, 8.6)

1. Показания и применение

Пертузумаб предназначен для применения в комбинации с трастузумабом и доцетакселом для лечения пациентов с HER2-положительным метастатическим раком молочной железы, которые не получали предшествующей анти-HER2 терапии или химиотерапии для метастатического заболевания.

2. Дозирование и введение

2.1 Рекомендуемые дозы и режим дозирования

Начальная доза пертузумаба составляет 840 мг, которые вводятся в виде 60-минутной внутривенной инфузии, с последующим введением каждые 3 недели дозы 420 мг, вводимой в виде внутривенной инфузии от 30 до 60 мин. При введении совместно с пертузумабом рекомендуемая начальная доза трастузумаба составляет 8 мг/кг, которые вводятся в виде 90-минутной внутривенной инфузии, с последующим введением каждые 3 недели дозы 6 мг/кг, вводимой в виде внутривенной инфузии от 30 до 90 минут. При введении совместно с пертузумабом рекомендуемая начальная доза доцетаксела составляет 75 мг/м², которые вводятся в виде внутривенной инфузии. Доза может быть увеличена до 100 мг/м², которые вводят каждые 3 недели, если начальная доза переносится хорошо.

2.2 Модификация дозы

При задержке введения или пропуске доз, если время между двумя последовательными инфузиями составляет менее чем 6 недель, следует ввести дозу пертузумаба 420 мг. Не ждите до следующей запланированной дозы. Если время между двумя последовательными инфузиями составляет 6 недель или более, начальная доза пертузумаба 840 мг должна быть введена повторно в виде 60-минутной внутривенной инфузии, с последующими дозами 420 мг каждые 3 недели, которые вводят в виде внутривенной инфузии от 30 до 60 мин. Скорость инфузии пертузумаба может быть замедлена или инфузия может быть приостановлена, если у пациента развивается инфузионная реакция. Инфузию следует немедленно прервать, если у пациента развивается серьезная реакция гиперчувствительности [см. Предупреждения и меры предосторожности (5.2)].

Фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ):

Отложить дозирование пертузумаба и трастузумаба по меньшей мере на 3 недели, при любом из признаков:

падение ФВЛЖ менее чем до 40% или ФВЛЖ от 40 до 45% с 10% или большим абсолютным уменьшением ниже значений до лечения [см. Предупреждения и меры предосторожности (5.2)]

Пертузумаб может быть возобновлен, если ФВЛЖ восстановилась более чем до 45% или от 40 до 45%, связанных менее чем с 10% или большим абсолютным уменьшением ниже значений до лечения.

Если после повторной оценки не позднее чем приблизительно 3 недели, ФВЛЖ не улучшилась или дополнительно снизилась, требуется настоятельно рассмотреть прекращение пертузумаба и трастузумаба, до тех пор, пока выгоды для конкретного пациента не станут перевешивать риски [см. Предупреждения и меры предосторожности (5.2)]. Пертузумаб следует отложить или прекратить, если лечение трастузумабом отложено или прекращено. Если прекращен прием доцетаксела, лечение пертузумабом и трастузумабом можно продолжать. Не рекомендуется уменьшение доз для пертузумаба. Для модификаций дозы доцетаксела, см. инструкцию по применению доцетаксела.

2.3 Препарат для введения

Вводить только в виде внутривенной инфузии. Не вводить внутривенно струйно или внутривенно болюсно. Не смешивать пертузумаб с другими лекарственными средствами.

Препарат:

Приготовьте раствор для инфузии, с использованием асептического способа, следующим образом:

Парентеральные лекарственные продукты должны быть проверены визуально на наличие частиц и нарушение окраски перед введением.

Наберите соответствующий объем раствора пертузумаба из флакона(ов).

Растворите в 250 мл 0,9% хлорида натрия в ПВХ или не-ПВХ полиолефиновом пакете для инфузии.

Перемешайте разбавленный раствор при помощи осторожного переворачивания. Не встряхивайте.

Вводите сразу же после приготовления.

Если разведенный раствор для инфузии не был использован сразу же, его можно хранить при температуре от 2 до 8°C вплоть до 24 ч.

Растворять только в 0,9% хлориде натрия для инъекций. Не использовать раствор декстрозы (5%).

3. Лекарственные формы и дозировки

Пертузумаб 420 мг/14 мл (30 мг/мл) во флаконе для однократного применения

4. Противопоказания

Отсутствуют

5. Предупреждения и меры предосторожности

5.1 Эмбриофетотоксичность

Пертузумаб может наносить вред плоду при введении беременной женщине. Лечение беременных яванских макаков пертузумабом привело к маловодию, замедленному развитию почек плода и смерти эмбрионов и плодов. Если пертузумаб вводят во время беременности, или пациентка забеременела во время приема этого лекарственного средства, пациентку следует ознакомить с потенциальной возможностью

вреда для плода [см. Применение в определенных популяциях (8.1)]. Подтвердите статус на беременность до начала лечения пертузумабом. Сообщите пациентам о рисках смерти плода и эмбриона и врожденных дефектах и о необходимости предохранения во время и после лечения. Посоветуйте пациентам немедленно обратиться к их лечащему врачу, если они подозревают, что могут быть беременными. Если пертузумаб вводят во время беременности или если пациентка забеременела во время приема пертузумаба, немедленно сообщите о воздействии на линию для нежелательных явлений Genentech по номеру 1-888-835-2555. Настоятельно рекомендуем женщинам, которые могли подвергнуться воздействию во время беременности, зарегистрироваться в MotHER Pregnancy Registry по номеру 1-800-690-6720 [см. Информация для пациента (17)]. Контролируйте пациентов, забеременевших во время терапии пертузумабом, на предмет маловодия. Если произошло маловодие, проведите тестирование плода, подходящее для внутриутробного возраста и согласующееся с общими стандартами клинической практики. Эффективность внутривенной гидратации при терапии маловодия, вызванного воздействием пертузумаба, неизвестна.

5.2 Дисфункция левого желудочка

Описаны снижения ФВЛЖ при приеме лекарственных средств, которые блокируют активность HER2, в том числе пертузумаба. В рандомизированном клиническом исследовании, пертузумаб в комбинации с трастузумабом и доцетакселом не был ассоциирован с увеличением частоты встречаемости симптоматической систолической дисфункции левого желудочка (СДЛЖ) или с понижением ФВЛЖ по сравнению с плацебо в комбинации с трастузумабом и доцетакселом [см. Клинические исследования (14.1)]. Дисфункция левого желудочка произошла у 4,4% пациентов в группе лечения пертузумабом и у 8,3% пациентов в группе лечения плацебо. Симптоматическая систолическая дисфункция левого желудочка (застойная сердечная недостаточность) произошла у 1,0% пациентов в группе лечения пертузумабом и 1,8% пациентов в группе лечения плацебо [см. Нежелательные реакции (6.1)]. Пациенты, которые получали ранее антрациклины или предшествующую лучевую терапию на область грудной клетки, могут иметь более высокий риск снижения ФВЛЖ. Пертузумаб не исследовался на пациентах с уровнем ФВЛЖ до лечения <50%, с предшествующей застойной сердечной недостаточностью (ЗСН) в анамнезе, снижением ФВЛЖ до <50% во время предшествующей терапии трастузумабом, или с состояниями, которые могли бы ухудшить функцию левого желудочка, такими как неконтролируемая гипертензия, недавний инфаркт миокарда, серьезная сердечная аритмия, требующая лечения или кумулятивное предшествующее воздействие антрациклина доксорубицина или его эквивалента до >360 мг/м². Оцените ФВЛЖ до начала терапии пертузумабом и через равные интервалы (например, каждые три месяца) во время лечения, чтобы убедиться, что ФВЛЖ находится в пределах установленного нормального диапазона значений. Если ФВЛЖ <40%, или составляет от 40 до 45% с 10% или большим абсолютным снижением по сравнению с величиной до лечения, прекратите терапию пертузумабом и трастузумабом и повторите оценку ФВЛЖ приблизительно в пределах трех недель. Отмените пертузумаб и трастузумаб, если ФВЛЖ не улучшилась или дополнительно снизилась, до тех пор пока польза для конкретного пациента не перевесит риски [см. Дозирование и Введение (2.2)].

5.3 Инфузионные реакции, реакции гиперчувствительности/анафилаксия

Пертузумаб связан с инфузионными реакциями и реакциями гиперчувствительности [см. нежелательные реакции (6.1)]. Инфузионную реакцию определяли в рандомизированном исследовании как любое событие, описываемое как гиперчувствительность, анафилактическая реакция, острая инфузионная реакция или синдром высвобождения цитокинов, которое случается во время инфузии или в те же сутки, что и инфузия. Начальную дозу пертузумаба дают за сутки до трастузумаба и доцетаксела, чтобы провести исследование реакций, ассоциированных с пертузумабом. В первый день, когда вводили только пертузумаб, общая частота инфузионных реакций составила 13,0% в группе, получавшей пертузумаб, и 9,8% в группе, получавшей плацебо. Менее чем 1% имел степень тяжести 3 или 4. Наиболее распространенными инфузионными реакциями (≥1,0%) были лихорадка, озноб, утомляемость, головная боль, астения, гиперчувствительность и рвота. Во время второго цикла, когда все лекарственные средства вводили в одни и те же сутки, наиболее распространенными инфузионными реакциями в группе, получавшей пертузумаб, (≥1,0%) были утомляемость, дисгевзия, гиперчувствительность, миалгия и рвота. В рандомизированном исследовании, общая частота реакций гиперчувствительности/анафилаксии составила 10,8% в группе, получавшей пертузумаб, и 9,1% в группе, получавшей плацебо. Частота возникновения реакций гиперчувствительности/анафилаксии со степенью тяжести 3-4 составила 2% в группе, получавшей пертузумаб, и 2,5% в группе, получавшей плацебо, согласно Национальному институту рака - общая терминология критериев для нежелательных явлений (NCI-CTCAE) (версия 3). В целом, у четырех пациентов в группе, получавшей пертузумаб, и у двух пациентов в группе, получавшей плацебо, развилась анафилаксия. Внимательно наблюдайте за пациентами в течение 60 мин после первой инфузии и в течение 30 мин после последующих инфузий пертузумаба. Если происходит значительная инфузионная реакция, замедлите или прервите инфузию и введите подходящую лекарственную терапию. Внимательно наблюдайте за пациентами до полного исчезновения признаков и симптомов. Рассмотрите возможность полного прекращения терапии у пациентов с тяжелыми инфузионными реакциями [см. дозирование и введение (2.2)].

5.4 Тестирование HER2

Детекция сверхэкспрессии белка HER2 является необходимой для отбора пациентов, подходящих для терапии пертузумабом, поскольку они являются единственными исследованными пациентами и для них была показана польза терапии [см. показания и применение (1) и клинические исследования (14)]. В рандомизированном исследовании, пациенты с раком молочной железы должны были иметь доказательства сверхэкспрессии HER2, определяемой как 3+ IHC по Dako HERCEPTEST® или степень амплификации по FISH $\geq 2,0$ по тест-набору Dako HER2 FISH PHARMDX™. Только ограниченные данные были доступны для пациентов, чей рак молочной железы был положительным по FISH, но не демонстрировал сверхэкспрессию белка по IHC. Оценка статуса HER2 должна производиться лабораториями, которые демонстрируют профессиональное владение конкретной используемой технологией. Ненадлежащее выполнение анализа, в том числе использование неоптимально окрашенной ткани, небрежность в использовании конкретных реагентов, отклонения от конкретных инструкций по анализу, и не использование соответствующих контролей для проверки анализа, может привести к ненадежным результатам.

6. Нежелательные реакции

Следующие нежелательные реакции обсуждаются более подробно в других разделах инструкции:

Эмбриофетальная токсичность [см. предупреждения и меры предосторожности (5.1)]

Дисфункция левого желудочка [см. предупреждения и меры предосторожности (5.2)]

Инфузионные реакции, реакции гиперчувствительности/анафилаксия [см. предупреждения и меры предосторожности (5.3)]

6.1 Опыт клинических исследований

Поскольку клинические испытания проводят в различных условиях, уровни нежелательных реакций, наблюдаемые в клинических испытаниях лекарственного средства, не могут сравниваться напрямую с уровнями для клинических испытаний другого лекарственного средства и могут не отражать уровни, наблюдаемые в клинической практике. В клинических испытаниях, была проведена оценка пертузумаба у более чем 1400 пациентов с различными злокачественными новообразованиями, и лечение пертузумабом проходило преимущественно в комбинации с другими противоопухолевыми препаратами.

Нежелательные реакции, описанные в табл. 4, были выявлены у 804 пациентов с HER2-положительным метастатическим раком молочной железы, которых лечили в рандомизированном исследовании. Пациенты были рандомизированы для получения или пертузумаба в комбинации с трастузумабом и доцетакселом или плацебо в комбинации с трастузумабом и доцетакселом. Медиана длительности исследуемого лечения составила 18,1 месяца для пациентов в группе, получавшей пертузумаб, и 11,8 месяца для пациентов в группе, получавшей плацебо. Не допускались никакие корректировки доз для пертузумаба или трастузумаба. Уровни нежелательных явлений, которые в результате привели к прекращению всех исследуемых препаратов, составили 6,1% для пациентов в группе, получавшей пертузумаб, и 5,3% для пациентов в группе, получавшей плацебо. Нежелательные явления привели к прекращению приема только одного доцетаксела у 23,6% пациентов в группе, получавшей пертузумаб, и у 23,2% пациентов в группе, получавшей плацебо. В табл. 4 представлены нежелательные реакции, которые произошли по меньшей мере у 10% пациентов в группе, получавшей пертузумаб. Наиболее распространенными нежелательными реакциями ($>30\%$), которые наблюдали для пертузумаба в комбинации с трастузумабом и доцетакселом, были диарея, алоpecia, нейтропения, тошнота, утомляемость, высыпания и периферическая нейропатия.

Наиболее распространенными нежелательными реакциями со степенью тяжести 3-4 NCI-CTCAE (версия 3) ($>2\%$) были нейтропения, фебрильная нейтропения, лейкопения, диарея, периферическая нейропатия, анемия, астения и утомляемость. Повышенную частоту встречаемости фебрильной нейтропении наблюдали для азиатских пациентов в обеих группах лечения по сравнению с пациентами других рас и из других географических регионов. Среди азиатских пациентов, частота возникновения фебрильной нейтропении была выше в группе, получавшей пертузумаб (26%), по сравнению с группой, получавшей плацебо (12%).

Таблица 4. Краткое изложение нежелательных реакций, происходящих у $\geq 10\%$ пациентов в группе лечения пертузумабом в рандомизированном исследовании

Система организма/Нежелательные реакции	Пертузумаб + трастузумаб + доцетаксел n=407 Показатель частоты, %		Плацебо + трастузумаб + доцетаксел n=397 Показатель частоты, %	
	Все степени тяжести, %	Степени тяжести 3-4, %	Все степени тяжести, %	Степени тяжести 3-4, %
Общие расстройства и нарушения в месте введения				
Утомляемость	37,6	2,2	36,8	3,3
Астения	26,0	2,5	30,2	1,5
Периферический отек	23,1	0,5	30,0	0,8
Воспаление слизистых	27,8	1,5	19,9	1,0
Лихорадка	18,7	1,2	17,9	0,5
Нарушения со стороны кожи и подкожных тканей				
Алоpecia	60,9	0,0	60,5	0,3
Высыпания	33,7	0,7	24,2	0,8
Патология ногтей	22,9	1,2	22,9	0,3
Зуд	14,0	0,0	10,1	0,0
Сухость кожи	10,6	0,0	4,3	0,0
Желудочно-кишечные расстройства				
Диарея	66,8	7,9	46,3	5,0
Тошнота	42,3	1,2	41,6	0,5
Рвота	24,1	1,5	23,9	1,5
Запор	15,0	0,0	24,9	1,0
Стоматит	18,9	0,5	15,4	0,3
Нарушения со стороны крови и лимфатической системы				
Нейтропения	52,8	48,9	49,6	45,8
Анемия	23,1	2,5	18,9	3,5
Лейкопения	18,2	12,3	20,4	14,6
Фебрильная	13,8	13,0	7,6	7,3
нейтропения*				
Расстройства нервной системы				
Периферическая нейропатия	32,4	3,2	33,8	2,0
Головная боль	20,9	1,2	16,9	0,5
Дисгевзия (расстройство вкуса)	18,4	0,0	15,6	0,0
Головокружение	12,5	0,5	12,1	0,0
Нарушения со стороны скелетно-мышечной и соединительной ткани				
Миалгия	22,9	1,0	23,9	0,8
Артралгия	15,5	0,2	16,1	0,8
Инфекции и инвазии				
Инфекция верхних дыхательных путей	16,7	0,7	13,4	0,0
Назофарингит	11,8	0,0	12,8	0,3
Нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения				
Одышка	14,0	1,0	15,6	2,0
Метаболические и пищевые расстройства				
Снижение аппетита	29,2	1,7	26,4	1,5
Нарушение со стороны органов зрения				
Повышенное слезоотделение	14,0	0,0	13,9	0,0
Психиатрические расстройства				
Бессонница	13,3	0,0	13,4	0,0

*В данной таблице это означает нежелательную реакцию, о которой сообщали в связи с летальным исходом.

Следующие клинически значимые нежелательные реакции были зарегистрированы у $<10\%$ пациен-

тов в группе, получавшей пертузумаб:

Нарушения со стороны кожи и подкожных тканей:

Паронихия (7,1% в группе, получавшей пертузумаб, по сравнению с 3,5% в группе, получавшей плацебо); Нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения: плевральный выпот (5,2% в группе, получавшей пертузумаб, по сравнению с 5,8% в группе, получавшей плацебо); Сердечные нарушения: Дисфункция левого желудочка (4,4% в группе, получавшей пертузумаб, по сравнению с 8,3% в группе, получавшей плацебо), включая симптоматическую систолическую дисфункцию левого желудочка (ЗСН) (1,0% в группе, получавшей пертузумаб, по сравнению с 1,8% в группе, получавшей плацебо); Нарушения иммунной системы: Гиперчувствительность (10,1% в группе, получавшей пертузумаб, по сравнению с 8,6% в группе, получавшей плацебо).

Нежелательные реакции, зарегистрированные у пациентов, получавших пертузумаб и трастузумаб после прекращения терапии доцетакселом

В рандомизированном исследовании, нежелательные реакции встречались с меньшей частотой после прекращения лечения доцетакселом. Все нежелательные реакции в группе лечения пертузумабом и трастузумабом случались у <10% пациентов, за исключением диареи (19,1%), инфекции верхних дыхательных путей (12,8%), высыпаний (11,7%), головной боли (11,4%) и утомляемости (11,1%) .

6.2 Иммуногенность

Как и для всех терапевтических белков, есть вероятность иммунного ответа на пертузумаб. Пациентов в рандомизированном исследовании тестировали в нескольких временных точках на антитела к пертузумабу. Приблизительно 2,8% (11/386) пациентов в группе, получавшей пертузумаб, и 6,2% (23/372) пациентов в группе, получавшей плацебо, показали положительные тесты на антитела к пертузумабу. Из этих 34 пациентов, ни у кого не развилась анафилаксия/реакции гиперчувствительности, которые были бы непосредственно связаны с антителами к лекарственным препаратам (АТА). Присутствие пертузумаба в сыворотке пациентов в ожидаемых уровнях во время забора образца на АТА может повлиять на способность этого анализа выявлять антитела к пертузумабу. Кроме того, анализ может выявлять антитела к трастузумабу. Как результат, данные могут не точно отражать истинную частоту образования антител к пертузумабу. Данные по иммуногенности сильно зависят от чувствительности и специфичности используемых способов тестирования.

Дополнительно, наблюдаемые частоты встречаемости положительного результата в тесте могут зависеть от нескольких факторов, в том числе от обработки проб, времени сбора проб, лекарственной интерференции, сопутствующего лечения и основного заболевания. По этим причинам, сравнение частоты появления антител к пертузумабу с частотой появления антител к другим продуктам может ввести в заблуждение.

7. Взаимодействия лекарственных средств

Никаких межлекарственных взаимодействий не наблюдали между пертузумабом и трастузумабом или между пертузумабом и доцетакселом.

8. Применение в отдельных популяциях 8.1 Беременность

Беременность категория D

Обзор рисков

Адекватные и хорошо контролируемые исследования пертузумаба на беременных женщинах отсутствуют. На основании результатов исследований на животных пертузумаб может причинить вред плоду при введении беременной женщине. Эффекты пертузумаба, вероятно, могут присутствовать в течение всех триместров беременности.

Пертузумаб, который вводили беременным яванским макакам, приводил к маловодию, замедленному развитию почек плода и смерти эмбрионов и плодов в клинически значимых концентрациях, которые были в 2,5-20 раз больше, чем доза, рекомендуемая для человека, на основании C_{max} . Если пертузумаб вводят во время беременности, или пациентка забеременела во время приема этого лекарственного средства, пациентку следует ознакомить с потенциальной возможностью вреда для плода. Если пертузумаб вводят во время беременности или если пациентка забеременела во время приема пертузумаба, немедленно сообщите о воздействии на линию для нежелательных явлений Genentech по номеру 1-888-835-2555. Настоятельно рекомендуем женщинам, которые могли подвергнуться воздействию во время беременности, зарегистрироваться в MoTHER Pregnancy Registry по номеру 1-800-690-6720 [см. информация для пациента (17)].

Данные, полученные в исследованиях на животных

Исследования по репродуктивной токсикологии проводили на яванских макаках. Беременным обезьянам на девятнадцатый день беременности давали ударные дозы пертузумаба от 30 до 150 мг/кг, с последующими дозами дважды в неделю от 10 до 100 мг/кг. Эти уровни доз приводили в результате к клинически значимым концентрациям, которые были в 2,5-20 раз больше, чем доза, рекомендуемая для человека, на основании C_{max} . Внутривенное введение пертузумаба в дни беременности с 19 до 50 (период органогенеза) было эмбриотоксическим, с дозозависимым увеличением смерти плодов и эмбрионов в период с 25 по 70 дни беременности. Частоты потерь плодов и эмбрионов составили 33, 50 и 85% для самок, которых лечили дважды в неделю дозами пертузумаба 10, 30 и 100 мг/кг, соответственно (в 2,5-20

раз больше, чем доза, рекомендуемая для человека, на основании C_{max}). При кесаревом сечении на сотый день беременности, во всех группах с дозами пертузумаба были выявлены маловодие, сниженный относительный вес легких и почек и микроскопические доказательства почечной гипоплазии, указывающие на замедленное развитие почек. Концентрация пертузумаба была описана у потомства из всех групп, получавших лечение, на уровнях от 29 до 40% от уровней в материнской сыворотке на сотый день беременности.

8.3 Кормящие матери

Неизвестно, выделяется ли пертузумаб с человеческим молоком, но IgG человека экскретируется в молоко человека. Поскольку многие лекарственные средства секретируются в молоко человека, и в связи с возможностью серьезных нежелательных реакций у грудных детей из-за пертузумаба должно быть принято решение либо о прекращении кормления грудью, либо о прекращении приема лекарственного средства, с учетом периода полувыведения пертузумаба и важности лекарственного средства для матери [см. предупреждения и меры предосторожности (5.1), Клиническая фармакология (12.3)].

8.4 Детский возраст

Безопасность и эффективность пертузумаба не оценивались у пациентов детского возраста.

8.5 Пожилой возраст

Из 402 пациентов, получавших пертузумаб в рандомизированном исследовании, 60 пациентов (15%) были в возрасте >65 лет и 5 пациенты (1%) были в возрасте >75 лет. Между этими пациентами и более молодыми пациентами в целом не наблюдали никаких различий по эффективности и безопасности пертузумаба. По результатам популяционного фармакокинетического анализа не наблюдали значимых отличий в фармакокинетике пертузумаба между пациентами <65 лет ($n=306$) и пациентами >65 лет ($n=175$).

8.6 Женщины детородного возраста

Пертузумаб может причинить вред плоду или эмбриону при введении во время беременности. Проконсультируйте пациентов относительно предупреждения беременности и ее планирования. Советуйте женщинам детородного возраста использовать эффективную контрацепцию в период приема пертузумаба и в течение 6 месяцев после последней дозы пертузумаба. Если пертузумаб вводят во время беременности или если пациентка забеременела во время приема пертузумаба, немедленно сообщите о воздействии на линию для нежелательных явлений Genentech по номеру 1-888-835-2555. Настоятельно рекомендуем женщинам, которые могли подвергнуться воздействию во время беременности, зарегистрироваться в MothER Pregnancy Registry по номеру 1-800-690-6720 [см. информация для пациента (17)].

8.7 Почечная недостаточность

Нет необходимости корректировать дозы пертузумаба у пациентов с легкой (клиренс креатинина [CL_{Cr}] от 60 до 90 мл/мин) или умеренной (CL_{Cr} от 30 до 60 мл/мин) почечной недостаточностью. Никакая корректировка дозы не может быть рекомендована для пациентов с тяжелой почечной недостаточностью (CL_{Cr} менее чем 30 мл/мин) из-за ограниченности доступных фармакокинетических данных [см. клиническая фармакология (12.3)].

8.8 Печеночная недостаточность

Не проводили никаких клинических исследований для оценки влияния печеночной недостаточности на фармакокинетику пертузумаба.

10. Передозировка

К настоящему моменту не описано никаких передозировок лекарственного препарата с пертузумабом.

11. Описание

Пертузумаб представляет собой рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело, которое нацелено на внеклеточный димеризующий домен (субдомен II) белка рецептора эпидермального фактора роста 2 человека (HER2). Пертузумаб производят при помощи технологии рекомбинантных ДНК в культуре клеток млекопитающего (китайского хомячка), содержащей антибиотик гентамицин. Гентамицин не определяется в конечном продукте. Пертузумаб имеет приблизительную молекулярную массу 148 кДа. Пертузумаб представляет собой стерильную, прозрачную или слегка опалесцирующую, бесцветную или бледно-коричневую жидкость для внутривенной инфузии. Каждый флакон для однократного применения содержит 420 мг пертузумаба с концентрацией 30 мг/мл в 20 mM L-гистидин ацетата (pH 6,0), 120 mM сахарозы и 0,02% полисорбата 20.

12. Клиническая фармакология 1

2.1 Механизм действия

Пертузумаб нацелен на внеклеточный димеризующий домен (субдомен II) белка рецептора эпидермального фактора роста 2 человека (HER2) и, таким образом, блокирует лиганд-зависимую гетеродимеризацию HER2 с другими членами семейства HER, включая EGFR, HER3 и HER4. В результате, пертузумаб ингибирует иницированную лигандом внутриклеточную передачу сигнала посредством двух основных сигнальных путей, митоген-активируемой протеинкиназы (MAP) и фосфоинозитид 3-киназы (PI3K). Ингибирование этих путей передачи сигнала может приводить к аресту клеточного роста и апоптозу, соответственно. Кроме того, пертузумаб опосредует антителозависимую клеточную цитотоксич-

ность (ADCC). В то время как пертузумаб сам по себе ингибировал пролиферацию опухолевых клеток человека, комбинация пертузумаба и трастузумаба значительно усиливала противоопухолевую активность на моделях ксенотрансплантатов со сверхэкспрессией HER2.

12.2 Фармакокинетика

Пертузумаб демонстрировал линейную фармакокинетику в диапазоне доз 2-25 мг/кг. По результатам популяционного ФК анализа, который включал 481 пациента, медиана клиренса (CL) пертузумаба составила 0,24 л/сутки и медиана полувыведения составила 18 суток. С начальной дозой 840 мг с последующей поддерживающей дозой 420 мг каждые три недели, равновесная концентрация пертузумаба была достигнута после первой поддерживающей дозы. Популяционный ФК анализ не выявил ФК различий по возрасту, полу и этнической принадлежности (японцы по сравнению с не японцами). Начальный уровень сывороточного альбумина и сухая масса тела в качестве ковариат оказали только незначительное влияние на ФК параметры. Таким образом, не требуется никаких коррекций дозы на основании массы тела или исходного уровня альбумина. Никаких межлекарственных взаимодействий не наблюдали между пертузумабом и трастузумабом, или между пертузумабом и доцетакселом в под-исследовании 37 пациентов в рандомизированном исследовании. Не проводили никаких исследований для пертузумаба, связанных с почечной недостаточностью. На основании результатов популяционного фармакокинетического анализа, воздействие пертузумаба на пациентов с легкой (CLcr от 60 до 90 мл/мин, n=200) и умеренной почечной недостаточностью (CLcr от 30 до 60 мл/мин, n=71) было сходным с воздействием на пациентов с нормальной почечной функцией (CLcr больше чем 90 мл/мин, n=200). Никакой взаимосвязи между CLcr и воздействием пертузумаба не наблюдали в диапазоне наблюдаемых CLcr (от 27 до 244 мл/мин).

12.3 Кардиоэлектрофизиология

Воздействие пертузумаба с начальной дозой 840 мг с последующей поддерживающей дозой 420 мг каждые три недели на интервал QTc оценивали в подгруппе из 20 пациентов с HER2-положительным раком молочной железы в рандомизированном исследовании. Никаких значительных изменений в среднем значении интервале QT (т.е. больше чем 20 мс) по сравнению с плацебо на основании коррекции по формуле Фридерича не было обнаружено в исследовании. Нельзя исключать небольшое увеличение среднего значения интервала QTc (т.е. менее чем 10 мс) из-за ограничений в дизайне исследования.

13. Неклиническая токсикология

13.1 Канцерогенез, мутагенез, снижение фертильности Длительных исследований на животных для оценки карциногенного потенциала пертузумаба не проводилось. Не проводили исследований для оценки мутагенного потенциала пертузумаба. Не проводили никаких специальных исследований фертильности у животных для оценки влияния пертузумаба. Никаких неблагоприятных воздействий на мужские или женские репродуктивные органы не наблюдали в исследованиях токсичности на яванских макаках с повторными дозами длительностью до 6 месяцев.

14. Клинические исследования

14.1 Метастатический рак молочной железы

Рандомизированное исследование представляло собой многоцентровое, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование 808 пациентов с HER2-положительным метастатическим раком молочной железы. Были необходимы образцы рака молочной железы для демонстрации сверхэкспрессии HER2, определяемой как IHC 3+ или соотношение амплификации по FISH $\geq 2,0$, которые были определены в центральной лаборатории. Пациентов рандомизировали 1:1 для получения плацебо плюс трастузумаб и доцетаксел или пертузумаб плюс трастузумаб и доцетаксел. Рандомизацию стратифицировали по предшествующему лечению (наличие или отсутствие предшествующей адъювантной/неоадъювантной терапии против HER2 или химиотерапии) и географическому региону (Европа, Северная Америка, Южная Америка и Азия). Пациенты с предшествующей адъювантной или неоадъювантной терапией должны были иметь интервал без заболевания более чем 12 месяцев перед включением в исследование. Пертузумаб давали внутривенно в начальной дозе 840 мг с последующими 420 мг каждые 3 недели. Трастузумаб давали внутривенно в начальной дозе 8 мг/кг с последующими 6 мг/кг каждые 3 недели. Пациентов лечили пертузумабом и трастузумабом до прогрессирования заболевания, отзыва согласия или неприемлемой токсичности. Доцетаксел давали в начальной дозе 75 мг/м² путем внутривенной инфузии каждые 3 недели, по меньшей мере, в течение 6 циклов. Доза доцетаксела могла быть повышена до 100 мг/м² по усмотрению исследователя, если начальная доза хорошо переносилась.

Во время первичного анализа, среднее число циклов вводимой исследуемой терапии составило 16,2 в группе, получавшей плацебо, и 19,9 в группе, получавшей пертузумаб.

Первичной конечной точкой рандомизированного исследования было выживание без прогрессирования (PFS) по оценке независимого наблюдательного учреждения (IRF). PFS определяли как время от даты рандомизации до даты прогрессирования заболевания или смерти (от любой причины), если смерть произошла в пределах 18 недель от последней оценки опухоли. Дополнительные конечные точки включают общую выживаемость (OS), PFS (по оценке исследователя), частоту объективных ответов (ORR) и длительность ответа.

Демографические и начальные характеристики пациентов были сбалансированы между группами

лечения. Медиана возраста составила 54 (диапазон от 22 до 89 лет), 59% были белыми, 32% были азиатами и 4% были черной расы. Все были женщинами, за исключением 2 пациентов. Семнадцать процентов пациентов были включены в исследование в Северной Америке, 14% в Южной Америке, 38% в Европе и 31% в Азии. Прогностические характеристики опухоли, включая статус рецепторов гормонов (положительный 48%, отрицательный 50%), наличие висцерального заболевания (78%) и не висцерального заболевания только (22%) были сходными в обеих исследуемых группах.

Приблизительно половина пациентов получала предшествующую адъювантную или неоадъювантную терапию против HER2 или химиотерапию (плацебо 47%, пертузумаб 46%). Среди пациентов с опухолями, положительными по статусу рецепторов гормонов, 45% получали предшествующую адъювантную гормональную терапию и 11% получали гормональную терапию для метастатического заболевания. Одиннадцать процентов пациентов получали ранее адъювантный или неоадъювантный трастузумаб.

Рандомизированное исследование продемонстрировало статистически значимое улучшение PFS по оценке IRF в группе, получавшей пертузумаб, по сравнению с группой, получавшей плацебо [отношение рисков (HR)=0,62 (95% CI: 0,51, 0,75), $p<0,0001$], и увеличение медианы PFS на 6,1 месяца (медиана PFS 18,5 месяца в группе, получавшей пертузумаб, по сравнению с 12,4 месяца в группе, получавшей плацебо) (см. фиг. 8). Результаты для PFS по оценкам исследователя были сопоставимы с наблюдаемыми для PFS по оценке IRF. Сопоставимые результаты наблюдали по некоторым подгруппам пациентов, включая возраст (<65 или ≥ 65 лет), расу, географический регион, предшествующую адъювантную/неоадъювантную терапию против HER2 или химиотерапию (да или нет) и предшествующий адъювантный/неоадъювантный трастузумаб (да или нет). В подгруппе пациентов с заболеванием, отрицательным по статусу рецепторов гормонов, ($n=408$), отношение рисков составило 0,55 (95% CI: 0,42, 0,72). В подгруппе пациентов с заболеванием, положительным по статусу рецепторов гормонов ($n=388$), отношение рисков составило 0,72 (95% CI: 0,55, 0,95). В подгруппе пациентов с заболеванием, которое ограничивалось невисцеральными метастазами ($n=178$), отношение рисков составило 0,96 (95% CI: 0,61, 1,52).

Во время анализа PFS 165 пациенты умерли. В группе, получавшей плацебо, было больше смертей (23,6%), чем в группе, получавшей пертузумаб (17,2%). В промежуточном анализе OS анализ, результаты были незавершенными и не удовлетворяли заранее определенному критерию досрочного завершения исследования для статистической значимости. См. табл. 5 и фиг. 10.

Таблица 5. Краткое изложение эффективности из рандомизированного исследования

Параметр	Пертузумаб + трастузумаб + доцетаксел n=402	Плацебо + трастузумаб + доцетаксел n=406	HR (95% CI)	Величина p
Выживание без прогрессирования (независимое исследование) Количество пациентов с событием Медиана (месяцы)	191 (47,5%) 18,5	242 (59,6%) 12,4	0,62 (0,51, 0,75)	$<0,0001$
Общая выживаемость (промежуточный анализ) Количество пациентов с событием	69 (17,2%)	96 (23,6%)	0,64 (0,47, 0,88)	0,0053*
Частота объективных ответов (ORR) Количество проанализированных пациентов Объективный ответ (CR+PR)	343	336		
Полный ответ (CR)	275 (80,2%)	233 (69,3%)		
Частичный ответ (PR)	19 (5,5%) 256 (74,6%)	14 (4,2%) 219 (65,2%)		
Медиана длительности ответа (месяцы)	20,2	12,5		

*HR и величина p для промежуточного анализа общей выживаемости не удовлетворяют заранее определенному критерию досрочного завершения исследования ($HR \leq 0,603$, $p \leq 0,0012$).

16. Форма выпуска/хранение и транспортировка 16.1 Форма выпуска

Пертузумаб выпускают в виде флакона для однократного применения 420 мг/14 мл (30 мг/мл), содержащего раствор без консервантов. NDC 50242-145-01. Хранить флаконы в холодильнике от 2 до 8°C (от 36 до 46°F) до момента использования. Держите флакон в наружной упаковке, чтобы защитить от света.

Не замораживать. Не встряхивать.

17. Информация для пациента

Проинформируйте беременных женщин и женщины детородного возраста, что воздействие пертузумаба может причинить вред плоду, включая смерть плодов и эмбрионов или врожденные дефекты [см. предупреждения и меры предосторожности (5.1) и применение в отдельных популяциях (8.1)].

Рекомендуйте женщинам детородного возраста использовать эффективную контрацепцию, в то время как они получают пертузумаб и в течение 6 месяцев после последней дозы пертузумаба [см. предупреждения и меры предосторожности (5.1) и применение в отдельных популяциях (8.6)].

Рекомендуйте кормящим матерям, которых лечат пертузумабом, прекратить кормление грудью или прекратить терапию пертузумабом, учитывая важность лекарственного средства для матери [см. применение в отдельных популяциях (8.3)].

Настоятельно рекомендуйте женщинам, которые могли подвергнуться воздействию во время беременности, зарегистрироваться в MoTHER Pregnancy Registry по номеру 1-800-690-6720 [см. предупреждения и меры предосторожности (5.1) и применение в отдельных популяциях (8.1)].

Таким образом, подробные данные фазы III по безопасности и эффективности для пертузумаба, как в примере 3, приведены для промышленного изделия в этом примере. Это промышленное изделие можно использовать способом, обеспечивающим безопасное и эффективное применение пертузумаба для лечения пациентов.

Пример 5. Терапия пертузумабом ранней стадии рака молочной железы

Антрациклины (в основном, применяемые в комбинации с 5-ФУ и циклофосфамидом) играют центральную роль в тактике ведения рака молочной железы. Romond et al. *NEL* 353(16): 1673-1684 (2005), и Poole et al. *NEJM* 355 (18): 1851-1852 (2006).

Таксаны также являются неотделимой частью стандартных схем лечения рака молочной железы и применяются в комбинации с антрациклинами в схеме лечения, известной как TAC (Martin et al. *NEJM* 352 (22):2302-2313 (2005)), или последовательно с линией антрациклинов в схеме лечения, известной как AC→T (Romond et al. , выше; Joensuu et al. *NEJM* 354 (8):809-820 (2006)).

Карбоплатин представляет собой активный и хорошо переносимый химиотерапевтический препарат, и есть исследования рака молочной железы, которые показали его очевидную эффективность в комбинации с таксаном и трастузумабом в схеме лечения, известной как TCH (Slamon et al. *BCIRG* 006. *SABS* (2007); Robert et al. *J. Clin. Oncol.* 24:2786-2792 (2006)). Однако для метастатического рака молочной железы существуют негативные данные (Forbes et al. *BCIRG* 007 Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. Abstract № LBA516 (2006)).

Предшествующее неoadъювантное исследование с пертузумабом (NeoSphere) оценивало его в комбинации с доцетакселом и трастузумабом (Gianni et al. *Cancer Research* 70 (24) (Suppl. 2) (December 2 010)), но не в комбинации с химиотерапией на основе антрациклинов или с химиотерапией на основе карбоплатина.

В этом примере оценивали следующие химиотерапевтические схемы лечения:

FEC Терапия рака молочной железы, включающая 5-фторурацил, эпирубицин и циклофосфамид.

FEC→T Последовательная химиотерапия, включающая курсы химиотерапии FEC с последующими курсами доцетаксела.

TCH Химиотерапевтическая схема лечения для HER2-положительного рака молочной железы, комбинация, содержащая таксан (доцетаксел), карбоплатин и трастузумаб (Герцептин®).

Группы лечения в этом исследовании были следующими:

Группа А.

Курсы 5-Фторурацила, эпирубина и циклофосфамида (FEC) с последующими курсами доцетаксела (Т) (FEC→Т) с трастузумабом и пертузумабом, которые дают в начале химиотерапевтической схемы лечения (т.е. одновременно с антрациклинами)

5-Фторурацил (500 мг/м²), эпирубицин (100 мг/м²) с последующим циклофосфамидом (600 мг/м²) в течение трех циклов, с последующим доцетакселом в течение трех циклов с трастузумабом (8 мг/кг в день 1 первого лечения эпирубицином и 6 мг/кг каждые 3 недели после этого) и пертузумаб (840 мг в день 1 лечения FEC с последующими 420 мг каждые 3 недели после этого). Начальная доза для доцетаксела составляет 75 мг/м² для цикла 4 (первый цикл доцетаксела), затем 100 мг/м² для циклов 5-6, если не происходит лимитирующая дозу токсичность. Все лекарственные средства вводят внутривенным путем.

Группа В.

FEC→Т с трастузумабом и пертузумабом, которые дают с начала лечения таксаном (т.е. после антрациклина) 5-Фторурацил (500 мг/м²), эпирубицин (100 мг/м²) с последующим циклофосфамидом (600

мг/м²) в течение трех циклов, с последующим доцетакселом в течение трех циклов с трастузумабом (8 мг/кг в день 1 первого лечения доцетакселом и → мг/кг каждые 3 недели после этого) и пертузумаб (840 мг в день 1 лечения доцетакселом с последующими 420 мг каждые 3 недели после этого). Начальная доза для доцетаксела составляет 75 мг/м² для цикла 4 (первый цикл доцетаксела), затем 100 мг/м² для циклов 5-6, если не происходит лимитирующая дозу токсичность. Все лекарственные средства вводят внутривенным путем.

Группа С.

Таксан (доцетаксел), карбоплатин и трастузумаб (ТСН) с пертузумабом, где оба антитела дают с начала химиотерапии.

Карбоплатин (AUC₆ с использованием формулы Калверта) с последующим доцетакселом в день 1 с трастузумабом (8 мг/кг в день 1 первого лечения карбоплатином и доцетакселом и 6 мг/кг каждые 3 недели после этого) и пертузумаб (840 мг в день 1 с последующими 420 мг каждые 3 недели после этого) в течение шести циклов. Доза доцетаксела составляет 75 мг/м² во всех циклах. Все лекарственные средства вводят внутривенным путем.

Все пациенты будут получать трастузумаб каждые три недели общим сроком один год от начала лечения (от цикла 1-17 для пациентов в группах А и С до цикла 4-20 для пациентов в группе В), независимо от того, получают ли они дополнительную химиотерапию или нет.

Первичная цель

Первичную цель оценивали, когда все пациенты получили шесть циклов неоадьювантного лечения, перенесли операцию, и были взяты все необходимые образцы, или пациенты были исключены из исследования, независимо от того, что случилось раньше.

Вторичные цели

Провести предварительную оценку активности, ассоциированной с каждой схемой лечения, на что указывает частота полного патологического ответа.

Оценить профили безопасности каждой схемы лечения, в том числе дооперационного (неоадьювантного) и послеоперационного (адьювантного) лечения.

Исследовать общую выживаемость, время до клинического ответа, время до ответа, выживаемость без заболевания и выживаемость без прогрессирования для каждой группы лечения.

Исследовать биомаркеры, которые могут быть ассоциированы с первичными и вторичными конечными точками эффективности в соответствии с каждой группой лечения.

Исследовать частоту консервативной хирургии молочной железы для всех пациентов с опухолями T2-3, для которых при постановке диагноза планировалась мастэктомия.

Будет произведена оценка соотношения риска и преимуществ каждой схемы лечения.

Обзор дизайна исследования

Это было открытое, рандомизированное многоцентровое исследование фазы II для оценки переносимости и активности, связанных с трастузумабом и пертузумабом, когда их применяют в дополнение к схеме лечения химиотерапией на основе антрациклинов или химиотерапией на основе карбоплатина в качестве неоадьювантной терапии у пациентов с HER2-положительным раком молочной железы, который находится на ранней стадии и >2 см в диаметре или является местно распространенным или воспалительным (см. фиг. 11).

Вводили шесть циклов активной химиотерапии. Однако если считали, что пациентам необходима дальнейшая терапия после операции, то было предложено, чтобы те пациенты, которые получали FEC→T, получили CMF (циклофосфамид, метотрексат и 5-фторурацил), и те пациенты, которые получали ТСН, но которые, как считают, нуждаются в дальнейшей химиотерапии, получали FEC (5-фторурацил, эпирубицин и циклофосфамид).

После завершения операции (и после завершения послеоперационной химиотерапии, при необходимости), пациенты получали лучевую терапию в соответствии с местными клиническими стандартами, а те пациенты, у которых опухоли были положительными по статусу рецептора эстрогена, получали гормональное воздействие в соответствии с местными клиническими стандартами.

По существу, все пациенты получили по меньшей мере 6 циклов активной химиотерапии и два антитела, пертузумаб и трастузумаб плюс хирургию и лучевую терапию (в соответствии с местным стандартом) плюс любое прописанное гормональное воздействие (в соответствии с местным стандартом) и продолжили получать трастузумаб в целом до одного года.

Пациентов, у которых неоадьювантное исследовательское лечение было прервано до операции, вели в соответствии с локальной практикой. Приблизительно через 28 суток после последней дозы исследуемого медицинского препарата пациентов просили пройти последнюю оценку безопасности (которая называется визит завершения).

Исследуемая популяция

Обзор

Пациенты женского пола, в возрасте 18 лет или более, с ранней стадией HER2-положительного рака молочной железы, у которых первичные опухоли >2 см и нет метастазов.

Критерии включения

1) Пациенты женского пола с местно распространенным, воспалительным или на ранней стадии, односторонним и гистологически подтвержденным инвазивным раком молочной железы. Начальная оценка рака молочной железы должна быть проведена врачом с опытом хирургии рака молочной железы. Пациенты с воспалительным раком молочной железы должны быть в состоянии пройти толстоигольную биопсию.

2) Первичная опухоль >2 см в диаметре.

3) HER2-положительный рак молочной железы, подтвержденный централизованной лабораторией. Опухоли должны быть HER2 3+ по IHC или FISH/CISH + (положительный статус по FISH/CISH обязателен для опухолей HER2 2+).

4) Доступность FFPE ткани (приемлем способ фиксации забуференным формалином) для централизованного подтверждения пригодности по HER2 (FFPE опухолевая ткань затем будет использована для оценки статуса биомаркеров).

5) Пациенты женского пола, возраст ≥ 18 лет.

6) Исходная ФВЛЖ $\geq 55\%$ (измеренная эхокардиографией или радионуклидной ангиографией (MUGA)).

7) Показатель общего состояния по ECOG ≤ 1 .

8) По меньшей мере 4 недели с момента серьезной не связанной с раком операции с полным восстановлением.

Сопутствующие лекарственные препараты и лечение

Разрешенная терапия

Сопутствующее лечение представляет собой любые прописанные лекарственные препараты, безрецептурные препараты, лекарственные средства из растительного сырья или лучевую терапию, которую пациент получает в интервале, начинающемся за 7 дней до набора в исследование и продолжающемся во время исследования.

Следующие виды лечения разрешены во время исследования:

1. Должны использоваться приемлемые способы контрацепции, если пациент-женщина или партнер-мужчина не были стерилизованы хирургическим путем или пациент не соответствует определению постменопаузы, принятому в исследовании (≥ 12 месяцев аменореи);

2. H_1 и H_2 антагонисты (например, дифенгидрамин, циметидин);

3. Анальгетики (например, парацетамол/ацетаминофен, меперидин, опиоиды);

4. Краткосрочное применение кортикостероидов для лечения или профилактики аллергических или инфузионных реакций;

5. Противорвотные средства (одобренные профилактические антагонисты серотонина, бензодиазепины, ондансетрон и т.д.);

6. Лекарственный препарат для лечения диареи (например, лоперамид);

7. Колонистимулирующие факторы (например, G-CSF);

8. Антагонисты рецептора эстрогена (например, тамоксифен) или ингибиторы ароматазы (например, анастрозол, экземестан) после завершения послеоперационной химиотерапии в соответствии с местной практикой.

Недопустимая терапия

Следующие виды лечения не допустимы во время периода лечения в исследовании:

9. Противораковая терапия, иная чем, та, которую вводят в данном исследовании, в том числе цитотоксические химиотерапевтические препараты, лучевая терапия (за исключением адъювантной лучевой терапии для рака молочной железы после завершения химиотерапии или дополнительной адъювантной химиотерапии сразу после операции, при необходимости), иммунотерапия, и биологическая противораковая терапия;

10. Любая таргетная терапия;

11. Лечение стероидами, за исключением заместительной гормональной терапии щитовидной железы и кратковременного приема кортикостероидов для лечения или профилактики аллергических или инфузионных реакций;

12. Высокие дозы системных кортикостероидов. Высокой дозой считают >20 мг дексаметазона в сутки (или эквивалент) в течение >7 последовательных суток;

13. Любое исследуемое вещество, за исключением тех, которые используют в данном исследовании;

14. Начало приема лекарственных средств из растительного сырья. Прием лекарственных средств из растительного сырья, начатый до начала исследования и продолжающийся во время исследования запрещен и должен быть записан в электронной истории болезни (eCRF);

15. Любые пероральные, инъекционные или имплантируемые гормональные способы контрацепции.

Результаты

Исходные характеристики пациентов с ранней стадией HER2-положительного рака молочной железы приведены в табл. 6 ниже.

Таблица 6. Исходные характеристики в популяции для оценки безопасности

	FEC+H+P x3 →T+H+P x3 n=72	FEC x3 → T+H+P x3 n=75	TCH+P x6 n=76
Средний возраст, годы (диапазон)	49,0 (27-77)	49,0 (24-75)	50,0 (30-81)
ECOG PS 0, n (%)	65 (91,5)	66 (88,0)	67 (88,2)
1, n (%)	6 (8,5)	9 (12,0)	9 (11,8)
ER и/или PR- положительный, n (%)	39 (53,4)	35 (46,7)	40 (51,9)
ER и PR-отрицательный, n (%)	34 (46,6)	40 (53,3)	37 (48,1)
Тип заболевания, n (%)			
Операбельный	53 (72,6)	54 (72,0)	49 (63,6)
Местнораспространенный	15 (20,5)	17 (22,7)	24 (31,2)
Воспалительный	5 (6,8)	4 (5,3)	4 (5,2)
HER2 IHC 0 и 1+, n (%)	1 (1,4)	–	–
2+, n (%)	5 (6,8)	1 (1,3)	2 (2,6)
3+, n (%)	67 (91,8)	74 (98,7)	75 (97,4)
HER2 FISH- положительная, n (%)	69 (94,5)	69 (92,0)	73 (94,8)
FISH-отрицательная, n (%)	–	1 (1,3)	2 (2,6)
Неизвестно, n (%)	4 (5,5)	5 (6,7)	2 (2,6)

СВЕ, клиническое исследование молочной железы; ECOG PS, показатель общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе; ER, рецептор эстрогена; FEC, 5-фторурацил, эпирубицин, циклофосфамид; FISH, флуоресцентная гибридизация in situ; H, трастузумаб; IHC, иммуногистохимия; P, пертузумаб; PR, рецептор прогестерона; T, доцетаксел; TCH, доцетаксел/карбоплатин/трастузумаб.

Данные по безопасности показаны на фиг. 12 и в табл. 7 и 8 ниже.

Таблица 7. Сердечные события в целом

	FEC+H+P x3 → T+H+P x3 n=72	FEC x3 → T+H+P x3 n=75	TCH+P x6 n=76
Симптоматическое СДЛЖ (степень тяжести ≥3), n(%)	–	2 (2,7)	1 (1,3)
СДЛЖ (все степени тяжести), n (%)	5 (6,9)	3 (4,0)	5 (6,6)
Снижение ФВЛЖ на ≥10% от исходного до <50%, n (%)	5 (6,9)	5 (6,7)	5 (6,6)

FEC, 5-фторурацил, эпирубицин, циклофосфамид; H, трастузумаб; ФВЛЖ, фракция выброса левого желудочка; СДЛЖ, систолическая дисфункция левого желудочка; P, пертузумаб; T, доцетаксел; TCH, доцетаксел/карбоплатин/трастузумаб.

Таблица 8. Десять наиболее распространенных нежелательных явлений со степенью тяжести ≥ 3 во время неоадьювантного лечения

Нежелательное явление, n (%)	FEC+H+P x3 T+H+P x3 n=72	FEC x3 → T+H+P x3 n=75	TCH+P x6 n=76
Нейтропения	34 (47,2)	32 (42,7)	35 (46,1)
Фебрильная нейтропения	13 (18,1)	7 (9,3)	13 (17,1)
Лейкопения	14 (19,4)	9 (12,0)	9 (11,8)
Диарея	3 (4,2)	4 (5,3)	9 (11,8)
Анемия	1 (1,4)	2 (2,7)	13 (17,1)
Тромбоцитопения	–	–	9 (11,8)
Рвота	–	2 (2,7)	4 (5,3)
Утомляемость	–	–	3 (3,9)
Повышенная аланинаминотрансфераза	–	–	3 (3,9)
Лекарственная непереносимость	2 (2,8)	–	2 (2,6)

FEC, 5-фторурацил, эпирубицин, циклофосфамид; H, трастузумаб; P, пертузумаб; T, доцетаксел; TCH, доцетаксел/карбоплатин/трастузумаб.

Данные по эффективности приведены на фиг. 13 и 14, а также в табл. 9 и 10 ниже.

Таблица 9. Частота клинических ответов во время неоадьювантного лечения

	FEC+H+P x3 T+H+P x3 n=73	FEC x3 → T+H+P x3 n=75	TCH+P x6 n=77
Частота объективных ответов, n (%)	67 (91,8)	71 (94,7)	69 (89,6)
Частота полных ответов	37 (50,7)	21 (28,0)	31 (40,3)
Частота частичных ответов	30 (41,1)	50 (66,7)	38 (49,4)
Стабильное заболевание, n (%)	3 (4,1)	1 (1,3)	5 (6,5)
Прогрессирующее заболевание, n (%)	–	1 (1,3)	–
Нет оценки, n (%)	3 (4,1)	2 (2,7)	3 (3,9)

FEC, 5-фторурацил, эпирубицин, циклофосфамид; H, трастузумаб; P, пертузумаб; T, доцетаксел; TCH, доцетаксел/карбоплатин/трастузумаб.

Таблица 10. Сохраняющая хирургия молочной железы у пациентов, для которых планировалась мастэктомия

	FEC+H+P x3 → T+H+P x3 n=46	FEC x3 → T+H+P x3 n=36	TCH+P x6 n=37
Достигнута, n (%)	10 (21,7)	6 (16,7)	10 (27,0)
(95% CI)	(10,9–36,4)	(6,4–32,8)	(13,8–44,1)
Не достигнута, n (%)	36 (78,3)	30 (83,3)	27 (73,0)

CI, доверительный интервал; FEC, 5-фторурацил, эпирубицин, циклофосфамид; H, трастузумаб; P, пертузумаб; T, доцетаксел; TCH, доцетаксел/карбоплатин/трастузумаб.

Выводы

Результаты этого исследования указывают на низкую частоту возникновения симптоматической и асимптоматической СДЛЖ во всех группах

Параллельное введение пертузумаб плюс трастузумаб с эпирубицином приводит к сходной сердечной переносимости в сравнении с последовательным введением или схемой лечения без антрациклинов

Нейтропения, фебрильная нейтропения, лейкопения и диарея были наиболее часто регистрируемыми нежелательными явлениями (степень тяжести ≥ 3) во всех группах

Вне зависимости от выбранной химиотерапии, комбинация пертузумаба с трастузумабом в схеме неоадьювантного лечения приводит к высоким уровням полного патологического ответа (pCR) (от 57 до 66%)

Данное исследование (TRYPHAENA) поддерживает применение пертузумаба и трастузумаба плюс химиотерапию на основе антрациклинов или химиотерапию на основе карбоплатина в схеме неоадьювантного и адьювантного лечения ранней стадии рака молочной железы.

Пример 6. Совместное введение пертузумаба и трастузумаба

В фазе III клинических испытаний, описанной выше, пертузумаб вводили путем внутривенной (в/в) инфузии в физиологическом растворе в пакете для в/в введений пациентам с HER2-положительным метастатическим раком молочной железы с последующим введением трастузумаба и химиотерапевтического средства доцетаксела, также с использованием в/в инфузий с физиологическим раствором. Процесс

в/в инфузии для пертузумаба и трастузумаба занимает приблизительно от 60 до 90 мин для каждого препарата с периодом наблюдения пациента от 30 до 60 мин после каждого лекарственного средства. Из-за этой схемы лечения каждый визит может в целом занимать до 7,5 ч. Поскольку медицинские выплаты, как за лекарственные средства, так и за услуги по введению лекарственных средств, в недавнем прошлом находились под пристальным вниманием, акцент в практике работы был на уменьшение времени и на увеличение использования медицинских ресурсов в условиях клиники и госпиталя. Ожидается, что повышение эффективности ухода за пациентом, соблюдения режима терапии и лечения произойдет за счет уменьшения времени, которое пациенты проводят в клинике в течение каждого цикла лечения.

Как часть фазы III клинических испытаний пертузумаба, пертузумаб и трастузумаб вводят пациентам последовательно путем внутривенной (в/в) инфузии, т.е. одно лекарственное средство после другого. В то время как пертузумаб дают в виде постоянной дозы (420 мг для поддержания, 840 мг для нагрузки), трастузумаб дают на основании массы (6 мг/кг для поддерживающих доз). Для повышения удобства и минимизации для пациентов времени, проведенного в клинике, оценивали практическую осуществимость совместного введения пертузумаба с трастузумабом в одном полиолефиновом (ПО) или поливинилхлоридном (ПВХ) пакете для в/в инфузии с 250 мл 0,9% физиологического раствора. Моноклональные антитела по отдельности демонстрировали стабильность в пакетах для инфузии (ПО и/или ПВХ) в течение 24 ч при 5 и 30°C. В этом исследовании оценивали совместимость и стабильность пертузумаба (420 и 840 мг) смешанного или с 420 мг трастузумаба (доза 6 мг/кг для пациента весом 70 кг) или 720 мг (доза 6 мг/кг для пациента весом 120 кг) в пакете для в/в введения вплоть до 24 ч при 5 или 30°C. Контроли (т.е. пертузумаб отдельно в пакете для в/в введения, трастузумаб отдельно в пакете для в/в введения) и образцы смеси моноклональных антител (МАТ) оценивали с использованием существующих аналитических способов для пертузумаба и трастузумаба, которые включают цвет, внешний вид и прозрачность (САС), концентрацию и мутность при помощи сканирования УФ-спектрометром, анализ частиц при помощи HIA-CRoysco, эксклюзионную хроматографию (SEK) и ионообменную хроматографию (IEC). Дополнительно были использованы капиллярный зонный электрофорез (CZE), капиллярное электрофосфорическое фокусирование с детекцией в капилляре (iCIEF) и анализ активности (только анализ антипролиферативной активности пертузумаба) для оценки смесей, содержащих 1:1 пертузумаб:трастузумаб и их соответствующие контроли (420 мг только пертузумаба и 420 мг только трастузумаба) только в качестве репрезентативного случая.

Результаты вышеуказанных анализов не показали наблюдаемых различий в смесях пертузумаб/трастузумаб между контролем в точке отсчета времени (T0) и образцом, который хранили до 24 ч или при 5 или при 30°C. Физико-химические анализы, перечисленные выше, были способны выявить обе молекулы, а также минорные варианты в смеси лекарственных средств, хотя некоторые перекрывания видов моноклональных антител были видны на хроматограммах. Кроме того, смесь лекарственных средств, которую тестировали при помощи анализа на специфическое ингибирование пертузумабом пролиферации клеток, показала сопоставимую эффективность до и после хранения. Результаты этого исследования показали, что смеси пертузумаба и трастузумаба физически и химически стабильны в пакете для в/в инфузий до 24 ч при 5 или 30°C, и их можно использовать при необходимости для введения в клинике.

Доза I: смесь пертузумаб/трастузумаб 840 мг (420 мг пертузумаба и 420 мг трастузумаба)

Приготовление образца: все процедуры проводили в асептических условиях в вытяжном шкафу с ламинарным потоком. Для этого исследования получали образцы ПО пакетов для в/в инфузии с тремя типами комбинаций лекарственного средства:

- 1) смесь 420 мг пертузумаба/420 мг трастузумаба,
- 2) 420 мг пертузумаба отдельно и
- 3) 420 мг трастузумаба отдельно.

Образцы пертузумаба и трастузумаба по отдельности служили контролями.

Трастузумаб разводили 20 мл бактериостатической воды для инъекций (BWFI) и оставляли на лабораторном столе в течение приблизительно 15 мин перед использованием. Для приготовления дозы образца пертузумаб/трастузумаб 14 мл пертузумаба (420 мг) разбавляли прямо внутри пакета для в/в инфузии, который содержал номинально 250 мл (± 25 мл overage) 0,9% физиологического раствора, без удаления равного объема физиологического раствора, с последующим добавлением 20 мл разведенного трастузумаба (420 мг) с использованием иглы 18-го калибра при комнатной температуре. Ожидалось, что общая концентрация двух белков, объединенных в 250 мл пакете для в/в введения, составит приблизительно 3 мг/мл. Аналогично, пакет для в/в введения только с пертузумабом (420 мг) получали при помощи 14 мл лекарственного продукта 30 мг/мл, разведенного непосредственно внутри пакета для в/в инфузии. Конечная ожидаемая концентрация составила приблизительно 1 мг/мл. Пакет для в/в введения только с трастузумабом (420 мг) готовили сходным образом, за исключением того, что 20 мл лекарственного продукта 21 мг/мл добавляли в пакет. Конечная ожидаемая концентрация составила приблизительно 1 мг/мл.

ПО пакеты для в/в введения тщательно перемешивали вручную путем осторожного покачивания

туда-обратно несколько раз для обеспечения однородности. После перемешивания 10 мл образца отбирали из каждого пакета при помощи шприца и хранили в стерильных пробирках фирмы Falcon объемом 15 см³ для использования в качестве контроля разведенного образца в точке отсчета времени (T0). Пакеты для в/в введения затем хранили, покрытые фольгой при 30°C в течение 24 ч (T24). Сразу же после хранения, оставшееся количество образца удаляли шприцом из каждого пакета и помещали в стерильные контейнеры объемом 250 мл из полиэтилен терефталат сополимера (PETG). Образцы T0 и T24 образцы хранили вплоть до 24 ч при 5°C или сразу же анализировали посредством САС, сканирования на УФ-спектрометре (концентрация и мутность), SEK, IEC, CZE, iCIEF, HIAС-Royco, а также анализ активности. Качество продуктов в образцах тестировали при помощи продукт-специфических способов SEK и IEC для пертузумаба и трастузумаба, в то время как специфический тест на активность проводили только для пертузумаба. Другие использованные анализы представляли собой не специфические для продуктов способы. Все анализы были квалифицированы для предполагаемого испытания по своим соответствующим молекулам и были использованы без дополнительных способов оптимизации.

Доза II: Смесь пертузумаб/трастузумаб 1560 мг (840 мг пертузумаба и 720 мг трастузумаба)

Приготовление образца: исследовали верхний диапазон дозы МАТ для совместного введения (всего 1560 мг смеси: 840 мг пертузумаб и 720 мг трастузумаб) в образцах ПО и ПВХ пакетов для в/в инфузии. В случае если наблюдают увеличение агрегации белков, предрасположенность к образованию высокомолекулярных соединений (HMWS) будет более вероятно случаться при более высокой дозе 1560 мг МАТ в целом в отличие от смеси, содержащей 840 мг. Чтобы снизить риск при высокой дозе при данных условиях, исследовали как ПО, так и ПВХ пакеты для в/в инфузий, чтобы убедиться, что не наблюдается никакого взаимодействия.

Получали три типа комбинаций лекарственного средства (смесь, 840 мг пертузумаба отдельно, и 720 мг трастузумаба отдельно) и обрабатывали аналогично исследованию дозы I. Смесь пертузумаб/трастузумаб содержала 28 мл пертузумаба (840 мг), разведенного непосредственно в ПО или ПВХ пакете для в/в инфузий, с последующим добавлением 34 мл разведенного трастузумаба (720 мг) с использованием иглы 18-го калибра при комнатной температуре. Предполагается, что концентрация двух МАТ, объединенных в одном 250 мл пакете для в/в введения, составит приблизительно 5 мг/мл. Для контролей, получали образцы пертузумаба и трастузумаба по отдельности в пакете для в/в инфузии и обрабатывали аналогично исследованию дозы I, за исключением того, что 28 мл пертузумаба с концентрацией 30 мг/мл и 34 мл трастузумаба с концентрацией разводили непосредственно в ПО или ПВХ пакете для в/в инфузии. Конечная ожидаемая концентрация для образцов по отдельности составила приблизительно 3 мг/мл для пертузумаба (840 мг) и трастузумаба (720 мг). Пакеты хранили непокрытыми при 5°C или при 30°C вплоть до 24 ч. Образцы T0 и T24 хранили от 24 до 48 ч при 5°C или анализировали сразу же посредством САС, сканирования на УФ-спектрометре (концентрация и мутность), SEK, IEC и HIAС-Royco.

Детали типов доз, пакеты для в/в инфузии, доза и приготовление, температуры хранения и анализы обобщены в табл. 11.

Таблица 11. Тип пакета для в/в введения, доза, приготовление и условия исследования

Тип пакета для в/в введения (приблизительно 250 мл, 0,9% NaCl)	Суммарная доза, концентрация	Разведение (в пакет для в/в введения с приблизительно 250 мл)	Темп-ра хранения (до 24 часов)	Анализ
Доза I (n=1)				
ПО	840 мг, приблизительно 3 мг/мл	Добавить 14 мл Р (~30 мг/мл) + 20 мл Т (~21 мг/мл)	30°C	САС, сканирование на УФ-спектрометре (концентрация и мутность), SEK, IEC, CZE, iCIEF, HIAС-Royco, активность
	420 мг ^b , приблизительно 2 мг/мл	Добавить 14 мл Р (~30 мг/мл)		
	420 мг ^b , приблизительно 1 мг/мл	Добавить 20 мл Т (~21 мг/мл)		

Доза II (n=1)				
ПО и ПВХ ^a	1560 мг, приблизит. 5 мг/мл	Добавить 28 мл Р (~30 мг/мл + 34 мл Т (~21 мг/мл)	5°C 30°C	САС, сканирование на УФ- спектрометре (концентрация и мутность), SEK, IEC, и HPLC-Royco
ПО и ПВХ	840 мг ^b , приблизит. 3 мг/мл 720 мг ^b , приблизит. 3 мг/мл	Добавить 28 мл Р (~30 мг/мл Добавить 34 мл Т (~21 мг/мл)		

^a n=2^b контроль

Р=пертузумаб; Т=трастузумаб

Анализы

Все образцы хранили при 5°C или сразу же анализировали. Как правило, образцы анализировали в пределах от 24 до 48 ч от приготовления и хранения. Следующие анализы проводили для определения качества продукта и краткосрочной стабильности образцов смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно, растворенных в физиологическом растворе в пакетах для в/в инфузий. Поскольку некоторые анализы, т.е. SEK, IEC, CZE, iCIEF и анализ активности, не были оптимизированы для количественной оценки смесей МАТ, только хроматографические или электрофоретические анализы перекрывались на этих образцах, и здесь показаны их индивидуальные контроли до и после хранения при 5 или 30°C. Для согласованности не рассчитывали никаких значений, например площадь пика в процентах, для всех трех типов образцов в проведенных анализах жидкостной хроматографии и электрофоретических анализах.

Цвет, внешний вид и прозрачность (САС)

Цвет, внешний вид и прозрачность образцов определяли путем визуального осмотра при белом флуоресцентном свете с черным и белым фоном при комнатной температуре. Стеклянный флакон объемом 3 см³ заполняли 1 мл каждого образца для анализа САС.

Для сравнения применяли отрицательный контроль (очищенная вода) с соответствующим объемом образца.

Спектрофотометрическое сканирование в УФ- и видимой областях спектра для измерения концентраций

Концентрацию определяли по измерению УФ-оптической плотности на спектрофотометре HP8453 при помощи волуметрического приготовления образца. Контрольную пробу сравнения делали с 0,9% физиологическим раствором.

Для каждого образца измеряли оптическую плотность при $A_{\max}$ (278 или 279 нм) и 320 нм в кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см. Оптическую плотность при 320 нм используют для поправки на фоновое светорассеяние в растворе. Концентрацию рассчитывали с использованием абсорбционной способности $1,50 \text{ (мг/мл)}^{-1} \text{ см}^{-1}$ для молекул пертузумаба и трастузумаба.

Концентрация белка (мг/мл) = $[(A_{\max} - A_{320}) / 1,50] \times \text{фактор разведения} \times (1/\text{длину оптического пути кюветы})$

Эксклюзионная хроматография (SEK: пертузумаб-специфическая и трастузумаб-специфическая)

Каждый образец наносили на колонку TOSHAAS® G3000 SWXL, 7,8×300 мм при температуре окружающей среды на приборе для ВЭЖХ AGILENT 1100®. Элюированные пики отслеживали при 280 нм. Хроматографические интегрирования анализировали при помощи программного обеспечения CHROMELEON®. Температуру автодозатора удерживали при 2-8°C на всем протяжении прогона, а использованные подвижные фазы представляли собой 0,2М фосфат калия, 0,25 мМ хлорид калия, pH 6,2 и 100 мМ фосфат калия, pH 6,8 для анализа пертузумаба и анализа трастузумаба, соответственно. Рекомендуемый объем вводимой пробы, как указано в методике испытания, составил 200 мкг на объем инъекции 20 мкл. Разведенный образец 420 мг вводили в объеме, меньшем чем рекомендуемое количество, в связи с низкой концентрацией белка после разведения в пакетах для в/в введений. Максимальный объем инъекции проботборной петли ВЭЖХ составляет 100 мкл, что ограничивает объем, который может быть инжектирован одномоментно. В результате, вводимые объемы проб были модифицированы до 100 мкл при 160 мкг белок для образцов пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно образцы (группа с дозой 420 мг) и 73 мкл при 200 мкг белка для смеси пертузумаб/трастузумаб (группа с дозой 840 мг). Модификация объемов вводимых проб применялась в предыдущих исследованиях пакетов для в/в введения и является необходимой при обработке образцов с низкой концентрацией.

Ионообменная хроматография (IEC)

Анализ гетерогенности заряда расщепленных карбоксипептидазой В (СрВ) пертузумаба и трастузумаба выполняли для каждого образца при помощи IEC. Для пертузумаб-специфической IEC, образцы

анализировали либо при помощи стандартной ИЕС ("стандартная ИЕС для пертузумаба") или при помощи модифицированной "быстрой" версии ИЕС ("быстрая ИЕС для пертузумаба") для высокопроизводительного способа для цели этих экспериментов. Анализы ИЕС проводили с использованием колонки со слабой катионообменной смолой DIONEX® WCX, уравновешенной растворителем А (20 мМ MES, 1 мМ Na₂EDTA pH 6,00) и растворителем В (250 мМ хлорида натрия в растворителе А) с мониторингом при 280 нм для стандартной ИЕС для пертузумаба и быстрой ИЕС для пертузумаба, в то время как растворитель А (10 мМ фосфат натрия, pH 7,5) и растворитель В (100 мМ хлорида натрия в растворителе А) с мониторингом при 214 нм применяли для трастузумаба на приборе для ВЭЖХ AGILENT 1100®. Пики элюировали при скорости потока 0,8 мл/мин с повышающим градиентом 18-100% растворителя В в течение 35 мин и 90 для стандартной ИЕС для пертузумаба и быстрой ИЕС для пертузумаба соответственно, и 15-100% растворителя В в течение 55 мин для ИЕС для трастузумаба. Температуры колонок поддерживали или на уровне 34 или 42°C и на уровне комнатной для стандартной ИЕС для пертузумаба или быстрой ИЕС для пертузумаба и ИЕС для трастузумаба соответственно, в то время как температуру автодозатора сохраняли 2-8°C на всем протяжении прогона.

НІАС-ROYCO™ способ светотени для частиц, невидимых невооруженным глазом

Подсчет частиц в растворенном лекарственном продукте проводили с использованием системы для подсчета частиц в жидкости НІАС-ROYCO™ модели 9703. Среднее совокупное число частиц с размером ≥ 10 мкм и ≥ 25 мкм в миллилитре вносили в таблицу для каждого образца с использованием PHARM-SPEC v2.0™. Тестовая процедура была модифицирована для способа работы с малыми объемами, с использованием или четырех 1 мл чтений или четырех 0,4 мл чтений на тестовую сессию с отбрасыванием первого чтения каждого образца. Образцы НІАС-ROYCO™ были дегазированы в вакууме в течение приблизительно 10-15 мин каждый. Размер меньше 10 мкм не собирали для этой партии образцов.

Спектрофотометрическое сканирование в УФ и видимой областях спектра для измерения мутности

Оптическую плотность образцов из пакета для в/в введения (1 мг/мл или 3 мг/мл) измеряли в кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см на спектрофотометре HP8453. Чтения образцов сравнивались с очищенной водой. Измерения оптической плотности регистрировали при 340, 345, 350, 355 и 360 нм, и выражали мутность, как среднее от этих длин волн.

Капиллярный зонный электрофорез, CZE

CZE проводили с использованием капиллярной системы для электрофореза PROTEOMELAB PA800™ (Beckman Coulter) с капилляром с нейтральным покрытием (50 мкм × 50 см). Буфер состоял из 40 мМ ϵ -аминокапроновой кислоты/уксусной кислоты, pH 4,5, 0,2% гидроксипропилметилцеллюлозы (HPMC). Образцы разбавляли до 0,5 мг/мл в воде и инжестировали в капилляр при 1 фунте/дюйм² в течение 10 с. Разделение проводили с использованием напряжения 30 кВ в течение 15 мин, а соединения детектировали при помощи УФ при 214 нм.

Капиллярный электрофорез в присутствии SDS с флуоресценцией, индуцированной лазером (CE-SDS-LIF), в восстановленных и невосстановленных условиях

Каждый образец дериватизировали при помощи 5-карбокситетраметилпролами́н сукцинимидил эфи́ра, флуоресцентного красителя. После удаления свободного красителя при помощи гель-фильтрации (с использованием колонок NAP-5) невосстановленные образцы получали путем добавления 40 мМ йодоацетамида и нагрева при 70°C в течение 5 мин. Для анализа восстановленных образцов дериватизированные образцы смешивали с SDS до конечной концентрации 1% (об./об.) и 10 мл раствора, содержащего 1М DTT, и нагревали при 70°C в течение 20 мин. Подготовленные образцы анализировали на системе Beckman Coulter ProteomeLab PA800 с использованием 31,2 см капилляра из плавленого диоксида кремния с внутренним диаметром 50 мкм, который держали при 20°C на всем протяжении анализа.

Образцы вносили в капилляр посредством электрокинетической инъекции при 10 кВ в течение 40 с. Разделение проводили при постоянном напряжении 15 кВ с обратной полярностью (от отрицательного к положительному) с использованием электродного буфера CE-SDS в качестве среды для фильтрации. Использовали аргоновый лазер для возбуждения флуоресценции при 488 нм с последующим сигналом испускания при 560 нм.

Капиллярное изоэлектрическое фокусирование с детекцией в капилляре (iCIEF)

Распределение заряженных вариантов в смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно оценивали при помощи iCIEF с использованием анализатора iCE280™ (Convergent Bioscience) с картриджем капилляров, покрытых фторуглеродом (100 мкм × 5 см). Раствор амфолита состоял из смеси 0,35% метилцеллюлозы (MC), 0,47% Фармалит 3-10 амфолитов-носителей, 2,66% Фармалит 8-10,5 амфолитов-носителей, и 0,20% маркеров изоэлектрической точки 7,05 и 9,77 и очищенная вода. Анолитом служила 80 мМ фосфорная кислота, а католитом was 100 мМ гидроксид натрия, оба в 0,10% метилцеллюлозе. Образцы разводили в очищенной воде и добавляли CrB к каждому разведенному образцу с соотношением фермент-субстрат 1:100 с последующей инкубацией при 37°C в течение 20 мин. Образцы, обработанные CrB, смешивали с раствором амфолита, а затем фокусировали включением потенциала 1500 V в течение 1 мин с последующим потенциалом 3000 V в течение 10 мин. Изображение сфокусированных заряженных вариантов пертузумаба получали при пропускании УФ 280 нм через ка-

пилляр и на объектив цифровой камеры с устройством с зарядовой связью. Это изображение затем анализировали для того, чтобы определить распределение различных заряженных вариантов.

Анализ анти-пролиферативной активности

Эта способ анализа основан на способности пертузумаба ингибировать пролиферацию клеток карциномы молочной железы человека MDA MB 175 VII. В кратком изложении, клетки высевали в 96-луночные микропланшеты для тканевой культуры и инкубировали в течение ночи при 37°C с 5% CO₂ для прикрепления клеток. На следующие сутки удаляли среду для культивирования и добавляли к планшетах серийные разведения каждого стандарта, контролей и образца(ов). Планшеты затем инкубировали в течение четырех суток при 37°C с 5% CO₂ и количественно определяли относительное число жизнеспособных клеток непрямым способом с использованием красителя восстановления-окисления, ALA-MARBLUE®, по протоколу производителя. Каждый образец оценивали трижды, и изменения в окраске, по измерениям флуоресценции, были прямо пропорциональны числу живых клеток в культуре. Затем измеряли оптическую плотность каждой лунки на флуоресцентном спектрофотометре для чтения 96-луночных планшетов. Строили зависимость результатов, выраженных в относительных единицах флуоресценции (ОЕФ), относительно концентрации антител. Никаких количественных измерений не делали, или их было невозможно сделать, поскольку не существует доступных эталонов для смеси пертузумаб/трастузумаб. Таким образом, результаты представляют собой только сравнения кривых доза-ответ.

Результаты и обсуждение

Доза I: Всего 840 мг смеси пертузумаб/трастузумаб (420 мг пертузумаба и 420 мг трастузумаба)

Качество продукта 840 мг смеси пертузумаб/трастузумаб (420 мг пертузумаба и 420 мг трастузумаба), пертузумаба отдельно (420 мг) и трастузумаба отдельно (420 мг) в пакетах для в/в инфузий (n=1) до и после хранения при 30°C вплоть до 24 ч оценивали посредством САС, измерения концентрации при помощи сканирования на УФ-спектрофотометре, мутности и НИАС Roysco (табл. 12).

Пертузумаб и трастузумаб по отдельности в пакетах для в/в инфузий считались контролями, которые также были приготовлены для оценки способности анализа выделять соответствующие атрибуты продукта.

Таблица 12. Доза 1840 мг: данные по оценке стабильности для смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба или трастузумаба в ПО пакетах для в/в инфузий с 0,9% физиологическим раствором (n=1)

Образец	Тип пакета для в/в введения	Кол-во, мг	Время, мин-точка, часы	Тем-ра °C	САС ^a	Концентрация мг/мл	Мутность Единицы поглощения	Светотень	
								Всего частиц ≥10 мкм/мл	Всего частиц ≥25 мкм/мл
Смесь пертузумаб/трастузумаб	ПО	840	0	30	CL, CO	2,7	0,016	1	0
		840	24	30	CL, CO	2,7	0,016	6	0
Пертузумаб	ПО	420	0	30	CL, CO	1,4	0,012	3	0
		420	24	30	CL, CO	1,4	0,011	4	0
Трастузумаб	ПО	420	0	30	CL, CO	1,5	0,012	1	0
		420	24	30	CL, CO	1,5	0,011	6	0
Только физраствор		—	—	—	—	—	—	2	1

^aЦвет, внешний вид и прозрачность: CL=прозрачный; SLOPL=слегка опалесцирующий, CO=бесцветный.

RT=комнатная температура.

После хранения образцы смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно выглядели как прозрачная и бесцветная жидкость без видимых частиц, как наблюдали посредством САС. Измерения концентрации и мутности концентрация не показали измеримых изменений в любом из трех типов образцов через 24 ч при 30°C. Анализ частиц при помощи НИАС Roysco выявил не более чем 6 частиц, размером равных или больших чем 10 мкм и не выявил частицы размером больше чем 25 мкм для образцов смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба отдельно или трастузумаба отдельно после хранения. Эти результаты сопоставимы с раствором только с 0,9% физиологическим раствором. Отсутствие видимого осаждения или частиц указывает на то, что смесь и контроли достаточно стабильны при разведении в 0,9% физиологическом растворе в пакете для в/в инфузий. Смесь пертузумаб/трастузумаб, разведенную в физиологическом растворе, прогоняли на SEK, как пертузумаб-, так и трастузумаб-специфическими способами, и показали сопоставимые профили пиков для T0 и T24 (фиг. 15 и 16). Не наблюдали увеличения высокомолекулярных соединений (HMWS) и низкомолекулярных соединений (LMWS). Аналогично, никаких изменений не наблюдали в главном пике в любом образце. Главный пик и площадь под пиком для HMWS и LMWS перекрывались и были неразличимы в смеси

пертузумаб/трастузумаб из-за сходства размеров пертузумаба и трастузумаба (молекулярная масса приблизительно 150 кДа). Кроме того, сравнение образцов T0 и T24 для пертузумаба и трастузумаба отдельно не показало наблюдаемых изменений площади под пиком или профиля при детекции двумя способами SEK, указанными выше.

Два продукт-специфических способа для ИЕС пертузумаба или трастузумаба были использованы для анализа смеси пертузумаб/трастузумаб (фиг. 17 и 18). В анализах катионообменной хроматографии анализы, каждая молекула, как правило, содержит три различные области, которые элюируют на основании относительного заряда, с ранней элюцией кислых вариантов, с последующим главным пиком, и, наконец, с поздней элюцией основных вариантов. На хроматограммах пертузумаба и трастузумаба отдельно наблюдали профили, демонстрирующие кислые варианты, главный пик и основные варианты, и они считались сопоставимыми между исходным веществом и веществом после хранения при 30°C. Эти результаты также согласуются с предшествующими исследованиями, проведенными на пакетах для в/в инфузий с физиологическим раствором или для пертузумаба, или для трастузумаба отдельно. На хроматограмме смеси пертузумаб/трастузумаб пики пертузумаба элюируются первыми с последующими пиками трастузумаба. Из-за характера катионообменного разделения и разницы в суммарных зарядах между пертузумабом (~pI 8,7) и трастузумабом (~pI 8,9), в смеси пертузумаб/трастузумаб наблюдают два главных пика, или основных заряженных соединения. Напротив, анализ SEK проводит разделение на основе гидродинамического раствора молекулы и показывает только один главный пик из-за сходства размеров между пертузумабом и трастузумабом. Заряженные области каждой молекулы по-видимому перекрываются друг с другом в смеси пертузумаб/трастузумаб. Например, ожидается, что основные варианты пертузумаба элюируются приблизительно через 32 мин и к 35 мин, по-видимому, перекрываются с главным пиком трастузумаба (фиг. 17 и 18). Кроме того, ожидается, что кислые варианты трастузумаба, которые элюируются перед главным пиком трастузумаба, будут элюироваться совместно с основными вариантами и главным пиком пертузумаба. Несмотря на перекрывание областей пиков смесь пертузумаб/трастузумаб демонстрирует сопоставимые хроматографические профили пиков до и после хранения в течение 24 ч при 30°C в пакетах для в/в введения с физиологическим раствором.

Образцы смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно также анализировали CE-SDS LIF при невозстановленных условиях после хранения в течение 24 ч при 30°C. Смесь пертузумаб/трастузумаб однородные профили пиков без наблюдаемых изменений после хранения по сравнению с исходным веществом (фиг. 19 и 20). Также наблюдали очень слабое изменение исходного уровня, приписываемое шуму, которое не влияло на площадь пика. Аналогично SEK, невозстановленная смесь пертузумаб/трастузумаб показала только один полученный наложением мономер, который содержал основные виды, как пертузумаба, так и трастузумаба. Образцы пертузумаба и трастузумаба отдельно не показали изменений T0 по сравнению с T24. Однако, как и ожидалось, наблюдали индивидуальные молекулярные характеристики, например, пиковые уровни фрагментов и видов между смесью пертузумаб/трастузумаб, пертузумабом отдельно и трастузумабом отдельно.

Два основных пика, известных как легкая цепь (LC) и тяжелая цепь (HC), определяются на 17 и 21,5 мин соответственно, когда смесь пертузумаб/трастузумаб смесь, пертузумаб отдельно и трастузумаб отдельно прогоняют на CE-SDS LIF, восстановленном DTT (фиг. 20). Не наблюдали никакого увеличения фрагментации или сопутствующего снижения LC и HC после хранения при 30°C для смеси пертузумаб/трастузумаб. Кроме того, никаких детектируемых различий в профиле пиков не наблюдали для образцов пертузумаба и трастузумаба отдельно после хранения.

Анализ разделения по заряду CZE и iCIEF показали сопоставимые профили пиков для смеси пертузумаб/трастузумаб после хранения при 30°C (фиг. 21 и 22). Пертузумаб и трастузумаб отдельно при сравнении с их соответствующими T0 также показали однородные профили пиков без изменений после хранения. Кроме того, наблюдали также присутствие различных минорных видов, хотя никаких новых пиков не было выявлено при разведении в пакете для в/в введения с физиологическим раствором. Как видно по зарядам на основании анализа ИЕС, можно выявить два основных пика, которые фланкированы меньшими перекрывающимися пиками, и связаны с различиями в молекулярной pI.

Результаты оценки активности на основе сравнения кривых доза-ответ не выявили влияния на активность смеси пертузумаб/трастузумаб, которую хранили при 30°C в течение 24 ч по сравнению с ее соответствующей кривой доза-ответ T0 (фиг. 23). Трастузумаб отдельно показал небольшую активность в анализе активности пертузумаба. Кривая доза-ответ смеси пертузумаб/трастузумаб по сравнению с кривой доза-ответ пертузумаба или трастузумаба отдельно показала, что нужны более низкие дозы смеси пертузумаб/трастузумаб для ингибирования роста клеток по сравнению с пертузумабом отдельно, указывая на то, что, возможно, существует аддитивное или синергистическое действие смеси на ингибирование клеточной пролиферации.

Доза II: Всего 1560 мг смеси пертузумаб/трастузумаб (840 мг пертузумаба и 720 мг трастузумаба)

В дополнение к исследованию дозы I с 840 мг общего количества МАТ выбрали более высокую дозу 1560 мг для смеси (840 мг пертузумаба и 720 мг трастузумаба) и контролей их индивидуальных лекарственных продуктов (840 мг пертузумаба отдельно и 720 мг трастузумаба отдельно) для исследования

влияния разведения этих трех типов МАТ в ПО или ПВХ пакетах для в/в инфузий при 5 или 30°C вплоть до 24 ч. Данные по качеству продуктов в этих пакетах для в/в инфузий до и после хранения, которое оценивали при помощи САС, измерения концентрации при помощи сканирования на УФ-спектрофотометре и НІАС-ROYCO™, обобщены в табл. 13, а SEK и ІЕС показаны на фиг. 24-27.

Таблица 13. Доза П 1560 мг: данные по оценке стабильности для смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба или трастузумаба в ПО пакетах для в/в инфузий с 0,9% физиологическим раствором (n=1 для контроля; n=2 для смеси)

Образец	Тип пакета для в/в введения	Кол-во, мг	Временная точка, часы	Тем-ра °C	САС ^a		Концентрация мг/мл	Мутность Ед. поглощения	Светотень	
					Жидкость	CO			Всего частиц ≥10 мкм/мл	Всего частиц ≥25 мкм/мл
Смесь пертузумаб/трастузумаб	ПО	1560	5	0	CL	CO	4,9	0,013	20	1
				24	CL	CO	4,7	0,016	15	1
		1560	30	0	CL	CO	5,0	0,014	8	0
				24	CL	CO	4,9	0,018	18	0
Пертузумаб	ПО	840	5	0	CL	CO	2,9	0,007	1	0
				24	CL	CO	2,9	0,005	6	0
		840	30	0	CL	CO	2,8	0,006	6	0
				24	CL	CO	2,8	0,004	9	0
Трастузумаб	ПО	720	5	0	CL	CO	2,6	0,004	4	0
				24	CL	CO	2,6	0,005	13	0
		720	30	0	CL	CO	2,5	0,007	19	0
				24	CL	CO	2,5	0,004	14	0
Смесь пертузумаб/трастузумаб	ПВХ	1560	5	0	CL	CO	4,9	0,016	18	0
				24	CL	CO	4,7	0,015	18	0
		1560	30	0	CL	CO	4,8	0,016	24	0
				24	CL	CO	4,8	0,012	17	0
Пертузумаб	ПВХ	840	5	0	CL	CO	2,9	0,006	13	0
				24	CL	CO	2,7	0,004	10	0
		840	30	0	CL	CO	2,8	0,006	6	0
				24	CL	CO	2,8	0,006	11	0
Трастузумаб	ПВХ	720	5	0	CL	CO	2,5	0,007	7	0
				24	CL	CO	2,5	0,004	9	0
		720	30	0	CL	CO	2,5	0,003	18	0
				24	CL	CO	2,5	0,005	19	0

^aЦвет, внешний вид и прозрачность: CL=прозрачный ; SORL=слегка опалесцирующий, CO=бесцветный.

РО или ПВХ пакеты для в/в инфузий, по два каждого, получали для образца смеси пертузумаб/трастузумаб, в то время как только один пакет для в/в инфузий получали для образцов пертузумаба и трастузумаба отдельно.

Частицы в этих пакетах определяли путем визуального наблюдения, измерений мутности и НІАС-Royco. Все образцы выглядели прозрачными и бесцветными после хранения при 5 или 30°C в течение 24 ч. Не наблюдали никаких видимых твердых частиц, и не было никаких значительных изменений мутности после хранения. Для смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно НІАС-Royco показал сопоставимые значения частиц до и после хранения, с увеличением от 0 до 10 частиц на миллилитр с размером ≥10 мкм и с увеличением на 0 частиц на миллилитр с размером ≥25 мкм, как для ПО, так и для ПВХ пакетов для в/в инфузий, которые хранили при 5 или 30°C. Аналогично, образцы пертузумаба и трастузумаба отдельно также не продемонстрировали значительных различий в частицах до и после хранения в РО или ПВХ пакетах для в/в инфузий. Для всех трех типов образцов, сканирование на УФ-спектрофотометре не выявило изменений в концентрации белка при нормальном анализе вариабельности, указывая на отсутствие абсорбции или осаждения белка в пакете для в/в инфузий в периоде от T0 до T24 ч при хранении при 5 или 30°C.

Образцы смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно анализировали с использованием пертузумаб- или трастузумаб-специфических способов SEK и ІЕС оценки их физической и химической стабильности, соответственно, как описано ранее. Для смеси пертузумаб/трастузумаб не наблюдали никаких изменений в хроматографических профилях SEK для образцов T0 и T24 ч при 5 или 30°C в РО или ПВХ пакетах для в/в инфузий (фиг. 24 и 25), сходно с результатами 840 мг смеси дозы І. Кроме того, не наблюдали увеличения или уменьшения высокомолекулярных видов (НМWS), главного пика и низкомолекулярных видов (ЛМWS), что указывает на стабильность раствора дозы при верхних диапазонах содержания белка в 0,9% физиологическом растворе. Аналогично, образцы пертузумаба отдельно и трастузумаба отдельно также не показали изменений после хранения в пакете

для в/в инфузий.

ИЭС анализ смеси пертузумаб/трастузумаб, с использованием пертузумаб- или трастузумаб-специфических способов, применяли для оценки химической стабильности и продемонстрировали сравнимые профили пиков заряженных вариантов с отсутствием наблюдаемых изменений относительно начального момента времени после воздействия 5 или 30°C в РО или ПВХ пакетах для в/в инфузий (фиг. 26 и 27). Хотя наблюдали значительное перекрывание заряженных вариантов видов двух МАТ, эти пики видов не возникали в результате увеличения содержания МАТ в пакете для в/в инфузий. Образцы пертузумаба отдельно или трастузумаба отдельно в РО или ПВХ пакетах для в/в инфузий не продемонстрировали изменений до и после воздействия 5°C или 30°C. Эти результаты соответствуют исследованию 840 мг дозы I.

Выводы

Все физико-химические анализы указывают на отсутствие значительных изменений в смеси (до 840 мг пертузумаба и 720 мг трастузумаба для 1560 мг общей дозы) или в индивидуальных образцах с пертузумабом (до 840 мг) и трастузумабом (до 720 мг) в пакетах для в/в инфузий (РО или ПВХ) для T0 и T24 ч при 5 или 30°C. Кроме того, активность смеси (до 840 мг) и МАТ по отдельности до и после хранения были сопоставимы. Никаких различий не наблюдали в пакетах для в/в введений, которые содержали смесь пертузумаба и трастузумаба по сравнению с индивидуальными компонентами МАТ в пакетах для в/в введений в течение этого исследования. Настоящее исследование также демонстрирует, что большинства анализов, использованных для измерения индивидуальных МАТ, было достаточно для качественной характеристики смеси.

Пример 7. Совместное введение пертузумаба и трастузумаба и комбинированное лечение с винорелбином

Это рандомизированное, открытое многоцентровое исследование фазы II с двумя группами для оценки пертузумаба у пациентов с HER2-положительным распространенным раком молочной железы (метастатическим или местно распространенным), которые ранее не получали системную негормональную противоопухолевую терапию по схеме лечения метастатических форм. Дизайн исследования показан на фиг. 28.

Пациенты были случайным образом распределены в соотношении 2:1 в одну из двух групп:

Пертузумаб в комбинации с трастузумабом и винорелбин (группа А)

Трастузумаб и винорелбин (контрольная группа - группа В)

Группа А будет состоять из двух когорт, как описано далее:

Когорта 1: (первые 95 пациенты): пертузумаб и трастузумаб вводят последовательно в отдельных пакетах для инфузий с последующим введением винорелбина. Пациенты будут получать пертузумаб с последующим введением трастузумаба последовательно в отдельных пакетах для инфузий с последующим введением винорелбина.

Пертузумаб (в/в инфузия)

Вводят в день 1 первого цикла лечения в виде ударной дозы 840 мг, с последующими дозами 420 мг в день 1 каждого последующего 3-недельного цикла.

Начальные инфузии пертузумаба будут вводить в течение 90 (± 10) мин и за пациентами будут наблюдать в течение по меньшей мере 30 мин после окончания инфузии, на предмет симптомов, ассоциированных с инфузией, таких как лихорадка, озноб и т.д. Прерывание или замедление инфузии может уменьшить такие симптомы. Если инфузия хорошо переносится, последующие инфузии можно вводить в течение 30 (± 10) мин с наблюдением за пациентами в течение следующих 30 мин.

Трастузумаб (в/в инфузия)

В день 1 первого цикла лечения в виде ударной дозы 8 мг/кг, с последующими дозами 6 мг/кг в день 1 каждого последующего 3-недельного цикла; вводят в соответствии с маркировкой продукта.

Винорелбин (в/в инфузия после трастузумаба)

В день 1 и день 8 первого цикла лечения в дозе 25 мг/м² с последующими дозами 30-35 мг/м² в день 1 и день 8 каждого последующего 3-недельного цикла; вводят в соответствии с маркировкой продукта.

Когорта 2: вторые 95 пациенты будут получать пертузумаб и трастузумаб, вводимые вместе в одном пакете для инфузии, с цикла 2 и далее с последующим введением винорелбина.

Дозирование в цикле 1

В первом цикле лечения, пертузумаб и трастузумаб будут вводить в отдельных пакетах для инфузии, как описано для когорты 1.

Винорелбин будут вводить после пертузумаба и трастузумаба, как описано для когорты 1.

Дозирование в последующих циклах

Если введение всех тех лекарственных средств хорошо переносилось в цикле 1, тогда в день 1 каждого последующего 3-недельного цикла лечения, 420 мг пертузумаба и 6 мг/кг трастузумаба будут вводить вместе в одном пакете для инфузии.

Первую комбинированную инфузию пертузумаба и трастузумаба следует вводить в течение 90 (± 10) мин с сердечным мониторингом и внимательным наблюдением на предмет инфузионных реакций

во время процедуры, с последующим 60-минутным периодом наблюдения. Если эта первая комбинированная инфузия хорошо переносится, последующие комбинированные инфузии можно вводить в течение 60 (± 10) минут с последующим 30-минутным периодом наблюдения с сердечным мониторингом.

Винорелбин будут вводить после пертузумаба и трастузумаба, как описано для когорты 1.

Контрольная группа - группа В

В общей сложности 95 пациентов будут рандомизированы в группу В.

Трастузумаб (в/в инфузия)

В день 1 первого цикла лечения в виде ударной дозы 8 мг/кг, с последующими дозами 6 мг/кг в день 1 каждого последующего 3-недельного цикла; вводят в соответствии с маркировкой продукта.

Винорелбин (в/в инфузия после трастузумаба)

В день 1 и день 8 первого цикла лечения в дозе 25 мг/м² с последующими дозами 30-35 мг/м² в день 1 и день 8 каждого последующего 3-недельного цикла; вводят в соответствии с маркировкой продукта.

Критерии эффективности:

Первичный

Сравнить объективную общую частоту ответов (OR) по оценке независимого наблюдательного комитета (IRC) в слепом режиме для пертузумаба в комбинации с трастузумабом и винорелбином по сравнению с трастузумабом и винорелбином

Вторичные

Внутри группы лечения с пертузумабом сравнить эффективность и безопасность пертузумаба и трастузумаба, вводимых вместе в одном пакете для инфузий, по сравнению с общепринятым последовательным введением в отдельных пакетах для инфузий.

Сравнить пертузумаб в комбинации с трастузумабом и винорелбином по сравнению с трастузумабом и винорелбином в отношении:

ORR по оценке исследователя

Время до ответа по оценке IRC и исследователя

Длительность ответа по оценке IRC и исследователя

Выживаемость без прогрессирования (PFS)

Время до прогрессирования (TTP)

Общая выживаемость (OS)

Безопасность и переносимость

Качество жизни (Европейский опросник качества жизни и функциональная оценка терапии рака молочной железы (FACT-B))

Критерии включения

Пациенты должны удовлетворять следующим критериям для включения в это исследование согласно срокам графика оценок:

1. Пациенты мужского или женского пола в возрасте 18 лет или старше
2. Гистологически или цитологически подтвержденная и задокументированная аденокарцинома молочной железы с метастатическим или местно распространенным заболеванием, не поддающимся радикальному оперативному вмешательству.
3. HER2-положительный (определенный как IHC 3+ или ISH положительный) по оценке местной лаборатории на первичной или метастатической опухоли (положительность по ISH определяется как соотношение 2,0 или больше для числа копий гена HER2 к числу сигналов для CEP17, или для тестов с одиночными зондами, число сигналов гена HER2 больше чем 4).
4. По меньшей мере одно образование, поддающееся измерению, и/или заболевание, не поддающееся измерению, которое можно оценить согласно критериям оценки ответа при солидных опухолях RECIST, версия 1.1.
5. Показатель общего состояния по ECOG 0 или 1.
6. Фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ), по меньшей мере, 50%.
7. Отрицательный тест на беременность для женщин детородного возраста (предменопаузального или менее чем 12 месяцев аменореи постменопаузального, и кто не подвергался хирургической стерилизации).
8. Для сексуально активных женщин детородного возраста, соглашение об использовании негормональной формы контрацепции или двух эффективных форм негормональной контрацепции во время лечения и по меньшей мере в течение 6 месяцев после исследуемого лечения.
9. Согласие фертильных мужчин и возможность использовать негормональные способы контрацепции (барьерный способ контрацепции в сочетании со спермицидным гелем, или хирургическая стерилизация) во время лечения и по меньшей мере в течение 6 месяцев после исследуемого лечения.
10. Ожидаемая продолжительность жизни по меньшей мере 12 недель.

Критерии исключения

Пациенты, которые удовлетворяют любому из следующих критериев исключения, не подходят для этого исследования:

1. Предшествующая системная негормональная противоопухолевая терапия по схеме лечения мета-

статических форм или местно распространенного рака молочной железы.

2. Предшествующие прописанные или экспериментальные анти-HER2 агенты при любом режиме лечения рака молочной железы, за исключением трастузумаба при неоадьювантном или адьювантном режиме лечения.

3. Прогрессирование заболевания, во время получения трастузумаба при неоадьювантном или адьювантном режиме лечения.

4. Интервал без заболевания от окончания адьювантного или неоадьювантного системного негормонального лечения до рецидива заболевания в пределах 6 месяцев.

5. В анамнезе персистирующая гематологическая токсичность степени тяжести 2 или выше (NCI-CTC, Версия 4.0) в результате предшествующей адьювантной или неоадьювантной терапии.

6. Радиографические признаки метастазов центральной нервной системы (ЦНС) по оценке КТ или ЯМР.

7. Периферическая нейропатия степени тяжести 3 или выше (NCI-CTC, Версия 4.0).

8. В анамнезе другое злокачественное новообразование в пределах последних 5 лет, за исключением карциномы *in situ* шейки матки или базально-клеточной карциномы.

9. Серьезное неконтролируемое сопутствующее заболевание, которое могло бы являться противопоказанием для применения любого из исследуемых лекарственных средств, применяемых в этом исследовании, или которое могло бы подвергнуть пациента высокому риску при лечении связанных с ним осложнений.

10. Неадекватное функционирование органов, подтвержденное следующими лабораторными результатами:

Абсолютное число нейтрофилов $<1,500$ клеток/ мм^3 .

Число тромбоцитов $<100,000$ клеток/ мм^3 .

Гемоглобин <9 г/дл.

Общий билирубин выше, чем верхний предел нормы (ULN) (за исключением случая, когда у пациента документированный синдром Жильбера).

АСТ (сывороточная аспартат трансфераза, SGOT) или АЛТ (сывороточная аланин аминотрансфераза, SGPT) $>2,5 \times \text{ULN}$.

AST (SGOT) или ALT (SGPT) $>1,5 \times \text{ULN}$ с сопутствующей сывороточной щелочной фосфатазой $>2,5 \times \text{ULN}$. Сывороточная щелочная фосфатаза может быть $>2,5 \times \text{ULN}$, только если присутствуют костные метастазы, и AST (SGOT) и ALT (SGPT) $<1,5 \times \text{ULN}$.

Сывороточный креатинин $>2,0$ мг/дл или 177 мкм/л.

Международное нормализованное отношение (INR) и активированное частичное тромбопластиновое время (aPTT) или частичное тромбопластиновое время (PTT) $>1,5 \text{ ULN}$ (за исключением случая терапевтической коагуляции).

11. Неконтролируемая гипертензия (систолическое давление >150 мм рт.ст. и/или диастолическое >100 мм рт.ст.) или клинически значимое (т.е. активное) сердечно-сосудистое заболевание: нарушение мозгового кровообращения (CVA)/инсульт или инфаркт миокарда в течение 6 месяцев до первого исследуемого препарата, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность (ЗСН) степени тяжести 3 или выше согласно Ньюйоркской кардиологической ассоциации (NYHA), или серьезная аритмия сердца, требующая лечения.

12. Известная текущая инфекция ВИЧ, HBV или HCV.

13. Одышка в покое из-за осложнений распространенного злокачественного новообразования, или другое заболевание, требующее постоянной терапии кислородом.

14. Серьезная хирургическая операция или серьезная травма в пределах 28 суток до рандомизации или ожидание необходимой серьезной хирургической операции во время исследуемого лечения.

15. Прием внутривенных антибиотиков для лечения инфекции в пределах 14 суток до рандомизации.

16. Текущее хроническое ежедневное лечение кортикостероидами (доза 10 мг/сутки эквивалента метилпреднизолона), за исключением ингаляционных стероидов.

17. Известная гиперчувствительность к любому из исследуемых медицинских препаратов или к эксципиентам рекомбинантных человеческих гуманизированных антител.

18. В анамнезе получение любого экспериментального лечения в пределах 28 суток до рандомизации.

19. Параллельное участие в любом клиническом испытании. Предполагается, что лечение в настоящем документе будет демонстрировать безопасность и эффективность совместного введения пертузумаба и трастузумаба из одного пакета для внутривенного (в/в) введения пациентам с HER2-положительным раком (на примере HER2-положительного рака молочной железы), а также безопасность и эффективность пертузумаба в комбинации с винорелбином согласно любому одному или нескольким вышеописанным первичным или вторичным критериям эффективности.

Пример 8. Пертузумаб в комбинации с ингибиторами ароматазы

Этот пример представляет собой рандомизированное, открытое многоцентровое исследование фазы II с двумя группами, демонстрирующее эффективность и безопасность пертузумаба при приеме в комбинации с трастузумабом плюс ингибитор ароматазы для терапии первой линии у пациентов с HER2-положительным и положительным по статусу рецепторов гормонов, распространенным (метастатическим или местно распространенным) раком молочной железы. Дизайн исследования показан на фиг. 29.

Первичные цели

Сравнить выживаемость без прогрессирования (PFS) для пертузумаба при приеме в комбинации с трастузумабом плюс ингибитор ароматазы (AI) по отношению к трастузумабу плюс AI.

Вторичные цели

Сравнить пертузумаб при приеме в комбинации с трастузумабом плюс ингибитор ароматазы (AI) по отношению к трастузумабу плюс AI относительно:

- Общей выживаемости (OS)
- Частоты объективных ответов (ORR)
- Частоты клинического преимущества (CBR)
- Длительности ответа
- Времени до ответа
- Безопасности и переносимости
- Качества жизни (Европейский опросник качества жизни (EQ-5D questionnaires))

Дизайн исследования

Пациенты были случайным образом распределены в соотношении 1:1 в две группы лечения:

- Пертузумаб в комбинации с трастузумабом плюс AI (группа А);
- Трастузумаб плюс AI (контрольная группа - группа В).

По усмотрению исследователя, пациенты могли также получать индукционную химиотерапию (таксан или доцетаксел или паклитаксел), в комбинации с указанным моноклональным антителом группы лечения вплоть до первых 18 недель периода лечения. У пациентов, получающих индукционную химиотерапию, лечение с AI будет начинаться после фазы индукционной химиотерапии.

Факторами стратификации для анализа будут:

Выбор для получения индукционной химиотерапии (Да/Нет).

Время с момента адъювантной гормональной терапии (<12 месяцев, ≥12 месяцев, или без предшествующей гормональной терапии).

Пациенты с HER2-положительным и положительным по статусу рецепторов гормонов (положительным по статусу рецептора эстрогена (ER) и/или по статусу рецептора прогестерона (PgR)) распространенным раком молочной железы (метастатическим или местно распространенным), которые ранее не получали системную негормональную противоопухолевую терапию по схеме лечения метастатических форм.

Критерии включения

1. Возраст 18 лет или больше.
2. Статус постменопаузы >1 года (удовлетворяющий одному или нескольким критериям руководства Национальной всеобщей онкологической сети (NCCN), Версия 2,2011).
3. Гистологически или цитологически подтвержденная и задокументированная аденокарцинома молочной железы с метастатическим или местно распространенным заболеванием, не поддающимся радикальному оперативному вмешательству.
4. HER2-положительный (определенный как IHC 3+ или ISH положительный) по оценке местной лаборатории на первичной или метастатической опухоли (положительность по ISH определяется как соотношение 2,0 или больше для числа копий гена HER2 к числу сигналов для CEP17, или для тестов с одиночными зондами, число сигналов гена HER2 больше чем 4).
5. Положительный статус по рецептору гормона, определенный как ER-положительный и/или PgR-положительный по оценке местной лаборатории, как определено критериями учреждения.
6. По меньшей мере одно образование, поддающееся измерению, и/или заболевание, не поддающееся измерению, которое можно оценить согласно Критериям оценки ответа при солидных опухолях RECIST, версия 1.1.
7. Показатель общего состояния по ECOG 0 или 1.
8. Фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ) по меньшей мере 50%.
9. Ожидаемая продолжительность жизни по меньшей мере 12 недель.

Критерии исключения

1. Предшествующая системная негормональная противоопухолевая терапия по схеме лечения метастатических форм или местно распространенного рака молочной железы.
2. Интервал без заболевания от окончания адъювантного или неоадъювантного системного негормонального лечения до рецидива в пределах 6 месяцев.
3. Предшествующие прописанные или исследуемые анти-HER2 агенты при любом режиме лечения рака молочной железы, за исключением трастузумаба и/или лапатиниба при неоадъювантном или адъювантном режиме лечения.

4. Прогрессирование заболевания, во время получения трастузумаба и/или лапатиниба при адъювантном режиме лечения.

5. В анамнезе персистирующая гематологическая токсичность степени тяжести 2 или выше (NCI-CTC, Версия 4.0) в результате предшествующей адъювантной или неоадъювантной терапии.

6. Радиологические признаки метастазов центральной нервной системы (ЦНС) по оценке КТ или ЯМР.

7. Периферическая нейропатия степени тяжести 3 или выше (NCI-CTC, Версия 4.0).

8. В анамнезе другое злокачественное новообразование в пределах последних 5 лет, за исключением карциномы *in situ* шейки матки или базально-клеточной карциномы.

9. Серьезное неконтролируемое сопутствующее заболевание, которое могло бы являться противопоказанием для применения любого из исследуемых лекарственных средств, применяемых в этом исследовании, или которое могло бы подвергнуть пациента высокому риску при лечении связанных с ним осложнений.

10. Неадекватное функционирование органов, подтвержденное следующими лабораторными результатами:

Абсолютное число нейтрофилов $<1,500$ клеток/ мм^3 .

Число тромбоцитов $<100,000$ клеток/ мм^3 .

Гемоглобин <9 г/дЛ.

Общий билирубин выше, чем верхний предел нормы (ULN) (за исключением случая, когда у пациента документированный синдром Жильбера).

АСТ (сывороточная аспартат трансфераза, SGOT) или АЛТ (сывороточная аланин аминотрансфераза, SGPT) $>2,5 \times \text{ULN}$.

АСТ (SGOT) или АЛТ (SGPT) $>1,5 \times \text{ULN}$ с сопутствующей сывороточной щелочной фосфатазой $>2,5 \times \text{ULN}$. Сывороточная щелочная фосфатаза может быть $>2,5 \times \text{ULN}$, только если присутствуют костные метастазы, и АСТ (SGOT) и АЛТ (SGPT) $<1,5 \times \text{ULN}$.

Сывороточный креатинин $>2,0$ мг/дЛ или 177 мкм/л.

Международное нормализованное отношение (INR) и активированное частичное тромбопластиновое время (aPTT) или частичное тромбопластиновое время (PTT) $>1,5$ ULN (за исключением случая терапевтической коагуляции).

11. Неконтролируемая гипертензия (систолическое давление >150 мм рт.ст. и/или диастолическое >100 мм рт.ст.) или клинически значимое (т.е. активное) сердечно-сосудистое заболевание: нарушение мозгового кровообращения (CVA)/инсульт или инфаркт миокарда в течение 6 месяцев до первого исследуемого препарата, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность (ЗСН) степени тяжести 3 или выше согласно Ньюйоркской кардиологической ассоциации (NYHA), или серьезная аритмия сердца, требующая лечения.

12. Известная текущая инфекция ВИЧ, HBV или HCV.

13. Одышка в покое из-за осложнений распространенного злокачественного новообразования, или другое заболевание, требующее постоянной терапии кислородом.

14. Серьезная хирургическая операция или серьезная травма в пределах 28 суток до рандомизации или ожидание необходимой серьезной хирургической операции во время исследуемого лечения.

15. Потеря физической целостности желудочно-кишечного тракта, клинически значимый синдром мальабсорбции, или невозможность принимать пероральные лекарственные препараты.

16. Прием внутривенных антибиотиков для лечения инфекции в пределах 14 суток до рандомизации.

17. Текущее хроническое ежедневное лечение кортикостероидами (доза 10 мг/сутки эквивалента метилпреднизолона), за исключением ингаляционных стероидов.

18. Известная гиперчувствительность к любому из исследуемых медицинских препаратов или к эксципиентам рекомбинантных человеческих гуманизированных антител.

19. В анамнезе получение любого экспериментального лечения в пределах 28 суток до рандомизации.

20. Параллельное участие в любом клиническом испытании.

Группа А.

Пертузумаб (в/в инфузия)

Вводят в день 1 первого цикла лечения в виде ударной дозы 840 мг, с последующими дозами 420 мг в день 1 каждого последующего 3-недельного цикла.

Начальные инфузии пертузумаба будут вводить в течение 90 (± 10) мин и за пациентами будут наблюдать в течение по меньшей мере 30 мин после окончания инфузии, на предмет симптомов, ассоциированных с инфузией, таких как лихорадка, озноб и т.д. Прерывание или замедление инфузии может уменьшить такие симптомы. Если инфузия хорошо переносится, последующие инфузии можно вводить в течение 30 (± 10) мин с наблюдением за пациентами в течение следующих 30 мин.

Трастузумаб (в/в инфузия, вводимая после пертузумаба) в день 1 первого цикла лечения в виде

ударной дозы 8 мг/кг, с последующими дозами 6 мг/кг в день 1 каждого последующего 3-недельного цикла; вводят в соответствии с маркировкой продукта.

AI (перорально)

Вводят в соответствии с маркировкой продукта (анастрозол: 1 мг один раз в сутки; летрозол: 2,5 мг один раз в сутки).

Индукционная химиотерапия

Пациенты, получающие индукционную химиотерапию вплоть первых 18 недель периода лечения, будут получать таксан (доцетаксел каждые 3 недели или паклитаксел еженедельно), вводимый в соответствии с маркировкой соответствующего продукта. Химиотерапию будут вводить после инфузии моноклонального антитела (пертузумаба и/или трастузумаба).

У пациентов, получающих индукционную химиотерапию, лечение с AI будет начинаться после фазы индукционной химиотерапии.

Контрольная группа - группа В

Трастузумаб (в/в инфузия)

В день 1 первого цикла лечения в виде ударной дозы 8 мг/кг, с последующими дозами 6 мг/кг в день 1 каждого последующего 3-недельного цикла; вводят в соответствии с маркировкой продукта.

AI (перорально)

Вводят в соответствии с маркировкой продукта (анастрозол: 1 мг один раз в сутки; летрозол: 2,5 мг один раз в сутки).

Индукционная химиотерапия

Такая же, как и в экспериментальной группе.

Первичный критерий эффективности

PFS (определяемая как время от рандомизации до первого радиологически задокументированного прогрессирования заболевания или смерти по любой причине, чтобы ни случилось первым).

Вторичный критерий эффективности

OS

ORR

CBR

Длительность ответа

Время до ответа

Оценка безопасности

Частота возникновения, происхождение и тяжесть АЕ и серьезных нежелательных явлений (SAE)

Частота заболеваемости ЗСН

ФВЛЖ во время исследования

Отклонения от нормы в лабораторных тестах. Предполагается, что комбинация пертузумаб, трастузумаб и AI будет безопасной и эффективной в популяции пациентов и что добавление пертузумаба к трастузумабу и AI увеличит выживаемость без прогрессирования (PFS) по сравнению с трастузумабом плюс AI без пертузумаба.

Пример 9. Пертузумаб для улучшения общей выживаемости (OS) у пациентов со злокачественной опухолью

Обоснование: В исследовании CLEOPATRA в примере 3 выше, 808 пациентов с HER2-положительным метастатическим раком молочной железы (метастатический РМЖ) с терапией первой линии (1L) были рандомизированы для лечения плацебо + трастузумаб + доцетаксел (Pla+T+D) или пертузумаб + трастузумаб + доцетаксел (P+T+D). Первичная конечная точка (независимый анализ выживаемости без прогрессирования) была значительно улучшена с P+T+D по сравнению с Pla+T+D (соотношение риска (HR)=0,62; 0,0001; медианы, 18,5 по сравнению с 12,4 месяца) (пример 3 выше). Этот пример включает второй промежуточный анализ общей выживаемости (OS) после длительного наблюдения.

Способы:

Этот промежуточный анализ общей выживаемости (OS) проводили с применением функции зависимости вероятности ошибки I рода от полученной доли необходимой информации Лана-Деметса с критерием досрочного завершения исследования О'Брайен-Флеминг (OBF) для поддержания общей ошибки типа I на уровне 5%. На основании числа наблюдаемых событий OS, критерий OBF для статистической значимости в этом анализе составил <0,0138. Логарифмический ранговый критерий, стратифицированный по статусу предшествующего лечения и географическому региону, применяли сравнения OS между группами популяции по назначенному лечению. Для оценки медианы OS в обеих группах применяли подход Каплана-Мейера; для оценки HR и 95% CI применяли стратифицированную модель пропорциональных рисков Кокса. Анализ OS в подгруппах проводили для факторов стратификации и других ключевых исходных характеристик.

Результаты:

К моменту анализа, медиана последующего наблюдения составила 30 месяцев, и произошло 267 смертей (69% от запланированных событий для окончательного анализа). Результаты показали статистически значимое улучшение OS в пользу P+T+D (HR=0,66; 95% доверительный интервал (CI), 0,52-0,84;

$P=0,0008$). Это HR представляет собой 34% снижение риска смерти. Анализ был статистически достоверным, и, таким образом, рассматривается как подтверждающий анализ OS. Медиана OS составила 37,6 месяцев в группе Pla и еще не была достигнута в группе P. Эффект лечения был, в основном, сопоставим в заранее определенных подгруппах на основании исходных переменных и факторов стратификации, включая: предшествующую (нео)адьювантную терапию ($HR=0,66$; 95% CI, 0,46-0,94); отсутствие предшествующей (нео)адьювантной терапии ($HR=0,66$; 95% CI, 0,47-0,93); предшествующий (нео)адьювантный T ($HR=0,68$; 95% CI, 0,30-1,55); заболевание с отрицательным статусом по рецепторам гормонов ($HR=0,57$; 95% CI, 0,41-0,79); и заболевание с положительным статусом по рецепторам гормонов ($HR=0,73$; 95% CI, 0,50-1,06). Оценки Каплана-Мейера для уровней OS показывают пользу для выживания с P+T+D в 1, 2 и 3 года.

Таблица 14. Преимущество для общей выживаемости с пертузумабом

	Pla+T+D	P+T+D	A
	Уровень выживаемости, %		
1 год	89,0	94,4	5,4
2 года	69,4	80,7	11,3
3 года	50,4	65,8	15,4

Большинство пациентов получали противораковую терапию после прекращения исследуемого лечения (64% в группе с Pla, 56% в группе с P). Последующая терапия с препаратами, направленными на HER2 (T, лапатиниб, T эмтанзин) была сбалансирована между группами. Причины смерти не изменились с момента первого промежуточного анализа OS, и наиболее распространенной причиной было прогрессирование заболевания. Нежелательные явления, приводящие к смерти, встречались редко и были сбалансированы между группами.

Выводы:

Лечение пациентов с HER2-положительным метастатическим РМЖ в качестве терапии первой линии P+T+D по сравнению с Pla+T+D было ассоциировано с улучшением OS, которое было как статистически, так и клинически значимым. Эти результаты показывают, что комбинированную блокаду HER2 и химиотерапию с использованием схемы лечения P+T+D можно рассматривать в качестве стандарта лечения пациентов с HER2-положительным метастатическим РМЖ в режиме терапии первой линии.

Эти данные относительно OS могут быть включены во вкладыш в упаковку промышленного изделия с инструкцией по применению пертузумаба, как в примере 4 выше, например.

Пример 10. Пертузумаб и трастузумаб с таксаном в качестве терапии первой линии для пациентов с HER2-положительным распространенным раком молочной железы (PERUSE)

Обоснование: пертузумаб (P), гуманизированное моноклональное антитело, ингибирует передачу сигнала HER2 путем связывания с димеризующим доменом рецептора и предотвращения гетеродимеризации с другими членами семейства HER. Эпитоп, который распознается P, отличается от того, с которым связывается трастузумаб (H) и, таким образом, их взаимодополняющие механизмы действия приводят к более полной блокаде HER2. Данные исследования фазы III CLEOPATRA показали значительное улучшение PFS у пациентов, получавших P+H+доцетаксел по сравнению с H+доцетаксел+плацебо в качестве терапии первой линии для HER2-положительного метастатического рака молочной железы (РМЖ).

Дизайн исследования: это многоцентровое, открытое одностороннее исследование фазы IIIb у пациентов с HER2-положительным метастатическим или местно рецидивирующим РМЖ, которые не получали системной не-гормональной противоопухолевой терапии для метастатической злокачественной опухоли. Пациенты будут получать, P: 840 мг начальная доза, 420 мг каждые 3 недели в/в; H: 8 мг/кг начальная доза, 6 мг/кг каждые три недели в/в; таксан: доцетаксел, паклитаксел, или паб-паклитаксел согласно местным рекомендациям. Лечение будут вводить до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности. Планируемая поправка к протоколу позволит пациентам, положительным по статусу рецепторов гормонов, получать эндокринную терапию наряду с P+H после завершения терапии таксаном, в соответствии с клинической практикой.

Критерии отбора:

В начале исследования пациенты должны иметь ФВЛЖ $\geq 50\%$, ECOG PS 0, 1 или 2, интервал без заболевания ≥ 6 месяцев, и не должны получать до этого анти-HER2 агенты для лечения метастатического РМЖ. Допускаются предшествующий H и/или лапатиниб в режиме (нео)адьювантного лечения, при условии что не было прогрессирования заболевания во время лечения. У пациентов не должно быть других злокачественных новообразований в пределах последних 5 лет, за исключением карциномы in situ шейки матки или базально-клеточной карциномы. Не должно быть клинических или радиографических признаков метастазов ЦНС или клинически значимого сердечно-сосудистого заболевания.

Конкретные цели: поскольку H не был широко доступен в режиме (нео)адьювантного лечения при наборе перед CLEOPATRA, относительно небольшая часть пациентов в CLEOPATRA ранее получала H. PERUSE будет оценивать безопасность и переносимость P+H+таксан на выбор в качестве терапии первой линии для пациентов с HER2-положительным метастатическим или местно распространенным РМЖ

в популяции пациентов, которые вероятно испытали более обширное воздействие предшествующей терапии трастузумабом.

Статистические способы: первичными конечными точками исследования PERUSE являются безопасность и переносимость. Вторичные конечные точки включают PFS, OS, ORR, CBR, длительность ответа, время до ответа и QoL. Окончательный анализ будет проведен, когда 1500 пациентов были под наблюдением, по меньшей мере, 12 месяцев после того, как последний пациент получил последнюю дозу исследуемого лечения, кроме случаев, когда невозможно провести последующее наблюдение, отзыва согласия, или смерти, или если исследование преждевременно завершено спонсором. Анализы по оценке безопасности запланированы после включения 350, 700 и 1000 пациентов. Дополнительно, совет по мониторингу данных о безопасности пациентов рассматривает данные по безопасности после включения в исследование 50 пациентов, а затем каждые 6 месяцев.

Предполагается, что пертузумаб и трастузумаб с таксаном будут эффективны в качестве терапии первой линии для пациентов с HER2-положительным распространенным раком молочной железы в соответствии с протоколом, приведенным в этом примере.

Пример 11. Пертузумаб в комбинации с химиотерапией при раке яичников с низкой экспрессией HER3

Эпителиальный рак яичников, наряду с первичной перитонеальной карциномой и карциномой фаллопиевых труб, является пятой по значимости причиной смерти, связанной со злокачественной опухолью, у женщин в Европе (Bray et al. *Int. J. Cancer* 113: 977-90 (2005)). Рак яичников часто не диагностируется до тех пор, пока он не прогрессировал в распространенную стадию, при которой стандартным лечением является хирургическая резекция с последующей химиотерапией. Хотя добавление таксанов к химиотерапии на основе платины приводит к достижению полного ответа (CR) приблизительно у 80% пациентов, заболевание рецидивирует у большинства пациентов, и более чем 50% пациентов с диагнозом "эпителиальный рак яичников" в конечном итоге умирают от этого заболевания (Du Bois et al. *Cancer* 115: 1234-1244 (2009)). После провала химиотерапии на основе платины, есть несколько вариантов терапии. Пациенты с заболеванием, чувствительным к платине (рецидив заболевания происходит более чем через 6 месяцев после последнего цикла химиотерапии на основе платины), часто повторно проходят терапию на основе платины и имеют выживаемость без прогрессирования (PFS) приблизительно 9-10; однако, для пациентов с первичным заболеванием, устойчивым к платине, прогноз значительно хуже. Для этих пациентов, повторное лечение на основе платины или операция не являются разумными, вместо этого пациентов с устойчивостью к платине часто лечат при помощи химиотерапии одним препаратом, таким как топотекан, пегилированный липосомальный доксорубин (PLD), паклитаксел и гемцитабин.

Частота объективных ответов для пациентов с заболеванием, устойчивым к платине, варьирует в пределах 10-20%, в то время как медиана выживаемости без прогрессирования (PFS) варьирует в пределах 3,5-4 месяцев. Заболевание, устойчивое к платине, неизлечимо; цели лечения для этих пациентов включают временное облегчение симптомов, пролонгированное выживание и улучшение качества жизни (QoL). В целом, результаты основных клинических испытаний, проведенных за последние 20 лет, показывают, что медиана PFS для пациентов с распространенным заболеванием варьирует в пределах 16-23 месяцев, в то время как медиана общей выживаемости (OS) варьирует в пределах 31-65 месяцев.

Большинство линий злокачественных клеток яичников и многие образцы биопсии рака яичников экспрессируют все члены семейства рецепторов HER (Campiglio et al. *J. Cell Biochem* 73:522-32 (1999)). EGFR и HER2 были наиболее широко изучены, и были протестированы несколько веществ, нацеленных на рецептор или ассоциированные с ним внутриклеточные тирозинкиназы.

В недавних исследованиях количественные анализы белка HER2 продемонстрировали, что злокачественные опухоли яичников имеют значительно более высокие уровни HER2 по сравнению с доброкачественными опухолями яичников и нормальными яичниками. Кроме того, наблюдали корреляцию между уровнями белков HER2 и HER3 (Steffensen et al. *Int J Oncol.* 33:195-204 (2008)). Исследования на системах клеточных культур показывают, что герегулин-активированные гетеродимеры HER3-HER2 проявляют наиболее сильные пролиферативные и трансформирующие ответы из любой возможной комбинации рецепторов (Pinkas-Kramarski et al. *EMBO J.* 15:2452-67 (1996); Riese et al. *Mol Cell Biol* 15:5770-6 (1995). Erratum in: *Mol. Cell Biol.* 16:735 (1996)). Мощность этих биологических ответов, вероятно, является результатом двойной и эффективной активации путей MAP киназы и PI3 киназы. Кроме того, HER3 является наиболее мощным активатором пути PI3 киназа/AKT (Olayioye et al. *EMBO J* 19:3159-67 (2000)). Исследования на линиях злокачественных клеток молочной железы с амплификацией HER2 показали, что HER3, а не EGFR, имел решающее значение для передачи сигнала HER2, и что HER3 ингибировал рост в трехмерной культуре и индуцировал быструю регрессию опухоли в ксенотрансплантатах *in vivo* (Lee-Hoeflich et al. *Cancer Res* 68:5878-87 (2008)).

Дополнительно, экспрессия HER3 вовлечена в качестве возможного фактора риска для рака яичников (Tanner et al. *J Clin. Oncol.* 24:4317-23 (2006)).

В фазе II многоцентрового исследования (TOC2689g) у пациентов с распространенным раком яичников, который рецидивировал после лечения платиной или был устойчив к химиотерапии на основе платины, пациенты, которые были включены в когорту 1 (n=61) получили ударную дозу пертузумаба 840

мг с последующими 420 мг пертузумаба в день 1 каждого 3-недельного цикла, и пациенты в когорте 2 (n=62) получили 1050 мг пертузумаба в день 1 каждого 3-недельного цикла. Сходные результаты наблюдали в обеих когортах относительно частоты общего ответа и медианы PFS. Восемь пациентов (4 в каждой когорте) имели признаки стабильного заболевания (SD), длящегося по меньшей мере 6 месяцев. Медианы PFS и OS составили 6,6 недели и 52,7 недели, соответственно, для популяции в целом.

Результаты этого исследования привели к двум рандомизированным исследованиям фазы II в популяции, чувствительной к платине, и популяции, устойчивой к платине. В исследовании TOC2689g оценивали эффективность и безопасность гемцитабин + пертузумаб по сравнению с гемцитабин + плацебо у пациентов с распространенным раком яичников, первичным перитонеальным раком или раком фаллопиевых труб, которые были устойчивы к химиотерапии на основе платины (Amler et al. J Clin. Oncol. 26:5552 (2008)). В исследовании пациентам позволяли переходить из группы в группу для получения пертузумаба во время прогрессирования заболевания. Медиана PFS была 2,6 месяца в группе гемцитабин + плацебо и 2,9 месяца в группе гемцитабин + пертузумаб. Медиана OS была сходной между группами лечения. Наиболее распространенные нежелательные явления (AE), которые увеличились (по меньшей мере, за счет шести пациентов) в когорте, получавшей пертузумаб, включали в себя утомляемость, тошноту, диарею, позвоночную боль, диспепсию, стоматит, головную боль, носовое кровотечение, насморк, высыпания и нейтропению степени тяжести 3-4.

В исследовании BO17931 149 пациентов с раком яичников, у которых развился рецидив через 6 месяцев после терапии на основе платины, были рандомизированы для получения комбинации паклитаксела и карбоплатина или гемцитабина с пертузумабом или без пертузумаба. После шести циклов лечения химиотерапию прекращали, и пациенты в группе химиотерапия + пертузумаб продолжали получать пертузумаб отдельно вплоть до одиннадцати дополнительных циклов (всего 17 циклов пертузумаба). Не было значимых отличий в PFS или OS для всей группы в целом. Медиана PFS составила 34,1 недели для группы химиотерапия + пертузумаб по сравнению с 31,3 для группы только с химиотерапией; однако, исследовательский анализ подгрупп экспрессии мРНК HER3 с интервалом без лечения 6-12 месяцев указал на тенденцию к клиническому преимуществу у пациентов, которые экспрессируют высокие уровни мРНК HER3 (Kaye et al. J Clin. Oncol. 26:5520 (2008)).

Архивные образцы тканей от пациентов, включенных в оба рандомизированных исследования фазы II, исследовали при помощи количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (qRT-ПЦР) для уровней экспрессии мРНК рецепторов HER-EGFR, HER2, HER3, и двух лигандов HER: амфирегулина и бетацеллюлина.

Только экспрессия мРНК HER3 в опухоли была ассоциирована со значимым отличием в PFS. Для пациентов, показавших клинический ответ, частичный ответ (PR) наблюдали у 9 пациентов в группе гемцитабин + пертузумаб и у трех в группе гемцитабин + плацебо. Шесть пациентов на гемцитабине + пертузумаб с PR имели уровни мРНК HER3 в опухоли ниже, чем уровень медианы. Напротив, никто из пациентов в группе гемцитабин + плацебо, чьи уровни мРНК HER3 в опухоли были ниже, чем уровень медианы в исследованной популяции, не показали PR. Еще 6 пациентов показали PR, и все эти пациенты имели уровни мРНК HER3 в опухоли выше или на уровне медианы в исследованной популяции. Из этих пациентов, трое получали гемцитабин + пертузумаб и трое получали гемцитабин + плацебо, что свидетельствует об отсутствии эффекта пертузумаба в этой популяции.

Пациенты с низкой экспрессией мРНК HER3 (ниже, чем уровень медианы в исследованной популяции) показали соотношение риска PFS (HR) 0,32 в отличие от 1,68 для пациентов с экспрессией мРНК HER3 равной или большей, чем уровень медианы; т.е. эффект добавления пертузумаба отклонился в обратном направлении. Не было никакого значимого преимущества в OS для пациентов с низкой экспрессией мРНК HER3; однако тенденцию в сторону большей OS наблюдали у пациентов, получающих пертузумаб. OS для пациентов, экспрессирующих высокие уровни мРНК HER3, показала HR 1,59.

Для оценки прогностической ценности, экспрессию мРНК HER3 коррелировали с PFS и OS для пациентов в группе гемцитабин + плацебо. Медиана PFS составила 1,4 месяца для пациентов с низкой экспрессией мРНК HER3 (n=35) по сравнению с 5,5 месяца для пациентов с высокой экспрессией мРНК HER3 (n=24). Аналогично, медиана OS для пациентов с низкой экспрессией мРНК HER3 составила 8,4 месяца по сравнению с 18,2 месяца для пациентов с высокой экспрессией.

В исследовании BO17931, у пациентов с низкой экспрессией мРНК HER3 (ниже, чем уровень медианы в исследованной популяции) не наблюдали никакого эффекта от лечения. Однако, в исследовательском анализе пациентов с интервалом без лечения 6-12 месяцев, присутствовала тенденция к пользе комбинации химиотерапии с пертузумабом в отношении PFS.

Обзор данного исследования

Это многоцентровое исследование с двумя Частями: не рандомизированной вводной частью 1 по оценке безопасности и рандомизированной двойной слепой частью 2.

Часть 1 будет проводиться для оценки безопасности и переносимости пертузумаба в новой комбинации с двумя химиотерапевтическими средствами (топотеканом или паклитакселом). Часть 2 исследования представляет собой рандомизированное, двойное слепое, контролируемое плацебо, с двумя группами, многоцентровое проспективное исследование пертузумаба в комбинации с химиотерапией (топо-

теканом, паклитакселом или гемцитабином). Пациенты будут получать исследуемый медицинский препарат до прогрессирования заболевания в соответствии с Критериями оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), версия 1.1, прогрессирования заболевания в соответствии с критериями Международной интергруппы гинекологического рака (GCIg) для заболевания, которое поддается оценке по CA-125, неприемлемой токсичности, отзыва согласия или смерти. PFS будут оценивать в Части 1 исследования, но из-за малого числа пациентов и случаев PFS на когорту, результаты будут только описательными. Дизайн исследования части 1 исследования представлен на фиг. 30.

В части 2 исследования пациенты были рандомизированы в соотношении 1:1 для получения или:

Группа А: пертузумаб в комбинации с химиотерапией (топотекан, паклитаксел или гемцитабин), или

Группа В: плацебо пертузумаба плюс химиотерапия (топотекан, паклитаксел или гемцитабин).

Распределение исследуемого медицинского препарата будет двойным слепым в отношении того, получает ли пациент пертузумаб или плацебо пертузумаба. Химиотерапевтический агент будет распределяться по решению исследователя.

Факторами стратификации части 2 исследования являются:

когорта выбранной химиотерапии (топотекан в сравнении с паклитакселом в сравнении с гемцитабином).

предшествующая антиангиогенная терапия (да или нет). Если пациент ранее принимал участие в слепом исследовании с антиангиогенным средством, пациент будет включен в ту же группу, что и пациенты с известным предшествующим приемом антиангиогенного средства.

Интервал без лечения (TFI) с момента терапии платиной (строго менее чем 3 месяца по сравнению с периодом от 3 до 6 месяцев включительно до первого лечения в исследовании).

Дизайн части 2 исследования представлен на фиг. 31.

Первичные цели исследования:

Часть 1: первичной целью для части 1 этого исследования является определение безопасности и переносимости пертузумаба в комбинации или с топотеканом или с паклитакселом.

Часть 2: первичной целью для части 2 этого исследования является определение того, имеет ли пертузумаб плюс химиотерапия преимущество перед плацебо плюс химиотерапия по измерениям PFS.

Вторичные цели исследования:

Часть 1: Вторичной целью для части 1 этого исследования является описательная оценка PFS для пертузумаба в комбинации или с топотеканом или с паклитакселом.

Часть 2: Вторичные цели для части 2 этого исследования - определить, имеет ли пертузумаб плюс химиотерапия преимущество перед плацебо плюс химиотерапия относительно:

OS;

частоты объективных ответов;

биологического интервала без прогрессирования (PFI_{БИО});

безопасности и переносимости;

QoL.

Критерии оценки эффективности

Следующие критерии оценки эффективности будут измерены в части 1 исследования:

PFS, которую определяют как время от рандомизации в часть 1 исследования до прогрессирования заболевания по RECIST, версия 1.1 или согласно критериям GCIg при заболевании, поддающемся оценке по CA-125, или до момента смерти по любой причине, чтобы ни случилось первым.

Критерии оценки эффективности для части 2 исследования таковы:

PFS, которую определяют как время от рандомизации в часть 2 исследования до прогрессирования заболевания по RECIST, версия 1.1 или согласно критериям GCIg при заболевании, поддающемся оценке по CA-125, или до момента смерти по любой причине, чтобы ни случилось первым.

OS, которую определяют как время от рандомизации в часть 2 исследования до момента смерти по любой причине.

Частота объективных ответов (ORR), которая основана на RECIST, версия 1.1 и оценивается посредством наилучшего (подтвержденного) общего ответа (BOR); который определяется как наилучший ответ, зарегистрированный с начала лечения в части 2 исследования до прогрессирования заболевания/рецидива (принимая в качестве эталона для PD, наименьшие измерения, записанные с начала лечения в части 2 исследования). Пациенты должны иметь две последовательные оценки частичного ответа (PR) или полного ответа (CR) для того чтобы быть респондером. PR или CR должны быть подтверждены двумя последовательными оценками опухоли, которые разнесены во времени по меньшей мере на 4 недели.

Только пациенты с заболеванием, поддающимся измерению на начальном этапе, будут включены в анализ объективных ответов.

Пациентов, у которых был ответ в соответствии с RECIST, версия 1.1, и с использованием 50% критерия ответа для CA-125, определяют как респондеров, в то время как пациентов, которые имели ответ только, как определено по RECIST, определяют как респондеров RECIST. Пациентов, которые не имели

ответа в соответствии с RECIST, но имели ответ, определенный с помощью 50% критерия ответа для CA-125, определяют как респондеров CA-125.

PFIB₁₀, определяют на основе прогрессирующего серийного повышения сывороточного CA-125 (оцененного в соответствии с критериями GCIG) как время от даты рандомизации в часть 2 исследования до первого задокументированного повышения уровней CA-125 до уровня: в два раза выше верхнего предела нормы (для пациентов с нормальным CA-125 до лечения или с повышенным CA-125 до лечения и начальной нормализацией в процессе лечения), или в два раза выше минимальной величины (для пациентов с повышенным начальным уровнем CA-125, который не нормализовался в процессе лечения).

Критерии оценки безопасности

В части 1 исследования безопасность и переносимость будут оценивать после того, как пациенты получат 3 цикла лечения.

Кроме того, критерии оценки безопасности для этого исследования будут оценивать в обеих частях исследования 1 и 2 следующим образом:

Частота возникновения, происхождение и тяжесть всех АЕ, серьезных нежелательных явлений (SAE), АЕ со степенью тяжести ≥ 3 по NCI-CTCAE, версия 4.0, и АЕ, которые стали причиной досрочного прекращения участия в исследовании медицинского препарата.

Досрочное прекращение участия в исследовании и исследовательском лечении.

Сердечные нарушения/частота возникновения застойной сердечной недостаточности

Отклонения от нормы в лабораторных тестах.

Фракция выброса левого желудочка

Критерии включения

1. Пациенты женского пола в возрасте 18 лет или старше.
2. Низкие уровни экспрессии мРНК HER3 (соотношение концентраций равное или ниже чем 2,81, по оценке qRT-ПЦР на приборе COBAS z480®).
3. Гистологически или цитологически подтвержденный или задокументированный рак яичников, который устойчив к платине или не поддается лечению (определяют как прогрессирование в пределах 6 месяцев после завершения минимум четырех циклов терапии платиной или прогрессирование во время терапии платиной).
4. По меньшей мере одно образование, поддающееся измерению, и/или заболевание, не поддающееся измерению, согласно RECIST, версия 1.1, или заболевание, поддающееся оценке по антигену злокачественной опухоли-125 (CA-125), согласно критериям Международной интергруппы гинекологического рака (GCIG). Следующие гистологические типы являются подходящими:
 - Аденокарцинома без дополнительных уточнений.
 - Светлоклеточная аденокарцинома.
 - Эндометриоидная аденокарцинома.
 - Злокачественная опухоль Бреннера.
 - Смешанная эпителиальная карцинома, включая злокачественные смешанные опухоли Мюллера.
 - Муцинозная аденокарцинома.
 - Серозная аденокарцинома.
 - Переходноклеточная карцинома.
 - Недифференцированная карцинома.
5. Показатель общего состояния по Восточной объединенной онкологической группе (ECOG) от 0 до 2.
6. ФВЛЖ равна или больше чем 55%.

Дозирование и введение пертузумаба

Пертузумаб и плацебо пертузумаба вводят в виде внутривенной инфузии в день 1 первого цикла лечения в виде ударной дозы 840 мг, с последующими 420 мг в день 1 каждого последующего 3-недельного цикла. Начальную инфузию пертузумаба/плацебо пертузумаба следует вводить в течение 60 мин с последующим 60-минутным периодом наблюдения в положении сидя; если инфузия хорошо переносится, следующие инфузии можно давать в течение 30 мин с последующим 30-минутным периодом наблюдения, после которого вводят химиотерапевтический препарат. Премедикацию следует проводить в соответствии с местной практикой и выбранной химиотерапией.

Дозирование и введение топотекана

Топотекан следует вводить в дозе $1,25 \text{ мг/м}^2$ в виде 30-минутной внутривенной инфузии ежедневно в дни 1-5 каждые 3 недели, в соответствии с предписаниями в краткой характеристике лекарственного средства.

Дозирование и введение паклитаксела

Паклитаксел следует вводить в дозе 80 мг/м^2 в виде 1-часовой внутривенной инфузии в дни 1, 8, 15 и 22. Фармацевты должны следовать краткой характеристике лекарственного средства для информации относительно препарата и введения дозы 80 мг/м^2 .

Дозирование и введение гемцитабина

Гемцитабин (только часть 2 исследования) следует вводить 1000 мг/м² в виде 30-минутной внутривенной инфузии в дни 1 и 8 каждые 3 недели в соответствии с предписаниями, описанными в краткой характеристике лекарственного средства.

Экспрессия мРНК HER3

У пациентов будут спрашивать специальное согласие на сбор и анализ образцов ткани первичной опухоли для оценки уровня мРНК HER3, включая уровни мРНК и белка других рецепторов семейства HER, например, HER2, перед тем как они предоставят согласие на участие в исследовании. Только пациенты с опухолями, экспрессирующими низкие уровни мРНК HER3, будут подходить для участия в исследовании.

Во время начального отбора по уровням мРНК HER3 будут оценивать уровни мРНК и/или белка других рецепторов HER из семейства HER (например, EGFR, HER2, или HER4) параллельно с оценкой HER3, для того чтобы получить более полную картину статуса рецепторов семейства HER по уровню мРНК.

Пороговое значение, принятое как критерий отбора исследования, определяется как отношение концентрации <2,81 при оценке qRT-ПЦР на приборе COBAS z480® с использованием "COBAS® HER2 & HER3 (qRT-ПЦР) mRNA expression assay", предоставленного Roche Molecular Diagnostics. Обоснование для определения порогового значения основано на моделировании порога в предыдущих исследованиях, а также на функции преобразования, которую было необходимо ввести, поскольку анализ был перенесен на новый прибор, COBAS z480®. Предполагается, что 40-50% проверенных пациентов будут иметь уровни мРНК HER3 ниже порога 2,81 и что 30% пациентов, экспрессирующих низкие уровни мРНК HER3, не подойдут для включения в исследование вследствие других критериев включения/исключения.

Предоставление фиксированных формалином, погруженных в парафин образцов первичной опухоли из первоначальной хирургической операции необходимо для всех пациентов до отбора; цитологические образцы не являются приемлемыми заменами. Пациентов будут оценивать по уровню экспрессии мРНК HER3, а также уровням экспрессии мРНК и белка других рецепторов семейства HER с использованием анализа qRT-ПЦР анализ и иммуногистохимии (ИHC). Такая оценка экспрессии мРНК/белка рецептора HER будет проводиться после получения информированного согласия пациента в любое время после первичной хирургической операции и до отбора.

Предполагается, что пертузумаб в комбинации с топотеканом или паклитакселом будет безопасным и эффективным у пациентов с эпителиальным раком яичников, первичным перитонеальным раком или раком фаллопиевых труб.

Кроме того, предполагается, что пертузумаб плюс химиотерапия (топотекан, паклитаксел или гемцитабин) будет превосходить плацебо плюс химиотерапию у пациентов с эпителиальным раком яичников, первичным перитонеальным раком или раком фаллопиевых труб, где эффективность измеряют по PFS.

Список последовательностей

SEQ.txt

<110> Genentech, Inc. et al.
 <120> применение ингибитора димеризации HER2 пертузумаба в качестве промышленного изделия и промышленное изделие, включающее ингибитор димеризации HER2 пертузумаб
 <130> P4753R1-WO
 <141> 2012-10-11
 <150> US 61/547,535
 <151> 2011-10-14
 <150> US 61/567,015
 <151> 2011-12-05
 <150> US 61/657,669
 <151> 2012-06-08
 <150> US 61/682,037
 <151> 2012-08-10
 <150> US 61/694,584
 <151> 2012-08-29
 <160> 22
 <210> 1
 <211> 195
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys Leu Arg Leu Pro Ala
 1 5 10 15
 Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His Leu Tyr Gln Gly
 20 25 30
 Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr Leu Pro Thr
 35 40 45
 Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Gln Gly
 50 55 60
 Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu Gln
 65 70 75
 Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr
 80 85 90
 Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr
 95 100 105
 Pro Val Thr Gly Ala Ser Pro Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu
 110 115 120
 Arg Ser Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg
 125 130 135
 Asn Pro Gln Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile
 140 145 150
 Phe His Lys Asn Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn
 155 160 165
 Arg Ser Arg Ala Cys His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser
 Страница 1

```

                                SEQ.txt
                                175
                                180
170                               Arg Cys Trp Gly Glu Ser Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg
                                185                               190                               195

<210> 2
<211> 124
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 2
Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro
 1      5      10
Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro
                20      25      30
Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu His Phe Asn His Ser Gly
                35      40      45
Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val Thr Tyr Asn Thr Asp
                50      55      60
Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg Tyr Thr Phe Gly
                65      70      75
Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu Ser Thr Asp
                80      85      90
Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln Glu Val
                95      100     105
Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys Pro
                110     115     120

Cys Ala Arg Val

<210> 3
<211> 169
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 3
Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu Val Arg Ala Val
 1      5      10      15
Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys Lys Ile Phe
                20      25      30
Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp Pro Ala
                35      40      45
Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe Glu
                50      55      60
Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro
                65      70      75
Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile
                80      85      90
Arg Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln
                95      100     105
Gly Leu Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu
                110     115     120

Gly Ser Gly Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe
                                Страница 2

```

```

                                SEQ.txt
                                130
                                135
125                               140 145 150 155 160 165
Val His Thr Val Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln
Ala Leu Leu His Thr Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly
Glu Gly Leu Ala

<210> 4
<211> 142
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 4
Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro
1      5      10
Thr Gln Cys Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys
20     25     30
Val Glu Glu Cys Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val
35     40     45
Asn Ala Arg His Cys Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln
50     55     60
Asn Gly Ser Val Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val
65     70     75
Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys
80     85     90
Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys
95    100    105
Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn Cys
110   115   120
Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys Gly Cys Pro Ala Glu
125   130   135
Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr
140

<210> 5
<211> 107
<212> БЕЛОК
<213> Mus musculus

<400> 5
Asp Thr Val Met Thr Gln Ser His Lys Ile Met Ser Thr Ser Val
1      5      10
Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser
20     25     30
Ile Gly Val Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys
35     40     45
Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp
50     55     60
Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
65     70     75
Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

```

Страница 3

80
Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gly
95 100 105
Ile Lys

```
<210> 6
<211> 119
<212> БЕЛОК
<213> Mus musculus
```

<400>	6														
Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	
1				5					10					15	
Thr	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	
				20					25					30	
Asp	Tyr	Thr	Met	Asp	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	His	Gly	Lys	Ser	Leu	
				35					40					45	
Glu	Trp	Ile	Gly	Asp	Val	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	Tyr	
				50					55					60	
Asn	Gln	Arg	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Ser	Leu	Thr	Val	Asp	Arg	Ser	
				65					70					75	
Ser	Arg	Ile	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Phe	Glu	Asp	
				80					85					90	
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Pro	Ser	Phe	Tyr	
				95					100					105	
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser		
				110					115						

<210>	7
<211>	107
<212>	БЕЛОК
<213>	Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтезирована

<400> 1	7 Asp	Ile	Gln	Met	Thr 5	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser 10	Leu	Ser	Ala	Ser	Val 15
	Gly	Asp	Arg	Val	Thr 20	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala 25	Ser	Gln	Asp	Val	Ser 30
	Ile	Gly	Val	Ala	Trp 35	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro 40	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys 45
	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser 50	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr 55	Thr	Gly	Val	Pro	Ser 60
	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser 65	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp 70	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile 75
	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro 80	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr 85	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln 90
	Tyr	Tyr	Ile	Tyr	Pro 95	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln 100	Gly	Thr	Lys	Val	Glu 105

SEQ.txt

Ile Lys

<210> 8
 <211> 119
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Последовательность синтезирована

<400> 8
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr
 20 25 30
 Asp Tyr Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 35 40 45
 Glu Trp Val Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr
 50 55 60
 Asn Gln Arg Phe Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser
 65 70 75
 Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 80 85 90
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr
 95 100 105
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 110 115

<210> 9
 <211> 107
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Последовательность синтезирована

<400> 9
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
 1 5 10 15
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
 35 40 45
 Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 80 85 90
 Tyr Asn Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
 95 100 105

Ile Lys

<210> 10

Страница 5

SEQ.txt

<211> 119
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Последовательность синтезирована

<400> 10
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
 20 25 30
 Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 35 40 45
 Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr
 50 55 60
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
 65 70 75
 Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 80 85 90
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Val Gly Tyr Ser Leu
 95 100 105
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 110 115

<210> 11
 <211> 214
 <212> БЕЛОК
 <213> Последовательность синтезирована

<220>
 <223> Последовательность синтезирована

<400> 11
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
 1 5 10 15
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser
 20 25 30
 Ile Gly Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
 35 40 45
 Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 80 85 90
 Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
 95 100 105
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 110 115 120
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 125 130 135
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val

Страница 6

[illegible]

<210>	12
<211>	448
<212>	БЕЛОК
<213>	Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтезирована

<400>	12															
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly		
1				5					10					15		
Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr		
				20					25					30		
Asp	Tyr	Thr	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu		
				35					40					45		
Glu	Trp	Val	Ala	Asp	Val	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	Tyr		
				50					55					60		
Asn	Gln	Arg	Phe	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Leu	Ser	Val	Asp	Arg	Ser		
				65					70					75		
Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp		
				80					85					90		
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Pro	Ser	Phe	Tyr		
				95					100					105		
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala		
				110					115					120		
Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys		
				125					130					135		
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp		
				140					145					150		
Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu		
				155					160					165		
Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly		
				170					175					180		
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu		
				185					190					195		
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn		
				200					205					210		

SEQ.txt
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 215 220 225
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 290 295 300
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 305 310 315
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 320 325 330
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 335 340 345
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 350 355 360
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 365 370 375
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 380 385 390
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 395 400 405
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 410 415 420
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 425 430 435
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 440 445

<210> 13

<211> 214

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтезирована

<400> 13

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
 1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn
 20 25 30

Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
 35 40 45

Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60

SEQ.txt

Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile
				65					70					75
Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
				80					85					90
His	Tyr	Thr	Thr	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu
				95					100					105
Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro
				110					115					120
Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu
				125					130					135
Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val
				140					145					150
Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu
				155					160					165
Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr
				170					175					180
Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu
				185					190					195
Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn
				200					205					210

Arg Gly Glu Cys

<210> 14
 <211> 449
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Последовательность синтезирована

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
1				5					10					15
Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Lys
				20					25					30
Asp	Thr	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu
				35					40					45
Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Gly	Tyr	Thr	Arg	Tyr
				50					55					60
Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser
				65					70					75
Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp
				80					85					90
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr
				95					100					105
Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
				110					115					120
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser
				125					130					135

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala SEQ.txt
 140 145 Leu Gly Cys Leu Val Lys 150
 Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala 165
 155 160
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser 180
 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser 195
 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser 210
 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys 225
 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly 240
 230 235
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met 255
 245 250
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser 270
 260 265
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val 285
 275 280
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn 300
 290 295
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp 315
 305 310
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala 330
 320 325
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln 345
 335 340
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu 360
 350 355
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe 375
 365 370
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro 390
 380 385
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly 405
 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp 420
 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 435
 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 445
 440 445

<210> 15

<211> 217

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

SEQ.txt

<220>

<223> Последовательность синтезирована

<400> 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 1 5 10 15
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln
 20 25 30
 Asp Val Ser Ile Gly Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly
 50 55 60
 Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 65 70 75
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 80 85 90
 Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly
 95 100 105
 Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 110 115 120
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
 125 130 135
 Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
 140 145 150
 Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
 155 160 165
 Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 170 175 180
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 185 190 195
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 200 205 210
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 215

<210> 16

<211> 449

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтезирована

<400> 16

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr
 20 25 30
 Asp Tyr Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 35 40 45
 Glu Trp Val Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr

Страница 11

										SEQ.txt										
50										55	60									
Asn	Gln	Arg	Phe	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Leu	Ser	Val	Asp	Arg	Ser						
				65					70					75						
Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp						
				80					85					90						
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Pro	Ser	Phe	Tyr						
				95					100					105						
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala						
				110					115					120						
Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys						
				125					130					135						
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp						
				140					145					150						
Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu						
				155					160					165						
Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly						
				170					175					180						
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu						
				185					190					195						
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn						
				200					205					210						
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr						
				215					220					225						
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro						
				230					235					240						
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile						
				245					250					255						
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His						
				260					265					270						
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu						
				275					280					285						
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser						
				290					295					300						
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp						
				305					310					315						
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu						
				320					325					330						
Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro						
				335					340					345						
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met						
				350					355					360						
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr						
				365					370					375						
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu						
				380					385					390						

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 395 400 405
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 410 415 420
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 425 430 435
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 440 445

<210> 17
 <211> 10
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Последовательность синтезирована
 <220>
 <221> Xaa
 <222> 10
 <223> Xaa предпочтительно является D или S

<400> 17
 Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Met Xaa
 1 5 10

<210> 18
 <211> 17
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Последовательность синтезирована
 <400> 18
 Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
 1 5 10 15

Lys Gly

<210> 19
 <211> 10
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Последовательность синтезирована

<400> 19
 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 20
 <211> 11
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Последовательность синтезирована

<400> 20
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly Val Ala
 1 5 10

<210> 21
 <211> 7

SEQ.txt

```

<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтезирована
<220>
<221> Xaa
<222> 5
<223> Xaa предпочтительно является R или L

R or L

<220>
<221> Xaa
<222> 6
<223> Xaa предпочтительно является Y или E

<220>
<221> Xaa
<222> 7
<223> Xaa предпочтительно является T или S

<400> 21
Ser Ala Ser Tyr Xaa Xaa Xaa
  1                               5

<210> 22
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> последовательность синтезирована
<400> 22
Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr
  1                               5

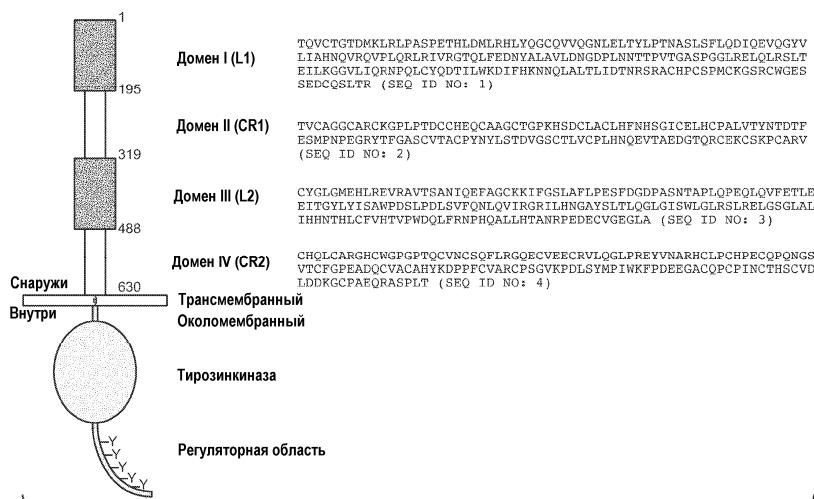
```

Страница 14

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение пертузумаба в комбинации с трастузумабом и химиотерапией, включающей доцетаксел и карбоплатин, для неoadъювантного лечения HER2-положительного рака молочной железы на ранней стадии, который не распространяется за пределы молочной железы или подмышечных лимфоузлов.

2. Применение по п.1, где HER2-положительный рак молочной железы на ранней стадии является отрицательным по рецептору эстрогена (ER) и рецептору прогестерона (PR).



Фиг. 1

Варибельный домен легкой цепи

	10	20	30	40
2C4	DTVMTQSHKIMSTSVGDRVSITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQRP	*
	** * * * *	*		
574	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC	[KASQDVSIGVA]	WYQQKP	
		* * * *		
hum κI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC	[RASQISNYLA]	WYQQKP	
	50	60	0	80
2C4	GQSPKLLIY [SASYRYT]	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQA		*
	** * * *	* *	*	*
574	GKAPKLLIY [SASYRYT]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP		
	* * * * *			
hum κI	GKAPKLLIY [AASSLES]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP		
	90	100		
2C4	EDLAVYYC [QQYIYIPYT]	FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:5)		
	* *	* *		
574	EDFATYYC [QQYIYIPYT]	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:7)		
	* * * *			
hum κI	EDFATYYC [QQYNSLPWT]	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:9)		

Фиг. 2A

Варибельный домен тяжелой цепи

	10	20	30	40
2C4	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKAS	[GFTFTDYTMD]	WVKQS	*
	** * * *	*	*	*
574	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFTDYTMD]	WVRQA	
		* * * *		
hum III	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFSYAMS]	WVRQA	
	50 a	60	70	80
2C4	HGKSLEWIG [DVNPNSGGSIYNQRFKG]	KASLTVDRSSRIIVYM		*
	* * *	* * *	* * *	*
574	PGKLEWVA [DVNPNSGGSIYNQRFKG]	RFTLSVDRSKNTLYL		
	* * * * *	* * *		
hum III	PGKLEWVA [VISGDDGSTYYADSVKG]	RFTISRDNKNTLYL		
	abc	90	100ab	110
2C4	ELRSLTFEDTAVYYCAR [NLGPSFYFDY]	WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:6)		*
	* * *			*
574	QMNSLRAEDTAVYYCAR [NLGPSFYFDY]	WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:8)		
		* * * * *		
hum III	QMNSLRAEDTAVYYCAR [GRVGYSLYDY]	WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:10)		

Фиг. 2B

Аминокислотная последовательность легкой цепи пертузумаба

```

1      10      20      30      40      50      60
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIQVAVYQQKPGKAPKLLIYSASRYTGVP
70      80      90      100     110     120
RFGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
130     140     150     160     170     180
SDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT
190     200     210
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:11)

```

Фиг. 3А

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи пертузумаба

```

1      10      20      30      40      50      60
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMHWVRQAPGKGLEWVADVNPNGGSIY
70      80      90      100     110     120
NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGLTVTSSA
130     140     150     160     170     180
STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
190     200     210     220     230     240
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGP
250     260     270     280     290     300
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQINS
310     320     330     340     350     360
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
370     380     390     400     410     420
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
430     440     448
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:12)

```

Фиг. 3В

Легкая цепь трастузумаба

```

1      15      30      45
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAVYQQKPGKAPK
46      60      75      90
LLIYSASFVLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQ
91      105     120     135
HYTTPPTFGGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
136     150     165     180
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT
181     195     210     214
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

```

Фиг. 4А

Тяжелая цепь трастузумаба

1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTNISKDTYIHWRQAPGKGL 45
46 EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED 90
91 TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS 135
136 KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS 180
181 GLYSLSVVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK 225
226 THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS 270
271 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKEPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD 315
316 WLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREE 360
361 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG 405
406 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPG 449
(SEQ ID NO: 14)

Фиг. 4В

Вариантная легкая цепь пертузумаба

1 VHSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPKPK 45
46 APKLLIYSASRYRTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY 90
91 CQQYIYIPYTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV 135
136 VCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS 180
181 TLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQCLSSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:15)

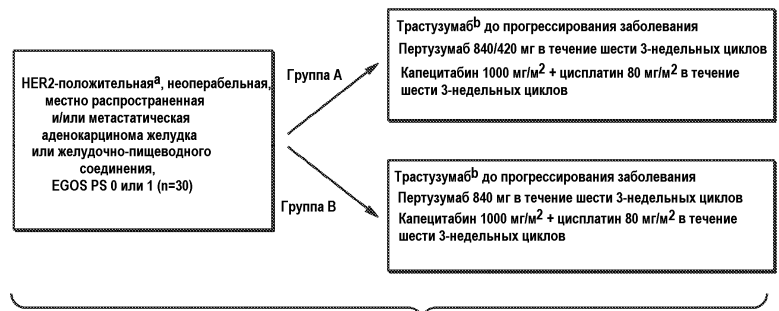
Фиг. 5А

Вариантная тяжелая цепь пертузумаба

1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTDYTMDWVRQAPGKGL 45
46 EWVADVNTNSCCSIYNQRPKCRFTLSVDRGKNTLYLQMNSLRAED 90
91 TAVYYCARNLGPSTFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK 135
136 STSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG 180
181 LYSLSVVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT 225
226 HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH 270
271 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKEPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD 315
316 LNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM 360
361 TXNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS 405
406 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPG 449
(SEQ ID NO:16)

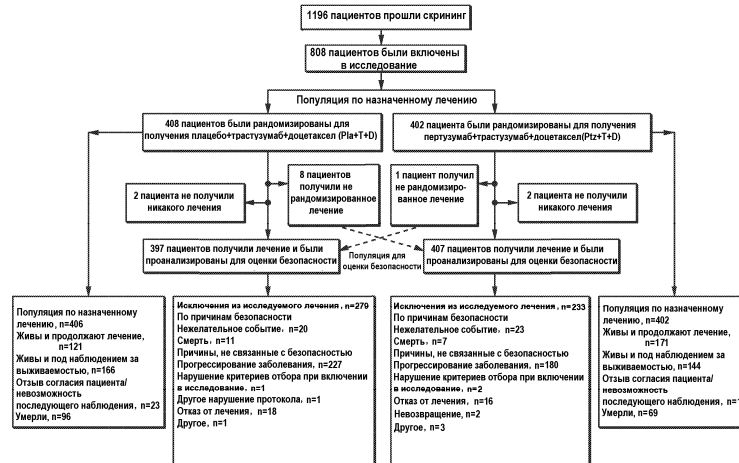
Фиг. 5В

Схема исследования



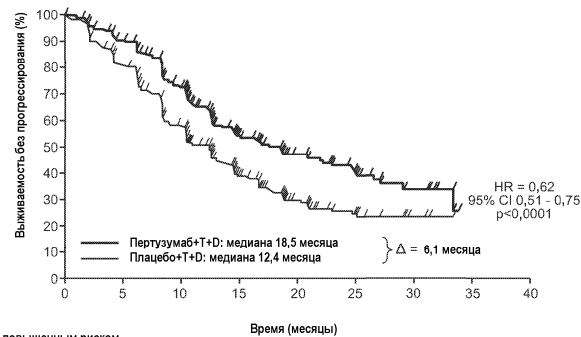
Фиг. 6

Отбор в исследование, популяции по назначенному лечению и для оценки безопасности, и исключение пациентов из исследования



Фиг. 7

Выживаемость без прогрессирования по оценке независимого наблюдательного учреждения

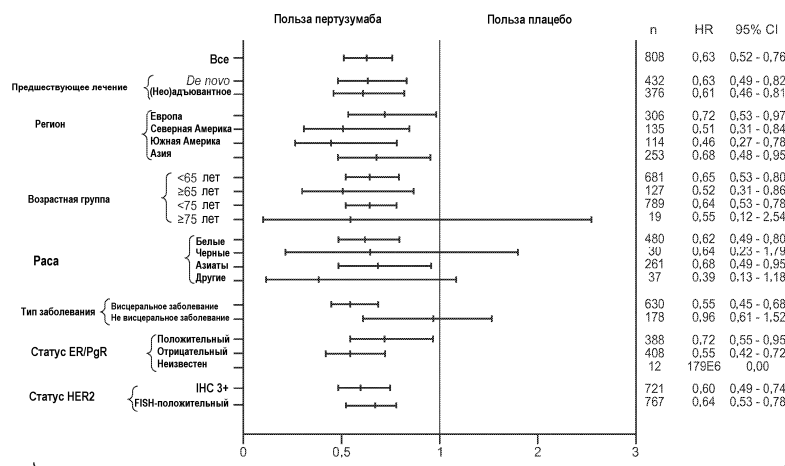


n с повышенным риском

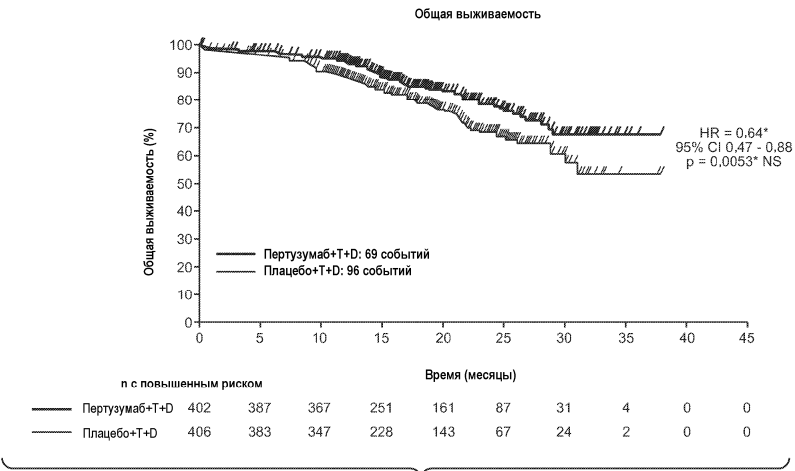
Время (месяцы)

Пертузумаб+Т+D	402	345	267	139	83	32	10	0	0
Плацебо+Т+D	406	311	209	93	42	17	7	0	0

Фиг. 8

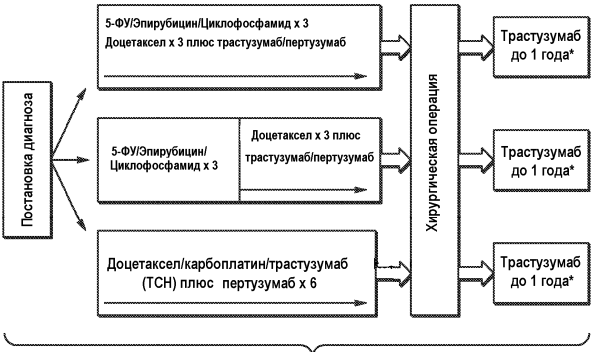


Фиг. 9

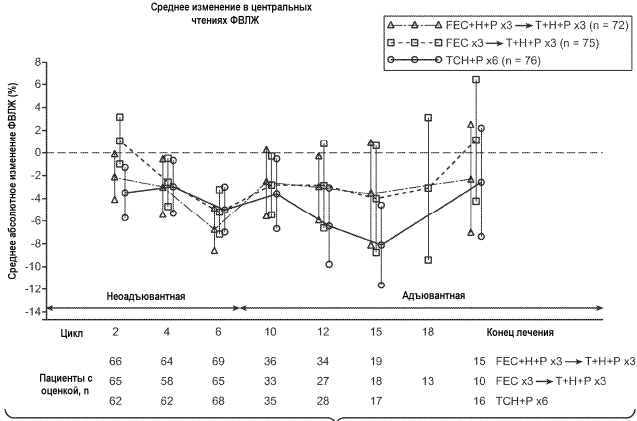


Фиг. 10

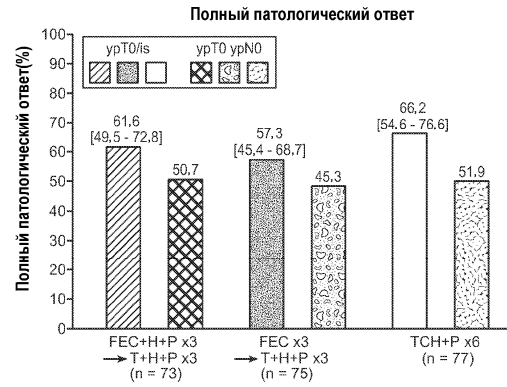
Схема терапии для пациентов с HER2-положительным неoadъювантным раком молочной железы с низкими факторами сердечного риска



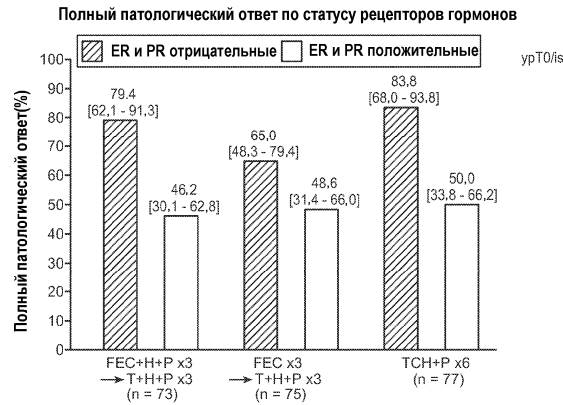
Фиг. 11



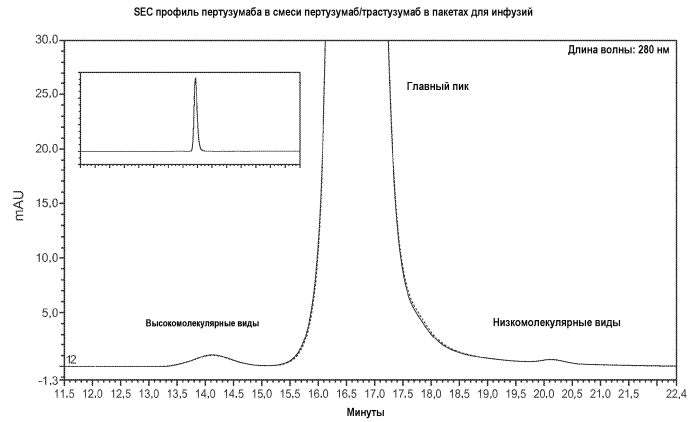
Фиг. 12



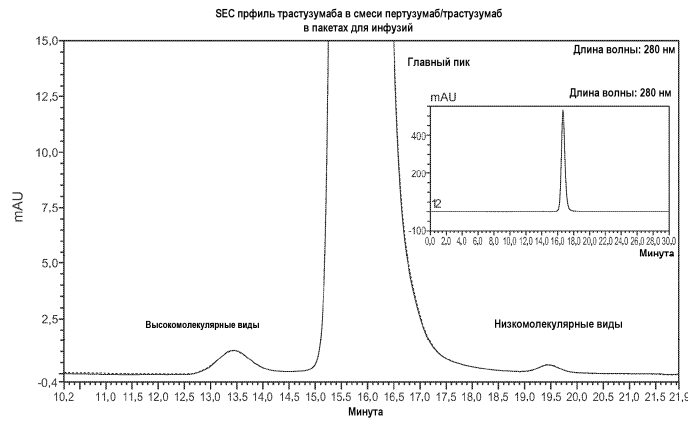
Фиг. 13



Фиг. 14

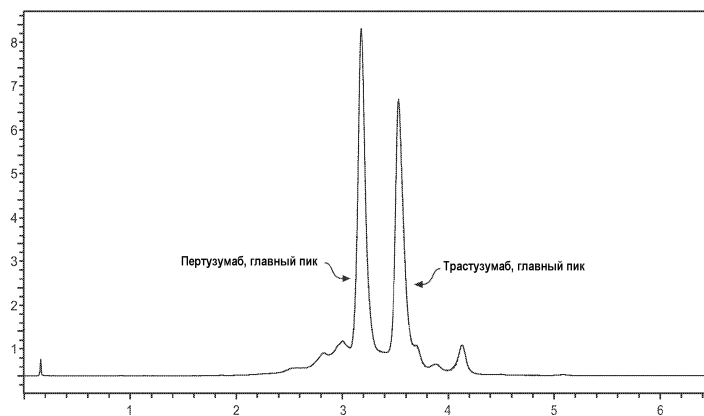


Фиг. 15



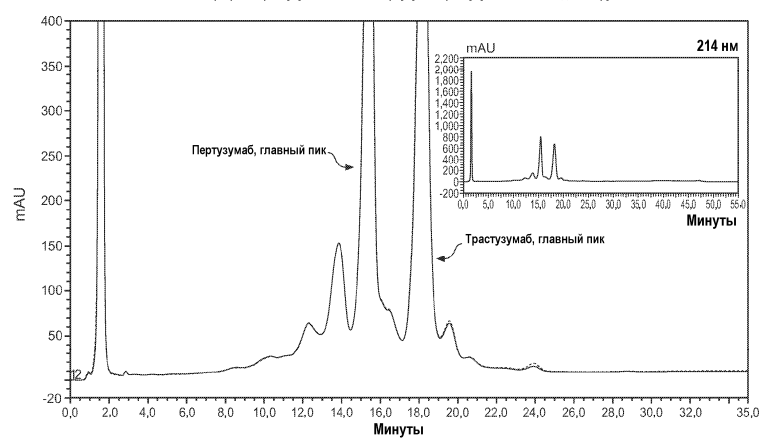
Фиг. 16

IES профиль пертузумаба в смеси пертузумаб/трастузумаб в пакетах для инфузий



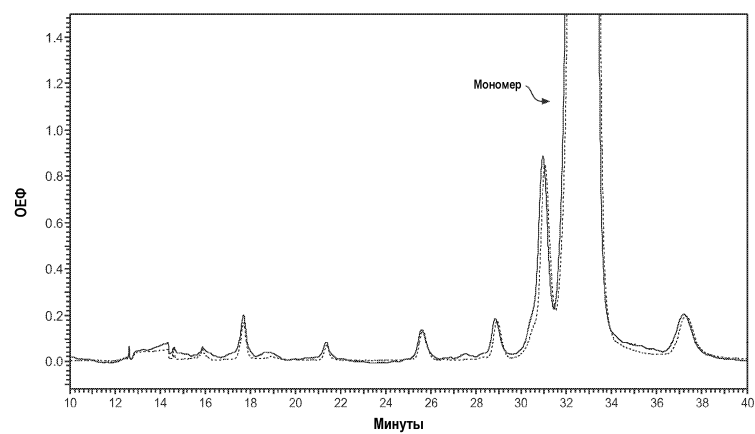
Фиг. 17

IES профиль трастузумаба в смеси пертузумаб/трастузумаб в пакетах для инфузий



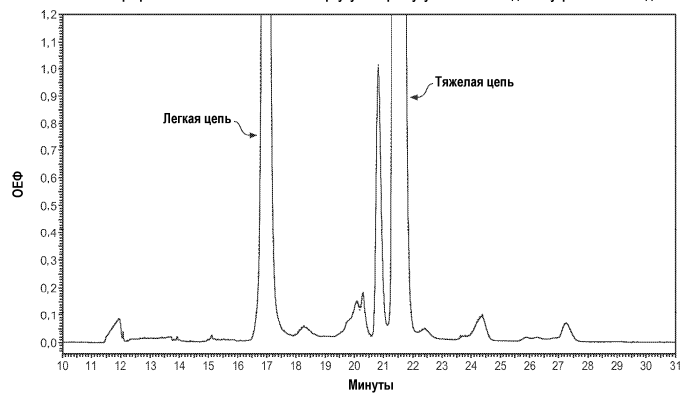
Фиг. 18

CE-SDS LIF профиль не восстановленной смеси пертузумаб/трастузумаб в пакетах для внутривенного введения



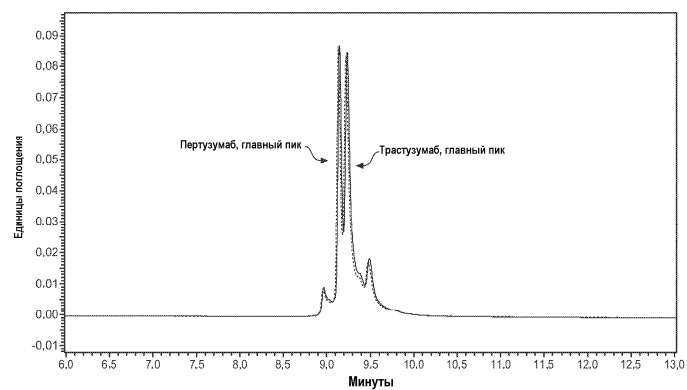
Фиг. 19

CE-SDS LIF профиль восстановленной смеси пертузумаб/трастузумаб в пакетах для внутривенного введения



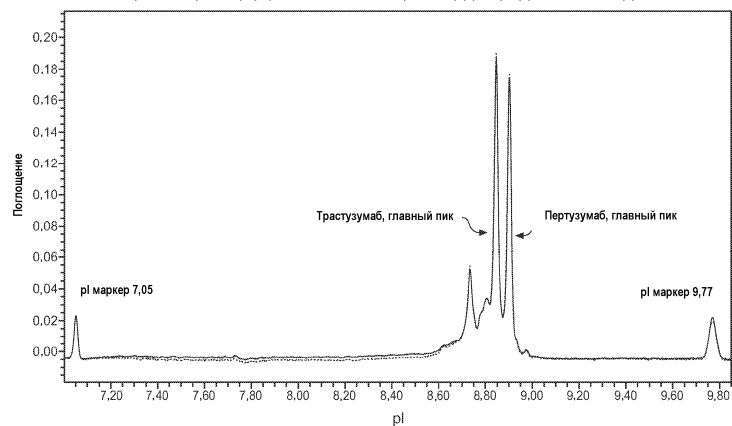
Фиг. 20

Капиллярный зонный электрофорез смеси пертузумаб/трастузумаб в пакетах для внутривенного введения



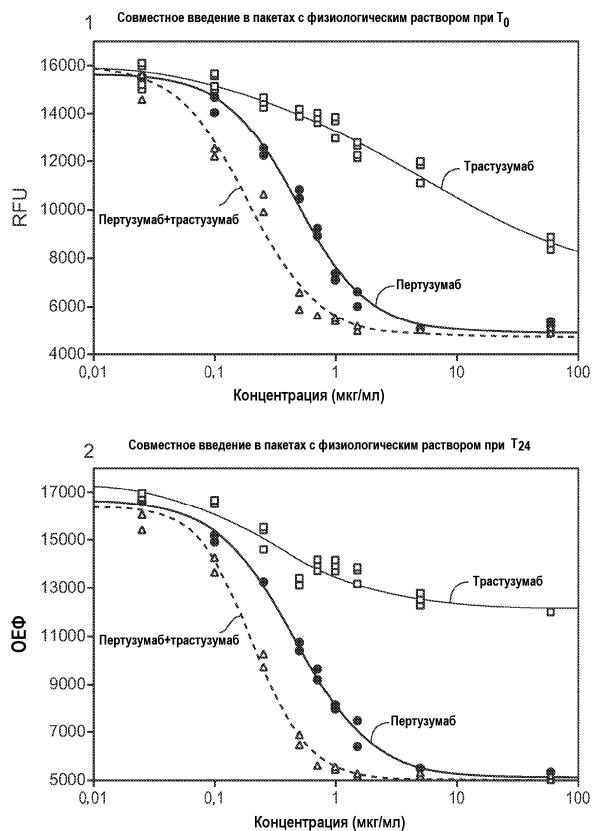
Фиг. 21

Капиллярное изоэлектрическое фокусирование с детекцией в капилляре смеси пертузумаб/трастузумаб в пакетах для внутривенного введения

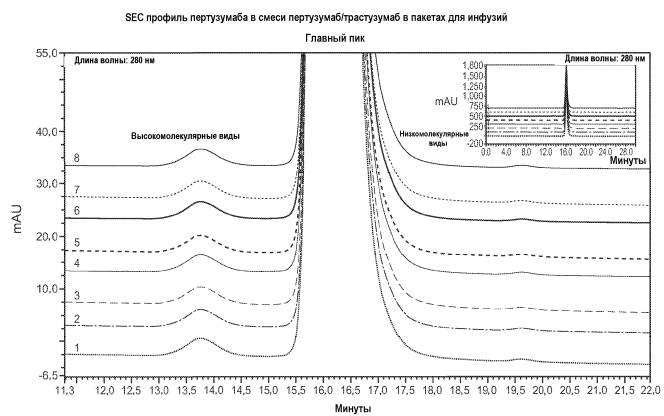


Фиг. 22

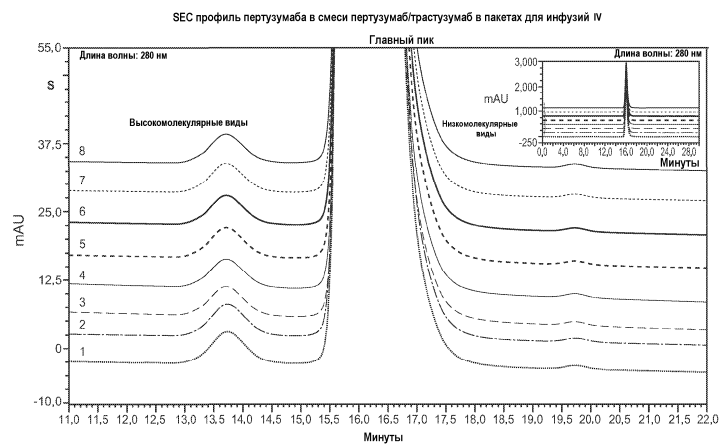
Кривые активности доза-эффект для смеси пертузумаб/трастузумаб, пертузумаба и трастузумаба по отдельности в пакетах для внутривенного введения



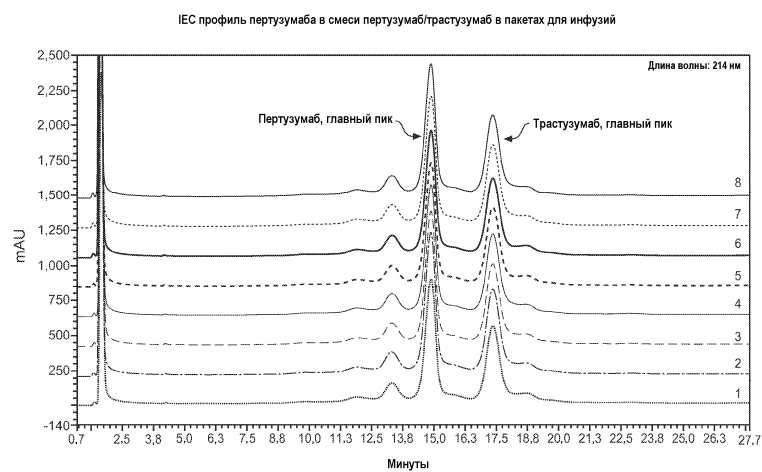
Фиг. 23



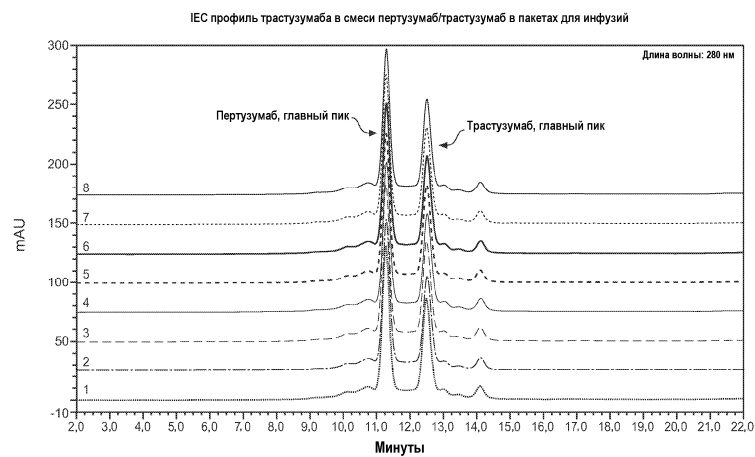
Фиг. 24



Фиг. 25



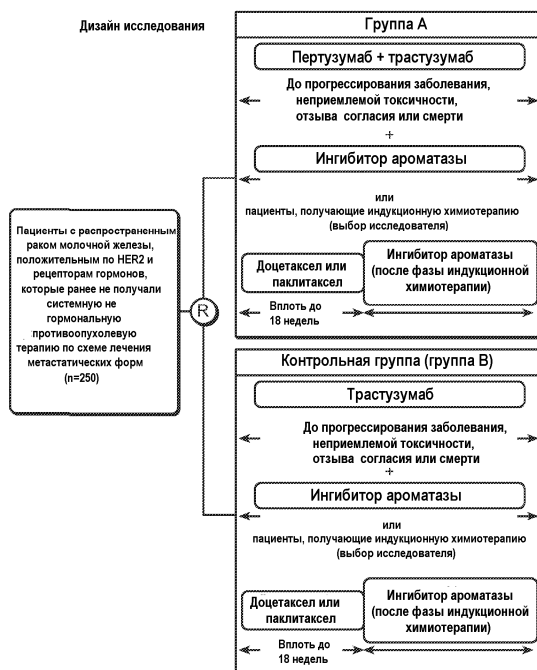
Фиг. 26



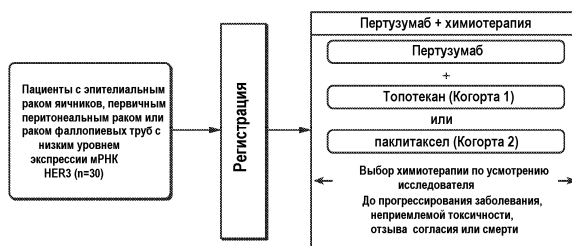
Фиг. 27



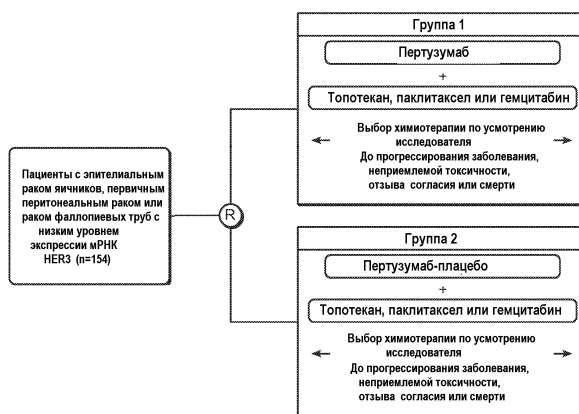
Фиг. 28



Фиг. 29



Фиг. 30



Фиг. 31

Взятые образцы и временные точки

Цикл	Период лечения											
	1			2			3		4		6	
День цикла	1	8	15	1	8	15	1		1		1	
День исследования	1	8	15	22	29	36	43		64		106	
	PRE ^a	EOI ^b		PRE ^a	EOI ^b		PRE ^a	EOI ^b	PRE ^a	EOI ^b	PRE ^a	EOI ^b
Трастузумаб	X	X					X	X			X	X
Пертузумаб	X	X	X ^c	X ^c	X	X	X ^c	X ^c	X ^d	X	X	X
HER2 ECD	X											

EOI - окончание инфузии; PRE - пре-доза

Примечание: каждый образец крови должен быть объемом 5 мл. Для каждого препарата собирают отдельные ФК образцы.

а. Образцы могут быть собраны в пределах шести часов до введения конкретного препарата (например, трастузумаба или пертузумаба)

б. Образцы могут быть собраны в пределах 30 минут после окончания инфузии конкретного препарата (например, трастузумаба или пертузумаба)

с. Образцы могут быть собраны в пределах ± шести часов (относительно начала инфузии конкретного препарата)

д. Остаточный уровень в цикле 2= первичная конечная точка исследования - должен быть взят в день исследования 43 (22 дня спустя дозы цикла 2), независимо от того, давали ли дозу цикла 3 с задержкой или не давали.

Фиг. 32

Демографические показатели

	Группа А 420 мг (n=15)	Группа В 840 мг (n=15)
Возраст (годы)		
Среднее (SD)	60,6 (14,7)	57,3 (11,5)
Медиана	67,0	59,0
Минимум-максимум	29-76	27-72
<65 (%)	6 (40,0)	10 (66,7)
≥65 (%)	9 (60,0)	5 (33,3)
Пол		
Мужской (%)	14 (93,3)	10 (66,7)
Женский (%)	1 (6,7)	5 (33,3)
Раса		
Азиаты (%)	9 (60,0)	8 (53,5)
Белые (%)	6 (40,0)	7 (46,7)
Вес (кг) в начале исследования		
Медиана	67,55 (8,64)	67,69 (11,68)
Минимум-максимум	67,00	66,80
ECOG		
0	10 (66,7)	6 (40,0)
1	5 (33,3)	9 (60,0)

Фиг. 33

Анамнез рака желудка

	Пертузумаб 420 мг (n=15)	Пертузумаб 840 мг (n=15)
Степень заболевания в начале исследования		
п	15	15
Метастатическое заболевание	13 (86,7%)	12 (80,0%)
Нерезектабельное местнораспространенное заболевание	2 (13,3%)	3 (20,0%)
Первичная локализация		
п	15	15
Желудок	12 (80,0%)	13 (86,7%)
Желудочно-пищеводное соединение	3 (20,0%)	2 (13,3%)
Измеримость		
п	15	15
Измеряемые проявления болезни	11 (73,3%)	13 (86,7%)
Не измеряемое заболевание, подлежащее только оценке	4 (26,7%)	2 (13,3%)
Гистологические подтипы		
п	15	15
Кишечный	6 (40,0%)	5 (33,3%)
Диффузный	1 (6,7%)	3 (20,0%)
Не известно	8 (53,3%)	7 (46,7%)

Фиг. 34

Распределение пациентов

	Группа А пертузумаб 840 мг (n=15)	Группа В пертузумаб 840 мг (n=15)
Полные шесть циклов пертузумаба (%)	5 (33,3)	5 (33,3)
Прерванное лечение (%)	1 (6,7)	3 (20,0)
Связано с безопасностью (%)	0	2 (13,3)
Нежелательное событие (%)	0	1 (6,7)
Смерть (%)	0	1 (6,7)
Не связано с безопасностью (%)	1 (6,7)	1 (6,7)
Решение терапевта (%)	0	1 (6,7)
Прогрессирование заболевания (%)	1 (6,7)	0

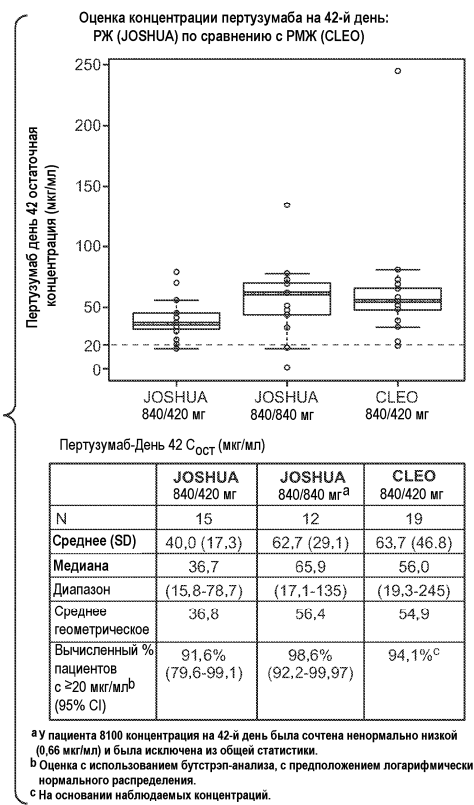
Фиг. 35

Частота общего ответа

	Группа А пертузумаб 420 мг (n=15)	Группа В пертузумаб 840 мг (n=15)
Общее число пациентов с начальной оценкой опухоли	15	15
Конец цикла 3		
п	12	8
Частичный ответ (%)	8 (66,7)	5 (62,5)
Стабильное заболевание (%)	2 (16,7)	2 (25,0)
Неполный ответ/не прогрессирующее заболевание (%) ^a	1 (8,3)	1 (12,5)
Прогрессирующее заболевание (%)	1 (8,3)	0
Конец цикла 6		
п	4	4
Частичный ответ (%)	3 (75,0)	3 (75,0)
Стабильное заболевание (%)	1 (25,0)	1 (25,0)

^a Неполный ответ/не прогрессирующее заболевание представляет собой стабильное заболевание у пациентов с неизмеряемыми проявлениями заболевания.

Фиг. 36



Фиг. 37

