

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390368** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.03.17

(22) Дата подачи заявки
2021.07.19

(51) Int. Cl. *A61K 47/68* (2017.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)

(54) КОМБИНАЦИЯ КОНЬЮГАТА АНТИТЕЛО ПРОТИВ HER2-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО С ИНГИБИТОРОМ ДИМЕРИЗАЦИИ HER

(31) 2020-123564

(32) 2020.07.20

(33) JP

(86) PCT/JP2021/026932

(87) WO 2022/019259 2022.01.27

(71) Заявитель:

**ДАЙИТИ САНКИО КОМПАНИ,
ЛИМИТЕД (JP)**

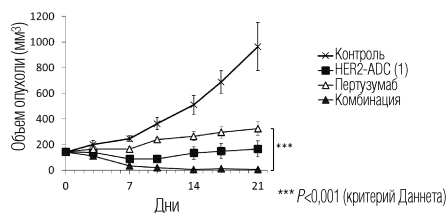
(72) Изобретатель:

Камаи Ясуки (JP)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Фармацевтическая композиция, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, в котором лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой (где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2), конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь, и ингибитор димеризации HER вводят в комбинации, и/или способ лечения, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER вводят пациенту в комбинации.



202390368

A1

A1

202390368

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577346EA/55

КОМБИНАЦИЯ КОНЬЮГАТА АНТИТЕЛО ПРОТИВ HER2-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО С ИНГИБИТОРОМ ДИМЕРИЗАЦИИ HER

Область техники

[0001]

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, где специфический конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER вводят в комбинации, и/или к способу лечения, включающему введение пациенту специфического конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство в комбинации с ингибитором димеризации HER.

Уровень техники

[0002]

Рецептор эпидермального фактора роста 2 человека (HER2) представляет собой трансмембранный рецептор, принадлежащий к подсемейству рецепторов эпидермального фактора роста рецепторных тирозинкиназ (непатентные ссылки 1-6). HER2 сверхэкспрессируется при различных типах злокачественных новообразований, включая рак молочной железы и рак желудка (непатентные ссылки 7-12), и, как сообщается, является отрицательным прогностическим фактором для рака молочной железы (непатентные ссылки 13, 14).

[0003]

Известные антитела против HER2 включают трастузумаб (ссылка на патент 1) и пертузумаб (ссылка на патент 2).

[0004]

Известно, что трастузумаб связывается с субдоменом IV внеклеточного домена белка HER2.

[0005]

С другой стороны, известно, что пертузумаб связывается с субдоменом II внеклеточного домена белка HER2. Ожидается, что это ингибирует димеризацию белка HER2 и белка HER3, чтобы ингибировать фосфорилирование HER2 путем стимуляции лиганда и активации киназ PI3K-Akt и MAPK, которые присутствуют в нижестоящих сигнальных путях, тем самым подавляя рост клеток. Исходя из этого, пертузумаб известен как ингибитор димеризации HER.

[0006]

Известно, что трастузумаб проявляет еще больший противоопухолевый эффект при использовании в комбинации с пертузумабом (непатентные ссылки 15, 16).

[0007]

Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), содержащий лекарственное средство с цитотоксичностью, конъюгированное с антителом, способным связываться с антигеном, экспрессируемым на поверхности опухолевых клеток, и способным к клеточной

интернализации, может избирательно доставлять лекарственное средство к опухолевым клеткам и, таким образом, можно ожидать, что он вызовет накопление лекарственного средства в опухолевых клетках и уничтожит их (непатентные ссылки 17-21).

[0008]

В качестве одного из таких конъюгатов антитело-лекарственное средство известен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий в качестве его компонентов антитело против HER2 и производное экзатекана, которое является ингибитором топоизомеразы I (ссылки на патенты 3-6, непатентные ссылки 22-25).

Список цитирования

Патентная литература

[0009]

Ссылка на патент 1: Патент США No. 5821337

Ссылка на патент 2: Международная публикация No. WO 01/00245

Ссылка на патент 3: Международная публикация No. WO 2015/115091

Ссылка на патент 4: Международная публикация No. WO 2015/155976

Ссылка на патент 5: Международная публикация No. WO 2018/066626

Ссылка на патент 6: Международная публикация No. WO 2019/230645

Непатентная литература

[0010]

Непатентная ссылка 1: Coussens L, et al., Science. 1985; 230(4730): 1132-1139.

Непатентная ссылка 2: Graus-Porta G, et al., EMBO J. 1997;16:1647-1655.

Непатентная ссылка 3: Karnagaran D, et al., EMBO J. 1996;15:254-264.

Непатентная ссылка 4: Sliwkowski MX, et al., J Biom Chem. 1994; 269: 14661-14665.

Непатентная ссылка 5: Di Fore PP, et al., Science. 1987; 237: 178-182.

Непатентная ссылка 6: Hudziak RM, et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1987; 84: 7159-7163.

Непатентная ссылка 7: Hardwick R, et al., Eur. J Surg Oncol. 1997 (23):30-35.

Непатентная ссылка 8: Korkaya H, et al., Oncogene. 2008;27(47):6120-6130.

Непатентная ссылка 9: Yano T, et al., Oncol Rep. 2006; 15(1): 65-71.

Непатентная ссылка 10: Slamon DJ, et al., Science. 1987; 235: 177-182.

Непатентная ссылка 11: Gravalos C, et al., Ann Oncol 19: 1523-1529, 2008.

Непатентная ссылка 12: Fukushige S et al., Mol Cell Biol 6: 955-958, 1986.

Непатентная ссылка 13: Slamon DJ, et al., Science. 1989; 244: 707-712.

Непатентная ссылка 14: Kaptain S, et al., Diagn Mol Pathol 10: 139-152, 2001.

Непатентная ссылка 15: Richard S, et al., An Acad Bras Cienc. 2016;88 Suppl 1:565-77.

Непатентная ссылка 16: Nami B, et al., Cancers (Basel). 2019 Mar 16;11(3):375.

Непатентная ссылка 17: Ducry, L., et al., Bioconjugate Chem. (2010) 21, 5-13.

Непатентная ссылка 18: Alley, S. C., et al., Current Opinion in Chemical Biology (2010) 14, 529-537.

Непатентная ссылка 19: Damle N. K. Expert Opin. Biol. Ther. (2004) 4, 1445-1452.

Непатентная ссылка 20: Senter P. D., et al., Nature Biotechnology (2012) 30, 631-637.

Непатентная ссылка 21: Howard A. et al., J Clin Oncol 29: 398-405.

Непатентная ссылка 22: Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research (2016) 22 (20), 5097-5108.

Непатентная ссылка 23: Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046.

Непатентная ссылка 24: Doi T, et al., Lancet Oncol.(2017) 18, 1512-22.

Непатентная ссылка 25: Takegawa N, et al., Int. J. Cancer (2017) 141, 1682-1689.

Сущность изобретения

Техническая проблема

[0011]

Ожидание противоопухолевого эффекта, подобного комбинированной терапии трастузумабом и пертузумабом, стимулирует продолжающиеся исследования по использованию комбинации конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитора димеризации HER (см. 2013 Sep; 30(3): 1087-93, и Clin Cancer Res. 2014 Jan 15; 20(2): 456-68, etc.).

[0012]

Однако сообщалось, что, напротив, не было обнаружено ожидаемого противоопухолевого эффекта при использовании трастузумаба эмтанзина, который представляет собой комбинацию конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство и пертузумаба (см. Oncotarget. 2018 Aug 7; 9(61): 31915-31919, etc.).

[0013]

Таким образом, комбинированная терапия конъюгатом антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитором димеризации HER еще не разработана.

[0014]

Целью настоящего изобретения является создание фармацевтической композиции, в которой специфический конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER вводят в комбинации, и/или способа лечения, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER вводят пациенту в комбинации.

Решение проблемы

[0015]

В результате тщательных исследований, направленных на решение вышеуказанных проблем, авторы настоящего изобретения обнаружили, что комбинированное введение специфического конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитора димеризации HER демонстрирует превосходный комбинированный эффект, и, таким образом, настоящее изобретение выполнено.

[0016]

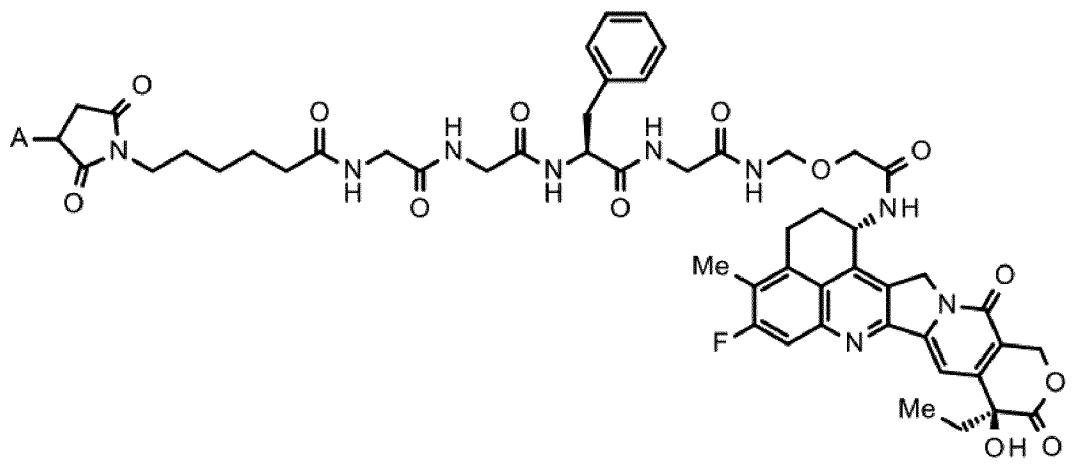
Таким образом, в настоящем изобретении предложены следующие пункты [1]-[100].

[1] Фармацевтическая композиция, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER вводят в комбинации, и

конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой конъюгат, в котором лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0017]

[Формула 1]



[0018]

где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2, конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь.

[2] Фармацевтическая композиция по п. [1], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной аминокислотными остатками 1-3 SEQ ID NO: 7, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8.

[3] Фармацевтическая композиция по п. [1], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую вариабельная область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10.

[4] Фармацевтическая композиция по п. [1], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, SEQ ID NO: 2.

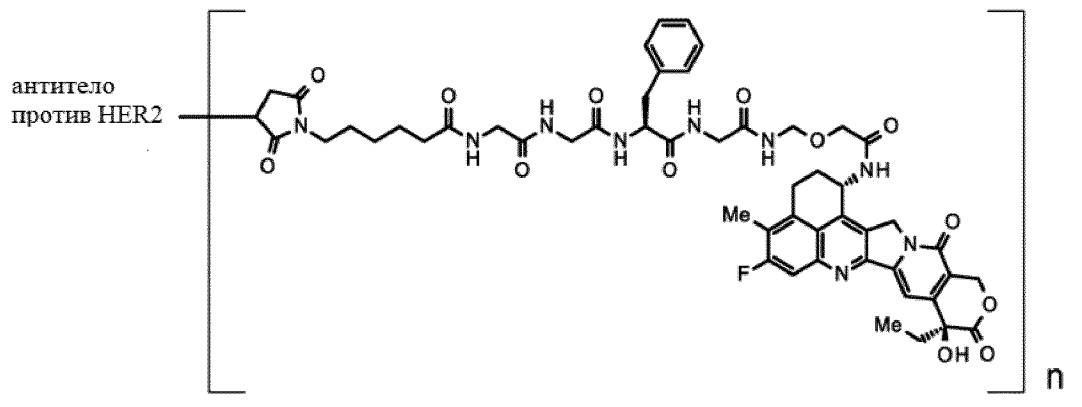
[5] Фармацевтическая композиция по п. [1], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной

последовательности, SEQ ID NO: 2.

[6] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[5], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представлен следующей формулой:

[0019]

[Формула 2]



[0020]

где лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом против HER2 посредством тиоэфирной связи; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкера на молекулу антитела, где n находится в диапазоне от 7 до 8.

[7] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[6], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой трастузумаб дерукстекал.

[8] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[7], где ингибитор димеризации HER представляет собой антитело, способное связываться с субдоменом II внеклеточного домена белка HER2.

[9] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[7], где ингибитор димеризации HER представляет собой пертузумаб.

[10] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[9], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER отдельно содержатся в качестве активных компонентов в разных составах и вводятся одновременно или в разное время.

[11] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[9], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER содержатся в качестве активных компонентов и вводятся в одном составе.

[12] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[11], которая предназначена для применения при лечении рака.

[13] Фармацевтическая композиция по п. [12], где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака

мочевого пузыря, рака предстательной железы, уротелиального рака, гастроинтестинальной стромальной опухоли, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, перитонеального рака, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, рака эндометрия, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмцитомы, миеломы, мультиформной глиобластомы, саркомы, остеосаркомы и меланомы.

[14] Фармацевтическая композиция по п. [12], где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря и рака предстательной железы.

[15] Фармацевтическая композиция по п. [12], где рак представляет собой рак молочной железы.

[16] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [12]-[15], где рак представляет собой рак со сверхэкспрессией HER2.

[17] Фармацевтическая композиция по п. [16], где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 3+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[18] Фармацевтическая композиция по п. [16], где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как положительное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

[19] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [12]-[15], где рак представляет собой рак с низкой экспрессией HER2.

[20] Фармацевтическая композиция по п. [19], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как отрицательное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

[21] Фармацевтическая композиция по п. [19], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[22] Фармацевтическая композиция по п. [19], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку >0 и $<1+$ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[23] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [12]-[22], которая проявляет значительно более сильный противоопухолевый эффект, чем однократное введение конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство.

[24] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [12]-[23], которая предназначена для лечения рака, не поддающегося лечению однократным введением

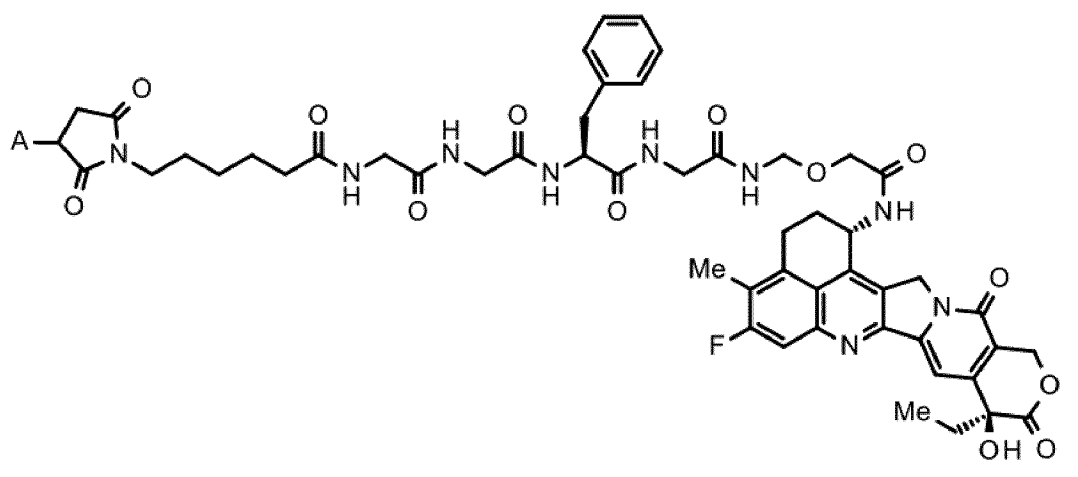
конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство.

[25] Фармацевтическая композиция по любому из пп. [12]-[24], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER проявляют синергический противоопухолевый эффект.

[26] Способ лечения, включающий введение конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитора димеризации HER в комбинации пациенту, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой конъюгат, в котором лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0021]

[Формула 3]



[0022]

где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2, конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь.

[27] Способ лечения по п. [26], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной аминокислотными остатками 1-3 SEQ ID NO: 7, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8.

[28] Способ лечения по п. [26], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую вариабельная область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10.

[29] Способ лечения по п. [26], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID

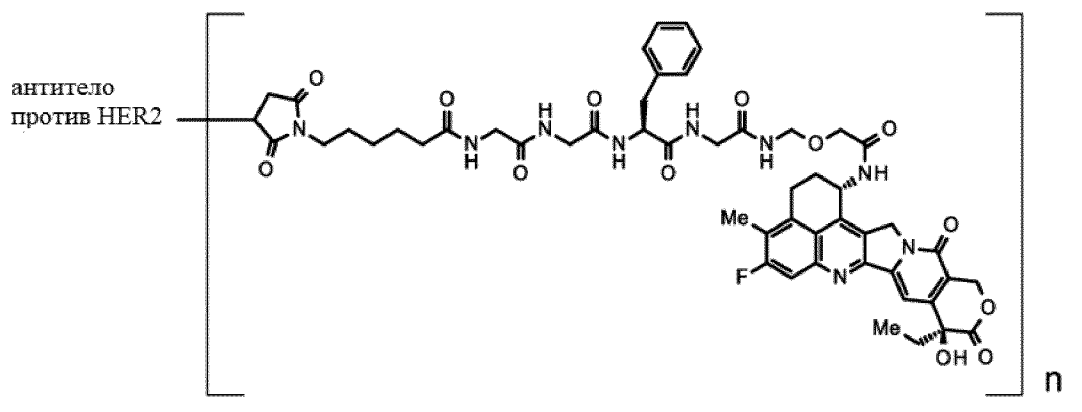
NO: 2.

[30] Способ лечения по п. [26], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

[31] Способ лечения по любому из пп. [26]-[30], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представлен следующей формулой:

[0023]

[Формула 4]



[0024]

где лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом против HER2 посредством тиоэфирной связи; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкера на молекулу антитела, где n находится в диапазоне от 7 до 8.

[32] Способ лечения по любому из пп. [26]-[31], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой трастузумаб дерукстекал.

[33] Способ лечения по любому из [26]-[32], где ингибитор димеризации HER представляет собой антитело, способное связываться с субдоменом II внеклеточного домена белка HER2.

[34] Способ лечения по любому из пп. [26]-[32], где ингибитор димеризации HER представляет собой пертузумаб.

[35] Способ лечения по любому из пп. [26]-[34], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER содержатся по отдельности в качестве активных компонентов в разных составах и вводятся одновременно или в разное время.

[36] Способ лечения по любому из пп. [26]-[34], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER содержатся в качестве активных компонентов и вводятся в одном составе.

[37] Способ лечения по любому из пп. [26]-[36], который предназначен для применения при лечении рака.

[38] Способ лечения по п. [37], где рак представляет собой по меньшей мере одно,

выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциномы матки, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, уротелиального рака, гастроинтестинальной стромальной опухоли, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, перитонеального рака, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, рака эндометрия, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, мультиформной глиобластомы, саркомы, остеосаркомы и меланомы.

[39] Способ лечения по п. [37], где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциномы матки, рака мочевого пузыря и рака предстательной железы.

[40] Способ лечения по п. [37], где рак представляет собой рак молочной железы.

[41] Способ лечения по любому из пп. [37]-[40], где рак представляет собой рак со сверхэкспрессией HER2.

[42] Способ лечения по п. [41], где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 3+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[43] Способ лечения по п. [41], где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как положительное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

[44] Способ лечения по любому из пп. [37]-[40], где рак представляет собой рак с низкой экспрессией HER2.

[45] Способ лечения по п. [44], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как отрицательное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

[46] Способ лечения по п. [44], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[47] Способ лечения по п. [44], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку >0 и $<1+$ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[48] Способ лечения по любому из пп. [37]-[47], который проявляет значительно более сильный противоопухолевый эффект, чем однократное введение конъюгата антитела против HER2-лекарственное средство.

[49] Способ лечения по любому из пп. [37]-[48], который предназначен для применения при лечении рака, не поддающегося лечению однократным введением

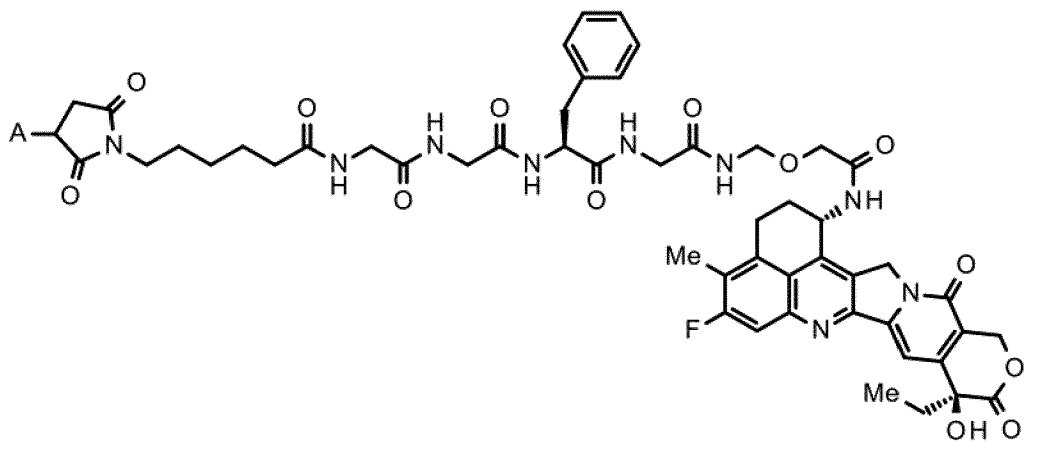
конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство.

[50] Способ лечения по любому из пп. [37]-[49], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER проявляют синергический противоопухолевый эффект.

[51] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство для применения при лечении заболевания посредством введения в комбинации с ингибитором димеризации HER, где лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0025]

[Формула 5]



[0026]

где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2, конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь в конъюгате антитело против HER2-лекарственное средство.

[52] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [51], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-3 SEQ ID NO: 7, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8.

[53] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [51], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10.

[54] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [51], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, и легкую цепь,

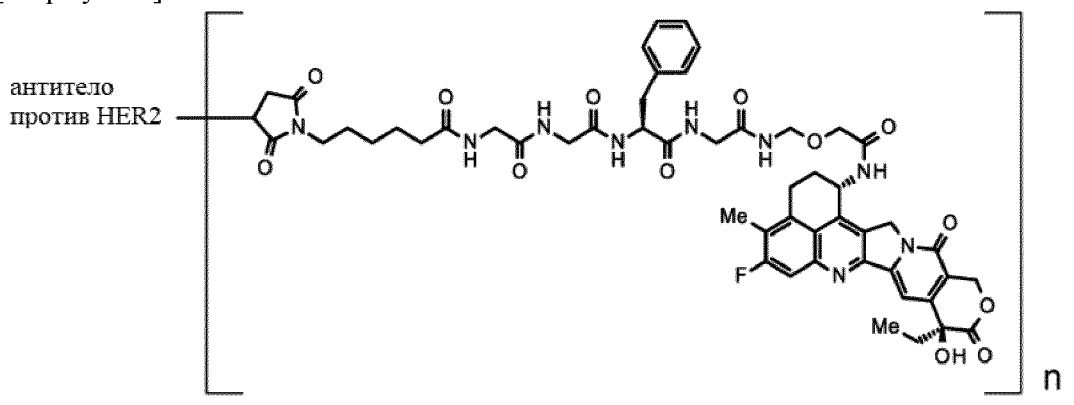
состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

[55] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [51], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

[56] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [51]-[55], который представлен следующей формулой:

[0027]

[Формула 6]



[0028]

где лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом против HER2 посредством тиоэфирной связи; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкера на молекулу антитела, где n находится в диапазоне от 7 до 8.

[57] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [51]-[56], который представляет собой трастузумаб дерукстекан.

[58] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [51]-[57], где ингибитор димеризации HER представляет собой антитело, способное связываться с субдоменом II внеклеточного домена белка HER2.

[59] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [51]-[57], где ингибитор димеризации HER представляет собой пертузумаб.

[60] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [51]-[59], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER по отдельности содержатся в качестве активных компонентов в разных составах и вводятся одновременно или в разное время.

[61] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [51]-[59], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER содержатся в качестве активных компонентов и вводятся в одном составе.

[62] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [51]-[61], который предназначен для применения при лечении рака.

[63] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [62], где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, уротелиального рака, гастроинтестинальной стромальной опухоли, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, перитонеального рака, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, рака эндометрия, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, мультиформной глиобластомы, саркомы, остеосаркомы и меланомы.

[64] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [62], где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря и рака предстательной железы.

[65] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [62], где рак представляет собой рак молочной железы.

[66] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [62]-[65], где рак представляет собой рак со сверхэкспрессией HER2.

[67] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [66], где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 3+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[68] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [66], где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как положительное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

[69] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [62]-[65], где рак представляет собой рак с низкой экспрессией HER2.

[70] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [69], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как отрицательное в отношении экспрессии HER2 методом гибридизации *in situ*.

[71] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [69], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[72] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по п. [69], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку >0 и <1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[73] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из [62]-[72], который проявляет значительно более сильный противоопухолевый эффект, чем однократное введение конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство.

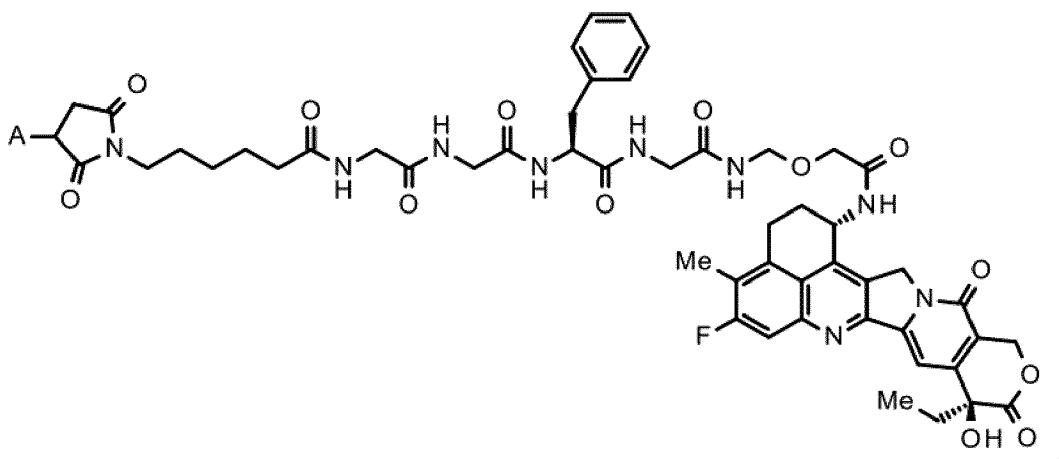
[74] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [62]-[73], который предназначен для применения при лечении рака, не поддающегося лечению однократным введением конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство.

[75] Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство по любому из пп. [62]-[74], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER проявляют синергический противоопухолевый эффект.

[76] Применение конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство для изготовления лекарственного средства для лечения заболевания посредством введения в комбинации с ингибитором димеризации HER, где лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0029]

[Формула 7]



[0030]

где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2, конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь в конъюгате антитело против HER2-лекарственное средство.

[77] Применение по п. [76], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-3 SEQ ID NO: 7 и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8.

[78] Применение по п. [76], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариательную область тяжелой цепи, состоящую

из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10.

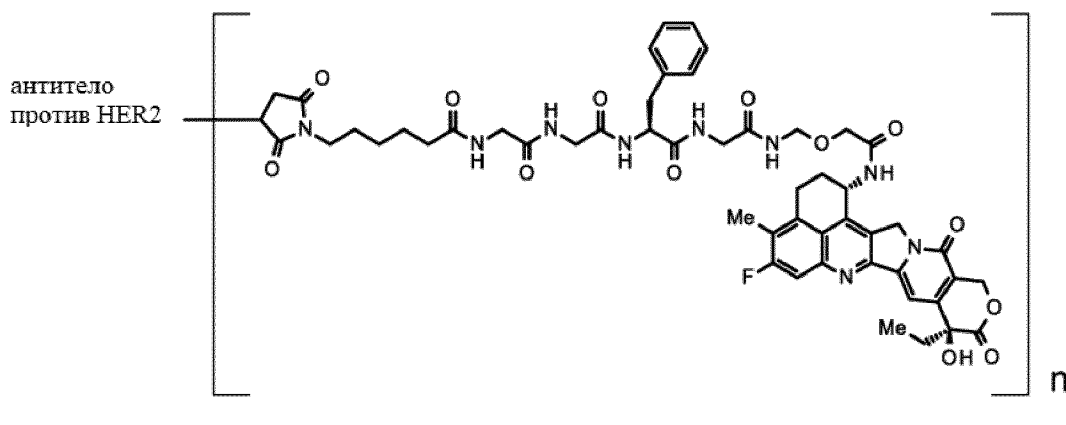
[79] Применение по п. [76], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

[80] Применение по п. [76], где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 12.

[81] Применение по любому из пп. [76]-[80], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представлен следующей формулой:

[0031]

[Формула 8]



[0032]

где лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом против HER2 посредством тиоэфирной связи; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкера на молекулу антитела, где n находится в диапазоне от 7 до 8.

[82] Применение по любому из пп. [76]-[81], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой трастузумаб дерукстекал.

[83] Применение по любому из пп. [76]-[82], где ингибитор димеризации HER представляет собой антитело, способное связываться с субдоменом II внеклеточного домена белка HER2.

[84] Применение по любому из пп. [76]-[82], где ингибитор димеризации HER представляет собой пертузумаб.

[85] Применение по любому из пп. [76]-[84], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER отдельно содержатся в качестве активных компонентов в разных составах и вводятся одновременно или в разное время.

[86] Применение по любому из пп. [76]-[84], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER содержатся в качестве активных

компонентов и вводятся в одном составе.

[87] Применение по любому из пп. [76]-[86], которое предназначено для лечения рака.

[88] Применение по п. [87], где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, уротелиального рака, гастроинтестинальной стромальной опухоли, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, перитонеального рака, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, рака эндометрия, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, мультиформной глиобластомы, саркомы, остеосаркомы и меланомы.

[89] Применение по п. [87], где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря и рака предстательной железы.

[90] Применение по п. [87], где рак представляет собой рак молочной железы.

[91] Применение по любому из пп. [87]-[90], где рак представляет собой рак со сверхэкспрессией HER2.

[92] Применение по п. [91], где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 3+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[93] Применение по п. [91], где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как положительное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

[94] Применение по любому из пп. [87]-[90], где рак представляет собой рак с низкой экспрессией HER2.

[95] Рак по п. [94], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как отрицательное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

[96] Применение по п. [94], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[97] Применение по п. [94], где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку >0 и $<1+$ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[98] Применение по любому из пп. [76]-[97], которое проявляет значительно более сильный противоопухолевый эффект, чем однократное введение конъюгата антител

против HER2-лекарственное средство.

[99] Применение по любому из пп. [76]-[98], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство предназначен для применения при лечении рака, не поддающегося лечению однократным введением конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство.

[100] Применение по любому из пп. [76]-[99], где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER проявляют синергетический противоопухолевый эффект.

Полезные эффекты изобретения

[0033]

В настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, где специфический конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER вводятся в комбинации, и/или способ лечения, включающий введение пациенту конъюгата специфического антитела против HER2-лекарственного средства и ингибитора димеризации HER в комбинации.

Краткое описание чертежей

[0034]

[Фигура 1] На Фигуре 1 показана аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела против HER2 (SEQ ID NO: 1).

[Фигура 2] На Фигуре 2 показана аминокислотная последовательность легкой цепи антитела против HER2 (SEQ ID NO: 2).

[Фигура 3] На Фигуре 3 показана аминокислотная последовательность CDRH1 антитела против HER2 (SEQ ID NO: 3).

[Фигура 4] На Фигуре 4 показана аминокислотная последовательность CDRH2 антитела против HER2 (SEQ ID NO: 4).

[Фигура 5] На Фигуре 5 показана аминокислотная последовательность CDRH3 антитела против HER2 (SEQ ID NO: 5).

[Фигура 6] На Фигуре 6 показана аминокислотная последовательность CDRL1 антитела против HER2 (SEQ ID NO: 6).

[Фигура 7] На Фигуре 7 показана аминокислотная последовательность, включающая аминокислотную последовательность CDRL2 (SAS) антитела против HER2 (SEQ ID NO: 7).

[Фигура 8] На Фигуре 8 показана аминокислотная последовательность CDRL3 антитела против HER2 (SEQ ID NO: 8).

[Фигура 9] На Фигуре 9 показана аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи антитела против HER2 (SEQ ID NO: 9).

[Фигура 10] На Фигуре 10 показана аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи антитела против HER2 (SEQ ID NO: 10).

[Фигура 11] На Фигуре 11 показана аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела против HER2 (SEQ ID NO: 11).

[Фигура 12] На Фигуре 12 показана аминокислотная последовательность белка

HER2 (SEQ ID NO: 12).

[Фигура 13] Фигура 13 представляет собой диаграмму, показывающую эффекты подавления роста опухоли у мышей с подкожно трансплантированными клетками KPL4 в группах однократного введения HER2-ADC (1) и пертузумаба, соответственно, и в группе комбинированного введения HER2-ADC (1) и пертузумаба.

[Фигура 14] Фигура 14 представляет собой диаграмму, показывающую эффекты подавления роста опухоли у мышей с подкожно трансплантированными клетками MDA-MB-453 в группах однократного введения HER2-ADC (1) и пертузумаба, соответственно, и в группе комбинированного введения HER2-ADC (1) и пертузумаба.

Описание вариантов осуществления

[0035]

Далее описаны предпочтительные способы осуществления настоящего изобретения. Варианты осуществления, описанные ниже, даны просто для иллюстрации одного примера типичного варианта осуществления настоящего изобретения и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

[0036]

1. Определение

В настоящем изобретении «HER2», значение которого такое же, как у рецептора эпидермального фактора роста 2 человека (может также называться neu или ErbB-2), представляет собой трансмембранный рецептор, принадлежащий к рецептору эпидермального фактора роста (EGFR) подсемейства рецепторных тирозинкиназ вместе с HER1 (EGFR, ErbB-1), HER3 (ErbB-3) и HER4 (ErbB-4). Известно, что HER2 играет важную роль в росте, дифференцировке и/или выживании клеток в нормальных и опухолевых клетках за счет активации из-за аутофосфорилирования внутриклеточного остатка тирозина путем образования гетеродимера с HER1, HER3 или HER4.

[0037]

В настоящем изобретении термин «белок HER2» используется как синоним HER2. Экспрессию белка HER2 можно обнаружить с помощью метода, хорошо известного специалистам в данной области, такого как метод иммуногистохимии (ИНС).

[0038]

SEQ ID NO: 12 (Фигура 12) представляет аминокислотную последовательность белка HER2. В SEQ ID NO: 12 аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 1-652, упоминается как «внеклеточный домен белка HER2», аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 653-675, как «трансмембранный домен белка HER2», а аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 676-1255, как «внутриклеточный домен белка HER2».

[0039]

В настоящем изобретении «субдомен II внеклеточного домена белка HER2» соответствует аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 162-342 SEQ ID NO: 12.

[0040]

В настоящем изобретении «субдомен IV внеклеточного домена белка HER2» соответствует аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 475-641 SEQ ID NO: 12.

[0041]

В настоящем изобретении термин «ген HER2» имеет такое же значение, что и термин «онкоген, родственник рецептору эпидермального фактора роста 2 человека». Белок HER2 является одним из генных продуктов гена HER2.

[0042]

SEQ ID NO: 13 представляет собой нуклеотидную последовательность гена HER2 (кДНК).

[0043]

В настоящем изобретении термин «антитело против HER2» относится к антителу, которое специфически связывается с HER2 и предпочтительно обладает активностью интернализации в HER2-экспрессирующих клетках путем связывания с HER2, другими словами, к антителу, которое обладает активностью связывания с HER2, а затем перемещения в HER2-экспрессирующие клетки.

[0044]

В настоящем изобретении термины «рак» и «опухоль» используются как синонимы.

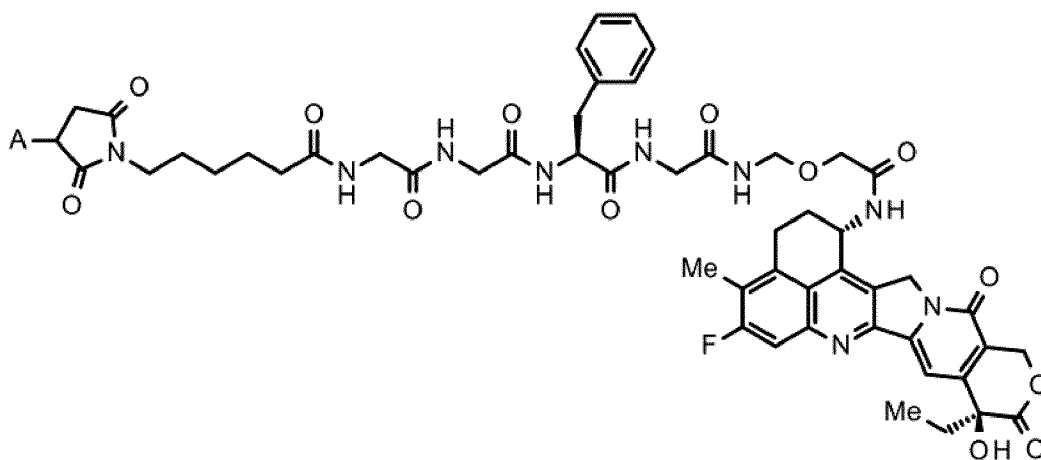
[0045]

2. Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство

Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, представляет собой конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, в котором лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0046]

[Формула 9]



[0047]

где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2,

конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь.

[0048]

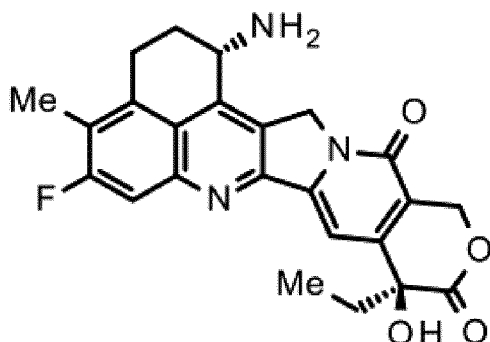
В настоящем изобретении частичная структура, состоящая из линкера и лекарственного средства в конъюгате антитело против HER2-лекарственное средство, называется «лекарственное соединение-линкер». Лекарственное средство-линкер связано с тиольной группой (другими словами, атомом серы остатка цистеина), образованной на участке межцепочечной дисульфидной связи (два участка между тяжелыми цепями и два участка между тяжелой и легкой цепями) в антителе.

[0049]

Лекарственное средство-линкер по настоящему изобретению включает в качестве компонента эксатекан (название IUPAC: (1S,9S)-1-амино-9-этил-5-фтор-1,2,3,9,12,15-гексагидро-9-гидрокси-4-метил-10H,13H-бензо[де]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10,13-дион (также выражается с помощью химического названия: (1S,9S)-1-амино-9-этил-5-фтор-2,3-дигидро-9-гидрокси-4-метил-1H,12H-бензо[де]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10,13(9H,15H)-дион)), являющийся ингибитором топоизомеразы I. Эксатекан представляет собой производное камптотецина, обладающее противоопухолевым действием, представленное следующей формулой:

[0050]

[Формула 10]



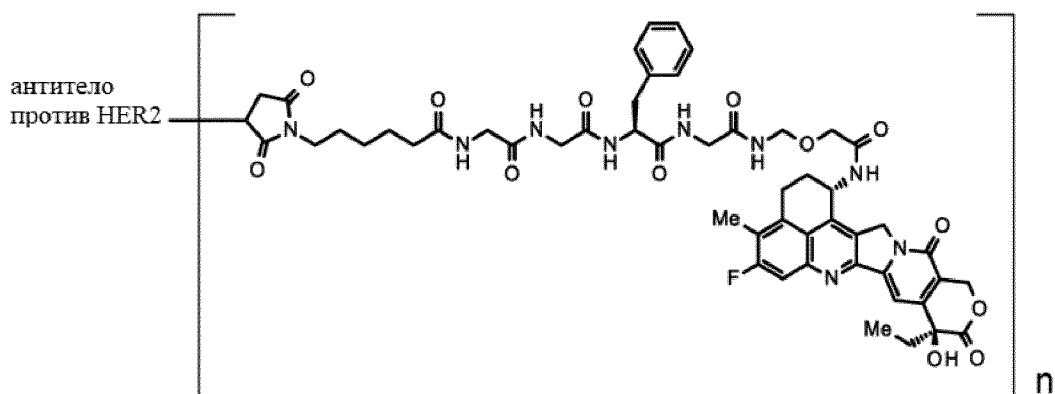
[0051]

[0052]

Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, также может быть представлен следующей формулой:

[0053]

[Формула 11]



[0054]

где лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом против HER2 посредством тиоэфирной связи. Значение n такое же, как и то, что называется средним количеством конъюгированных молекул лекарственного средства (DAR; отношение лекарственного средства к антителу), и указывает среднее количество единиц конъюгированного лекарственного средства-линкера на молекулу антитела.

[0055]

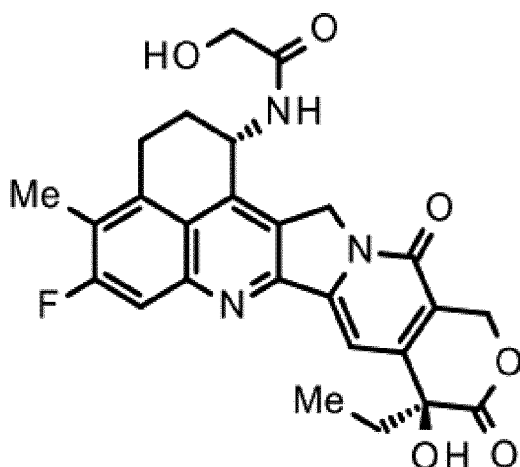
Среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкера на молекулу антитела в конъюгате антитело против HER2-лекарственное средство, используемом в настоящем изобретении, предпочтительно составляет от 2 до 8, более предпочтительно от 3 до 8, еще более предпочтительно от 7 до 8, еще более предпочтительно от 7,5 до 8 и даже более предпочтительно примерно 8.

[0056]

После миграции в опухолевые клетки конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, расщепляется по линкерной части с высвобождением соединения, представленного следующей формулой:

[0057]

[Формула 12]



[0058]

[0059]

Вышеупомянутое соединение, как предполагается, является первоначальным источником противоопухолевой активности вышеупомянутого конъюгата антитело против HER2 и лекарственного средства, используемого в настоящем изобретении, и было подтверждено, что оно обладает ингибирующим действием в отношении топоизомеразы I (Ogitani Y. et al., *Clinical Cancer Research*, 2016, Oct 15; 22(20): 5097-5108, Epub 2016 Mar 29).

[0060]

Также известно, что конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, обладает эффектом свидетеля (Ogitani Y. et al., *Cancer Science* (2016) 107, 1039-1046). Эффект свидетеля проявляется посредством такого процесса, как следующий: конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, интернализуется опухолевыми клетками, экспрессирующими мишень, и вышеупомянутое соединение оказывает противоопухолевое действие также на опухолевые клетки, которые присутствуют вокруг него и не экспрессируют мишень.

[0061]

Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, может быть получен в соответствии с описаниями в Международной публикации № WO 2015/115091 и так далее.

[0062]

Антитело против HER2 в конъюгате антитело против HER2-лекарственное средство, используемое в настоящем изобретении, предпочтительно представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 26-33 SEQ ID NO: 1), CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 51-58 SEQ ID NO: 1), и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 97-109 SEQ ID NO: 1), и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: NO: 6 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 27-32 SEQ ID NO: 2), CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-3 SEQ ID NO: 7 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 50-52 SEQ ID NO: 2), и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 89-97 SEQ ID NO: 2),

более предпочтительно антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 1-120 SEQ ID NO: 1), и легкую цепь, содержащую переменную область легкой

цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 1-107 SEQ ID NO: 2), и

еще более предпочтительно антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2, или антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1), и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

[0063]

Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, предпочтительно представляет собой трастузумаб дерукстекан.

[0064]

3. Производство антитела против HER2

Белок HER2, используемый в настоящем изобретении, можно применять путем прямой очистки из экспрессирующих HER2 клеток человека или млекопитающего, отличного от человека (крыса, мышь и т. д.), или путем получения фракции клеточных мембран клеток. В качестве альтернативы белок HER2 может быть получен путем синтеза HER2 *in vitro* или путем генетического конструирования клеток-хозяев для получения HER2. При генетическом конструировании, в частности, белок можно получить путем включения кДНК HER2 в вектор, способный его экспрессировать, а затем синтезировать белок в растворе, содержащем ферменты, субстраты и энергетические материалы, необходимые для транскрипции и трансляции, или путем трансформации клеток-хозяев другого прокариота или эукариота, чтобы позволить клеткам-хозяевам экспрессировать HER2. Кроме того, в качестве белка HER2 можно использовать описанные выше генетически сконструированные экспрессирующие HER2 клетки или клеточную линию, экспрессирующую HER2.

[0065]

Последовательность ДНК и аминокислотная последовательность HER2 доступны в общедоступных базах данных и, например, доступны под номерами доступа M11730 (Genbank), NP_004439.2 (NCBI) и так далее.

[0066]

Кроме того, HER2 включает белок, состоящий из аминокислотной последовательности, в которой 1 или несколько аминокислотных замен, делеций, добавлений и/или вставок были произведены в аминокислотной последовательности HER2, но сохраняющий биологическую активность, эквивалентную активности исходного белка.

[0067]

Белок HER2 человека состоит из сигнальной последовательности, состоящей из 22 аминокислотных остатков на N-конце, внеклеточного домена, состоящего из 630 аминокислотных остатков, трансмембранного домена, состоящего из 23 аминокислотных остатков, и внутриклеточного домена, состоящего из 580 аминокислотных остатков.

[0068]

Антитело против HER2, используемое в настоящем изобретении, может быть получено с помощью процедуры, известной в данной области. Например, антитело против HER2 можно получить, используя метод, обычно применяемый в данной области, который включает иммунизацию животных антигеном HER2 или любым полипептидом, выбранным из аминокислотной последовательности HER2, и сбор и очистку антител, полученных *in vivo*. Происхождение антигена не ограничивается человеком, и животных можно иммунизировать антигеном, полученным от животного, отличного от человека, такого как мышь, крыса и т. п. В этом случае перекрестная реактивность антител, связывающихся с полученным гетерологичным антигеном, с человеческими антигенами может быть протестирована для скрининга антитела против HER2, применимого для заболевания человека.

[0069]

Альтернативно, антителопродуцирующие клетки, которые продуцируют антитела против антигена, могут быть слиты с клетками миеломы в соответствии со способом, известным в данной области (например, Kohler and Milstein, *Nature* (1975) 256, p.495-497; Kennet, R. ied., *Monoclonal Antibodies*, p.365-367, Plenum Press, N.Y. (1980)), для создания гибридом, из которых, в свою очередь, можно получить моноклональные антитела.

[0070]

Антиген может быть получен путем генетического конструирования клеток-хозяев для получения гена, кодирующего антигенный белок. В частности, готовят векторы, которые обеспечивают экспрессию гена антигена, и переносят в клетки-хозяева, чтобы ген экспрессировался. Экспрессированный таким образом антиген может быть очищен. Антитело также может быть получено методом иммунизации животных описанными выше генетически сконструированными антиген-экспрессирующими клетками или клеточной линией, экспрессирующей антиген.

[0071]

Антитело против HER2, используемое в настоящем изобретении, предпочтительно представляет собой рекомбинантное антитело, полученное путем искусственной модификации с целью снижения гетерологичной антигенности по отношению к человеку, такое как химерное антитело или гуманизированное антитело, или предпочтительно антитело, имеющее только последовательность гена антитела, полученного от человека, то есть человеческое антитело. Эти антитела могут быть получены с использованием известного способа.

[0072]

В качестве химерного антитела может быть использовано антитело, в котором переменная и константная области антитела получены от разных видов, например, можно привести пример химерного антитела, в котором переменная область мышиного или крысиного антитела соединена с константной областью человеческого антитела (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 6851-6855, (1984)).

[0073]

В качестве примера гуманизированного антитела можно привести антитело, полученное путем интеграции только определяющей комплементарности области (CDR) гетерологичного антитела в антитело человеческого происхождения (Nature (1986) 321, pp. 522-525), антитело, полученное путем трансплантации части аминокислотных остатков каркаса гетерологичного антитела, а также последовательности CDR гетерологичного антитела на антитело человека методом CDR-трансплантации (WO 90/07861) и антитело, гуманизированное с использованием стратегии генного конверсионного мутагенеза (патент США № 5821337).

[0074]

В качестве примера человеческого антитела можно привести антитело, полученное с использованием мыши-продуцента человеческого антитела, имеющей фрагмент хромосомы человека, включающий гены тяжелой цепи и легкой цепи человеческого антитела (см. Tomizuka, K. et al., Nature Genetics (1997) 16, p.133-143; Kuroiwa, Y. et. al., Nucl. Acids Res. (1998) 26, p.3447-3448; Yoshida, H. et. al., Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects vol.10, p.69-73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999; Tomizuka, K. et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 97, p.722-727, и т. д.). В качестве альтернативы можно привести в качестве примера антитело, полученное с помощью фагового дисплея, которое выбирают из библиотеки антител человека (см. Wormstone, I.M. et. al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002) 43 (7), p.2301-2308; Carmen, S. et. al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1 (2), p.189-203; Siriwardena, D. et. al., Ophthalmology (2002) 109 (3), p.427-431, и т. д.).

[0075]

В антитело против HER2, используемое в настоящем изобретении, также включены модифицированные варианты антитела. Модифицированный вариант относится к варианту, полученному путем химической или биологической модификации антитела по настоящему изобретению. Примеры химически модифицированного варианта включают варианты, включающие присоединение химического фрагмента к скелету аминокислоты, варианты, включающие присоединение химического фрагмента к N-связанной или O-связанной углеводной цепи и т. д. Примеры биологически модифицированного варианта включают варианты, полученные путем посттрансляционной модификации (как например, N- или O-гликозилирование, N- или C-концевой процессинг, дезамидирование, изомеризация аспарагиновой кислоты или окисление метионина), и варианты, к N-концу которых был добавлен остаток метионина путем экспрессии в прокариотической клетке-хозяине. Кроме того, антитело, меченное ферментом, антитело, меченное флуоресцентной меткой, и антитело, меченное аффинной меткой, также включены в значение модифицированного варианта. Такой модифицированный вариант антитела против HER2, используемый в настоящем изобретении, полезен для улучшения стабильности и удерживания в крови антитела, снижения его антигенности, обнаружения или выделения антитела или антигена и т. д.

[0076]

Кроме того, регулируя модификацию гликана, который связан с антителом против HER2, используемым в настоящем изобретении (гликозилирование, дефукозилирование и т. д.), можно усилить антителозависимую клеточную цитотоксическую активность. В качестве методики регуляции модификации гликана антител известны международная публикация № WO 99/54342, международная публикация № WO 00/61739, международная публикация № WO 02/31140 и др. Однако методики этим не ограничиваются. В антитело против HER2, используемое в настоящем изобретении, также включены антитела, в которых регулируется модификация гликана.

[0077]

Известно, что остаток лизина на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела, продуцируемого в культивируемой клетке млекопитающего, делетируется (*Journal of Chromatography A*, 705: 129-134 (1995)), и также известно, что два аминокислотных остатка (глицин и лизин) на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела, продуцируемого в культивируемой клетке млекопитающего, делетируются, а новый остаток пролина, расположенный на карбоксильном конце, амидируется (*Analytical Biochemistry*, 360: 75-83 (2007)). Однако такая делеция и модификация последовательности тяжелой цепи не влияют на антигенсвязывающую аффинность и эффекторную функцию (активация комплемента, антителозависимая клеточная цитотоксичность и т. д.) антитела. Следовательно, в антитело против HER2, используемое в настоящем изобретении, также включены антитела, подвергнутые такой модификации, и функциональные фрагменты антитела, а также делеционные варианты, в которых одна или две аминокислоты были делетированы на карбоксильном конце тяжелой цепи, варианты, полученные путем амидирования делеционных вариантов (например, тяжелая цепь, в которой амидирован карбоксильный концевой остаток пролина), и т. п. также включены. Тип делеционного варианта, имеющего делецию на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела против HER2, используемого в настоящем изобретении, не ограничивается указанными выше вариантами при условии сохранения антигенсвязывающей аффинности и эффекторной функции. Две тяжелые цепи, составляющие антитело против HER2, используемое в настоящем изобретении, могут быть одного типа, выбранного из группы, состоящей из полноразмерной тяжелой цепи и вышеописанного делеционного варианта, или могут быть комбинацией двух типов, выбранных из них. На соотношение количества каждого делеционного варианта может влиять тип культивируемых клеток млекопитающих, которые продуцируют антитело против HER2, используемое в настоящем изобретении, и условия культивирования; однако предпочтительным примером может служить антитело, в котором делетирован один аминокислотный остаток на карбоксильном конце в обеих из двух тяжелых цепей антитела против HER2, используемого в настоящем изобретении.

[0078]

Примерами изотипов антитела против HER2, используемых в настоящем изобретении, могут быть, например, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). Предпочтительно в

качестве примера можно привести IgG1 или IgG2. Их варианты можно использовать в качестве антитела против HER2 согласно настоящему изобретению.

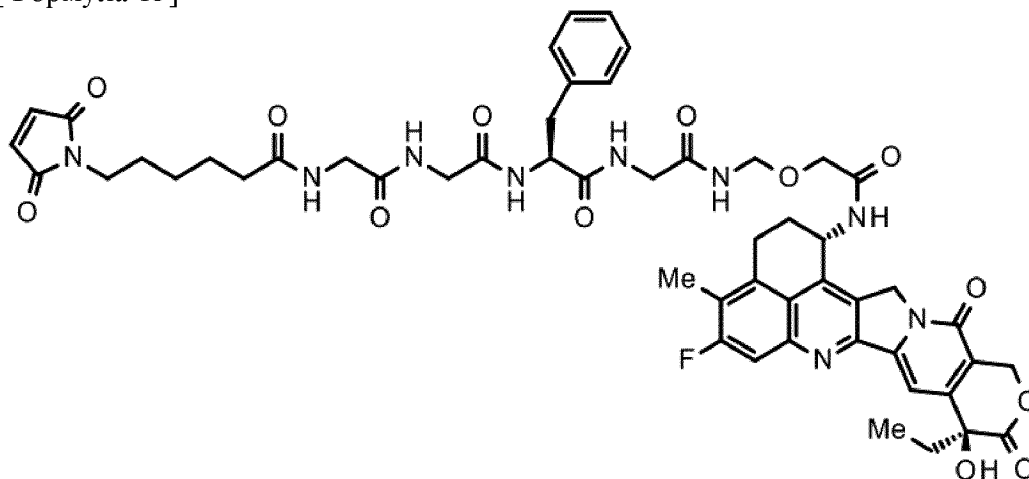
[0079]

4. Производство конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство

Промежуточное соединение лекарственное средство-линкер для применения в производстве конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство согласно настоящему изобретению представлено следующей формулой.

[0080]

[Формула 13]



[0081]

Промежуточное соединение лекарственное средство-линкер может быть выражено с использованием химического названия N-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексаноил] глицилглицил-L-фенилаланил-N-[(2-{[(1S,9S)-9-этил-5-фтор-9-гидрокси-4-метил-10,13-диоксо-2,3,9,10,13,15-гексагидро-1H,12H-бензо[де]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-1-ил]амино}-2-оксоэтокси)метил]глицинамид и может быть получено в соответствии с описаниями, приведенными в международной публикации № WO 2015/115091.

[0082]

Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, может быть получен реакцией описанного выше промежуточного соединения лекарственное средство-линкер и антитела против HER2, имеющего тиольную группу (альтернативно называемую сульфгидрильной группой).

[0083]

Антитело против HER2, имеющее сульфгидрильную группу, может быть получено способом, хорошо известным в данной области (Hermanson, G.T., Bioconjugate Techniques, pp. 56-136, pp. 456-493, Academic Press (1996)). Например, при использовании от 0,3 до 3 молярных эквивалентов восстанавливающего агента, такого как трис(2-карбоксиэтил)фосфингидрохлорид (ТСЕР), на межцепочечный дисульфид внутри антитела и при реакции с антителом против HER2м в буферном растворе, содержащем

хелатирующий агент, такой как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), можно получить антитело против HER2, имеющее сульфгидрильную группу с частично или полностью восстановленными межцепочечными дисульфидами внутри антитела.

[0084]

Кроме того, используя от 2 до 20 молярных эквивалентов промежуточного соединения лекарственное средство-линкер на одно антитело против HER2, имеющее сульфгидрильную группу, можно получить конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, в котором на молекулу антитела конъюгировано от 2 до 8 молекул лекарственного средства.

[0085]

Среднее количество конъюгированных молекул лекарственного средства на молекулу антитела полученного конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство можно определить, например, с помощью метода расчета, основанного на измерении УФ-поглощения конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство и его предшественника конъюгации при двух длинах волн 280 нм и 370 нм (УФ-метод), или с помощью метода расчета на основе количественного определения с помощью ВЭЖХ для фрагментов, полученных путем обработки конъюгата антитело-лекарственное средство восстанавливающим агентом (метод ВЭЖХ).

[0086]

Конъюгацию между антителом против HER2 и промежуточным соединением лекарственное средство-линкер и расчет среднего количества конъюгированных молекул лекарственного средства на молекулу антитела конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство можно выполнить со ссылкой на описания в Международной публикации № WO 2015/115091 и так далее.

[0087]

5. Ингибитор димеризации HER

В настоящем изобретении термин «ингибитор димеризации HER» относится к лекарственному средству, которое связывается с белком HER2 для ингибирования образования гетеродимера HER2 с HER1, HER3 или HER4. Ингибитор димеризации HER в настоящем изобретении не имеет ограничений при условии, что он представляет собой лекарственное средство, имеющее функцию, и предпочтительным примером могут служить антитела, способные связываться с субдоменом II внеклеточного домена белка HER2. Кроме того, более предпочтительным примером может служить пертузумаб.

[0088]

6. Лекарственное средство

Далее описаны фармацевтическая композиция и способ лечения в соответствии с настоящим изобретением, где вводят в комбинации конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER.

[0089]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут

быть такими, в которых конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER отдельно содержатся в качестве активных компонентов в разных составах и вводятся одновременно или в разное время, или могут быть такими, в которых конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER содержатся в качестве активных компонентов в одном составе и вводятся в нем же.

[0090]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению характеризуются тем, что они оказывают значительно более сильный противоопухолевый эффект, чем однократное введение конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство. Это позволяет лечить рак, не поддающееся лечению с использованием однократного введения конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство. Кроме того, фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению характеризуются тем, что они оказывают значительно более сильный противоопухолевый эффект, чем однократное введение ингибитора димеризации HER. Это позволяет лечить рак, не поддающееся лечению с использованием однократного введения ингибитора димеризации HER. Кроме того, фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению характеризуются тем, что конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER проявляют синергический противоопухолевый эффект.

[0091]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут быть использованы для лечения рака и предпочтительно могут быть использованы для лечения по меньшей мере одного заболевания, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы (включая трижды негативный рак молочной железы и люминальный рак молочной железы), рака желудка (также называемого аденокарциномой желудка), колоректального рака (также называемого раком толстой и прямой кишки, включая рак толстой кишки и рак прямой кишки), рака легкого (включая мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого), рака пищевода, рака головы и шеи (включая рак слюнных желез и рак глотки), аденокарциномы пищеводно-желудочного соединения, рака желчных путей (включая рак желчных путей), болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, желудочно-кишечной стромальной опухоли, рака шейки матки, плоскоклеточного рака, перитонеального рака, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, рака эндометрия, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, мультиформной глиобластомы, саркомы, остеосаркомы и меланомы; и более предпочтительно могут быть использованы для лечения по меньшей мере одного вида рака, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного соединения, рака

желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциномы матки, рака мочевого пузыря и рака предстательной железы.

[0092]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут быть предпочтительно использованы для лечения рака со сверхэкспрессией HER2. Наличие или отсутствие экспрессии HER2 можно проверить, например, путем сбора опухолевой ткани у онкопациента и исследования образца, фиксированного формалином, залитого в парафин (FFPE), на уровне продукта гена (белка), как например, методом иммуногистохимии (ИHC), проточной цитометрии, методом вестерн-блоттинга, или путем исследования на уровне транскрипции гена, как например, методом гибридизации *in situ* (ISH), методом количественной ПЦР (q-PCR) или анализом с использованием микрочипов; в качестве альтернативы, экспрессию также можно проверить путем сбора бесклеточной опухолевой ДНК, циркулирующей в крови (цДНК), у онкопациента и путем исследования с использованием такого метода, как секвенирование следующего поколения (NGS).

[0093]

Кроме того, фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению предпочтительно можно использовать не только для рака со сверхэкспрессией HER2, но также для рака с низкой экспрессией HER2 и рака с мутацией HER2.

[0094]

В настоящем изобретении термин «рак со сверхэкспрессией HER2» конкретно не ограничен, при условии, что он признан специалистами в данной области как рак со сверхэкспрессией HER2. Предпочтительные примеры рака со сверхэкспрессией HER2 могут включать рак, получившее оценку 3+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе, и рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как положительное по экспрессии HER2 методом гибридизации *in situ*. Способ гибридизации *in situ* по настоящему изобретению включает метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и метод двухцветной гибридизации *in situ* (DISH).

[0095]

В настоящем изобретении термин «рак с низкой экспрессией HER2» конкретно не ограничивается, если он признается специалистами в данной области как рак с низкой экспрессией HER2. Предпочтительные примеры рака с низкой экспрессией HER2 могут включать рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как отрицательное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*, рак, получившее оценку 1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе, или рак, получившее оценку 0+ и <1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

[0096]

Способ оценки степени экспрессии HER2 с помощью иммуногистохимического метода или способ определения позитивности или негативности экспрессии HER2 с

помощью метода гибридизации *in situ* особо не ограничивается, если он известен специалистам в данной области. Примеры способа могут включать способ, описанный в 4-м издании руководства по тестированию HER2 при раке молочной железы (разработанного Японским советом по патологии для оптимального использования HER2 при раке молочной железы).

[0097]

Рак с низкой экспрессией HER2, для которого можно использовать фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению, предпочтительно представляет собой рак молочной железы с низкой экспрессией HER2, рак желудка с низкой экспрессией HER2, колоректальный рак с низкой экспрессией HER2 или немелкоклеточный рак легкого с низкой экспрессией HER2 и, более предпочтительно, представляет собой рак молочной железы с низкой экспрессией HER2.

[0098]

В настоящем изобретении термин «рак с мутацией HER2» относится к раку с мутацией в аминокислотной последовательности белка HER2 или к раку с мутацией в гене HER2. Рак, включая опухолевые клетки с мутациями HER2, даже без наличия мутаций HER2 во всей опухолевой ткани, классифицируется как рак с мутациями HER2 (см. WO 2019/230645 и др.).

[0099]

Рак с мутациями HER2, для лечения которого можно использовать фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению, предпочтительно представляет собой немелкоклеточный рак легкого с мутациями HER2, рак желудка с мутациями HER2, рак молочной железы с мутациями HER2 или колоректальный рак с мутациями HER2, и более предпочтительно немелкоклеточный рак легкого с мутациями HER2 или рак желудка с мутациями HER2.

[0100]

Фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению можно предпочтительно использовать для млекопитающих и более предпочтительно можно использовать для человека.

[0101]

Противоопухолевый эффект фармацевтической композиции и способа лечения по настоящему изобретению может быть подтвержден, например, созданием модели, в которой опухолевые клетки трансплантируются подопытному животному, и измерением уменьшения объема опухоли, эффектов продления жизни вследствие применения фармацевтической композиции и способа лечения по настоящему изобретению. Кроме того, сравнение с противоопухолевым эффектом однократного введения каждого из конъюгата антител против HER2-лекарственное средство и ингибитора димеризации HER, используемых в настоящем изобретении, может обеспечить подтверждение комбинированного действия конъюгата антител против HER2-лекарственное средство и ингибитора димеризации HER, используемых в настоящем изобретении.

[0102]

Кроме того, противоопухолевый эффект фармацевтической композиции и способа лечения по настоящему изобретению может быть подтвержден в клиническом исследовании с помощью такого метода оценки, как критерии оценки ответа солидных опухолей (RECIST), метода оценки ВОЗ, метода оценки Макдональда, измерения массы тела и других методов; и может определяться такими показателями, как полный ответ (CR), частичный ответ (PR), прогрессирование заболевания (PD), частота объективного ответа (ORR), продолжительность ответа (DoR), выживаемость без прогрессирования (PFS) и общая выживаемость (OS).

[0103]

Вышеупомянутые методы могут обеспечить подтверждение превосходства в отношении противоопухолевого действия фармацевтической композиции и способа лечения по настоящему изобретению по сравнению с существующими фармацевтическими композициями и способами лечения для противоопухолевой терапии.

[0104]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут замедлять рост опухолевых клеток, подавлять их пролиферацию и, кроме того, могут уничтожать опухолевые клетки. Эти эффекты могут позволить онкопациентам избавиться от симптомов, вызванных онкологическим заболеванием, или могут улучшить качество жизни онкопациентов и достичь терапевтического эффекта, поддерживая жизнь онкопациентов. Даже если фармацевтическая композиция и способ лечения не обеспечивают уничтожения опухолевых клеток, они могут обеспечить более высокое качество жизни онкопациентов при достижении более длительного выживания за счет ингибирования или контроля роста опухолевых клеток.

[0105]

Можно ожидать, что фармацевтическая композиция по настоящему изобретению будет оказывать терапевтическое действие при применении в качестве системной терапии для пациентов и, кроме того, при местном применении к опухолевым тканям.

[0106]

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить в виде фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере один фармацевтически подходящий ингредиент. Фармацевтически подходящий ингредиент может быть соответствующим образом выбран и применен из добавок к составу и т. п., которые обычно используются в данной области, в соответствии с дозировкой, введением, концентрацией и т. п. конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство, используемого в настоящем изобретении, и ингибитора димеризации HER. Например, конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, можно вводить в виде фармацевтической композиции, содержащей буфер, такой как гистиридиновый буфер, вспомогательное вещество, такое как сахароза или трегалоза, и поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 80. Фармацевтическая композиция,

содержащая конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемая в настоящем изобретении, может быть предпочтительно использована в виде инъекции, более предпочтительно может быть использована в виде водного раствора для инъекции или лиофилизированного состава для инъекции и еще более предпочтительно может быть использована в виде лиофилизированного состава для инъекции.

[0107]

В случае если фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело против HER2 и лекарственное средство, используемая в настоящем изобретении, представляет собой водный раствор для инъекции, ее предпочтительно можно разбавить подходящим разбавителем и затем ввести в виде внутривенной инфузии. В качестве примера разбавителя можно привести раствор декстрозы, физиологический раствор и т. п., и предпочтительно можно указать раствор декстрозы, а более предпочтительно можно привести пример 5% раствора декстрозы.

[0108]

В случае, если фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, представляет собой лиофилизированный состав для инъекции, его предпочтительно можно растворить в воде для инъекции, затем необходимое количество можно разбавить подходящим разбавителем и затем ввести в виде внутривенной инфузии. В качестве примера разбавителя можно привести раствор декстрозы, физиологический раствор и т. п., предпочтительно раствор декстрозы, а более предпочтительно 5% раствор декстрозы.

[0109]

Примеры пути введения, который можно использовать для введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включают внутривенный, внутрикожный, подкожный, внутримышечный и внутрибрюшинный пути; и предпочтительно включают внутривенный путь.

[0110]

Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, можно вводить человеку один раз с интервалами от 1 до 180 дней и предпочтительно можно вводить один раз в неделю, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели или один раз в 4 недели и даже более предпочтительно можно вводить один раз в 3 недели. Кроме того, конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, можно вводить в дозе примерно от 0,001 до 100 мг/кг и предпочтительно вводить в дозе от 0,8 до 12,4 мг/кг. Конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, более предпочтительно можно вводить один раз в 3 недели в дозе 0,8 мг/кг, 1,6 мг/кг, 3,2 мг/кг, 5,4 мг/кг, 6,4 мг/кг, 7,4 мг/кг или 8 мг/кг, и даже более предпочтительно можно вводить один раз в 3 недели в дозе 5,4 мг/кг или 6,4 мг/кг.

[0111]

Ингибитор димеризации HER, используемый в настоящем изобретении

(предпочтительно, пертузумаб), можно предпочтительно вводить человеку в дозе 840 мг при первом введении, а затем один раз в 3 недели в дозе 420 мг.

[0112]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут дополнительно содержать противоопухолевый терапевтический агент, отличный от конъюгата антител против HER2-лекарственное средство и ингибитора димеризации HER, используемых в настоящем изобретении. Фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению также можно вводить в комбинации с другим противоопухолевым терапевтическим средством, усиливая тем самым противоопухолевый эффект. Другие противоопухолевые терапевтические агенты, используемые для такой цели, могут быть введены пациенту одновременно, отдельно или последовательно с фармацевтической композицией по настоящему изобретению или могут быть введены с изменением каждого интервала дозирования. Такие противоопухолевые терапевтические агенты ничем не ограничены, если они являются агентами, обладающими противоопухолевой активностью, и могут быть представлены по меньшей мере одним, выбранным из группы, состоящей из иринотекана (CPT-11), цисплатина, карбоплатина, оксалиплатина, фторурацила (5-ФУ), гемцитабина, капецитабина, паклитаксела, доцетаксела, доксорубицина, эпирубицина, циклофосфамида, митомицина С, комбинации тегафур-гимерацил-отацил, цетуксимаба, панитумумаба, бевацизумаба, рамуцирумаба, регорафениба, комбинации трифлуридин-типирацил, гефитиниба, эрлотиниба, афатиниба, афатиниба тамоксифена, торемифена, фулвестранта, лейпрорелина, гозерелина, летрозоло, анастрозола, препаратов прогестерона и лапатиниба.

[0113]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению также могут быть использованы в комбинации с лучевой терапией. Например, онкопациент может получать лучевую терапию до и/или после или одновременно с терапией фармацевтической композицией по настоящему изобретению.

[0114]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут также применяться в качестве адъювантной химиотерапии в комбинации с хирургической процедурой. Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить с целью уменьшения размера опухоли перед хирургической процедурой (называемой предоперационной адъювантной химиотерапией или неoadъювантной терапией) или ее можно вводить после хирургической процедуры с целью предотвращения рецидива опухоли (называемой послеоперационной адъювантной химиотерапией или адъювантной терапией).

Примеры

[0115]

Настоящее изобретение конкретно описано с учетом приведенных ниже примеров. Однако настоящее изобретение ими не ограничивается. Кроме того, его ни в коем случае

нельзя интерпретировать ограниченным образом.

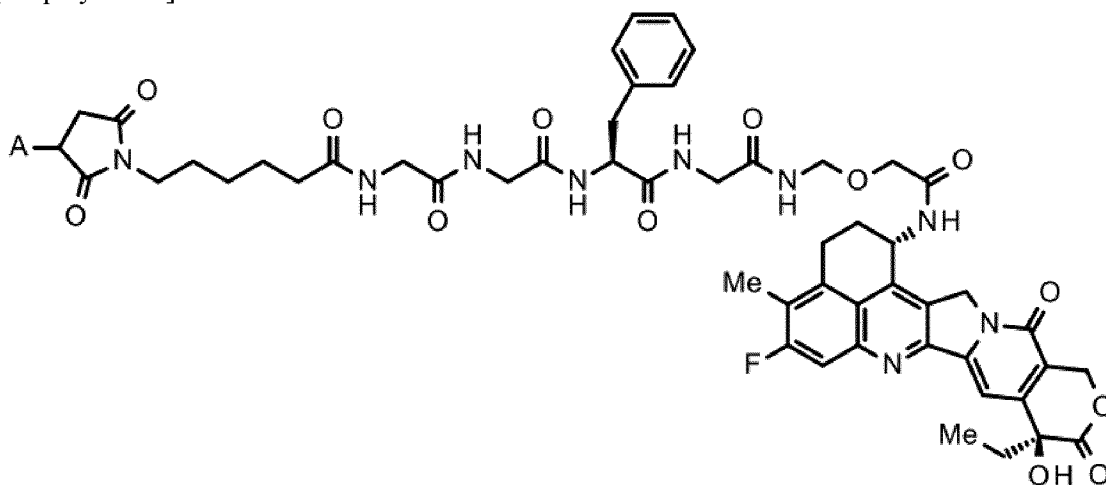
[0116]

Пример 1: Получение конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство

В соответствии со способом производства, описанным в Международной публикации No. WO 2015/115091, с использованием гуманизированного антитела против HER2 (антитела, содержащего тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11 (аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO : 1), и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2), получали конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство, в котором лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0117]

[Формула 14]



[0118]

где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2, конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь (далее обозначается «HER2-ADC (1)»). Значение DAR HER2-ADC (1) составило 7,8.

[0119]

Пример 2: Противоопухолевое исследование (1)

Мышь: экспериментам подвергали самок голых мышей BALB/с в возрасте 5-6 недель (CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC.).

[0120]

Формула измерения и расчета: во всех исследованиях большую и малую ось опухолей измеряли два раза в неделю с помощью электронного цифрового штангенциркуля и рассчитывали объем опухоли (мм³). Формула расчета приведена ниже.

Объем опухоли (мм³)= $\frac{1}{2}$ × Большая ось (мм) × [Малая ось (мм)]²

HER2-ADC (1) разводили буфером ABS (10 mM ацетатный буфер [pH 5,5], 5% сорбита) и вводили внутривенно в объеме жидкости 10 мл/кг в хвостовую вену. Пертузумаб разводили физиологическим раствором и вводили внутривенно в объеме жидкости 10 мл/кг

в хвостовую вену.

[0121]

Линия клеток рака молочной железы человека KPL-4 [British Journal of Cancer, (1999) 79 (5/6). 707-717], которая была получена от доктора Джуничи Куребаяси в Медицинской школе Кавасаки, суспендировали в физиологическом растворе, подкожно трансплантировали по $1,5 \times 10^7$ клеток в правый бок самок бестимусных мышей, и мышей случайным образом делили на группы через 17 дней после трансплантации (День 0). HER2-ADC (1) вводили внутривенно в хвостовую вену в дозе 7,5 мг/кг в день 0. Пертузумаб вводили внутривенно в хвостовую вену в дозе 30 мг/кг в день 0 и в дозе 15 мг/кг в день 7. Были созданы группы однократного введения каждого лекарственного средства, группа комбинированного введения и группа введения растворителя в качестве контрольной группы.

[0122]

Результаты комбинации HER2-ADC (1) и пертузумаба показаны на Фигуре 13. Однократное введение пертузумаба показало ингибирование роста опухоли (TGI) на 66% в день определения эффекта, а потери опухоли не было обнаружено ни в одном из шести случаев. Однократное введение HER2-ADC (1) показало TGI 83%, и потеря опухоли была обнаружена в одном из шести случаев. С другой стороны, комбинированное введение HER2-ADC (1) и пертузумаба продемонстрировало значительно лучший эффект подавления роста опухоли, чем однократное введение пертузумаба ($P < 0,001$ [рассчитано с помощью критерия Даннета; то же самое применимо и далее]) и показало TGI 100%, а потеря опухоли была обнаружена в четырех из шести случаев. Здесь на фигуре ось абсцисс представляет дни после первого введения, а продольная ось представляет объем опухоли. Кроме того, ни в одной из групп с однократным и комбинированным введением не наблюдалось каких-либо особенных заметных результатов, таких как потеря массы. К тому же, в следующих примерах оценки, относящихся к противоопухолевым исследованиям, если не указано иное, исследования проводят по процедуре, использованной в этом примере оценки.

[0123]

Пример 3: Противоопухолевое исследование (2)

Клетки линии MDA-MB-453 рака молочной железы человека (см. Breast Cancer Res. 2011 Aug 12; 13(4): 215, and J Mol Diagn. 2017 Mar; 19(2): 244-254, etc.), которые были приобретены в ATCC (Американская коллекция типовых культур), суспендировали в матрице Matrigel, подкожно трансплантировали по 1×10^7 клеток в правый бок самок бестимусных мышей, и мышей случайным образом делили на группы через 7 дней после трансплантации (день 0). HER2-ADC (1) вводили внутривенно в хвостовую вену в дозе 0,5 мг/кг в день 0. Пертузумаб вводили внутривенно в хвостовую вену в дозе 30 мг/кг в день 0 и в дозе 15 мг/кг в день 7 и день 14. Были созданы группы однократного введения каждого лекарственного средства, группа комбинированного введения и группа введения растворителя в качестве контрольной группы.

[0124]

Результаты комбинации HER2-ADC (1) и пертузумаба показаны на Фигуре 14. Однократное введение пертузумаба показало TGI 95% в день определения эффекта, а потеря опухоли была обнаружена в трех из шести случаев. Однократное введение HER2-ADC (1) показало TGI 74%, а потери опухоли не было обнаружено ни в одном из шести случаев. С другой стороны, комбинированное введение HER2-ADC (1) и пертузумаба продемонстрировало значительно лучший эффект подавления роста опухоли, чем однократное введение HER2-ADC (1) ($P < 0,001$), и показало TGI 99% и потерю опухоли обнаружили в пяти из шести случаев. Кроме того, ни в одной из групп с однократным и комбинированным введением не наблюдалось каких-либо особенных заметных результатов, таких как потеря массы.

Список последовательностей в свободном виде

[0125]

SEQ ID NO: 1 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела против HER2.

SEQ ID NO: 2 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела против HER2.

SEQ ID NO: 3 - Аминокислотная последовательность CDRH1 антитела против HER2.

SEQ ID NO: 4 - Аминокислотная последовательность CDRH2 антитела против HER2.

SEQ ID NO: 5 - Аминокислотная последовательность CDRH3 антитела против HER2.

SEQ ID NO: 6 - аминокислотная последовательность CDRL1 антитела против HER2.

SEQ ID NO: 7 - Аминокислотная последовательность, включающая аминокислотную последовательность CDRL2 (SAS) антитела против HER2.

SEQ ID NO: 8 - Аминокислотная последовательность CDRL3 антитела против HER2.

SEQ ID NO: 9 - Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи антитела против HER2.

SEQ ID NO: 10 - Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи антитела против HER2.

SEQ ID NO: 11 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела против HER2.

SEQ ID NO: 12 - Аминокислотная последовательность белка HER2.

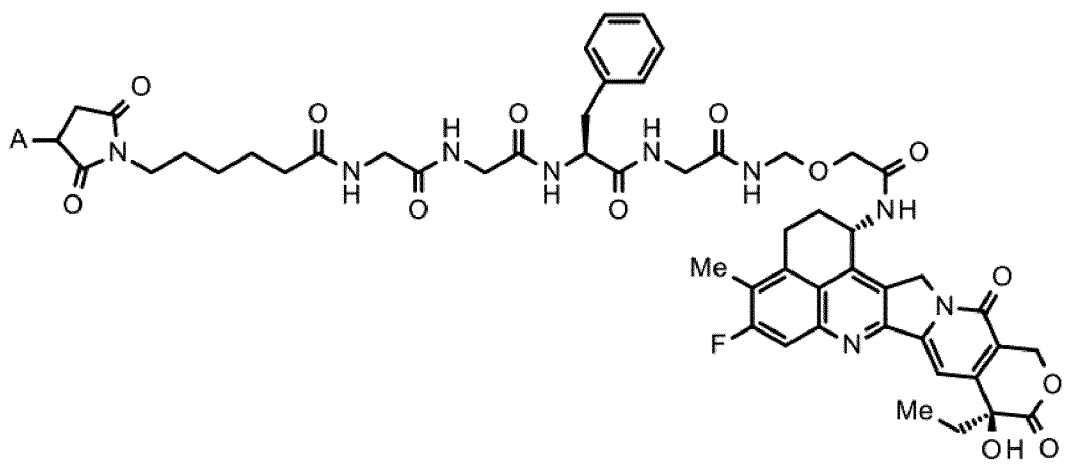
SEQ ID NO: 13 - Нуклеотидная последовательность гена HER2 (кДНК)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER вводят в комбинации, и

конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой конъюгат, в котором лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[Формула 1]



где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2, конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной аминокислотными остатками 1-3 SEQ ID NO: 7, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1, где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10.

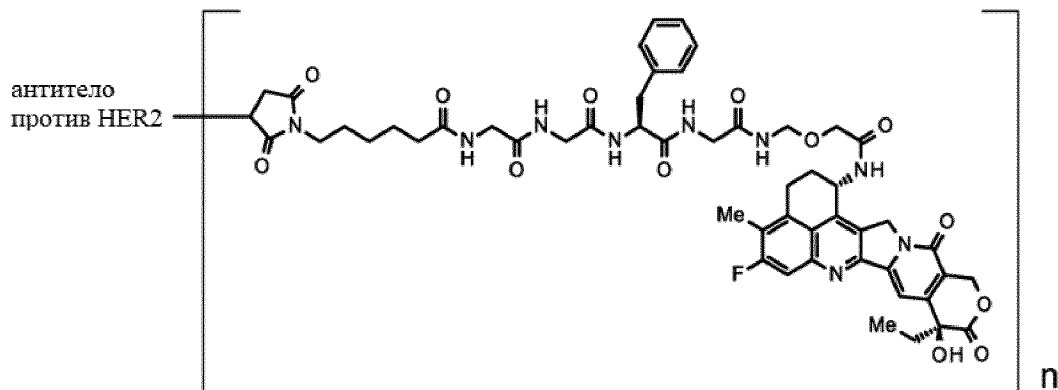
4. Фармацевтическая композиция по п. 1, где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

5. Фармацевтическая композиция по п. 1, где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной

последовательности SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представлен следующей формулой:

[Формула 2]



где лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом против HER2 посредством тиоэфирной связи; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкера на молекулу антитела, где n находится в диапазоне от 7 до 8.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-6, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой трастузумаб дерукстекан.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, где ингибитор димеризации HER представляет собой антитело, способное связываться с субдоменом II внеклеточного домена белка HER2.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, где ингибитор димеризации HER представляет собой пертузумаб.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER отдельно содержатся в качестве активных компонентов в разных составах и вводятся одновременно или в разное время.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER содержатся в качестве активных компонентов и вводятся в одном составе.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-11, которая предназначена для применения при лечении рака.

13. Фармацевтическая композиция по п. 12, где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, уротелиального рака, гастроинтестинальной стромальной

опухоли, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, перитонеального рака, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, рака эндометрия, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмочитомы, миеломы, мультиформной глиобластомы, саркомы, остеосаркомы и меланомы.

14. Фармацевтическая композиция по п. 12, где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря и рака предстательной железы.

15. Фармацевтическая композиция по п. 12, где рак представляет собой рак молочной железы.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 12-15, где рак представляет собой рак со сверхэкспрессией HER2.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 3+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

18. Фармацевтическая композиция по п. 16, где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как положительное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

19. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 12-15, где рак представляет собой рак с низкой экспрессией HER2.

20. Фармацевтическая композиция по п. 19, где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как отрицательное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

21. Фармацевтическая композиция по п. 19, где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

22. Фармацевтическая композиция по п. 19, где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку >0 и <1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

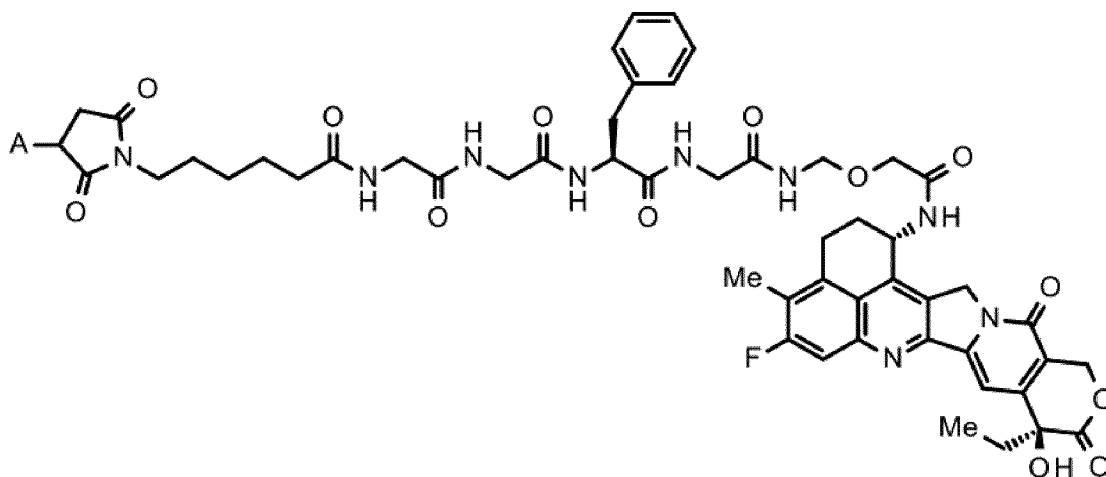
23. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 12-22, которая проявляет значительно более сильный противоопухолевый эффект, чем однократное введение конъюгата антител против HER2-лекарственное средство.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 12-23, которая предназначена для применения при лечении рака, не поддающегося лечению однократным введением конъюгата антител против HER2-лекарственное средство.

25. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 12-24, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER проявляют синергический противоопухолевый эффект.

26. Способ лечения, включающий введение конъюгата антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитора димеризации HER в комбинации пациенту, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой конъюгат, в котором лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[Формула 3]



где А представляет собой положение соединения с антителом против HER2, конъюгировано с антителом против HER2 через тиоэфирную связь.

27. Способ лечения по п. 26, где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной аминокислотными остатками 1-3 SEQ ID NO: 7, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8.

28. Способ лечения по п. 26, где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10.

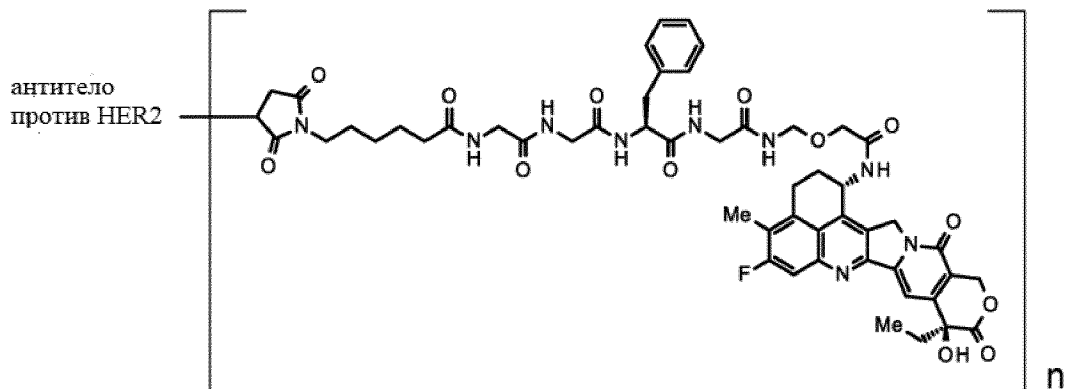
29. Способ лечения по п. 26, где антитело против HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

30. Способ лечения по п. 26, где антитело против HER2 представляет собой

антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

31. Способ лечения по любому из пп. 26-30, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представлен следующей формулой:

[Формула 4]



где лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом против HER2 посредством тиоэфирной связи; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкера на молекулу антитела, где n находится в диапазоне от 7 до 8.

32. Способ лечения по любому из пп. 26-31, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство представляет собой трастузумаб дерукстекан.

33. Способ лечения по любому из пп. 26-32, где ингибитор димеризации HER представляет собой антитело, способное связываться с субдоменом II внеклеточного домена белка HER2.

34. Способ лечения по любому из пп. 26-32, где ингибитор димеризации HER представляет собой пертузумаб.

35. Способ лечения по любому из пп. 26-34, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER отдельно содержатся в качестве активных компонентов в разных составах и вводятся одновременно или в разное время.

36. Способ лечения по любому из пп. 26-34, где конъюгат антитело против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER содержатся в качестве активных компонентов и вводятся в одном составе.

37. Способ лечения по любому из пп. 26-36, который предназначен для применения при лечении рака.

38. Способ лечения по п. 37, где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, уротелиального рака, гастроинтестинальной стромальной опухоли, рака шейки

матки, плоскоклеточной карциномы, перитонеального рака, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, рака эндометрия, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, мультиформной глиобластомы, саркомы, остеосаркомы и меланомы.

39. Способ лечения по п. 37, где рак представляет собой по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легких, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчных путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциносаркомы матки, рака мочевого пузыря и рака предстательной железы.

40. Способ лечения по п. 37, где рак представляет собой рак молочной железы.

41. Способ лечения по любому из пп. 37-40, где рак представляет собой рак со сверхэкспрессией HER2.

42. Способ лечения по п. 41, где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 3+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

43. Способ лечения по п. 41, где рак со сверхэкспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как положительное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

44. Способ лечения по любому из пп. 37-40, где рак представляет собой рак с низкой экспрессией HER2.

45. Способ лечения по п. 44, где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 2+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе и определенное как отрицательное в отношении экспрессии HER2 в методе гибридизации *in situ*.

46. Способ лечения по п. 44, где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку 1+ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

47. Способ лечения по п. 44, где рак с низкой экспрессией HER2 представляет собой рак, получившее оценку >0 и $<1+$ за экспрессию HER2 в иммуногистохимическом методе.

48. Способ лечения по любому из пп. 37-47, который проявляет значительно более сильный противоопухолевый эффект, чем однократное введение конъюгата антител против HER2-лекарственное средство.

49. Способ лечения по любому из пп. 37-48, который предназначен для применения при лечении рака, не поддающегося лечению однократным введением конъюгата антител против HER2-лекарственное средство.

50. Способ лечения по любому из пп. 37-49, где конъюгат антител против HER2-лекарственное средство и ингибитор димеризации HER проявляют синергический противоопухолевый эффект.

По доверенности

ФИГ. 1

SEQ ID No: 1 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи гуманизированного антитела против HER2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI
YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGG
DGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV
NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 2

SEQ ID No: 2 - Аминокислотная последовательность легкой цепи гуманизированного антитела против HER2

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS
FLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

ФИГ. 3

SEQ ID No: 3 - Аминокислотная последовательность CDRH1 антитела против HER2
GFNIKDTY

ФИГ. 4

SEQ ID No: 4 - Аминокислотная последовательность CDRH2 антитела против HER2
IYPTNGYT

ФИГ. 5

SEQ ID No: 5 - Аминокислотная последовательность CDRH3 антитела против HER2

SRWGGDGFYAMDY

ФИГ. 6

SEQ ID No: 6 - Аминокислотная последовательность CDRL1 антитела против HER2

QDVNTA

ФИГ. 7

SEQ ID No: 7 - Аминокислотная последовательность, включающая аминокислотную последовательность CDRL2 (SAS) антитела против HER2

SASFLYS

ФИГ. 8

SEQ ID No: 8 - Аминокислотная последовательность CDRL3 антитела против HER2

QQHYTTPPT

ФИГ. 9

SEQ ID No: 9 - Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи антитела против HER2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI
YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGG
DGFYAMDYWGQGTLVTVSS

ФИГ. 10

SEQ ID No: 10 - Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи антитела против HER2

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS
FLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K

ФИГ. 11

SEQ ID No: 11 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела против HER2

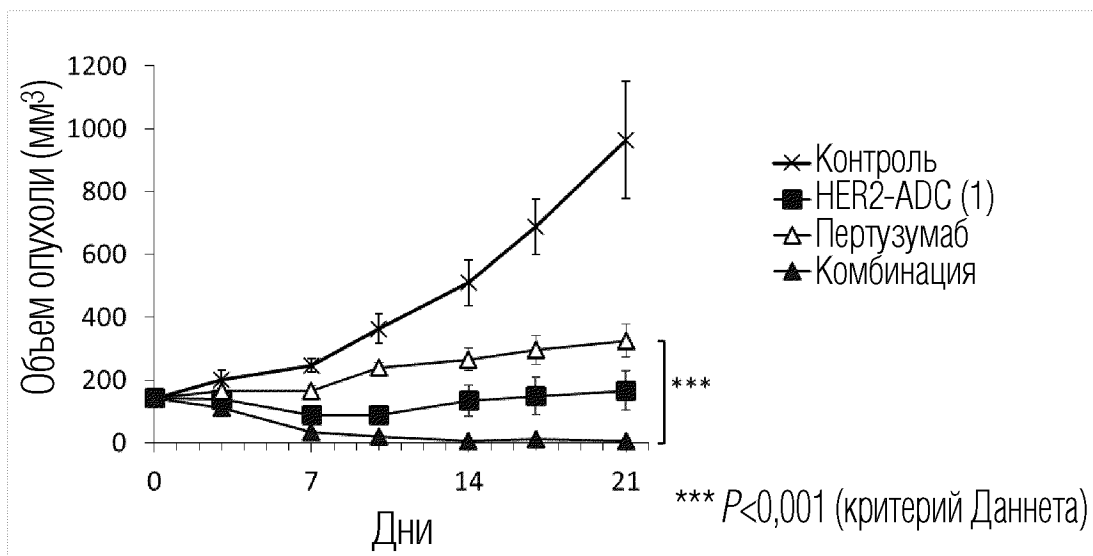
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI
YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGG
DGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV
NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

ФИГ. 12

SEQ ID No: 12 - Аминокислотная последовательность белка HER2

MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMLRLPASPETHLDMLRHLY
QGCQVVQGNLELTYPNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIV
RGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGGLRELQLRSLTEILKGGVL
IQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWG
ESSEDCQSLTRTVCAAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLH
FNHSGICELHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRTYFGASCVTACPYNYLSTDVG
SCTLVCPLHNQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSAN
IQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYISA
WPDSLPLDSVFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGISWLGLRSLRELGSGLAL
IHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDECVGEGlachQLCARG
HCWGPPTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPECQP
QNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEE
GACQPCPINCTHSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIISAVVGILLVVVLGVVFGIL
IKRRQKIRKYTMRRLLQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETELRKVKVL
GSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLRENTSPKANKEILDEAYVMAGVG
SPYVSRLLGICLTSTVQLVTQLMPYGCLLDHVRENRRGLGSQDLLNWCMI
AKGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSPNHVKITDFGLARLLDIDETEHAD
GGKVPIKWMALESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYDGIPAREI
PDLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSECRPRFRELVSEFSRMARDPQ
RFVVIQNEDLGPA SPLDSTFYRS LLEDDDMGDLVDAEEYLVPQQGFFCPDPA
PGAGGMVHHRHRSSSTRSGGGDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEGAGSDVFDG
DLGMGA AKGLQSLPTHDP SPLQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLTCSPQPEYV
NQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAGATLERPKTLSPGKNGVVKDVFAFGGAVE
NPEYLTPQGGAAPQPHPPAFSPAFDNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAE
NPEYLGLDVPV

ФИГ. 13



ФИГ. 14

