



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **128654** (13) **C2**
(51) МПК (2024.01)
C07K 16/32 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2021 04746 (22) Дата подання заявки: 13.03.2020 (24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 19.09.2024 (31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 62/818,556 (32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 14.03.2019 (33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US (41) Публікація відомостей про заявку: 24.11.2021, Бюл.№ 47 (46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 18.09.2024, Бюл.№ 38 (86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2020/022665, 13.03.2020	(72) Винахідник(и): Джунттіла Теему Т. (US), Лутскер Стюарт (US) (73) Володілець (володільці): ДЖЕНЕНТЕК, ІНК., 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990, United States of America (US) (74) Представник: Кістерський Кирило Арсенійович, реєстр. №207 (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Genentec: "A Phase I Study of BTRC4017A in Participants With Locally Advanced or Metastatic HER2-Expressing Cancers - NCT03448042 -"ClinicalTrials.gov, 27 February 2018 (2018-02-27). Retrieved from the Internet:URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03448042 ?term=BTRC4017A&draw=2&rank=1 [retrieved on 2020-05-28] ZHU Z et al. Engineering high affinity humanized anti-PI 85HER2/anti-CD3 bispecific F(AB')₂ for efficient lysis of P185HER2 overexpressing tumor cells / Zhenping ZHU, Gail D. LEW and Paul CARTERL // International journal of cancer, JOHN WILEY & SONS, INC, US. - 1995. - Vol. 62. - no. 3. - P. 319-324 KIEWE P et al. Phase I trial of the trifunctional anti-HER2 x anti-CD3 antibody ertumaxomab in metastatic breast cancer / Philipp Kiewe, Stephan Hasmu ller, Steffen Kahlert, Maja Heinrigs, Brigitte Rack, AlexanderMarme, Agnieszka Korfel, Michael Ja ger, Horst Lindhofer, Harald Sommer, Eckhard Thiel and Michael Untch // PROGRAM PROCEEDINGS - AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, ASCO, THE SOCIETY, US, 2005. - Vol. 23. - no. 16S. - P. 2530
--	--

(54) ЛІКУВАННЯ РАКУ БІСПЕЦИФІЧНИМИ АНТИТІЛАМИ ДО HER2XCD3 У КОМБІНАЦІЇ З МОНОКЛОНАЛЬНИМ АНТИТІЛОМ ДО HER2

(57) Реферат:

UA 128654 C2

Винахід стосується способу лікування HER2-позитивних видів раку (таких як HER2-позитивний рак молочної залози та HER2-позитивний рак шлунку) за допомогою антитіл до HER2, таких як комбінація залежного від Т-клітин біспецифічного (TDB) антитіла до HER2 із додатковим антитілом до HER2 (наприклад, трастузумабом).

Перелік послідовностей

У цій заявці міститься перелік послідовностей, який був представлений в електронному вигляді в форматі ASCII і повністю включений в цей документ за допомогою посилання. Вказана копія ASCII, створена 4 березня 2020 р., має назву 50474-197WO2_Sequence_Listing_3.4.20_ST25 і має розмір 8354 байт.

Галузь техніки винаходу

Цей винахід стосується лікування HER2-позитивних видів раку за допомогою антитіл до HER2, таких як комбінація залежного від Т-клітин біспецифічного (HER2 TDB) антитіла до HER2 з іншим антитілом до HER2.

Рівень техніки

Ракові захворювання характеризуються неконтрольованим ростом субпопуляцій клітин. Ракові захворювання є головною причиною смерті в розвинених країнах і другою головною причиною смерті в країнах, що розвиваються, при цьому щороку діагностують понад 14 мільйонів нових випадків раку та реєструють вісім мільйонів смертей. За оцінками Американського онкологічного суспільства у 2019 р. у Сполучених Штатах буде зареєстровано 1762450 нових випадків раку та 606880 смертей від раку. Оскільки чисельність населення старшого віку збільшилася, одночасно збільшилася частота захворюваності раком, оскільки ймовірність розвитку раку після сімдесяти зростає більше ніж у два рази. Таким чином, рак становить істотне та соціальне навантаження, що постійно зростає.

Види раку, позитивні щодо рецептора 2 людського епідермального фактора росту (HER2), такі як рак молочної залози та рак шлунку, представляють одні з найпоширеніших видів раку у світі. Місцево-розповсюджені та метастатичні HER2-позитивні раки молочної залози та шлунку здебільшого залишаються невиліковними захворюваннями, за яких у більшості пацієнтів спостерігається прогресування після отримання HER2-таргетної терапії. Хоча з введенням нових протиракових агентів було досягнуто значних успіхів, загальну виживаність було поліпшено ненабагато, а довгостроковий прогноз для пацієнтів із HER2-позитивними видами раку, у яких спостерігалось прогресування захворювання під час або після схеми лікування першої лінії, залишається невтішним.

Таким чином, у цій галузі існує незадоволена потреба в розробці безпечних і ефективних схем лікування HER2-позитивних видів раку.

Суть винаходу

Цей винахід стосується способів лікування суб'єкта, який має HER2-позитивний рак, за допомогою націлених на HER2 залежних від Т-клітин біспецифічних (TDB, від англ. "T cell-dependent bispecific") антитіл.

В одному аспекті у винаході запропонований спосіб лікування або вповільнення прогресування HER2-позитивного раку у суб'єкта, що потребує цього, який включає призначення суб'єкту схеми лікування, яка включає антитіло до HER2 (наприклад, антитіло до HER2, яке не є залежним від Т-клітин антитілом (TDB) до HER2, таке як моноспецифічне антитіло до HER2, наприклад моноспецифічне двовалентне антитіло до HER2, наприклад, трастузумаб) і HER2 TDB, що містить плече проти HER2 і плече проти CD3 (наприклад, BTRC4017A), при цьому як антитіло до HER2, так і HER2 TDB зв'язують домен IV HER2, і при цьому схема лікування спричиняє підвищення терапевтичного індексу HER2 TDB у порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2. У деяких варіантах здійснення підвищення терапевтичного індексу пов'язане зі зниженням ймовірності зазнати цільового/позапухлинного ефекту в порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2. У деяких варіантах здійснення цільовий/позапухлинний ефект являє собою симптом легеневої токсичності (наприклад, інтерстиціальне захворювання легенів, гострий респіраторний дистрес-синдром, задишка, кашель, стомлюваність і легеневі інфільтрати) і підвищений рівень печінкових ферментів, сухість у роті, сухість очей, мукозит, езофагіт і симптом з боку сечовивідної системи. У деяких варіантах здійснення підвищення терапевтичного індексу пов'язане зі зниженням ймовірності зазнати імуногенного побічного ефекту в порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2. Імуногенний побічний ефект може включати, наприклад, підвищений рівень антитіл до лікарського засобу, пов'язану з інфузією/введенням реакцію (ARR, від англ. "administration-related reaction"), дисфункцію серця, легеневу реакцію та синдром вивільнення цитокінів (CBQ).

У деяких варіантах здійснення HER2 TDB і антитіло до HER2 конкурентно зв'язуються з доменом IV HER2. У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 містить: (i) ділянку, що визначає комплементарність (CDR)-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 4; (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 містить варіабельний домен важкого ланцюга (V_H), що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності) з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 7, і/або варіабельний домен легкого ланцюга (V_L), що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності) з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 8. У конкретних варіантах здійснення V_H містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7 і/або V_L містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8.

У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 (наприклад, додаткове антитіло до HER2, яке не є HER2 TDB) є моноспецифічним та/або двовалентним до HER2. У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 являє собою повнорозмірне антитіло, яке містить Fc-ділянку (наприклад, трастузумаб). У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 являє собою модифікований варіант трастузумабу, наприклад, Fc-модифікований варіант трастузумабу, який містить одну або більше амінокислотних модифікацій, що зменшують ефекторну функцію (наприклад, одну або більше мутацій заміни, наприклад, в амінокислотному залишку L234, L235 і/або P329 (нумерація EU). Наприклад, у деяких варіантах здійснення одна або більше амінокислотних модифікацій включають мутації заміни L234A, L235A і P329G (LALAPG).

У деяких варіантах здійснення будь-якого з попередніх способів плече проти HER2 у HER2 TDB містить HER2-зв'язувальний домен, який містить: (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення HER2-зв'язувальний домен містить V_H , що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності) з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 7, і/або V_L , що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності) з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 8. У деяких варіантах здійснення V_H HER2-зв'язувального домену містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7 і/або V_L HER2-зв'язувального домену містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8.

У деяких варіантах здійснення плече проти CD3 у HER2 TDB містить CD3-зв'язувальний домен, який містить: (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; і (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14. У деяких варіантах здійснення CD3-зв'язувальний домен містить V_H , що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності) з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 15, і/або варіабельний V_L , що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності) з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 16. У деяких варіантах здійснення V_H CD3-зв'язувального домену містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15 і/або V_L CD3-зв'язувального домену містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

У деяких варіантах здійснення (i) плече проти HER2 у HER2 TDB містить HER2-зв'язувальний домен, що містить (а) V_H , який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, і (б) V_L , який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8, і (ii) плече проти CD3 у HER2 TDB містить CD3-зв'язувальний домен, що містить (а) V_H , який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і (б) V_L , який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. У деяких варіантах здійснення HER2 TDB являє собою BTRC4017A.

У деяких варіантах здійснення будь-якого з описаних у цьому документі способів HER2 TDB являє собою повнорозмірне антитіло, яке містить модифіковану Fc-ділянку. Модифікована Fc-ділянка може містити одну або більше мутацій заміни, які зменшують ефекторну функцію HER2 TDB. У деяких варіантах здійснення одна або більше мутацій заміни включають мутації в амінокислотних залишках L234, L235 і/або D265 (нумерація EU). У деяких варіантах здійснення одна або більше мутацій заміни являють собою L234A, L235A та D265A. У додатковому або альтернативному варіанті одна або більше мутацій заміни включають мутацію в сайті аглікозилювання (наприклад, мутацію в сайті аглікозилювання в амінокислотному залишку N297

(нумерація EU), наприклад, мутацію N297G або N297A в сайті аглікозилювання). У деяких варіантах здійснення модифікована Fc-ділянка містить мутації заміни N297G, L234A, L235A і D265A. У деяких варіантах здійснення HER2 TDB містить один або більше константних доменів важкого ланцюга, причому один або більше константних доменів важкого ланцюга є вибраними з першого домену CH1 (CH1₁), першого домену CH2 (CH2₁), першого домену CH3 (CH3₁), другого домену CH1 (CH1₂), другого домену CH2 (CH2₂) і другого домену CH3 (CH3₂). У деяких варіантах здійснення щонайменше один або більше константних доменів важкого ланцюга є спареним з іншим константним доменом важкого ланцюга, причому: (i) кожен із доменів CH3₁ і CH3₂ містить виступ або западину, і при цьому виступ або западина в домені CH3₁ може розміщуватися в западині або виступі, відповідно, в домені CH3₂; або (ii) кожен із доменів CH2₁ і CH2₂ містить виступ або западину, і при цьому виступ або западина в домені CH2₁ може розміщуватися в западині або виступі, відповідно, в домені CH2₂.

В іншому аспекті у винаході запропонований спосіб лікування або вповільнення прогресування HER2-позитивного раку (наприклад, HER2-позитивного раку молочної залози або HER2-позитивного раку шлунку) у суб'єкта, що потребує цього, який включає призначення суб'єкту схеми лікування, яка включає антитіло до HER2 і HER2 TDB, причому (а) антитіло до HER2 являє собою трастузумаб або Fc-модифікований варіант трастузумабу, і (б) HER2 TDB містить плече проти HER2 і плече проти CD3, причому плече проти HER2 містить HER2-зв'язувальний домен, що містить: (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; і причому плече проти CD3 містить CD3-зв'язувальний домен, що містить: (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; і (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; при цьому схема лікування спричиняє підвищення терапевтичного індексу HER2 TDB у порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2. Підвищення терапевтичного індексу може бути пов'язаним зі зниженням ймовірності зазнати цільового/позапухлинного ефекту в порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2. У деяких варіантах здійснення цільовий/позапухлинний ефект являє собою симптом легеневої токсичності (наприклад, інтерстиціальне захворювання легенів, гострий респіраторний дистрес-синдром, задишку, кашель, стомлюваність і легеневі інфільтрати) і підвищений рівень печінкових ферментів, сухість у роті, сухість очей, мукозит, езофагіт і симптом з боку сечовивідної системи. У деяких варіантах здійснення підвищення терапевтичного індексу пов'язане зі зниженням ймовірності зазнати імуногенного побічного ефекту в порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2. Імуногенний побічний ефект може включати, наприклад, підвищений рівень антитіл до лікарського засобу, пов'язану з інфузією/введенням реакцію (ARR, від англ. "administration-related reaction"), дисфункцію серця, легеневу реакцію та синдром вивільнення цитокінів (CBCL).

У деяких варіантах здійснення будь-якого з вищезгаданих аспектів антитіло до HER2 вводять перед введенням HER2 TDB.

У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 вводять у дозі від приблизно 5 мг/кг до приблизно 10 мг/кг (наприклад, від 5 мг/кг до 10 мг/кг або від 6 мг/кг до 8 мг/кг, наприклад, приблизно 5 мг/кг, приблизно 6 мг/кг, приблизно 7 мг/кг, приблизно 8 мг/кг, приблизно 9 мг/кг або приблизно 10 мг/кг). У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 вводять приблизно один раз кожні три тижні (Q3W).

У деяких варіантах здійснення HER2 TDB вводять у фіксованій дозі від 0,001 мг до 500 мг (наприклад, від 0,003 мг до 250 мг, від 0,005 мг до 200 мг, від 0,01 мг до 150 мг, від 0,05 мг до 120 мг, від 0,1 мг до 100 мг, від 0,5 мг до 80 мг або від 1,0 мг до 50 мг, наприклад, від 0,001 мг до 0,005 мг, від 0,005 мг до 0,01 мг, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг, від 90 мг до 100 мг, від 100 мг до 120 мг, від 120 мг до 150 мг, від 150 мг до 200 мг, від 200 мг до 250 мг, від 250 мг до 300 мг, від 300 мг до 350 мг, від 350 мг до 400 мг, від 400 мг до 450 мг або від 450 мг до 500 мг, наприклад, приблизно 0,003 мг, приблизно 0,005 мг, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7

мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг, приблизно 100 мг, приблизно 150 мг, приблизно 200 мг або приблизно 250 мг, наприклад, 0,003 мг, 0,009 мг, 0,027 мг, 0,081 мг, 0,24 мг, 0,72 мг, 1,08 мг, 1,51 мг, 2,2 мг, 2,3 мг, 4,0 мг, 4,6 мг, 6,6 мг, 8,0 мг, 9,2 мг, 12 мг, 13,2 мг, 14,8 мг, 18,4 мг, 19,8 мг, 26,4 мг, 36,8 мг, 51,5 мг, 52,8 мг, 61,3 мг, 72,1 мг, 105,6 мг, 147,8 мг, 176 мг або 207 мг). У деяких варіантах здійснення HER2 TDB вводять приблизно один раз кожні три тижні (Q3W).

У деяких варіантах здійснення будь-якого з описаних вище способів схема лікування включає: (а) першу дозу антитіла до HER2; (б) перший цикл дозування (C1) після першої дози антитіла до HER2, при цьому C1 включає першу дозу HER2 TDB (C1D1) і другу дозу HER2 TDB (C1D2), причому C1D2 є більшою за C1D1; (в) другий цикл дозування (C2) після C1, причому C2 включає: (i) другу дозу антитіла до HER2; і (ii) додаткову дозу HER2 TDB (C2D1) після другої дози антитіла до HER2, причому C2D1 є еквівалентною до найвищої дози HER2 TDB - C1.

В іншому аспекті винаходу в цьому документі запропонований спосіб лікування або вповільнення прогресування HER2-позитивного раку у суб'єкта, що потребує цього, який включає призначення суб'єкту схеми лікування, яка включає антитіло до HER2 і HER2 TDB, причому HER2 TDB містить плече проти HER2 і плече проти CD3, при цьому як антитіло до HER2, так і HER2 TDB зв'язують домен IV HER2, причому схема лікування включає: (а) першу дозу антитіла до HER2; (б) перший цикл дозування (C1) після першої дози антитіла до HER2, при цьому C1 включає першу дозу HER2 TDB (C1D1) і другу дозу HER2 TDB (C1D2), причому C1D2 є більшою за C1D1; (в) другий цикл дозування (C2) після C1, причому C2 включає: (i) другу дозу антитіла до HER2; і (ii) додаткову дозу HER2 TDB (C2D1) після другої дози антитіла до HER2, причому C2D1 є еквівалентною до найвищої дози HER2 TDB - C1.

У деяких варіантах здійснення першу дозу антитіла до HER2 вводять за один день до C1D1, і при цьому спостереження за суб'єктом проводять упродовж періоду від 30 хвилин до 24 годин (наприклад, від 30 хвилин до 2 годин, наприклад, від 30 хвилин до 90 хвилин, наприклад, упродовж 30 хвилин, 60 хвилин, 90 хвилин або 120 хвилин) між першою дозою антитіла до HER2 і C1D1.

У деяких варіантах здійснення перша доза антитіла до HER2 становить від 5 мг/кг до 10 мг/кг (наприклад, приблизно 6 мг/кг або приблизно 8 мг/кг). У деяких варіантах здійснення перша доза антитіла до HER2 становить 6 мг/кг. В інших варіантах здійснення перша доза антитіла до HER2 становить 8 мг/кг. У деяких варіантах здійснення друга доза антитіла до HER2 становить від 5 мг/кг до 10 мг/кг (наприклад, приблизно 6 мг/кг). У деяких варіантах здійснення друга доза антитіла до HER2 становить 6 мг/кг. У деяких варіантах здійснення першу та/або другу дозу антитіла до HER2 вводять шляхом інфузії впродовж періоду щонайменше 30 хвилин.

У деяких варіантах здійснення другу дозу антитіла до HER2 вводять того самого дня, що і C2D1. У деяких варіантах здійснення C1D2 щонайменше у два рази перевищує дозу C1D1 (наприклад, щонайменше в три рази перевищує дозу C1D1). У деяких варіантах здійснення C1D1 становить від 0,003 мг до 50 мг (наприклад, від 0,003 мг до 50 мг, від 0,005 мг до 20 мг, від 0,01 мг до 10 мг, від 0,05 мг до 8 мг або від 0,1 мг до 5 мг, наприклад, від 0,001 мг до 0,005 мг, від 0,005 мг до 0,01 мг, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг або від 40 мг до 50 мг, наприклад, приблизно 0,003 мг, приблизно 0,005 мг, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг або приблизно 50 мг). У деяких варіантах здійснення C1D1 становить 0,003 мг, 0,009 мг, 0,027 мг, 0,081 мг, 0,12 мг, 0,24 мг, 0,48 мг, 0,72 мг, 1,0 мг, 2,0 мг, 2,2 мг, 4,0 мг, 6,6 мг, 8,0 мг, 12 мг, 18 мг, 27 мг або 40,5 мг.

У деяких варіантах здійснення C1D2 становить від 0,009 мг до 200 мг (наприклад, від 0,01 мг до 150 мг, від 0,05 мг до 100 мг, від 0,1 мг до 50 мг, від 0,5 мг до 20 мг або від 1 мг до 10 мг, наприклад, від 0,009 мг до 0,01 мг, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг,

від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг, від 90 мг до 100 мг, від 100 мг до 120 мг, від 120 мг до 150 мг або від 150 мг до 200 мг, наприклад, приблизно 0,009 мг, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг, приблизно 100 мг, приблизно 150 мг або приблизно 200 мг). У деяких варіантах здійснення C1D2 становить 0,009 мг, 0,027 мг, 0,081 мг, 0,24 мг, 0,4 мг, 0,72 мг, 0,08 мг, 1,6 мг, 2,2 мг, 2,3 мг, 3,2 мг, 4,6 мг, 6,4 мг, 6,6 мг, 9,2 мг, 12,8 мг, 14,8 мг, 18,4 мг, 19,8 мг, 25,6 мг, 36,8 мг, 38,4, 51,5 мг, 57,6 мг, 72,1 мг, 86,4 мг, 61,3 мг або 129,6 мг.

У деяких варіантах здійснення, наприклад, за одноетапного фракціонування, C2D1 і C1D2 є еквівалентними.

У деяких варіантах здійснення C1 додатково включає третю дозу HER2 TDB (C1D3), причому C1D3 є більшою за C1D2. У деяких варіантах здійснення C1D1, C1D2 і C1D3 разом перевищують найбільшу дозовану дозу HER2 TDB у першому циклі дозування в схемі дозування з одноетапним фракціонуванням і збільшенням дози (наприклад, коли найбільша дозволена доза складає від приблизно 0,01 мг до приблизно 30 мг, наприклад, від 0,5 мг до 25 мг, від 1 мг до 20 мг або від 2 мг до 10 мг). У деяких варіантах здійснення C1D2 у два–десять разів (наприклад, у приблизно два рази, приблизно три рази, приблизно чотири рази, приблизно п'яти разів, приблизно шість разів, приблизно сім разів, приблизно вісім разів, приблизно дев'ять разів або приблизно десять разів) перевищує дозу C1D1. У деяких варіантах здійснення C1D3 у два–три рази перевищує дозу C1D2. У деяких варіантах здійснення C2D1 і C1D3 є еквівалентними.

У деяких варіантах здійснення C1D1 становить від 0,01 мг до 20 мг (наприклад, від 0,05 мг до 15 мг, від 0,1 мг до 10 мг або від 0,5 мг до 5 мг, наприклад, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 15 мг або від 15 мг до 20 мг, наприклад, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг або приблизно 20 мг).

У деяких варіантах здійснення C1D2 становить від 0,1 мг до 100 мг (наприклад, від 0,1 мг до 80 мг, від 0,5 мг до 50 мг або від 1 мг до 10 мг, наприклад, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг або від 90 мг до 100 мг, наприклад, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг або приблизно 100 мг).

У деяких варіантах здійснення C1D3 становить від 1 мг до 400 мг (наприклад, від 10 мг до 300 мг, від 20 мг до 200 мг або від 50 мг до 100 мг, наприклад, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг, від 90 мг до 100 мг, від 100 мг до 120 мг, від 120 мг до 150 мг, від 150 мг до 200 мг, від 200 до 250 мг, від 250 мг до 300 мг, від 300 мг до 350 мг або від 350 мг до 400 мг, наприклад, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг або приблизно 100 мг).

приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг, приблизно 100 мг, приблизно 150 мг, приблизно 200 мг, приблизно 250 мг, приблизно 300 мг, приблизно 350 мг або приблизно 400 мг). У деяких варіантах здійснення C1D3 становить 1,1 мг, 2,2 мг, 4,4 мг, 6,6 мг, 8,8 мг, 13,2 мг, 17,6 мг, 26,4 мг, 35,2 мг, 52,8 мг, 70,4 мг, 105,6 мг, 147,8 мг, 158,4 мг, 176 мг, 207 мг, 237,6 мг або 356,4 мг.

У деяких варіантах здійснення спосіб включає введення суб'єкту C1D1, C1D2 і C1D3 у дні або приблизно у дні 1, 8 і 15, відповідно, C1. У деяких варіантах здійснення тривалість C1 становить 21 день. У деяких варіантах здійснення тривалість C2 становить 21 день.

У деяких варіантах здійснення спосіб включає введення суб'єкту C2D1 у день 1 C2. У деяких варіантах здійснення схема лікування включає один або більше додаткових циклів дозування (наприклад, до 15 додаткових циклів дозування, наприклад, один, два, три, чотири, п'ять, шість, сім, вісім, дев'ять, десять, одинадцять, дванадцять, тринадцять, чотирнадцять або п'ятнадцять додаткових циклів дозування). У деяких варіантах здійснення тривалість кожного одного або більше додаткових циклів дозування становить 21 день. У деяких варіантах здійснення кожен з одного або більше додаткових циклів дозування включає одну дозу антитіла до HER2 та одну дозу HER2 TDB (наприклад, при цьому антитіло до HER2 вводять перед HER2 TDB у кожному з додаткових циклів дозування, наприклад, у день 1 кожного з додаткових циклів дозування). У деяких варіантах здійснення спосіб включає введення суб'єкту антитіла до HER2 і HER2 TDB у день 1 кожного з одного або більше додаткових циклів дозування.

В іншому аспекті у винаході запропонований спосіб лікування або уповільнення прогресування HER2-позитивного раку у суб'єкта, що потребує цього, який включає призначення суб'єкту схеми лікування, що включає HER2 TDB, причому схема лікування включає: (а) перший цикл (C1), який включає першу дозу HER2 TDB (C1D1) і другу дозу HER2 TDB (C1D2), причому C1D2 є більшою за C1D1; і (б) другий цикл (C2), який включає додаткову дозу HER2 TDB (C2D1), причому C2D1 є еквівалентною до найвищої дози HER2 TDB - C1. У деяких варіантах здійснення C1D2 щонайменше у два рази перевищує дозу C1D1 (наприклад, щонайменше в три рази перевищує дозу C1D1).

У деяких варіантах здійснення C1D1 становить від 0,003 мг до приблизно 10 мг (наприклад, від 0,005 мг до 9 мг, від 0,01 мг до 8 мг, від 0,05 мг до 7 мг або від 0,1 мг до 5 мг, наприклад, від 0,003 мг до 0,005 мг, від 0,005 мг до 0,01 мг, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг або від 5 мг до 10 мг, наприклад, приблизно 0,003 мг, приблизно 0,005 мг, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг або приблизно 10 мг).

У деяких варіантах здійснення C1D2 становить від 0,009 до приблизно 20 мг (наприклад, від 0,01 мг до 15 мг, від 0,05 мг до 10 мг, або від 0,1 мг до 5 мг, наприклад, від 0,009 мг до 0,01 мг, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 15 мг, або від 15 мг до 20 мг, наприклад, приблизно 0,009 мг, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг або приблизно 20 мг).

У деяких варіантах здійснення C2D1 і C1D2 є еквівалентними. В інших варіантах здійснення C1 додатково включає третю дозу HER2 TDB (C1D3), яка є більшою за C1D2. У деяких варіантах здійснення C1D1, C1D2 і C1D3 разом перевищують найбільшу дозволenu дозу HER2 TDB у першому циклі дозування в схемі дозування з одноетапним фракціонуванням і збільшенням дози. У деяких варіантах здійснення найбільша дозволена доза становить від приблизно 0,01 мг до приблизно 30 мг. У деяких варіантах здійснення C1D2 у два–десять разів перевищує дозу C1D1 (наприклад, у приблизно два рази, приблизно три рази, приблизно чотири рази, приблизно п'яти разів, приблизно шість разів, приблизно сім разів, приблизно вісім разів, приблизно дев'ять разів або приблизно десять разів перевищує дозу C1D1). У деяких варіантах здійснення C1D3 у два–три рази перевищує дозу C1D2. У деяких варіантах здійснення C2D1 і C1D3 є еквівалентними.

У деяких варіантах здійснення C1D1 становить приблизно 0,01 мг до 20 мг (наприклад, приблизно 0,01 мг до 15 мг, приблизно 0,05 мг до 10 мг або приблизно 0,1 мг до 5 мг, наприклад, приблизно 0,01 мг до 0,05 мг, приблизно 0,05 мг до 0,1 мг, приблизно 0,1 мг до 0,5 мг, приблизно 0,5 мг до 1,0 мг, приблизно 1,0 мг до 5 мг, приблизно 5 мг до 10 мг, приблизно 10 мг до 15 мг або приблизно 15 мг до 20 мг, наприклад, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг,

приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг або приблизно 20 мг).

У деяких варіантах здійснення C1D2 становить від 0,1 мг до 100 мг (наприклад, від 0,1 мг до 80 мг, від 0,5 мг до 50 мг або від 1 мг до 10 мг, наприклад, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг або від 90 мг до 100 мг, наприклад, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг або приблизно 100 мг).

У деяких варіантах здійснення C1D3 становить від 1 мг до 200 мг (наприклад, від 10 мг до 150 мг, від 20 мг до 120 мг або від 50 мг до 100 мг, наприклад, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг, від 90 мг до 100 мг, від 100 мг до 120 мг, від 120 мг до 150 мг або від 150 мг до 200 мг, наприклад, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг, приблизно 100 мг, приблизно 150 мг або приблизно 200 мг).

У деяких варіантах здійснення спосіб включає введення суб'єкту C1D1, C1D2 і C1D3 у дні або приблизно у дні 1, 8 і 15, відповідно, C1. У деяких варіантах здійснення тривалість C1 становить 21 день. У додатковому або альтернативному варіанті у деяких варіантах здійснення C2 становить 21 день. У деяких варіантах здійснення спосіб включає введення суб'єкту C2D1 у день 1 C2. Схема лікування може включати один або більше додаткових циклів дозування (наприклад, до 15 додаткових циклів дозування, наприклад, один, два, три, чотири, п'ять, шість, сім, вісім, дев'ять, десять, одинадцять, дванадцять, тринадцять, чотирнадцять або п'ятнадцять додаткових циклів дозування). У деяких варіантах здійснення кожен із додаткових циклів дозування становить 21 день. У деяких варіантах здійснення кожен із додаткових циклів дозування включає одну дозу HER2 TDB. У деяких варіантах здійснення спосіб включає введення суб'єкту HER2 TDB у день 1 кожного з одного або більше додаткових циклів дозування. У деяких варіантах здійснення будь-якого з попередніх аспектів антитіло до HER2 і/або HER2 TDB вводять шляхом внутрішньовенної інфузії (наприклад, за допомогою в/в пакету). У деяких варіантах здійснення схема лікування спричиняє підвищення терапевтичного індексу HER2 TDB у порівнянні з контрольною схемою лікування (наприклад, лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2 або схемою лікування без фракціонованого дозування).

У деяких варіантах здійснення будь-якого з попередніх аспектів спосіб додатково включає введення одного або більше додаткових терапевтичних агентів. Наприклад, один або більше додаткових терапевтичних агентів можуть являти собою тоцилізумаб, кортикостероїд, антагоніст осі PD-1 і кон'югат антитіло – лікарський засіб. У деяких варіантах здійснення антагоніст, що зв'язує вісь PD-1, є вибраним із групи, що складається з PD-L1-зв'язувального антагоніста (наприклад, MPDL3280A (атезолізумаб), YW243.55.S70, MDX-1105 або MEDI4736), PD-1-зв'язувального антагоніста (наприклад, MDX-1106 (ніволумаб), MK-3475 (пембролізумаб) і AMP-224) і PD-L2-зв'язувального антагоніста (наприклад, PD-L1-зв'язувального антитіла або імуноадгезину).

У деяких варіантах здійснення в попередній схемі лікування суб'єкту вводили трастузумаб (наприклад, як лікування HER2-позитивного раку).

У деяких варіантах здійснення HER2-позитивний рак являє собою HER2-позитивну солідну пухлину. У додатковому або альтернативному варіанті HER2-позитивний рак може являти

собою місцево-розповсюджений або метастатичний HER2-позитивний рак. У деяких варіантах здійснення HER2-позитивний рак являє собою HER2-позитивний рак молочної залози або HER2-позитивний рак шлунку (наприклад, HER2-позитивний рак стравохідно-шлункового переходу або HER2-позитивний колоректальний рак). У деяких варіантах здійснення HER2-позитивний рак є вибраним із групи, що складається з HER2-позитивного раку стравохідно-шлункового переходу, HER2-позитивного колоректального раку, HER2-позитивного раку легенів (наприклад, HER2-позитивної недрібноклітинної карциноми легенів), HER2-позитивного раку підшлункової залози, HER2-позитивного колоректального раку, HER2-позитивного раку сечового міхура, HER2-позитивного раку протоки слинної залози, HER2-позитивного раку яєчників (наприклад, HER2-позитивного епітеліального раку яєчників) або HER2-позитивного раку ендометрію.

Короткий опис графічних матеріалів

На Фіг. 1 наведено зображення кристалічної структури позаклітинного домену (ПКД) HER2, зв'язаного HER2-зв'язувальними доменами 4D5 (трастузумаб), 2C4 (пертузумаб) і 7C2.

На Фіг. 2 наведено імуноблот, що ілюструє відносну експресію білка HER2 клітинами MCF7, клітинами HT55 і клітинами KPL4.

На Фіг. 3А наведено графік, що ілюструє відношення знищення клітин KPL4 одним BTRC4017A (червоні кола); BTRC4017A + 230 мкг/мл трастузумабу (сині квадрати); і BTRC4017A + 60 мкг/мл трастузумабу (коричневі трикутники) залежно від концентрації BTRC4017A (нг/мл).

На Фіг. 3Б наведено графік, що ілюструє відношення знищення клітин HT55 одним BTRC4017A (червоні кола); BTRC4017A + 230 мкг/мл трастузумабу (сині квадрати); і BTRC4017A+60 мкг/мл трастузумабу (коричневі трикутники) залежно від концентрації BTRC4017A (нг/мл). Н/В = не визначено.

На Фіг. 4 наведено графік, що ілюструє зв'язування трастузумабу (червоні кола) і трастузумабу-LALAPG (сині квадрати) із клітинами SKBR3, що експресують HER2, залежно від концентрації. Зв'язування виявляли, використовуючи козине ФІТЦ-кон'юговане вторинне антитіло до антитіл людини, присутність якої кількісно оцінювали за середньою інтенсивністю флуоресценції (СІФ) методом проточної цитометрії.

На Фіг. 5А наведено ґратчастий графік, що ілюструє об'єм пухлин KPL4 упродовж курсу різних варіантів лікування в мишачій моделі. У верхньому ряду показаний ефект контрольних варіантів лікування; на графіку ліворуч показаний ріст пухлин у відповідь на ведення носія; на графіку посередині показаний ріст пухлин у відповідь на трастузумаб (ГЕРЦЕПТИН®) без моноклеарних клітин периферичної крові (МКПК); і на графіку справа показаний ріст пухлин у відповідь на трастузумаб (ГЕРЦЕПТИН®) із МКПК. У середньому ряду та нижньому ряду показаний ріст пухлин упродовж курсу лікування одним BTRC4017A і в комбінації з трастузумабом (ГЕРЦЕПТИН®), відповідно. У середньому ряду та нижньому ряду на графіку ліворуч показано показаний ріст у відповідь на 0,05 мг/кг BTRC4017A; на графіку посередині показаний ріст пухлин у відповідь на 0,5 мг/кг BTRC4017A; і на графіку справа показаний ріст пухлин у відповідь на 5,0 мг/кг BTRC4017A. Жирні суцільні лінії представляють апроксимований об'єм пухлин для кожної групи. Пунктирні лінії представляють апроксимований об'єм пухлин для контрольної групи носія. Сірі лінії представляють окремих тварин.

На Фіг. 5Б наведено ґратчастий графік, що ілюструє об'єм пухлин HT55 упродовж курсу різних варіантів лікування в мишачій моделі. У верхньому ряду показаний ефект контрольних варіантів лікування; на графіку ліворуч показаний ріст пухлин у відповідь на ведення носія; на графіку посередині показаний ріст пухлин у відповідь на трастузумаб (ГЕРЦЕПТИН®) без моноклеарних клітин периферичної крові (МКПК); і на графіку справа показаний ріст пухлин у відповідь на трастузумаб (ГЕРЦЕПТИН®) із МКПК. У середньому ряду та нижньому ряду показаний ріст пухлин упродовж курсу лікування одним BTRC4017A і в комбінації з трастузумабом (ГЕРЦЕПТИН®), відповідно. У середньому ряду та нижньому ряду на графіку ліворуч показано показаний ріст у відповідь на 0,05 мг/кг BTRC4017A; на графіку посередині показаний ріст пухлин у відповідь на 0,5 мг/кг BTRC4017A; і на графіку справа показаний ріст пухлин у відповідь на 5,0 мг/кг BTRC4017A. Жирні суцільні лінії представляють апроксимований об'єм пухлин для кожної групи. Пунктирні лінії представляють апроксимований об'єм пухлин для контрольної групи носія. Сірі лінії представляють окремих тварин.

Детальний опис варіантів здійснення винаходу

I. Визначення

Якщо не вказане інше, мається на увазі, що усі терміни, позначення й інша наукова термінологія, використовувані в цьому документі, мають значення, що традиційно є зрозумілими для фахівців у галузі техніки, до якої відноситься цей винахід. У деяких випадках терміни зі значеннями, що традиційно є зрозумілими, визначені в цьому документі для ясності та/або як

довідкового матеріалу, і включення таких визначень у цей документ не обов'язково слід тлумачити як таке, що становить істотну різницю із загальноприйнятими поняттями в цій галузі техніки.

У контексті цього документу термін "приблизно" стосується звичайного діапазону похибок для відповідного значення, добре відомого фахівцеві в цій галузі техніки. У контексті цього документу вживання слова "приблизно" щодо значення або параметра включає (і описує) варіанти здійснення, які стосуються безпосередньо цього значення або параметра.

У контексті цього документу форми однини включають і форми множини, якщо з контексту явно не виходить інше. Наприклад, посилання на "виділений пептид" означає один або більше виділених пептидів.

У цьому описі та формулі винаходу термін "містити" або його варіації, такі як "містить" або "що містить", слід розуміти як включення вказаного цілого числа або групи цілих чисел, але не виключення будь-якого іншого цілого числа або групи цілих чисел.

Термін "антитіло" в цьому документі використовується в самому широкому сенсі та включає різні структури антитіл, включаючи, без обмеження, моноклональні антитіла, поліклональні антитіла, мультиспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні антитіла) і фрагменти антитіл, за умови, що вони проявляють бажану антигензв'язувальну активність.

Термін "фрагмент антитіла" стосується молекули, відмінної від інтактного антитіла, що містить частину інтактного антитіла, яка зв'язує антиген, з яким зв'язується інтактне антитіло. Приклади фрагментів антитіл включають, без обмеження, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; діатіла; лінійні антитіла; молекули одноланцюгових антитіл (наприклад, scFv); та мультиспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл.

Під "антигензв'язувальним фрагментом" мається на увазі частина сполуки або молекули, яка специфічно зв'язується з цільовим епітопом, антигеном, лігандом або рецептором. Антигензв'язувальні домени включають, без обмеження, антитіла (наприклад, моноклональні, поліклональні, рекомбінантні, гуманізовані та химерні антитіла), фрагменти антитіл або їхні частини (наприклад, Fab-фрагменти, Fab'₂, scFv-антитіла, SMIP, доменні антитіла, діатіла, мінітіла, scFv-Fc, афітіла, нанотіла і VH- і/або VL-домени антитіл), рецептори, ліганди, аптамери й інші молекули, які мають певного партнера за зв'язуванням. "Афінно дозріле" антитіло стосується антитіла з однією або більше змінами в одній або більше гіперваріабельних ділянках (HVR) у порівнянні з вихідним антитілом, яке не містить такі зміни, при цьому такі зміни викликають покращення афінності антитіла щодо антигена.

Під "зв'язувальним доменом" мається на увазі частина сполуки або молекули, яка специфічно зв'язується з цільовим епітопом, антигеном, лігандом або рецептором. Зв'язувальні домени можуть бути частиною молекули, такої як антитіло (наприклад, моноклональне, поліклональне, рекомбінантне, гуманізоване та химерне антитіло), фрагментом антитіла або їхньою частиною (наприклад, Fab-фрагментом, Fab'₂, scFv-антитілом, SMIP, доменним антитілом, діатілом, scFv-Fc, афітілом, нанотілом і VH- і/або VL-доменом антитіла), рецепторами, лігандами, аптамерами й іншими молекулами, які мають певного партнера за зв'язуванням.

У контексті цього документу термін "ділянки, що визначають комплементарність" (CDR; тобто CDR1, CDR2 і CDR3) стосується амінокислотних залишків варіабельного домену антитіла, присутність яких потрібна для зв'язування антигена. Кожен варіабельний домен зазвичай містить три ділянки CDR, визначувані як CDR1, CDR2 і CDR3. Кожна ділянка, що визначає комплементарність, може містити амінокислотні залишки з "ділянки, що визначає комплементарність" за визначенням Kabat (тобто приблизно залишки 24–34 (L1), 50–56 (L2) і 89–97 (L3) у варіабельному домені легкого ланцюга (VL) і 31–35 (H1), 50–65 (H2) і 95–102 (H3) у варіабельному домені важкого ланцюга (VH); Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th

Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) і/або залишки з "гіперваріабельної петлі" (тобто приблизно залишки 26–32 (L1), 50–52 (L2) і 91–96 (L3) у варіабельному домені легкого ланцюга (VL) і 26–32 (H1), 53–55 (H2) і 96–101 (H3) у варіабельному домені важкого ланцюга (VH); Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). У деяких випадках ділянка, що визначає комплементарність, може містити амінокислоти як з ділянки CDR за визначенням Kabat, так і з гіперваріабельної петлі. Наприклад, CDRH1 важкого ланцюга антитіла 4D5 включає амінокислотні залишки від 26 до 35.

У цьому документі термін "Fc-ділянка" використовується для визначення C-кінцевої ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, яка містить щонайменше частину константної ділянки. Цей термін включає Fc-ділянки з нативною послідовністю та варіантні Fc-ділянки. В одному варіанті здійснення Fc-ділянка важкого ланцюга людського IgG простягається від Cys226 або від Pro230

до карбокси-кінця важкого ланцюга. При цьому С-кінцевий лізин (Lys447) Fc-ділянки може бути присутнім або ні. Якщо не вказане інше, нумерація амінокислотних залишків у Fc-ділянці або константній ділянці відповідає системі нумерації EU, яка також називається індексом EU, описаній у Kabat et al., вище.

5 Терміни "повнорозмірне антитіло", "інтактне антитіло" та "ціле антитіло" вживаються у цьому документі взаємозамінно для позначення антитіла, яке має структуру, по суті схожу з нативною структурою антитіла, або яке має важкі ланцюги, що містять Fc-ділянку, визначену в цьому документі.

10 "Ефекторні функції" стосуються тих біологічних властивостей, притаманних Fc-ділянці антитіла, які змінюються зі зміною ізотипу антитіла. Приклади ефекторних функцій антитіл включають: зв'язування C1q та комплемент-залежну цитотоксичність (КЗЦ); зв'язування Fc-рецепторів; антитілозалежну клітинноопосередковану цитотоксичність (АЗКЦ); фагоцитоз; пригнічення рецепторів клітинної поверхні (наприклад, В-клітинного рецептора); та активацію В-клітин.

15 "Каркасна ділянка" або "FR" стосується залишків варіабельного домену, відмінних від залишків гіперваріабельної ділянки (HVR). FR варіабельного домену в загальному випадку складається з чотирьох FR-доменів: FR1, FR2, FR3 і FR4. Відповідно, послідовності CDR і FR у загальному випадку розташовані в VH (або VL) у такому порядку: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

20 "Відсоток (%) ідентичності амінокислотної послідовності" або "відсоток (%) ідентичності послідовності" щодо референсної поліпептидної послідовності визначають як відсоткову долю амінокислотних залишків у кандидатній послідовності, які є ідентичними з амінокислотними залишками в референсній поліпептидній послідовності, після вирівнювання послідовностей і внесення, у разі потреби, гепів для досягнення максимального відсотка ідентичності послідовностей, і без урахування будь-яких консервативних замінів як частини ідентичності послідовності. Вирівнювання з метою визначення відсотку ідентичності амінокислотної послідовності може бути досягнуто різними способами, які відомі в цій галузі техніки, наприклад, із використанням загальнодоступного комп'ютерного програмного забезпечення, такого як програмне забезпечення BLAST, BLAST-2, ALIGN або Megalign (DNASTAR). Фахівці в цій галузі техніки можуть визначити відповідні параметри для вирівнювання послідовностей, у тому числі будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального вирівнювання по всій довжині послідовностей, що підлягають порівнянню. При цьому в цілях цього документа значення % ідентичності амінокислотної послідовності генерують за допомогою комп'ютерної програми порівняння послідовностей ALIGN-2. Комп'ютерна програма для порівняння послідовностей ALIGN-2 була розроблена Genentech, Inc., а початковий код був поданий разом із призначеною для користувача документацією в Бюро реєстрації авторських прав США, Вашингтон, округ Колумбія, 20559, де він зареєстрований під номером реєстрації авторського права США TXU510087. Програма ALIGN-2 є загальнодоступною від Genentech, Inc., Південний Сан-Франциско, Каліфорнія, або може бути скопійована з початкового коду. Програму ALIGN-2 потрібно компілювати для використання в операційній системі UNIX, в тому числі цифровій UNIX V4.0D. Усі параметри порівняння послідовностей встановлюються програмою ALIGN-2 і не змінюються.

45 У ситуаціях, коли ALIGN-2 використовують для порівняння амінокислотних послідовностей, % ідентичності амінокислотної послідовності певної амінокислотної послідовності А щодо, з або проти певної амінокислотної послідовності В (що в альтернативному варіанті можна виразити як певна амінокислота послідовність А, яка має або містить певний % ідентичності амінокислотної послідовності щодо, з або проти певної амінокислотної послідовності В), обчислюють таким чином:

100 помножити на дріб X/Y ,

50 де Х являє собою число амінокислотних залишків, оцінених як ідентичні збіги програмою вирівнювання послідовностей ALIGN-2 у вирівнюванні цієї програми А і В, і де Y являє собою загальне число амінокислотних залишків у В. Слід розуміти, що якщо довжина амінокислотної послідовності А не дорівнює довжині амінокислотної послідовності В, то % ідентичності амінокислотної послідовності А щодо В не буде дорівнює % ідентичності амінокислотної послідовності В щодо А. Якщо конкретно не зазначено інше, всі значення % ідентичності амінокислотної послідовності, використані у цьому документі, отримані, як описано в попередньому параграфі, за допомогою комп'ютерної програми ALIGN-2.

60 Термін "химерне" антитіло стосується антитіла, в якому частина важкого та/або легкого ланцюга отримана з конкретного джерела або виду, а решта важкого та/або легкого ланцюга отримана з іншого джерела або виду.

Термін "клас" антитіла стосується типу константного домену або константної ділянки, які має його важкий ланцюг. Існує п'ять основних класів антитіл: IgA, IgD, IgE, IgG та IgM і декілька з них можуть бути додатково розділені на підкласи (ізотипи), наприклад, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ та IgA₂. Константні домени важкого ланцюга, які відповідають різним класам імуноглобулінів, називаються α , δ , ϵ , γ та μ відповідно.

"Суб'єкт", "пацієнт" або "індивід" являє собою ссавця. Ссавці включають, без обмеження, одомашнених тварин (наприклад, корів, овець, котів, собак та коней), приматів (наприклад, людей і нелюдиноподібних приматів, , таких як мавпи), кроликів та гризунів (наприклад, мишей та щурів). У певних варіантах здійснення суб'єкт, пацієнт або індивід являє собою людину.

Термін "HER2-позитивний" рак включає ракові клітини, які мають вищий за нормальний рівень HER2. Приклади HER2-позитивного раку включають HER2-позитивний рак молочної залози та HER2-позитивний рак шлунка. У деяких варіантах здійснення HER2-позитивний рак є вибраним із групи, що складається з HER2-позитивного раку стравохідно-шлункового переходу, HER2-позитивного колоректального раку, HER2-позитивного раку легенів (наприклад, HER2-позитивної недрібноклітинної карциноми легенів), HER2-позитивного раку підшлункової залози, HER2-позитивного колоректального раку, HER2-позитивного раку сечового міхура, HER2-позитивного раку протоки спинної залози, HER2-позитивного раку яєчників (наприклад, HER2-позитивного епітеліального раку яєчників) або HER2-позитивного раку ендометрію. У деяких варіантах здійснення HER2-позитивний рак є місцево-розповсюдженим або метастатичним. Необов'язково, HER2-позитивний рак має імуногістохімічну (IHX) оцінку 2+ або 3 і/або коефіцієнт ампліфікації за *in situ* гібридизації (ISH) $\geq 2,0$. У деяких варіантах здійснення HER2-позитивний рак молочної залози визначений відповідно до посібника HER2 Testing in Breast Cancer Guideline: 2018 Focused Update (Wolff et al. J. Clin. Oncol. 2018, 36(20):2105-2122).

"Ефективна кількість" сполуки, наприклад, антитіла до HER2 (наприклад, HER2 TDB, трастузумабу або їх комбінації) являє собою щонайменше мінімальну кількість, необхідну для досягнення бажаного терапевтичного або профілактичного результату, такого як вимірюване поліпшення або відвертання конкретного порушення (наприклад, HER2-позитивного раку, наприклад, HER2-позитивного раку молочної залози або HER2-позитивного раку шлунку). Ефективна кількість у цьому документі може варіюватися в залежності від таких факторів, як стан хвороби, вік, стать та маса пацієнта та здатність антитіла викликати бажану відповідь в індивіда. Ефективна кількість є такою, для якої будь-які токсичні або шкідливі ефекти лікування переважені терапевтично сприятливими ефектами. У разі профілактичного застосування сприятливі або бажані результати включають результати, такі як усунення або зниження ризику, зменшення тяжкості або затримка початку захворювання, в тому числі біохімічних, гістологічних та/або поведінкових симптомів захворювання, його ускладнень і проміжних патологічних фенотипів, присутніх при розвитку захворювання. У разі терапевтичного застосування сприятливі або бажані результати включають клінічні результати, такі як зниження одного або більше симптомів, які виникають у результаті захворювання, підвищення якості життя людей, які страждають від цієї хвороби, зменшення дози інших лікарських засобів, необхідних для лікування захворювання, посилення ефекту іншого лікарського засобу, серед яких націлювання, уповільнення прогресування захворювання та/або збільшення виживаності. У разі раку або пухлини ефективна кількість лікарського засобу може мати ефект, що полягає в зниженні кількості ракових клітин (наприклад, клітин HER2-позитивного раку); зменшенні розміру пухлини; інгібуванні (тобто, уповільненні деякою мірою або, бажано, зупинці) інфільтрації ракових клітин у периферичні органи; інгібуванні (тобто, уповільненні деякою мірою або, бажано, зупинці) метастазування пухлини; інгібуванні деякою мірою росту пухлини; та/або полегшення деякою мірою одного або більше симптомів, пов'язаних із порушенням. Ефективну кількість можна вводити за один або більше прийомів. У цілях цього винаходу ефективна кількість лікарського засобу, сполуки або фармацевтичної композиції являє собою кількість, достатню для здійснення профілактичного або терапевтичного лікування безпосередньо або опосередковано. Як розуміється в клінічному контексті, ефективна кількість лікарського засобу, сполуки або фармацевтичної композиції може або не може бути забезпеченою в комбінації з іншим препаратом, сполукою або фармацевтичною композицією. Таким чином, "ефективну кількість" можна розглядати в контексті введення одного або більше терапевтичних агентів, і один агент можна розглядати як такий, що вводиться в ефективній кількості, якщо в комбінації з одним або більше іншими агентами може бути досягнуто бажаний результат.

Термін "терапевтичний індекс" стосується співвідношення між дозою терапевтичного агента (наприклад, HER2 TDB, наприклад, BTRC4017A), яка викликає токсичний ефект (наприклад, позапухлинний ефект), і дозою терапевтичного агента (наприклад, HER2 TDB, наприклад, BTRC4017A), достатньою для досягнення бажаного терапевтичного ефекту. Підвищений

терапевтичний індекс може бути отриманий, коли (а) дозу, достатню для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, зменшено в порівнянні з референсною схемою лікування, і/або (б) дозу, за якої терапевтичний агент викликає токсичний ефект (наприклад, максимальна переносима доза), підвищено в порівнянні з референсною схемою лікування. У разі визначення терапевтичного індексу дозу, достатню для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, можна визначити відповідно до об'єктивної відповіді суб'єкта на схему лікування. У деяких варіантах здійснення об'єктивна відповідь є повною відповіддю (ПВ) або частковою відповіддю (ЧВ) відповідно до RECIST v.1.1. У додатковому або альтернативному варіанті дозу, достатню для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, можна визначити відповідно до тривалості відповіді (ТВ) суб'єкта. У деяких варіантах здійснення ТВ є часом від першої появи задокументованої об'єктивної відповіді до часу першого задокументованого прогресування захворювання або смерті з будь-якої причини залежно від того, що настає раніше, відповідно до RECIST v.1.1. У разі визначення терапевтичного індексу дозу, за якої терапевтичний агент викликає токсичний ефект, можна визначити відповідно до наявності дозопімітуючої токсичності (ДЛТ), яка оцінюється відповідно до Загальних термінологічних критеріїв небажаних явищ Національного інституту раку (NCI CTCAE) v5.0, за винятком синдрому вивільнення цитокінів (СВЦ), який оцінюється відповідно до Модифікованої системи оцінки синдрому вивільнення цитокінів (дивіться таблиці 1 і 2 в розділі II – Терапевтичні методи).

"Вживаність" стосується збереження життя суб'єктом і включає виживаність без прогресування (ВБП) і загальну виживаність (ЗВ). Виживаність можна оцінювати методом Каплана-Мейєра, а будь-які різниці у виживаності обраховують із використанням стратифікованого логрангового критерію.

"Вживаність без прогресування (ВБП)" стосується часу від початку лікування (або рандомізації) до першого прогресування захворювання або смерті. Наприклад, вона є часом, упродовж якого суб'єкт залишається живим без рецидиву раку, наприклад, упродовж певного проміжку часу, такого як приблизно 1 місяць, 1,2 місяця, 2 місяці, 2,4 місяця, 2,9 місяця, 3 місяці, 3,5 місяця, 4 місяців, 6 місяців, 7 місяців, 8 місяців, 9 місяців, 1 рік, приблизно 2 роки, приблизно 3 роки тощо, від початку лікування або від первинного діагнозу. В одному аспекті винаходу ВБП можна оцінити за Критеріями оцінки відповіді при солідних пухлинах (RECIST v.1.1).

"Загальна виживаність (ЗВ)" стосується збереження життя суб'єктом упродовж певного проміжку часу, такого як приблизно 1 рік, приблизно 2 роки, приблизно 3 роки, приблизно 4 роки, приблизно 5 років, приблизно 10 років тощо, від початку лікування або від первинного діагнозу.

У контексті цього документу термін "цільовий/позапухлинний ефект" стосується ефекту, що асоціюється із зв'язуванням терапевтичного агента з асоційованою із захворюванням цільовою молекулою, яка експресується на здоровій клітині (наприклад, ефекту, що асоціюється із зв'язуванням HER2 TDB (наприклад, BTRC4017A) із молекулою HER2, яка експресується на здоровій клітині, наприклад, коли ефект є результатом Т-клітинної цитотоксичності, спрямованої на здорову клітину). У деяких варіантах здійснення цільовий/позапухлинний ефект являє собою симптом легеневої токсичності (наприклад, інтерстиціальне захворювання легенів, гострий респіраторний дистрес-синдром, задишку, кашель, стомлюваність і наявність легневих інфільтратів) і підвищений рівень печінкових ферментів, сухість у роті, сухість очей, мукозит, езофагіт і симптом з боку сечовивідної системи. У додатковому або альтернативному варіанті цільовий/позапухлинний ефект може бути будь-яким ефектом, викликаним аберантною функцією здорової клітини або тканини (тобто неракової клітини або тканини), що експресує HER2, причому аберантна функція пов'язана з введенням антитіла до HER2 (наприклад, TDB-антитіла до HER2, яке вводять за відсутності додаткового антитіла до HER2 (наприклад, коли TDB-антитіло до HER2 і додаткове антитіло до HER2 зв'язує домен IV у HER2). У деяких варіантах здійснення цільовий/позапухлинний ефект є імуногенним ефектом, таким як СВЦ, який оцінюється відповідно до Модифікованої системи оцінки синдрому вивільнення цитокінів (дивіться таблиці 1 і 2 у розділі II – Терапевтичні методи).

У контексті цього документу термін "кластер диференціювання 3" або "CD3" стосується будь-якого нативного CD3 з будь-якого джерела, що відноситься до хребетних, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, люди) і гризуни (наприклад, миші і щури), якщо не вказано інше, включаючи, наприклад, ланцюги CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 α і CD3 β . Цей термін охоплює "повнорозмірний" непроцесований CD3 (наприклад, непроцесований або модифікований CD3 ϵ або CD3 γ), а також будь-яку форму CD3, яка утворюється в результаті процесингу в клітині. Цей термін також охоплює варіанти CD3 природного походження, включаючи, наприклад, сплайс-варіанти або алельні варіанти. CD3 включає, наприклад, людський білок CD3 ϵ (реф. посл. NCBI № NP_000724), довжина якого становить 207 амінокислот, і людський білок CD3 γ (реф. посл.

NCBI № NP_000064), довжина якого становить 182 амінокислоти.

У контексті цього документу термін "HER2" стосується будь-якого нативного HER2 з будь-якого джерела, що відноситься до хребетних, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, люди) і гризуни (наприклад, миші та щури), якщо не вказано інше. Цей термін охоплює "повнорозмірний" непроцесований HER2, а також будь-які форми HER2, які утворюються в результаті процесингу в клітині. Цей термін також охоплює варіанти HER2 природного походження, включаючи, наприклад, сплайс-варіанти або алельні варіанти. HER2 включає, наприклад, людський білок HER2 (дивіться, наприклад, реф. посл. NCBI № NP_001276865), довжина якого становить 1240 амінокислот. Домен IV HER2 являє собою позаклітинну ділянку білка, яка розташована найближче до клітинної мембрани. Домен IV має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17.

У контексті цього документу термін "лікування" (і його граматичні варіанти, такі як "лікувати" або "такий, що лікує") означає клінічне втручання у спробі змінити природний перебіг захворювання індивіда, який підлягає лікуванню, і може проводитися як для профілактики, так і під час перебігу клінічної патології. Бажані ефекти лікування включають, без обмеження, запобігання появі або повторній появі захворювання, пом'якшення симптомів, зменшення будь-яких прямих або непрямих патологічних наслідків захворювання, запобігання метастазуванню, зниження швидкості прогресування захворювання, зменшення інтенсивності або тимчасове полегшення хворобливого стану та ремісію або поліпшення прогнозу. У деяких варіантах здійснення антитіла за винаходом застосовують для затримки розвитку захворювання або для уповільнення прогресування захворювання.

У контексті цього документу "затримка прогресування" порушення або захворювання означає відстрочення, гальмування, уповільнення, затримку, стабілізацію та/або відкладення розвитку захворювання або порушення (наприклад, HER2-позитивного раку, наприклад, HER2-позитивного раку молочної залози або HER2-позитивного раку шлунку). Це уповільнення може бути різним за тривалістю, в залежності від історії хвороби та/або індивіда, який підлягає лікуванню. Для фахівця в цій галузі техніки очевидно, що істотна або значна затримка може, на практиці, включати запобігання розвитку захворювання в індивіда. Наприклад, можна затримати пізню стадію раку, таку як розвиток метастазів.

Під терміном "знижувати" або "інгібувати" мається на увазі здатність спричиняти загальне зниження, що становить, наприклад, 20 % або більше, 50 % або більше або 75 %, 85 %, 90 %, 95 % або більше. У певних варіантах здійснення "знижувати" або "інгібувати" може стосуватися зниження або інгібування небажаних явищ (наприклад, цільових/позапухлинних ефектів або імуногенних ефектів), таких як викликана цитокінами цитотоксичність (наприклад, синдром вивільнення цитокінів (СВЦ)), пов'язані з інфузією реакції (IRR), синдром активації макрофагів (СМ), неврологічна токсичність, важкий синдром лізису пухлини (СЛП), нейтропенія, тромбоцитопенія, підвищені рівні печінкових ферментів і/або токсичність, пов'язана з центральною нервовою системою (ЦНС), після лікування HER2 TDB і додатковим антитілом до HER2 (наприклад, за допомогою схеми дозування з фракціонуванням і збільшенням дози за винаходом) у порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності додаткового антитіла до HER2 (наприклад, із застосуванням або без застосування фракціонованої схеми лікування). В інших варіантах здійснення терміни "знижувати" або "інгібувати" можуть стосуватися ефекторних функцій антитіла, опосередкованих Fc-ділянкою антитіла, при цьому такі ефекторні функції включають, зокрема, комплементзалежну цитотоксичність (КЗЦ), антитілозалежну клітинну цитотоксичність (АЗКЦ) і антитілозалежний клітинний фагоцитоз (АЗКФ).

У контексті цього документу термін "пухлина" стосується будь-яких неопластичних клітинного росту та проліферації, як злоякісних, так і доброякісних, і до будь-яких передзлаякісних і злоякісних клітин і тканин. Терміни "рак", "раковий", "клітинне проліферативне порушення", "проліферативне порушення" і "пухлина" не є взаємозаперечними в цьому документі.

У контексті цього документу "тиждень" становить 7 днів $\pm$ 2 дні.

У контексті цього документу термін "введення" означає спосіб введення суб'єкту дозування сполуки (наприклад, антитіла до HER2 або додаткового антитіла до HER2) або композиції (наприклад, фармацевтичної композиції, наприклад, фармацевтичної композиції, що містить антитіло до HER2). Сполуки та/або композиції, використовувані в способах, описаних у цьому документі, можна вводити, наприклад, внутрішньовенно (наприклад, шляхом внутрішньовенної інфузії), підшкірно, внутрішньом'язово, інтрадермально, черезшкірно, внутрішньоартеріально, внутрішньочеревно, внутрішньоосередково, внутрішньочерепно, внутрішньосуглобово, внутрішньопростатично, інтраплевраль, інтратрахеально, інтраназально, інтравітреально, інтравагінально, інтраректально, місцево, внутрішньопухлинно, перитонеально,

субкон'юнктивально, інтравезикулярно, мукозально, внутрішньоперикардіально, інтраумбілікально, інтраокулярно, перорально, місцево, локально, шляхом інгаляції, шляхом ін'єкції, шляхом інфузії, шляхом безперервної інфузії, шляхом локалізованої перфузії, що безпосередньо омиває цільові клітини, за допомогою катетера, за допомогою лаважа, у кремах або в ліпідній композиції. Спосіб введення може змінюватися в залежності від різних факторів (наприклад, з'єднання або композиції для введення, ступеня тяжкості патологічного стану, захворювання або порушення, що підлягає лікуванню).

Термін "вкладення в упакування" використовується для позначення інструкцій, що зазвичай включені в комерційні упакування терапевтичних

продуктів, які містять інформацію про показання, застосування, дозування, введення, комбіновану терапію, протипоказання та/або застереження щодо застосування таких терапевтичних продуктів.

II. Терапевтичні способи

У цьому винаході запропоновані вдосконалені способи введення антитіл до HER2 (наприклад, схема лікування, що включає введення HER2 TDB (наприклад, BTRC4017A) і додаткового антитіла до HER2 (наприклад, антитіла до HER2, яке не є TDB, таким як трастузумаб)). Такі способи можуть забезпечити підвищену специфічність до HER2-позитивних пухлин, тим самим зменшуючи небажані ефекти, такі як цільові/позапухлинні ефекти. Цей винахід заснований, щонайменше частково, на відкритті, що підвищення терапевтичного індексу можна забезпечити шляхом спільного лікування суб'єкта антитілом до HER2 (наприклад, двовалентним моноспецифічним антитілом до HER2, таким як трастузумаб) і HER2 TDB (наприклад, BTRC4017), яке зв'язується з тим самим доменом HER2, що й антитіло до HER2 (наприклад, доменом IV HER2). Підвищення терапевтичного індексу може бути пов'язаним зі зниженням ймовірності зазнати цільового/позапухлинного ефекту в порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2. У додатковому або альтернативному варіанті підвищення терапевтичного індексу може бути пов'язаним зі зниженням ймовірності зазнати імуногенного побічного ефекту в порівнянні з лікуванням іншим антитілом до HER2 за відсутності першого антитіла до HER2.

Цільові/позапухлинні ефекти можуть виникати в результаті зв'язування HER2 TDB з HER2, який експресує непухлинна клітина (наприклад, здорова клітина). Цільовий/позапухлинний ефект може являти собою симптом легеневої токсичності, такий як інтерстиціальне захворювання легенів, гострий респіраторний дистрес-синдром, задишка, кашель, стомлюваність і наявність легневих інфільтратів. У додатковому або альтернативному варіанті цільові/позапухлинні ефекти можуть бути пов'язаними з дисфункцією здорових клітин або тканин, що мають низьку або помірну експресію HER2, таких як епітеліальні клітини в шлунково-кишковому тракті, дихальних шляхах, статевих шляхах, сечовивідних шляхах, шкірі, молочній залозі та плаценті. Такі цільові/позапухлинні ефекти, які можна зменшувати або інгібувати описаними в цьому документі способами, включають, наприклад, підвищені рівні печінкових ферментів, сухість у роті, сухість очей, мукозит, езофагіт або симптоми з боку сечовивідної системи.

У разі визначення терапевтичного індексу дозу, достатню для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, можна визначити відповідно до об'єктивної відповіді (ОВ) суб'єкта на схему лікування. У деяких варіантах здійснення ОВ є повною відповіддю (ПВ) або частковою відповіддю (ЧВ) відповідно до RECIST v.1.1. У додатковому або альтернативному варіанті дозу, достатню для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, можна визначити відповідно до тривалості відповіді (ТВ) суб'єкта. У деяких варіантах здійснення ТВ є часом від першої появи задокументованої об'єктивної відповіді до часу першого задокументованого прогресування захворювання або смерті з будь-якої причини залежно від того, що настає раніше, відповідно до RECIST v.1.1. Відповідно, в деяких варіантах здійснення спосіб за цим винаходом дозволяє збільшити ТВ і/або подовжити виживаність суб'єкта (наприклад, загальну виживаність (ЗВ) або виживаність без прогресування (ВБП)).

У деяких варіантах здійснення підвищення терапевтичного індексу в результаті застосування схеми лікування за цим винаходом пов'язане зі зниженням ймовірності зазнати імуногенного побічного ефекту в порівнянні з лікуванням (наприклад, підвищення рівня антитіл до лікарського засобу, пов'язаної з інфузією/введенням реакції (ARR), дисфункції серця, легеневої реакції та синдрому вивільнення цитокінів).

У разі визначення терапевтичного індексу дозу, за якої терапевтичний агент викликає токсичний ефект, можна визначити відповідно до наявності дозолімітуючої токсичності (ДЛТ), яка оцінюється відповідно до NCI CTCAE v5.0 (за винятком синдрому вивільнення цитокінів (СВЦ)). У деяких варіантах здійснення ДЛТ являє собою будь-яке з наведених далі небажаних

явищ, що виникають під час періоду оцінки (наприклад, першого циклу дозування):

(а) ≥ 15 % зниження відносно початкового рівня фракції викиду лівого шлуночка (ФВЛШ) або ≥ 10 % зниження до менш ніж 50 % ФВЛШ;

(б) порушення функції печінки, наприклад, визначуване за такими показниками:

5 (і) АСТ або АЛТ > 3 х верхньої межі норми (ВМН) і загальний білірубін > 2 х ВМН, за виключенням: Якщо вищезгадане відбувається в контексті СВЦ ступеня ≤ 2 (за визначенням за допомогою критеріїв, встановлених у Lee et al. Blood 2014, 124:188-195), виправляється до ступеня ≤ 1 протягом < 3 днів, і жоден з індивідуальних лабораторних показників не має ступеня > 3 , це не вважається ДЛТ;

10 (іі) будь-яке підвищення АСТ або АЛТ до ступеня 3 за виключенням: Якщо вищезгадане відбувається в контексті СВЦ ступеня ≤ 2 (за визначенням за допомогою критеріїв, встановлених у Lee et al. Blood 2014, 124:188-195) або виправляється до ступеня ≤ 1 протягом < 3 днів, це не вважається ДЛТ. У пацієнтів з метастатичними ураженнями печінки тимчасове підвищення білірубину, трансаміназ і/або гамма-глутамілтрансферази (ГГТ) до ступеня 3, яке починається
15 після інфузії та виправляється до ступеня ≤ 2 або початкового рівня впродовж 1 тижня, не вважається ДЛТ;

(в) лімфопенія ступеня ≥ 3 , що триває > 7 днів;

(г) нейтропенія ступеня ≥ 4 (АКН < 500 клітин/мкл), що триває > 7 днів;

(д) фебрильна нейтропенія ступеня ≥ 3 ;

20 (е) анемія ступеня ≥ 4 ;

(ж) тромбоцитопенія ступеня ≥ 4 або тромбоцитопенія ступеня 3, пов'язана з клінічно значущою кровотечею; і/або

(и) негематологічне, непечінкове небажане явище ступеня ≥ 3 , не пов'язане з іншою причиною, що чітко ідентифікується, за виключенням: (і) нудота або блювота ступеня 3, які
25 виправляються до ступеня ≤ 2 за допомогою стандартної терапії за ≤ 3 дні; (іі) діарея, коліт або ентерит ступеня 3, які виправляються до ступеня ≤ 1 упродовж 7 днів за допомогою відповідного лікування; (ііі) стомлюваність ступеня 3, яка виправляється до ступеня ≤ 2 за ≤ 7 днів; (іv) лихоманка ступеня 3 (визначувана за температурою > 40 °C упродовж ≤ 24 годин); (v) аномальні лабораторні показники ступеня 3, які є асимптоматичними та які дослідник не вважає клінічно
30 значущими; (vi) висип ступеня 3, який виправляється до ступеня ≤ 2 за ≤ 7 днів за допомогою терапії, еквівалентній дозі преднізону 10 мг/день або меншій; (vii) артралгія ступеня 3, яку можна належним чином контролювати за допомогою підтримувальної терапії або яка виправляється до ступеня ≤ 2 упродовж 7 днів; (viii) посилення клінічних проявів пухлини ступеня 3, визначуване як локальні біль, подразнення або висип, локалізовані в ділянках
35 відомого або передбачуваного знаходження пухлини, яке починається впродовж 24 годин після інфузії та виправляється до ступеня ≤ 2 за ≤ 7 днів; (ix) гіпоксія ступеня 3, яка починається впродовж 24 годин після інфузії та виправляється до ступеня ≤ 2 упродовж 2 днів після початку події; або (x) у пацієнтів з метастатичними поразками легенів, задишка ступеня 3 внаслідок локалізованого набряку легенів, яка починається впродовж 24 годин після інфузії та
40 виправляється до ступеня 1 або початкового рівня впродовж 2 днів після початку події, і бронхоспазм, який виправляється впродовж 24 годин.

СВЦ оцінюється відповідно до Модифікованої системи оцінки синдрому вивільнення цитокінів, описаної в Russell et al. N. Engl. J. Med. 2008, 358:877-887 і Lee et al. Blood 2014, 124:188-195, а дані по ньому узагальнені в таблицях 1 і 2 нижче.

45

Таблиця 1

Модифікована система оцінки синдрому вивільнення цитокінів

Ступінь	Токсичність
Ступінь 1	Симптоми не становлять загрозу для життя та потребують лише симптоматичного лікування (наприклад, лихоманка, нудота, стомлюваність, головний біль, м'язовий біль, погіршення здоров'я)
Ступінь 2	Симптоми потребують помірного втручання та сприйнятливі до нього Потреба в кисні <40 %; або Гіпотензія, сприйнятлива до рідин або низькій дози ^а одного судинозвужувального засобу; або Органна токсичність степені 2
Ступінь 3	Симптоми потребують агресивного втручання та сприйнятливі до нього Потреба в кисні ≥ 40 %; або Гіпотензія, яка потребує застосування високої дози ^б або декількох судинозвужувальних засобів; або Органна токсичність степені 3 або трансамініт степені 4
Ступінь 4	Симптоми, що становлять загрозу для життя Необхідність дихальної підтримки апаратом ШВЛ або Органна токсичність степені 4 (за виключення трансамініту)
Ступінь 5	Смерть

^а Судинозвужувальний засіб у низькій дозі: один судинозвужувальний засіб у дозах менших, ніж наведені в таблиці 2 нижче.

^б Судинозвужувальний засіб у високій дозі: за визначенням у таблиці 2 нижче.

Таблиця 2

Судинозвужувальний засіб у високій дозі (тривалість ≥3 годин)

Пресор	Доза
Монотерапія норепінефрином	≥20 мкг/хв
Монотерапія дофаміном	≥10 мкг/кг/хв
Монотерапія фенілефрином	≥200 мкг/хв
Монотерапія епінефрином	≥10 мкг/хв
У разі застосування вазопресину	Вазопресин + еквівалент норепінефрину ≥10 мкг/хв ^а
У разі застосування комбінації судинозвужувальних засобів (не вазопресин)	Еквівалент норепінефрину ≥20 мкг/хв ^а

^а Доза еквіваленту норепінефрину =[норепінефрин (мкг/хв)] + [дофамін(мкг/кг/хв)] + [фенілефрин (мкг/хв) /10]

- У деяких випадках лікування з використанням описаних у цьому документі способів шляхом введення HER2 TDB (наприклад, комбінації HER2 TDB із додатковим антитілом до HER2 і/або HER2 TDB у контексті схеми дозування з фракціонуванням і збільшенням дози) спричиняє зниження (наприклад, на 20 % або більше, 25 % або більше, 30 % або більше, 35 % або більше, 40 % або більше, 45 % або більше, 50 % або більше, 55 % або більше, 60 % або більше, 65 % або більше, 70 % або більше, 75 % або більше, 80 % або більше, 85 % або більше, 90 % або більше, 95 % або більше, 96 % або більше, 97 % або більше, 98 % або більше або 99 % або більше) або повне інгібування (100 % зниження) небажаних явищ, таких як будь-яке одне або більше з вищезгаданих явищ, після схеми лікування за винаходом у порівнянні з контрольною схемою лікування (наприклад, монотерапією HER2 TDB (за відсутності додаткового антитіла до HER2) або лікуванням HER2 TDB за схемою дозування без фракціонування).
- У деяких випадках підвищення терапевтичного індексу в результаті застосування способу за винаходом складає щонайменше 1 % підвищення в порівнянні з контрольною групою (наприклад, від 1 % до 1000 % (10-кратне) підвищення, від 2 % до 5000 % підвищення, від 3 % до 4000 % підвищення, від 4 % до 3000 % підвищення, від 5 % до 2000 % підвищення, від 10 % до 1000 % підвищення, від 20 % до 500 % підвищення або від 50 % до 100 % підвищення, наприклад, від 1 % до 5 % підвищення, від 5 % до 10 % підвищення, від 10 % до 20 %

підвищення, від 20 % до 30 % підвищення, від 30 % до 40 % підвищення, від 40 % до 50 % підвищення, від 50 % до 60 % підвищення, від 60 % до 70 % підвищення, від 70 % до 80 % підвищення, від 80 % до 90 % підвищення, від 90 % до 100 % підвищення, від 100 % до 150 % підвищення, від 150 % до 200 % підвищення, від 200 % до 300 % підвищення, від 300 % до 400 % підвищення, від 400 % до 500 % підвищення або від 500 % до 1000 % підвищення).

HER2-позитивні види раку

Описані в цьому документі способи можна використовувати для лікування HER2-позитивних видів раку. У деяких випадках HER2-позитивний рак являє собою HER2-позитивну солідну пухлину. У додатковому або альтернативному варіанті HER2-позитивний рак може являти собою місцево-розповсюджений або метастатичний HER2-позитивний рак. У деяких випадках HER2-позитивний рак являє собою HER2-позитивний рак молочної залози або HER2-позитивний рак шлунка. У деяких варіантах здійснення HER2-позитивний рак є вибраним із групи, що складається з HER2-позитивного раку стравохідно-шлункового переходу, HER2-позитивного колоректального раку, HER2-позитивного раку легенів (наприклад, HER2-позитивної недрібноклітинної карциноми легенів), HER2-позитивного раку підшлункової залози, HER2-позитивного колоректального раку, HER2-позитивного раку сечового міхура, HER2-позитивного раку протоки спинної залози, HER2-позитивного раку яєчників (наприклад, HER2-позитивного епітеліального раку яєчників) або HER2-позитивного раку ендометрію.

Спільне лікування HER2 TDB і додатковим антитілом до HER2

Описані в цьому документі способи включають введення суб'єкту, що має рак (наприклад, HER2-позитивний рак), HER2 TDB; наприклад, TDB, яке зв'язується з HER2 і CD3, такого як BTRC4017, і антитіла до HER2 (наприклад, додаткового антитіла, яке зв'язується з HER2, наприклад, антитіла до HER2, яке не є HER2 TDB, такого як моноспецифічне антитіло до HER2 (наприклад, моноспецифічне, двовалентне антитіло до HER2)). У деяких варіантах здійснення HER2 TDB і антитіло до HER2 обидва зв'язуються з доменом IV HER2. Наприклад, HER2 TDB і антитіло до HER2 можуть конкурентно зв'язуватися з доменом IV HER2. У деяких варіантах здійснення HER2 TDB і антитіло до HER2 зв'язують HER2 в одному епітопі або в епітопі, що перекривається (наприклад, одному епітопі або епітопі HER2, що перекривається). У деяких варіантах здійснення HER2 TDB має нижчу афінність зв'язування HER2, ніж додаткове антитіло до HER2, що може бути зумовлено, щонайменше частково, нижчою HER2-валентністю HER2 TDB у порівнянні з додатковим антитілом (наприклад, коли HER2 TDB одновалентно зв'язується з HER2, а додаткове антитіло до HER2 двовалентно зв'язується з HER2). У додатковому або альтернативному варіанті HER2-зв'язувальний домен HER2 TDB може мати приблизно таку саму афінність зв'язування HER2, що і додаткове антитіло до HER2 (наприклад, HER2 TDB і додаткове антитіло до HER2 можуть мати одну, дві, три, чотири, п'ять або всі шість однакових CDR; або одну або обидві варіабельні ділянки). У деяких варіантах здійснення HER2 TDB має VH і/або VL, що має щонайменше 90 %, щонайменше 91 %, щонайменше 92 %, щонайменше 93 %, щонайменше 94 %, щонайменше 95 %, щонайменше 96 %, щонайменше 97 %, щонайменше 98 %, щонайменше 99 % або 100 % ідентичності амінокислотної послідовності з VH і/або VL додаткового антитіла до HER2. У деяких варіантах здійснення HER2 TDB і антитіло до HER2 мають однаковий HER2-зв'язувальний домен (наприклад, HER2-зв'язувальний домен 4D5 (наприклад, hu4D5), наприклад, як у разі, коли HER2 TDB є BTRC4017A, а антитіло до HER2 є трастузумабом або його Fc-модифікованим варіантом.

У деяких випадках будь-які з описаних у цьому документі способів можуть включати введення HER2 TDB, яке містить плече проти HER2, що має HER2-зв'язувальний домен, який містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ділянок, що визначають комплементарність (CDR), вибраних з (а) CDR-H1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 1); (б) CDR-H2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 2); (в) CDR-H3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 3); (г) CDR-L1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 4); (д) CDR-L2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 5); і (е) CDR-L3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 6). У деяких випадках HER2 TDB містить плече проти HER2, що містить HER2-зв'язувальний домен, який містить (а) варіабельний домен важкого ланцюга (VH), що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 7 або ідентичну їй; (б) варіабельний домен легкого ланцюга (VL), що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 8 або ідентичну їй; або (в) домен VH згідно з (а) і домен VL згідно з (б). Відповідно, в деяких випадках HER2-зв'язувальний домен містить VH, що містить амінокислотну послідовність SEQ

ID NO: 7, і/або VL, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8. Типовий HER2-зв'язувальний домен, що має послідовності CDR і варіабельних ділянок, наведені вище, належить hu4D5, описаному, наприклад, у WO 2015/095392, яку в повному об'ємі включено в цей документ за допомогою посилання.

У деяких випадках будь-які з описаних у цьому документі способів можуть включати введення HER2 TDB, яке містить плече проти CD3, що має CD3-зв'язувальний домен, який містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість CDR, вибраних з (а) CDR-H1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 9); (б) CDR-H2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 10); (в) CDR-H3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 11); (г) CDR-L1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 12); (д) CDR-L2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 13); і (е) CDR-L3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 14). У деяких випадках біспецифічне антитіло містить плече проти CD3, що містить CD3-зв'язувальний домен, який містить (а) VH, що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 15 або ідентичну їй; (б) домен VL, що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 16 або ідентичну їй; або (в) домен VH згідно з (а) і домен VL згідно з (б). Відповідно, в деяких випадках CD3-зв'язувальний домен містить домен VH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і/або домен VL, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. Типовий CD3-зв'язувальний домен, що має послідовності CDR і варіабельних ділянок, наведені вище, належить 40G5c, описаному, наприклад, у WO 2015/095392, яку в повному об'ємі включено в цей документ за допомогою посилання.

У деяких випадках будь-які з описаних у цьому документі способів можуть включати введення HER2 TDB, яке містить (і) плече проти HER2, що має HER2-зв'язувальний домен, який містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ділянок, що визначають комплементарність (CDR), вибраних з (а) CDR-H1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 1); (б) CDR-H2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 2); (в) CDR-H3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 3); (г) CDR-L1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 4); (д) CDR-L2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 5); і (е) CDR-L3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 6); і (ii) плече проти CD3, що має CD3-зв'язувальний домен, який містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість CDR, вибраних з (а) CDR-H1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 9); (б) CDR-H2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 10); (в) CDR-H3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 11); (г) CDR-L1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 12); (д) CDR-L2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 13); і (е) CDR-L3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 14). У деяких випадках HER2 TDB містить плече проти HER2, що містить HER2-зв'язувальний домен, який містить (а) варіабельний домен важкого ланцюга (V_H), що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 7 або ідентичну їй; (б) варіабельний домен легкого ланцюга (V_L), що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 8 або ідентичну їй; або (в) домен VH згідно з (а) і домен VL згідно з (б); і (ii) плече проти CD3, що містить CD3-зв'язувальний домен, який містить (а) V_H, що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 15 або ідентичну їй; (б) домен V_L, що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 16 або ідентичну їй; або (в) домен VH згідно з (а) і домен VL згідно з (б). Відповідно, в деяких випадках HER2-зв'язувальний домен містить VH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, і V_L, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8, а CD3-зв'язувальний домен містить домен V_H, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і домен V_L, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. Типовим таким HER2 TDB є BTRC4017A, повнорозмірне антитіло за типом "виступ у западину", яке має HER2-зв'язувальний домен hu4D5 у плечі проти HER2, спареному з плечем проти CD3, що має CD3-зв'язувальний домен 40G5c.

У деяких випадках будь-які з описаних у цьому документі способів можуть включати введення HER2 TDB, як описано в WO 2015/063339. У деяких випадках будь-які з описаних в цьому документі способів можуть включати введення HER2 TDB GBR1302.

У деяких випадках будь-які з описаних в цьому документі способів можуть включати введення HER2 TDB, що має одновалентне плече та двовалентне плече. Одновалентне плече може містити CD3-зв'язувальний домен, а двовалентне плече може містити два HER2-зв'язувальні домени, і кожне плече може мати Fc-субодиницю, яка зв'язується з іншою Fc-субодиницею (наприклад, завдяки конфігурації типу "виступ у западину") з утворенням Fc-домену. У цьому варіанті здійснення С-кінець CD3-зв'язувального домену злитий із N-кінцем Fc-субодиниці, С-кінець одного HER2-зв'язувального домену злитий із N-кінцем другого HER2-зв'язувального домену, а С-кінець другого HER2-зв'язувального домену злитий із N-кінцем іншої Fc-субодиниці. У деяких випадках HER2 TDB, що має одновалентне плече та двовалентне плече, зв'язує домен IV HER2. Наприклад, HER2-зв'язувальні домени можуть мати послідовність hu4D5 (наприклад, трастузумаб) і/або CD3-зв'язувальний домен може мати послідовність 40G5c. Приклади таких двовалентних HER2 TDB описані в міжнародній патентній заявці № PCT/US2019/17251.

Антитіла до HER2 для спільного лікування з HER2 TDB включають моноспецифічні антитіла до HER2 і мультиспецифічні (наприклад, біспецифічні) антитіла до HER2 (наприклад, коли біспецифічне антитіло до HER2 не є залежним від Т-клітин біспецифічним антитілом). У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 є багатовалентним (наприклад, двовалентним) щодо HER2. У додатковому або альтернативному варіанті антитіло до HER2 для застосування в описаних у цьому документі варіантах спільного лікування включає повнорозмірні антитіла до HER2 і їх HER2-зв'язувальні фрагменти. У випадках, що включають повнорозмірні антитіла до HER2, Fc-ділянка може містити одну або більше модифікацій, наприклад, для зменшення ефекторних функцій. Типові Fc-модифікації додатково обговорюються в розділі 5.c нижче.

У деяких випадках будь-які з описаних у цьому документі способів можуть включати введення антитіла до HER2 (наприклад, на додаток до HER2 TDB), що містить HER2-зв'язувальний домен, який містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ділянок, що визначають комплементарність (CDR), вибраних з (а) CDR-H1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 1); (б) CDR-H2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 2); (в) CDR-H3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 3); (г) CDR-L1, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 4); (д) CDR-L2, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 5); і (е) CDR-L3, що містить амінокислотну послідовність (SEQ ID NO: 6). У деяких випадках антитіло до HER2 містить HER2-зв'язувальний домен, який містить (а) варіабельний домен важкого ланцюга (V_H), що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 7 або ідентичну їй; (б) варіабельний домен легкого ланцюга (V_L), що містить амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності (наприклад, щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності) з SEQ ID NO: 8 або ідентичну їй; або (в) домен V_H згідно з (а) і домен V_L згідно з (б). Відповідно, в деяких випадках HER2-зв'язувальний домен містить V_H, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, і/або V_L, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8. Типовий HER2-зв'язувальний домен, що має послідовності CDR і варіабельних ділянок, наведені вище, належить hu4D5. У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 являє собою трастузумаб. В інших варіантах здійснення антитіло до HER2 являє собою Fc-модифікований варіант трастузумабу (наприклад, трастузумаб-LALAPG).

HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 можна отримувати, використовуючи рекомбінантні методи та композиції, наприклад, як описано в патенті США № 4816567, який у повному об'ємі включено в цей документ за допомогою посилання.

У деяких випадках HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 відповідно до будь-якого з описаних вище варіантів здійснення можуть мати будь-які характеристики, окремо або в комбінації, описані в розділах 1–5 нижче.

1. Афіністість антитіл

У певних варіантах здійснення HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 за цим документом мають константу дисоціації (K_D) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ або $\leq 0,001$ нМ (наприклад, 10^{-8} М або менше, наприклад, від 10^{-8} М до 10^{-13} М, наприклад, від 10^{-9} М до 10^{-13} М) щодо HER2-зв'язувального домену, CD3-зв'язувального домену або обох.

В одному варіанті здійснення KD вимірюють за допомогою аналізу зв'язування радіоактивно міченого антигена (PIA). В одному варіанті здійснення винаходу PIA виконують з використанням

Fab-версії антитіла, що становить інтерес, і його антигена. Наприклад, афінність зв'язування Fab з антигеном у розчині вимірюють шляхом урівноваження Fab з мінімальною концентрацією (^{125}I)-міченого антигена в присутності серії титрів неміченого антигена з подальшим захопленням зв'язаного антигена на планшеті, вкритому антитілом до Fab (дивіться, наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)). Для визначення умов аналізу багатолункові планшети MICROTITER® (Thermo Scientific) покривають протягом ночі 5 мкг/мл антитіла до Fab для захоплення (Cappel Labs) у 50 мМ розчині карбонату натрію (pH 9,6), а потім блокують 2 % (мас./об.) розчином бичачого сироваткового альбуміну у ФСБ протягом двох-пяти годин за кімнатної температури (приблизно 23 °C). У неадсорбентному планшети (Nunc Кат№ 269620) змішують 100 пМ або 26 пМ [^{125}I]-антигена з серійними розведеннями цільового Fab (наприклад, відповідно до оцінки антитіла проти VEGF, Fab-12, у Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)). Потім Fab, що становить інтерес, інкубують протягом ночі; проте інкубацію можна продовжувати протягом більш тривалого періоду (наприклад, приблизно 65 годин), щоб забезпечити досягнення рівноваги. Потім суміш переносять на планшет для захоплення й інкубують за кімнатної температури (наприклад, протягом години). Потім розчин вилучають, а планшет промивають вісім разів 0,1 % розчином полісорбату 20 (TWEEN-20®) у ФСБ. Після висушування планшетів додають 150 мкл сцинтилятора (MICROSCINT-20™; Packard) на лунку, та зчитують планшети на гамма-лічильнику TOPCOUNT™ (Packard) протягом десяти хвилин. Концентрації кожного Fab, які дають 20 % або менше від максимального зв'язування, відбирають для використання в аналізах конкурентного зв'язування.

Відповідно до іншого варіанту здійснення K_D вимірюють за допомогою аналізу методом поверхневого плазмонного резонансу BIACORE®. Наприклад, аналіз із використанням BIACORE®-2000 або BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) виконують за 25 °C із чіпами з іммобілізованим антигеном CM5 за ~10 одиниць відповіді (ОВ). В одному варіанті здійснення біосенсорні чіпи на основі карбоксиметильованого декстрану (CM5, BIAcore, Inc.) активують N-етил-N'-(3-диметиламінопропіл)-карбодіімідом гідрохлоридом (EDC) і N-гідрокисукцинімідом (NHS) відповідно до інструкцій виробника. Антиген розводять у 10 мкМ ацетату натрію, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~ 0,2 мкМ) перед введенням за швидкості потоку 5 мкл/хвилина для досягнення приблизно 10 одиниць відповіді (ОВ) сполученого білка. Після введення антигена вводять 1 М етаноламіну, щоб блокувати групи, які не вступили в реакцію. Для вимірювань кінетики двократні послідовні розведення Fab (від 0,78 нМ до 500 нМ) вводять у ФСТ із 0,05 % поверхнево-активної речовини полісорбату 20 (Твін-20™) (ФСБТ) при 25 °C за швидкості потоку приблизно 25 мкл/хв. Швидкості асоціації (K_{on}) і швидкості дисоціації (K_{off}) обчислюють з використанням простої один-до-одного моделі зв'язування Ленгмюра (програмне забезпечення для розрахунків BIACORE® версії 3.2) шляхом одночасної апроксимації сенсограм асоціації та дисоціації. Рівноважну константу дисоціації (K_D) розраховували як співвідношення K_{off}/K_{on} . Дивіться, наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Якщо швидкість асоціації перевищує $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ згідно з даними вищеописаного аналізу поверхневого плазмонного резонансу, то швидкість асоціації можна визначити за допомогою методу загасання флуоресценції, в якому вимірюють підвищення або зниження інтенсивності флуоресценції (збудження = 295 нм; випускання = 340 нм, 16 нм смуга пропускання) за 25 °C для 20 нМ антитіла до антигена (Fab-форми) у ФСБ, pH 7,2, у присутності зростальної концентрацій антигена, що вимірюється за допомогою спектрометра, такого як спектрофотометр із пристроєм зупинки потоку (Aviv Instruments) або спектрофотометр серії 8000 SLM-AMINCOTM (ThermoSpectronic) з кюветою з перемішуванням.

2. Фрагменти антитіл

У певних варіантах здійснення HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 являють собою фрагмент антитіла, наприклад, фрагмент антитіла HER2 TDB зв'язується з HER2 і CD3. Фрагменти антитіл включають, без обмеження, фрагменти Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv і scFv та інші фрагменти, описані нижче. Огляд деяких фрагментів антитіл дивіться в Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Огляд фрагментів scFv дивіться, наприклад, у Pluckthün, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); дивіться також WO 93/16185; і патенти США №№ 5571894 та 5587458. Обговорення фрагментів Fab і F(ab')₂, що містять залишки епітопа зв'язування рецептора реутилізації та мають збільшений час напівжиття in vivo, дивіться в патенті США № 5869046.

Діатіла являють собою фрагменти антитіл з двома антигензв'язувальними сайтами, які можуть бути двовалентними або біспецифічними. Дивіться, наприклад, EP 404097; WO 1993/01161; Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134 (2003); і Hollinger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Тріатіла та тетраатіла також описані в Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003).

Однодоменні антитіла являють собою фрагменти антитіл, які містять увесь або частину варіабельного домену важкого ланцюга або увесь або частину варіабельного домену легкого ланцюга антитіла. У деяких варіантах здійснення винаходу однодоменне антитіло являє собою однодоменне антитіло людини (Domantis, Inc., Waltham, MA; дивіться, наприклад, патент США № 6248516 В1).

Фрагменти антитіл можуть бути отримані різними способами, включаючи, без обмежень, протеолітичне розщеплення інтактного антитіла, а також отримання за допомогою рекомбінантних клітин-хазяїв (наприклад, *E. coli* або фага), як описано в цьому документі.

3. Химерні та гуманізовані антитіла

У певних варіантах здійснення HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 для застосування відповідно до описаних в цьому документі способів являє собою химерне антитіло. Певні химерні антитіла описані, наприклад, у патенті США № 4816567; і Morrison et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). В одному прикладі химерне антитіло містить варіабельну ділянку, що не належить людині (наприклад, варіабельну ділянку, отриману з антитіла миші, щура, хом'яка, кролика або нелюдиноподібного примата, наприклад, мавпи) і константну ділянку людини. У додатковому прикладі химерне антитіло являє собою антитіло з "перемкнутим класом", при цьому клас або підклас був змінений у порівнянні з вихідним антитілом. Химерні антитіла включають їхні антигензв'язувальні фрагменти.

У певних варіантах здійснення химерне антитіло являє собою гуманізоване антитіло. Зазвичай антитіло відмінного від людини виду гуманізують для зниження імуногенності для людини, зберігаючи при цьому специфічність і афінність вихідного антитіла відмінного від людини виду. Зазвичай гуманізоване антитіло містить один або більше варіабельних доменів, в яких HVR, наприклад, CDR (або їх фрагменти) отримані з антитіла, що не належить людині, а FR (або їх фрагменти) отримані з послідовностей людського антитіла. Гуманізоване антитіло необов'язково також буде містити щонайменше частину константної ділянки людини. У деяких варіантах здійснення деякі залишки FR в гуманізованому антитілі замінюють відповідними залишками антитіла, що не належить людині (наприклад, антитіла, з якого отримані залишки HVR), наприклад, з метою відновлення або поліпшення специфічності або афінності антитіла.

Гуманізовані антитіла та способи їх отримання розглянуті, наприклад, в Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008), і додатково описані, наприклад, у Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); патентах США №№ 5821337, 7527791, 6982321 і 7087409; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (де описане прищеплення ділянки, що визначає специфічність (SDR)); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (де описана "зміна поверхні"); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (де описане "перетасовування FR"); і Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) і Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (де описаний підхід "спрямованого відбору" у разі перетасовування FR).

Каркасні ділянки людини, які можуть бути використані для гуманізації, включають, без обмеження: каркасні ділянки, вибрані за допомогою методу "найкращої відповідності" (дивіться, наприклад, Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)); каркасні ділянки, отримані з консенсусної послідовності антитіл людини конкретної підгрупи варіабельних ділянок легких або важких ланцюгів (дивіться, наприклад, Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); і Presta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)); зрілі (соматично мутовані) каркасні ділянки людини або каркасні ділянки зародкової лінії людини (дивіться, наприклад, Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)); і каркасні ділянки, отримані під час скринінгу бібліотек FR (дивіться, наприклад, Vasa et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) і Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)).

4. Конструювання біспецифічних антитіл за типом "виступ у западину"

HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 можна отримувати у вигляді повнорозмірного антитіла або фрагмента антитіла. Способи отримання біспецифічних антитіл включають, без обмеження, рекомбінантну коекспресію пар важкий ланцюг – легкий ланцюг двох імуноглобулінів, що мають різну специфічність (дивіться, Milstein and Cuellar, Nature 305: 537 (1983)), WO 93/08829, і Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)), та конструювання по типу "виступ у западину" (дивіться, наприклад, патент США 5731168). Метод конструювання мультиспецифічних антитіл "виступ-до-порожнини" можна застосовувати для отримання першого плеча, яке містить виступ, і другого плеча, яке містить порожнину, в якій можливо зв'язування виступу першого плеча. В одному варіанті здійснення виступ TDB може знаходитися в плечі проти CD3. В альтернативному варіанті виступ TDB за винаходом може знаходитися в плечі проти HER2. В одному варіанті здійснення западина TDB за винаходом може знаходитися в плечі проти CD3. В альтернативному варіанті западина TDB за винаходом

може знаходитися в плечі проти HER2. У деяких випадках HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2, отримані за технологією "виступ у западину", можуть містити один або більше константних доменів важкого ланцюга, причому один або більше константних доменів важкого ланцюга є вибраними з першого домену CH1 (CH1₁), першого домену CH2 (CH2₁), першого домену CH3 (CH3₁), другого домену CH1 (CH1₂), другого домену CH2 (CH2₂) і другого домену CH3 (CH3₂). У деяких випадках щонайменше один або більше константних доменів важкого ланцюга є спареним з іншим константним доменом важкого ланцюга. У деяких випадках кожен із доменів CH3₁ і CH3₂ містить виступ або западину, і при цьому виступ або западина в домені CH3₁ може розміщуватися в западині або виступі, відповідно, в домені CH3₂. В деяких випадках кожен домен CH3₁ і CH3₂ стикаються на поверхні контакту між виступом і западиною. У деяких випадках кожен із доменів CH2₁ і CH2₂ містить виступ або западину, і при цьому виступ або западина в домені CH2₁ може розміщуватися в западині або виступі, відповідно, в домені CH2₂. В деяких випадках кожен домен CH2₁ і CH2₂ стикаються на поверхні контакту між вказаними виступом і западиною.

Біспецифічні антитіла (наприклад, TDB) також можуть бути сконструйовані з використанням технології кросоверу імуноглобуліну (також відомої як обмін Fab-доменів або формат CrossMab) (дивіться, наприклад, WO2009/080253; Schaefer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108:11187-11192 (2011)). Біспецифічні антитіла також можна отримувати шляхом конструювання з використанням ефекту електростатичної взаємодії для отримання Fc-гетеродимерних молекул антитіл (WO 2009/089004A1); перехресного зшивання двох або більше антитіл або фрагментів (дивіться, наприклад, патент США № 4676980 і Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)); використання лейцинових блискавок для отримання біспецифічних антитіл (дивіться, наприклад, Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)); використання технології "діатіл" для отримання біспецифічних фрагментів антитіл (дивіться, наприклад, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); та використання димерів одноланцюгових Fv (sFv) (дивіться, наприклад, Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)); та отримання триспецифічних антитіл, як описано, наприклад, у Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991).

HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2, або фрагменти цих антитіл можуть також включати "FAB подвійної дії" або "DAF", що містить антигензв'язувальний сайт, який зв'язується з мішенню, відмінною від HER2 (наприклад, CD3 у контексті HER2 TDB), а також HER2 (дивіться, наприклад, публ. США № 2008/0069820, яку в повному об'ємі включено в цей документ за допомогою посилання).

5. Варіанти

У деяких випадках передбачені варіанти описаних вище HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2 за амінокислотною послідовністю. Наприклад, може бути бажано поліпшити афінність зв'язування та/або біологічні властивості одного або обох із HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2. Варіанти антитіл за амінокислотною послідовністю можна одержувати шляхом внесення відповідних модифікацій у нуклеотидну послідовність, що кодує антитіло, або за допомогою пептидного синтезу. Такі модифікації включають, наприклад, делеції з амінокислотних послідовностей антитіл, та/або вставки в них, та/або заміни залишків у них. Для отримання кінцевої конструкції можна проводити будь-які комбінації делецій, вставок і замін, за умови, що кінцева конструкція має бажані характеристики, наприклад, антигензв'язувальні.

а. Варіанти з замінами, вставками та делеціями

У певних варіантах здійснення варіанти антитіл мають одну або більше амінокислотних замін. Сайти, що становлять інтерес для замісного мутагенезу, включають HVR і FR. Консервативні заміни наведені в таблиці 3 під заголовком "переважні заміни". Суттєвіші зміни наведені в таблиці 3 під заголовком "типові заміни" та додатково описані нижче з посиланням на класи бічних ланцюгів амінокислот. Амінокислотні заміни можна вносити в антитіло, що становить інтерес, і проводити скринінг одержаних продуктів щодо необхідної активності, наприклад, збереження/покращення зв'язування антигена, зниження імуногенності або покращення АЗКЦ або КЗЦ.

Таблиця 3

Типові та переважні амінокислотні заміни

Вихідний залишок	Типові заміни	Переважні заміни
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys(C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; lie	Leu
Phe(F)	Trp; Leu; Val; He; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

Амінокислоти можна класифікувати відповідно до властивостей поширених бокових ланцюгів:

- 5 (1) гідрофобні: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральні гідрофільні: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислі: Asp, Glu;
- (4) основні: His, Lys, Arg;
- (5) залишки, які впливають на орієнтацію ланцюгів: Gly, Pro;
- 10 (6) ароматичні: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативні заміни включають заміну представника одного з цих класів іншим класом.

- Один з варіантів заміни включає заміну одного або більше амінокислотних залишків гіперваріабельної ділянки вихідного антитіла (наприклад, гуманізованого або людського антитіла). Зазвичай отриманий (отримані) варіант (варіанти), відібраний (відібрані) для подальшого дослідження, характеризується (характеризуються) модифікаціями (наприклад, покращенням) певних біологічних властивостей (наприклад, підвищеною афінністю, зниженою імуногенністю) у порівнянні з вихідним антитілом та/або значною мірою зберігає (зберігають) певні біологічні властивості вихідного антитіла. Типовий варіант заміни являє собою антитіло із дозрілою афінністю, яке можна легко отримати, наприклад, з використанням методик дозрівання афінності на основі фагового дисплея, як описано в цьому документі. Стисло, один або більше залишків CDR піддають мутації, та варіантні антитіла відображають на поверхні фага, і проводять скринінг щодо конкретної біологічної активності (наприклад, афінності зв'язування).

- У CDR можуть бути зроблені зміни (наприклад, заміни), наприклад, для поліпшення афінності антитіл. Такі зміни можна робити в "гарячих точках" CDR, тобто в залишках, що кодуються кодонами, які з високою частотою піддаються мутації під час процесу соматичного дозрівання (дивіться, наприклад, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207: 179-196 (2008)), та/або в залишках, які контактують з антигеном, а потім досліджувати афінність зв'язування одержаного варіанту VH або VL. Дозрівання афінності шляхом конструювання та повторного відбору з вторинних бібліотек було описано, наприклад, у Hoogenboom et al. Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). У деяких варіантах здійснення дозрівання афінності різноманітність вводять у варіабельні гени, вибрані для дозрівання, будь-яким з низки способів (наприклад, ПЛР зниженої точності, шафлінг ланцюгів або олігонуклеотид-направлений мутагенез). Потім створюють вторинну бібліотеку. Після цього

бібліотеку піддають скринінгу для виявлення будь-яких варіантів антитіл з бажаною афінністю. Інший спосіб для внесення різноманітності включає підходи, спрямовані на HVR, в яких кілька амінокислотних залишків HVR (4-6 амінокислотних залишків поспіль) є рандомізованими. Залишки HVR, залучені до зв'язування антигену, можуть бути конкретно ідентифіковані, наприклад, з використанням аланін-скануючого мутагенезу або моделювання. Зокрема, мішенями часто є CDR-H3 і CDR-L3.

У деяких варіантах здійснення заміни, вставки або делеції можуть траплятися в межах однієї або більше CDR, за умови, що такі зміни істотно не знижують здатність антитіла зв'язуватись з антигеном. Наприклад, у CDR можна проводити консервативні зміни (наприклад, консервативні заміни, запропоновані в цьому документі), які істотно не знижують афінність зв'язування. Такі зміни можуть, наприклад, бути поза залишками, які контактують з антигеном, в CDR. У деяких варіантах здійснення послідовностей варіантів VH і VL, наведених вище, кожна CDR або залишається незмінною, або містить не більше однієї, двох або трьох амінокислотних заміни.

Придатний спосіб виявлення залишків або ділянок антитіла, які можуть бути мішенями для мутагенезу, називається "аланін-скануючим мутагенезом" і описаний Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085. У цьому способі ідентифікують амінокислотний залишок або групу амінокислотних залишків-мішеней (наприклад, заряджені амінокислотні залишки, такі як Arg, Asp, His, Lys і Glu) і замінюють нейтральною або негативно зарядженою амінокислотою (наприклад, аланіном або поліаланіном) для визначення впливу на взаємодію антитіла з антигеном. Додаткові заміни можуть бути внесені в позиції амінокислот, що демонструють функціональну чутливість щодо початкових заміни. В альтернативному або додатковому варіанті використовують кристалічну структуру комплексу антиген-антитіло для ідентифікації точок контакту між антитілом і антигеном. Такі контактні залишки та сусідні залишки можна робити мішенями або вилучати як кандидатів на заміну. Варіанти можуть піддавати скринінгу, щоб визначити, чи мають вони бажані властивості.

Вставки амінокислотних послідовностей включають аміно- та/або карбокси-кінцеві злиття, що варіюються за довжиною від одного залишку до поліпептидів, що містять сотню та більше залишків, а також вставки всередині послідовності одного або декількох амінокислотних залишків. Приклади термінальних вставок включають антитіло з N-кінцевим метіонільним залишком. Інші варіанти молекули антитіла зі вставками включають злиття N- або C-кінця антитіла з ферментом (наприклад, для терапії ADEPT) або поліпептидом, який збільшує час напівжиття антитіла.

б. Варіанти за глікозилюванням

У деяких випадках способи за винаходом включають введення суб'єкту варіанта HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2 (наприклад, у контексті схеми дозування з фракціонуванням і збільшенням дози), який був модифікований для підвищення або зниження міри, в якій біспецифічне антитіло є глікозильованим. Додавання або видалення сайтів глікозилювання в HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 за винаходом традиційно можна здійснювати шляхом зміни амінокислотної послідовності так, щоб створити або видалити один або більше сайтів глікозилювання.

Якщо HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 містить Fc-ділянку, можна змінювати приєднаний до неї вуглевод. Нативні антитіла, що виробляються клітинами ссавців, зазвичай містять розгалужений біантенарний олігосахарид, який, зазвичай є приєднаним за допомогою N-зв'язку до Asn297 CH2-домену Fc-ділянки. Дивіться, наприклад, Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997). Олігосахарид може включати різні вуглеводи, наприклад, манозу, N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), галактозу та сіалову кислоту, а також фукозу, приєднану до GlcNAc у "стеблі" біантенарної олігосахаридної структури. У деяких варіантах здійснення винаходу можна виконати модифікації олігосахариду в антитілі за винаходом для створення варіантів антитіл з певними покращеними властивостями.

У деяких випадках способи включають введення варіанта HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2, що має вуглеводну структуру, в якій відсутня фукоза, приєднана (прямо або непрямо) до Fc-ділянки. Наприклад, кількість фукози в такому антитілі може становити від 1 % до 80 %, від 1 % до 65 %, від 5 % до 65 % або від 20 % до 40 %. Кількість фукози визначають шляхом розрахунку середньої кількості фукози в цукровому ланцюгу в Asn297 в порівнянні з сумою всіх глікоструктур, прикріплених до Asn297 (наприклад, складних, гібридних і високоманозних структур), згідно з вимірюваннями методом мас-спектрометрії MALDI-TOF, наприклад, як описано у WO 2008/077546. Asn297 відноситься до залишку аспарагіну, розташованого приблизно в положенні 297 у Fc-ділянці (нумерація залишків Fc-ділянці відповідно до системи нумерації EU); однак Asn297 також може бути розташований приблизно

на ± 3 амінокислоти вище або нижче від положення 297, тобто, між положеннями 294 і 300, у зв'язку з незначними змінами послідовності антитіл. Такі варіанти фукозилювання можуть покращувати функцію ADCC. Дивіться, наприклад, патентні публікації США № US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Приклади публікацій, що стосуються "дефукозилюваних" варіантів антитіл або варіантів антитіл з "недостатністю фукози", включають: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Приклади клітинних ліній, здатних виробляти дефукозилювані антитіла, включають клітини CHO Lec13, що є дефіцитними за фукозилюванням білків (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); заявка на патент США № US 2003/0157108 A1, Presta, L.; і WO 2004/056312 A1, Adams et al., особливо Приклад 11), та нокаутні клітинні лінії, наприклад, за геном альфа-1,6-фукозилтрансферази, FUT8, нокаутні клітини CHO (дивіться, наприклад, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); і WO2003/085107).

Зважаючи на вищеописане, в деяких випадках способи за винаходом включають введення суб'єкту варіанта HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2 (наприклад, у контексті схеми дозування з фракціонуванням і збільшенням дози), який містить мутацію в сайті аглікозилювання. У деяких випадках мутація в сайті аглікозилювання зменшує ефекторну функцію HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2. У деяких випадках мутація в сайті аглікозилювання являє собою мутацію заміни. У деяких випадках біспецифічне антитіло містить у Fc-ділянці мутацію заміни, яка зменшує ефекторну функцію. У деяких випадках мутація заміни знаходиться в амінокислотному залишку N297, L234, L235 і/або D265 (нумерація EU). У деяких випадках мутація заміни є вибраною з групи, що складається з N297G, N297A, L234A, L235A, D265A та P329G. У деяких випадках мутація заміни знаходиться в амінокислотному залишку N297. У переважному варіанті здійснення мутація заміни являє собою N297A.

В інших випадках відповідно до способів за винаходом використовують варіанти з розділеними надвоє олігосахаридами, наприклад, в яких біантенарний олігосахарид, приєднаний до Fc-ділянки антитіла, розділений надвоє GlcNAc. Такі варіанти антитіл можуть зменшувати фукозилювання та/або покращувати функцію АЗКЦ. Приклади таких варіантів антитіл описані, наприклад, у WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патенті США № 6602684 (Umana et al.); і US 2005/0123546 (Umana et al.). Також представлені варіанти антитіл щонайменше з одним залишком галактози в олігосахариді, приєднаним до Fc-ділянки. Такі варіанти антитіл можуть мати покращену функцію КЗЦ. Такі варіанти антитіл описано, наприклад, у WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); і WO 1999/22764 (Raju, S.).

в. Варіанти за Fc-ділянкою

У деяких випадках варіант HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2, який має одну або більше амінокислотних модифікацій, внесених у Fc-ділянку (тобто варіант за Fc-ділянкою (дивіться, наприклад, US 2012/0251531)) біспецифічного антитіла, можна вводити суб'єкту, що має HER2-позитивний рак, відповідно до способів за винаходом. Варіант за Fc-ділянкою може містити послідовність Fc-ділянки людини (наприклад, Fc-ділянки IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4 людини), що містить амінокислотну модифікацію (наприклад, заміну) в одній або більше амінокислотних позиціях.

У деяких випадках варіант за Fc-ділянкою має деякі, але не усі ефекторні функції, що робить його бажаним кандидатом для застосувань, в яких важливий період напівжиття антитіла *in vivo*, але при цьому певні ефекторні функції (такі як КЗЦ і АЗКЦ) не потрібні або шкідливі. Для підтвердження зниження/зменшення КЗЦ- і/або АЗКЦ-активності можна проводити аналіз цитотоксичності *in vitro* та/або *in vivo*. Наприклад, аналізи зв'язування Fc-рецепторів (FcR) можна проводити для гарантування того, що антитіло не має зв'язування з FcγR (таким чином, ймовірно, не має активності АЗКЦ), але зберігає здатність зв'язування з FcRn. Первинні клітини для опосередкування АЗКЦ, NK-клітини, експресують лише Fc(R)III, тоді як моноцити експресують Fc(R)I, Fc(R)II та Fc(R)III. Експресію FcR на гемопоетичних клітинах узагальнено в Таблиці 3 на сторінці 464 Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991). Необмежувальні приклади *in vitro* аналізів для оцінки активності АЗКЦ молекули, що становить інтерес, наведені в патенті США № 5500362 (дивіться, наприклад, Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)) і Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 5821337 (дивіться Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)). В альтернативному варіанті можна використовувати нерадіоактивні методи аналізу (дивіться, наприклад, АСТІ™ нерадіоактивний аналіз цитотоксичності для проточної цитометрії

(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; i CytoTox 96® нерадіоактивний аналіз цитотоксичності (Promega, Madison, WI). Відповідні для таких аналізів ефекторні клітини включають моноклеарні клітини периферичної крові (МКПК) і природні клітини-кілери (NK). В альтернативному або додатковому варіанті активність АЗКЦ молекули, що становить інтерес, можна оцінити *in vivo*, наприклад, у тваринній моделі, як описано в Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998). Можна також проводити аналізи зв'язування С1q, щоб підтвердити, що антитіло не здатне зв'язувати С1q, а отже не має активності КЗЦ. Дивіться, наприклад, ELISA зв'язування С1q та С3с у WO 2006/029879 та WO 2005/100402. Для оцінки активації комплементу можна проводити аналіз КЗЦ (дивіться, наприклад, Gazzano-Santoro et al. *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al. *Blood*. 101:1045-1052 (2003); i Cragg, M.S. and M.J. Glennie *Blood*. 103:2738-2743 (2004)). Визначення зв'язування з FcRn та *in vivo* кліренсу/часу напівжиття також можна проводити з використанням способів, відомих у цій галузі техніки (дивіться, наприклад, Petkova, S.B. et al. *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)).

Антитіла зі зменшеною ефекторною функцією включають ті, які містять заміни одного або більше залишків Fc-ділянки 238, 265, 269, 270, 297, 327 і 329 (патенти США №№ 6737056 і 8219149). Такі Fc-мутанти включають Fc-мутантів з замінами в двох або більше амінокислотних позиціях 265, 269, 270, 297 і 327, в тому числі так звані Fc-мутанти DANA з заміною залишків 265 і 297 на аланін (патенти США №№ 7332581 і 8219149).

У певних випадках пролін у позиції 329 людської Fc-ділянки дикого типу в антитілі замінений гліцином або аргініном або амінокислотним залишком, досить великим, щоб зруйнувати проліновий "сандвіч" на ділянці контакту Fc/Fc γ -рецептор, яка утворюється між проліном 329 з Fc і залишками триптофану Trp87 і Trp110 з Fc γ RIII (Sondermann et al. *Nature*. 406, 267-273 (2000)). У певних варіантах здійснення біспецифічне антитіло містить щонайменше одну додаткову амінокислотну заміну. В одному варіанті здійснення додаткова амінокислотна заміна являє собою S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D або P331S, а в іншому варіанті здійснення щонайменше одна додаткова амінокислотна заміна являє собою L234A і L235A Fc-ділянки людського IgG1 або S228P і L235E Fc-ділянки людського IgG4 (дивіться, наприклад, US 2012/0251531), і в іншому варіанті здійснення щонайменше одна додаткова амінокислотна заміна являє собою L234A і L235A і P329G Fc-ділянки людського IgG1.

Описано деякі варіанти антитіл з поліпшеним або зменшеним зв'язуванням з FcR. (Дивіться, наприклад, патент США № 6737056; WO 2004/056312 і Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)).

У певних випадках HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 містять Fc-домен з однією або більше амінокислотними замінами, які покращують АЗКЦ, наприклад, із замінами в положеннях 298, 333 та/або 334 Fc-ділянки (нумерація залишків EU).

У деяких випадках зміни зроблені в Fc-ділянці, що спричиняє зміни (тобто поліпшення або погіршення) зв'язування С1q та/або комплементзалежної цитотоксичності (КЗЦ), наприклад, як описано в патенті США № 6194551, міжнародній патентній заявці WO 99/51642 і публікації Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

Антитіла зі збільшеним часом напівжиття та поліпшеним зв'язуванням з неонатальним Fc-рецептором (FcRn), який відповідає за перенесення материнських IgG до плоду (Guyer et al., *J. Immunol.* 117:587 (1976) і Kim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994)), описані в US2005/0014934A1 (Hinton et al.). Ці антитіла містять Fc-ділянку з однією або більше замінами в ній, які покращують зв'язування Fc-ділянки з FcRn. Такі Fc-варіанти включають варіанти із заміною в одному або більше залишках Fc-ділянки: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 або 434, наприклад, заміною залишку 434 Fc-ділянки (патент США № 7371826).

Дивіться також Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821; та WO 94/29351 щодо інших прикладів варіантів Fc-ділянки.

г. Цистеїн-сконструйовані варіанти антитіл

У певних варіантах здійснення може бути бажано створити цистеїн-сконструйовані HER2 TDB і/або додаткові антитіла до HER2, в яких один або більше залишків біспецифічного антитіла замінені залишками цистеїну. У конкретних варіантах здійснення замінені залишки зустрічаються в доступних сайтах антитіла. Завдяки заміні цих залишків цистеїном реакційноздатні тіольні групи розташовуються в доступних сайтах біспецифічного антитіла та можуть бути використані для кон'югації антитіла з іншими фрагментами, такими як лікарські фрагменти або фрагменти лінкер – лікарський засіб, для створення імунокон'югата. У деяких варіантах здійснення винаходу будь-який один або більше з таких залишків можуть бути замінені цистеїном: V205 (нумерація Kabat) легкого ланцюга; A118 (нумерація EU) важкого ланцюга; і S400 (нумерація EU) Fc-ділянки важкого ланцюга. Цистеїн-сконструйовані антитіла

можна отримати, як описано, наприклад, у патенті США № 7521541.

Отже, явним чином передбачені імунокон'югати HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2, кон'юговані з одним або більше цитотоксичними агентами, наприклад, хіміотерапевтичними агентами або лікарськими засобами, інгібіторами росту, токсинами (наприклад, білковими токсинами, токсинами бактеріального, грибового, рослинного або тваринного походження, що мають ферментативну активність, або їх фрагментами) або радіоактивними ізотопами.

У деяких випадках імунокон'югат являє собою кон'югат антитіла – лікарський засіб (ADC), при цьому антитіло кон'югують з одним або більше лікарських засобів, включаючи, без обмеження, майтанзиноїд (дивіться патенти США №№ 5208020, 5416064 та Європейський патент EP 0 425 235 B1); аурістатін, такий як фрагменти DE і DF препарату монометілаурістатину (MMAE і MMAF) (дивіться патенти США №№ 5635483 і 5780588 і 7498298.); доластатін; каліхеаміцин або його похідне (дивіться патенти США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 та 5877296; Hinman et al., Cancer Res. 53: 3336-3342 (1993); і Lode et al., Cancer Res. 58: 2925-2928 (1998)); антрациклін, такий як дауноміцин або доксорубіцин (дивіться Kratz et al., Current Med. Chem. 13: 477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16: 358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16: 717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12: 1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45: 4336-4343 (2002); і патент США № 6630579); метотрексат; віндезін; таксани, такі як доцетаксел, паклітаксел, ларотаксел, тезетаксел і ортатаксел; тріхотеценом; і CC1065.

В іншому аспекті імунокон'югат містить HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2, кон'юговане з ферментативно активним токсином або його фрагментом, включаючи, без обмеження, ланцюг А дифтерійного токсину, незв'язувальні активні фрагменти дифтерійного токсину, ланцюг А екзотоксину (із *Pseudomonas aeruginosa*), ланцюг А рицину, ланцюг А абрину, ланцюг А модецину, альфа-сарцин, білки *Aleurites fordii*, діантинові білки, білки *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII та PAP-S), інгібітор із *Momordica charantia*, курцин, кротин, інгібітор із *Saponaria officinalis*, гелонін, мітогелін, рестриктоцин, феноміцин, еноміцин і трикотецени.

В іншому варіанті здійснення імунокон'югат містить HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2, кон'юговане з радіоактивним атомом для утворення радіокон'югата. Для отримання радіокон'югатів доступні різноманітні радіоактивні ізотопи. Приклади включають At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} та радіоактивні ізотопи Lu. Якщо радіокон'югат застосовують для виявлення, він може містити радіоактивний атом для скінтиграфічних досліджень, наприклад Tc^{99m} або I^{123} , або спінову мітку для ядерно-магнітного резонансу (ЯМР) (також відомого як магнітно-резонансна томографія, МРТ), наприклад йод-123, йод-131, індій-111, флуор-19, карбон-13, нітроген-15, кисень-17, гадоліній, манган або ферум.

Кон'югати HER2 TDB і/або додаткового антитіла до HER2 та цитотоксичного агента можна отримувати за допомогою ряду біфункціональних агентів, які зв'язують білок, таких як N-сукцинімідил-3-(2-піридилдитіо)пропіонат (SPDP), сукцинімідил-4-(N-малеїмідометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), імінотіолан (IT), біфункціональні похідні імідоестерів (такі як диметиладіпімідат HCl), активні естери (такі, як дисукцинімідилсуберат), альдегіди (такі, як глутаральдегід), біс-азидо-сполуки (такі, як біс(p-азидобензоїл)-гександіамін), похідні біс-діазонію (такі, як біс(p-діазонію бензоїл)-етилендіамін), діізоціанати (такі, як толуол 2,6-діізоціанат) і біс-активні сполуки фтору (такі, як 1,5-дифтор-2,4-динітробензол). Наприклад, імунотоксин на основі рицину можна отримувати, як описано в Vitetta et al., Science 238:1098 (1987). Мічена карбоном-14 1-ізоціанатобензил-3-метилдіетилентриамінопентаоцтова кислота (MX-DTPA) являє собою ілюстративний хелатуючий агент для кон'югації радіонукліда з антитілом. Дивіться WO94/11026. Лінкер може являти собою "розщеплюваний лінкер", який полегшує вивільнення цитотоксичного лікарського засобу в клітині. Наприклад, можна використовувати кислотно-лабільний лінкер, чутливий до пептидази лінкер, фотолабільний лінкер, диметилловий лінкер або лінкер, дисульфід-вмісний (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); патент США № 5208020).

Імунокон'югати або ADC за цим документом включають, без обмеження, кон'югати, отримані за допомогою перехресно-зшивальних реагентів, включаючи, без обмежень, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC і сульфо-SMPB, а також SVSB (сукцинімідил-(4-вінілсульфон)бензоат), які є комерційно доступними (наприклад, від Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A.).

д. Інші похідні антитіл

У деяких випадках HER2 TDB і/або додаткове антитіло до HER2 може бути модифіковане

так, щоб містити додаткові небілкові фрагменти, які відомі в цій галузі техніки та легко доступні, і які вводять суб'єкту відповідно до описаних у цьому документі способів. Фрагменти, придатні для дериватизації антитіла, включають, але не обмежуються цим, водорозчинні полімери. Необмежувальні приклади водорозчинних полімерів включають, поліетиленгліколь (ПЕГ), сополімери етиленгліколю/пропіленгліколю, карбоксиметилцелюлозу, декстран, полівініловий спирт, полівінілпіролідон, полі-1,3-діоксолан, полі-1,3,6-тріоксан, сополімер етилену/малеїнового ангідриду, поліамінокислоти (або гомополімери, або статистичні сополімери), декстран або полі (п-вінілпіролідон) поліетиленгліколь, гомополімери пропіленгліколю, сополімери оксиду/етиленоксиду, поліоксиетильовані поліоли (наприклад, гліцерин), полівініловий спирт і їхні суміші. Пропіоновий альдегід поліетиленгліколю може мати переваги при виготовленні внаслідок його стабільності у воді. Полімер може мати будь-яку молекулярну масу і може бути розгалуженим або нерозгалуженим. Кількість полімерів, прикріплених до антитіла, може варіюватися, і якщо прикріплено більш одного полімеру, вони можуть являти собою однакові або різні молекули. Загалом кількість та/або тип полімерів, що застосовуються для дериватизації, можна визначити на підставі міркувань, які включають, без обмеження, конкретні властивості або функції антитіла, які потрібно поліпшити, в залежності від того, чи буде похідне антитіла застосовуватися в терапії за певних умов тощо.

У деяких випадках запропоновані кон'югати антитіла та небілкового фрагмента, які можуть вибірково нагріватися під дією опромінення. В одному випадку небілковий фрагмент являє собою вуглецеву нанотрубку (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). Випромінювання може мати будь-яку довжину хвилі та включає, без обмеження, довжини хвиль, які не шкодять звичайним клітинам, але які нагрівають небілкові фрагменти до температури, за якої гинуть клітини, розташовані проксимально до кон'югата антитіло-небілковий фрагмент.

Дозування

HER2 TDB і додаткові антитіла до HER2 дозують і вводять чином, що відповідає належній медичній практиці. Запропоновані в цьому документі схеми лікування включають спільне лікування будь-яким з описаних в цьому документі HER2 TDB із додатковим антитілом до HER2 (наприклад, антитілом до HER2, яке не є TDB, наприклад, трастузумабом), причому додаткове антитіло до HER2 вводять перед введенням HER2 TDB (наприклад, перед першим введенням HER2 TDB і/або перед будь-якими подальшими введеннями HER2 TDB).

У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 (наприклад, антитіло до HER2, яке не є TDB, наприклад, трастузумаб) вводять у дозі від приблизно 5 мг/кг до приблизно 10 мг/кг (наприклад, від 5 мг/кг до 10 мг/кг або від 6 мг/кг до 8 мг/кг, наприклад, приблизно 5 мг/кг, приблизно 6 мг/кг, приблизно 7 мг/кг, приблизно 8 мг/кг, приблизно 9 мг/кг або приблизно 10 мг/кг). У деяких варіантах здійснення антитіло до HER2 (наприклад, антитіло до HER2, яке не є TDB, наприклад, трастузумаб) вводять приблизно один раз кожні три тижні (Q3W). Антитіло до HER2 можна вводити за допомогою інфузії (наприклад, внутрішньовенної) протягом щонайменше приблизно 30 хвилин (наприклад, 30–90 хвилин). У деяких випадках, наприклад, за першого введення антитіла до HER2, антитіло до HER2 можна вводити за допомогою інфузії (наприклад, внутрішньовенної) протягом щонайменше приблизно 90 хвилин і проводити спостереження за суб'єктом щодо небажаних реакцій від антитіла до HER2 протягом 4–24 годин, наприклад, до введення HER2 TDB. В альтернативному варіанті антитіло до HER2 можна вводити того самого дня, що і HER2 TDB (наприклад, приблизно через 30–120 хвилин після інфузії антитіла до HER2). У деяких варіантах здійснення час між першою дозою антитіла до HER2 і першою дозою HER2 TDB є більшим для першого циклу дозування, ніж для подальших циклів дозування. Наприклад, першу дозу антитіла до HER2 можна вводити за 24 години до початку першого циклу дозування шляхом введення першої дози HER2 TDB, тоді як подальші цикли дозування включають дозу антитіла до HER2 в один день з дозою HER2 TDB (наприклад, за 30–120 хвилин до дози HER2 TDB).

У деяких випадках HER2 TDB (наприклад, BTRC4017A) вводять у фіксованій дозі. Наприклад, HER2 TDB можна вводити у фіксованій дозі від 0,001 мг до 500 мг (наприклад, від 0,003 мг до 250 мг, від 0,005 мг до 200 мг, від 0,01 мг до 150 мг, від 0,05 мг до 120 мг, від 0,1 мг до 100 мг, від 0,5 мг до 80 мг або від 1,0 мг до 50 мг, наприклад, від 0,001 мг до 0,005 мг, від 0,005 мг до 0,01 мг, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг, від 90 мг до 100 мг, від 100 мг до 120 мг, від 120 мг до 150 мг, від 150 мг до 200 мг, від 200 мг до 250 мг, від 250 мг до 300 мг, від 300 мг до 350 мг, від 350 мг до 400 мг, від 400 мг до 450 мг або від 450 мг до 500 мг, наприклад, приблизно 0,003 мг, приблизно 0,005 мг, приблизно 0,01 мг,

приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг, приблизно 100 мг, приблизно 150 мг, приблизно 200 мг або приблизно 250 мг, наприклад, 0,003 мг, 0,009 мг, 0,027 мг, 0,081 мг, 0,24 мг, 0,72 мг, 1,08 мг, 1,51 мг, 2,2 мг, 2,3 мг, 4,0 мг, 4,6 мг, 6,6 мг, 8,0 мг, 9,2 мг, 12 мг, 13,2 мг, 14,8 мг, 18,4 мг, 19,8 мг, 26,4 мг, 36,8 мг, 51,5 мг, 52,8 мг, 61,3 мг, 72,1 мг, 105,6 мг, 147,8 мг, 176 мг або 207 мг). У деяких варіантах здійснення HER2 TDB (наприклад, BTRC4017A) вводять приблизно один раз кожні три тижні (Q3W).

Запропоновані в цьому документі способи включають схеми лікування з одноетапним фракціонуванням. У конкретному випадку схема лікування з одноетапним фракціонуванням включає першу дозу антитіла до HER2 (наприклад, трастузумабу) і після цього перший цикл дозування (C1). C1 включає першу дозу HER2 TDB (наприклад, BTRC2017A) (C1D1) і другу дозу HER2 TDB (C1D2), причому C1D2 перевищує C1D1 (наприклад, щонайменше у два рази перевищує C1D1, наприклад, у приблизно два–п'ять раз перевищує C1D1, наприклад, у приблизно два–три раз перевищує C1D1). Другий цикл дозування (C2) проводять після C1, причому C2 включає другу дозу антитіла до HER2 (наприклад, у день 1 C1) і після цього (наприклад, через 30–120 хвилин після другої дози антитіла до HER2) додаткову дозу HER2 TDB (C2D1). За такого одноетапного фракціонування C2D1 може бути еквівалентною з C1D2.

У деяких випадках C1D1 становить від 0,003 мг до 50 мг (наприклад, від 0,003 мг до 50 мг, від 0,005 мг до 20 мг, від 0,01 мг до 10 мг, від 0,05 мг до 8 мг або від 0,1 мг до 5 мг, наприклад, від 0,001 мг до 0,005 мг, від 0,005 мг до 0,01 мг, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг або від 40 мг до 50 мг, наприклад, приблизно 0,003 мг, приблизно 0,005 мг, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг або приблизно 50 мг). У деяких варіантах здійснення C1D1 становить 0,003 мг, 0,009 мг, 0,027 мг, 0,081 мг, 0,12 мг, 0,24 мг, 0,48 мг, 0,72 мг, 1,0 мг, 2,0 мг, 2,2 мг, 4,0 мг, 6,6 мг, 8,0 мг, 12 мг, 18 мг, 27 мг або 40,5 мг. C1D2 може становити від 0,009 мг до 200 мг (наприклад, від 0,01 мг до 150 мг, від 0,05 мг до 100 мг, від 0,1 мг до 50 мг, від 0,5 мг до 20 мг або від 1 мг до 10 мг, наприклад, від 0,009 мг до 0,01 мг, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг, від 90 мг до 100 мг, від 100 мг до 120 мг, від 120 мг до 150 мг або від 150 мг до 200 мг, наприклад, приблизно 0,009 мг, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг, приблизно 100 мг, приблизно 150 мг або приблизно 200 мг). У деяких варіантах здійснення C1D2 становить 0,009 мг, 0,027 мг, 0,081 мг, 0,24 мг, 0,4 мг, 0,72 мг, 0,08 мг, 1,6 мг, 2,2 мг, 2,3 мг, 3,2 мг, 4,6 мг, 6,4 мг, 6,6 мг, 9,2 мг, 12,8 мг, 14,8 мг, 18,4 мг, 19,8 мг, 25,6 мг, 36,8 мг, 38,4, 51,5 мг, 57,6 мг, 72,1 мг, 86,4 мг, 61,3 мг або 129,6 мг.

У схемі лікування з одноетапним фракціонуванням C1D1 і C1D2 вводять у різні дні в C1. У деяких варіантах здійснення, наприклад, в яких C1 становить 21 день, C1D1 вводять у день 1 C1, а C1D2 вводять у день 8 C1.

Додатково в цьому документі запропоновані схеми з двоетапним фракціонуванням, які

включають третю дозу HER2 TDB у першому циклі дозування (C1D3). C1D3 є більшою за C1D2, яка є більшою за C1D1. У деяких варіантах здійснення C1D1, C1D2 і C1D3 разом перевищують найбільшу дозовану дозу HER2 TDB у першому циклі дозування в схемі дозування з одноетапним фракціонуванням і збільшенням дози. Наприклад, у дослідженні зі схемою дозування з одноетапним фракціонуванням і підвищенням дози, в якому найбільша дозована доза за визначенням становить 20 мг в C1, сумарна доза C1D1, C1D2 і C1D3 в схемі лікування з двоетапним фракціонуванням може перевищувати 20 мг (наприклад, приблизно 25 мг). У таких схемах лікування з двоетапним фракціонуванням C1D2 може у два–десять разів (наприклад, у приблизно два рази, приблизно три рази, приблизно чотири рази, приблизно п'яти разів, приблизно шість разів, приблизно сім разів, приблизно вісім разів, приблизно дев'ять разів або приблизно десять разів) перевищувати дозу C1D1. У додатковому або альтернативному варіанті C1D3 може у два–три рази перевищувати дозу C1D2. У деяких випадках C2D1 є еквівалентною C1D3.

У конкретних випадках схеми лікування з двоетапним фракціонуванням C1D1 може становити від 0,01 мг до 20 мг (наприклад, від 0,05 мг до 15 мг, від 0,1 мг до 10 мг або від 0,5 мг до 5 мг, наприклад, від 0,01 мг до 0,05 мг, від 0,05 мг до 0,1 мг, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 15 мг або від 15 мг до 20 мг, наприклад, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг або приблизно 20 мг). У додатковому або альтернативному варіанті C1D2 може становити від 0,1 мг до 100 мг (наприклад, від 0,1 мг до 80 мг, від 0,5 мг до 50 мг або від 1 мг до 10 мг, наприклад, від 0,1 мг до 0,5 мг, від 0,5 мг до 1,0 мг, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг або від 90 мг до 100 мг, наприклад, приблизно 0,01 мг, приблизно 0,05 мг, приблизно 0,1 мг, приблизно 0,5 мг, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг або приблизно 100 мг). Таким чином, C1D3 може знаходитися в діапазоні від 1 мг до 400 мг (наприклад, від 10 мг до 300 мг, від 20 мг до 200 мг або від 50 мг до 100 мг, наприклад, від 1,0 мг до 5 мг, від 5 мг до 10 мг, від 10 мг до 20 мг, від 20 мг до 30 мг, від 30 мг до 40 мг, від 40 мг до 50 мг, від 50 мг до 60 мг, від 60 мг до 70 мг, від 70 мг до 80 мг, від 80 мг до 90 мг, від 90 мг до 100 мг, від 100 мг до 120 мг, від 120 мг до 150 мг, від 150 мг до 200 мг, від 200 до 250 мг, від 250 мг до 300 мг, від 300 мг до 350 мг або від 350 мг до 400 мг, наприклад, приблизно 1,0 мг, приблизно 2 мг, приблизно 3 мг, приблизно 4 мг, приблизно 5 мг, приблизно 6 мг, приблизно 7 мг, приблизно 8 мг, приблизно 9 мг, приблизно 10 мг, приблизно 11 мг, приблизно 12 мг, приблизно 13 мг, приблизно 14 мг, приблизно 15 мг, приблизно 16 мг, приблизно 17 мг, приблизно 18 мг, приблизно 19 мг, приблизно 20 мг, приблизно 21 мг, приблизно 22 мг, приблизно 23 мг, приблизно 24 мг, приблизно 25 мг, приблизно 30 мг, приблизно 35 мг, приблизно 40 мг, приблизно 45 мг, приблизно 50 мг, приблизно 55 мг, приблизно 60 мг, приблизно 65 мг, приблизно 70 мг, приблизно 75 мг, приблизно 80 мг, приблизно 85 мг, приблизно 90 мг, приблизно 95 мг, приблизно 100 мг, приблизно 150 мг, приблизно 200 мг, приблизно 250 мг, приблизно 300 мг, приблизно 350 мг або приблизно 400 мг). У деяких варіантах здійснення C1D3 становить 1,1 мг, 2,2 мг, 4,4 мг, 6,6 мг, 8,8 мг, 13,2 мг, 17,6 мг, 26,4 мг, 35,2 мг, 52,8 мг, 70,4 мг, 105,6 мг, 147,8 мг, 158,4 мг, 176 мг, 207 мг, 237,6 мг або 356,4 мг.

У схемі лікування з двоетапним фракціонуванням C1D1, C1D2 і C1D3 вводять у різні дні в C1. У деяких варіантах здійснення, наприклад, в яких C1 становить 21 день, C1D1 вводять у день 1 C1, C1D2 вводять у день 8 C1, а C1D3 вводять у день 15.

У деяких випадках будь-якої з вищеописаних схем лікування другий і подальші цикли дозування дорівнюють за тривалістю першому циклу дозування (наприклад, 7–42 дні, 14–35 днів або 21–28 днів, наприклад, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 дні або більше). У деяких варіантах здійснення C1, C2, C3 і усі подальші цикли (наприклад, C4, C5, C6 тощо) кожного становлять

приблизно 21 день. HER2 TDB і антитіло до HER2 обидва можна вводити в день 1 кожного циклу після C1.

Тривалість терапії можна продовжити відповідно до медичних показань або до досягнення бажаного терапевтичного ефекту (наприклад, описаних у цьому документі). У деяких варіантах здійснення лікування продовжують протягом 1 місяця, 2 місяців, 4 місяців, 6 місяців, 8 місяців, 10 місяців, 1 року, 2 років, 3 років, 4 років, 5 років або протягом усього життя суб'єкта.

Для усіх описаних у цьому документі способів одне або більше антитіл до HER2 складають, дозують і вводять чином, що відповідає належній медичній практиці. Фактори, що враховуються у цьому контексті, включають конкретне порушення, що підлягає лікуванню, конкретного ссавця, який підлягає лікуванню, клінічний стан окремого пацієнта, причину порушення, місце доставлення агента, спосіб введення, графік введення та інші фактори, відомі лікарям, що практикують. Одне або більше антитіл до HER2 необов'язково змішують з одним або більше агентами, які застосовують на цей момент для профілактики або лікування порушення, що обговорюється. Ефективна кількість таких інших агентів залежить від кількості антитіла до HER2, присутнього в препараті, типу розладу або лікування та інших факторів, які обговорювалися вище. Одне або більше антитіл до HER2 переважно можна вводити пацієнту в серії сеансів лікування.

Додаткові терапевтичні агенти

У деяких випадках будь-яких описаних способів лікування суб'єкта, що має HER2-позитивний рак, схема лікування може включати введення одного або більше додаткових терапевтичних агентів.

В одному випадку додатковий терапевтичний агент являє собою кортикостероїд, який можна вводити як попереднє лікування перед (наприклад, приблизно за 1 годину до) введенням HER2 TDB або додаткового антитіла до HER2. Премедикація кортикостероїдом може включати введення дексаметазону або метилпреднізолону. У додатковому або альтернативному варіанті описані в цьому документі схеми лікування можуть включати введення (наприклад, попереднє лікування) ацетамінофену, парацетамолу або дифенгідраміну.

У деяких випадках вводять антагоніст IL-6R, такий як тоцилізумаб (АКТЕМПА® / РоАКТЕМПА®), наприклад, за необхідності контролю події СВЦ. У конкретних варіантах здійснення антагоніст IL-6R (наприклад, тоцилізумаб) вводять внутрішньовенно, наприклад, у дозі від 1 мг/кг до 25 мг/кг (наприклад, від 5 мг/кг до 10 мг/кг, наприклад, приблизно 8 мг/кг), за необхідності.

У деяких випадках будь-яка з описаних у цьому документі схем лікування включає введення антагоніста, що зв'язує вісь PD-1 (наприклад, PD-L1-зв'язувального антагоніста, PD-1-зв'язувального антагоніста та PD-L2-зв'язувального антагоніста).

У деяких випадках PD-1-зв'язувальний антагоніст являє собою антитіло до PD-L1, вибране з MPDL3280A (атезолізумаб), YW243.55.S70, MDX-1105, і MEDI4736 (дурвалумаб), і MSB0010718C (авелумаб). Антитіло YW243.55.S70 являє собою антитіло до PD-L1, описане в публікації PCT № WO 2010/077634. MDX-1105, також відомий як BMS-936559, являє собою антитіло до PD-L1, описане в публікації PCT № WO 2007/005874. MEDI4736 (дурвалумаб) являє собою моноклональне антитіло до PD-L1, описане в публікації PCT № WO 2011/066389 і публікації США № 2013/034559. Приклади антитіл до PD-L1, застосованих для способів за цим винаходом, і способи їх отримання, описані в публікаціях PCT №№ WO 2010/077634, WO 2007/005874 і WO 2011/066389, а також у патенті США № 8217149 і публікації США № 2013/034559, які всі включено в цей документ за допомогою посилання.

У деяких випадках PD-1-зв'язувальний антагоніст являє собою інше антитіло до PD-1, таке як антитіло до PD-1, вибране з групи, що складається з MDX-1106 (ніволумаб), MK-3475 (пембролізумаб), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810 і BGB-108. MDX-1106, також відомий як MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 або ніволумаб, являє собою антитіло до PD-1, описане в публікації PCT № WO 2006/121168. MK-3475, також відомий як пембролізумаб або ламбролізумаб, являє собою антитіло до PD-1, описане в публікації PCT № WO 2009/114335. В інших випадках PD-1-зв'язувальний антагоніст являє собою імунoadгезин (наприклад, імунoadгезин, що містить позаклітинну або PD-1-зв'язувальну частину PD-L1 або PD-L2, зливу з константною ділянкою (наприклад, Fc-ділянкою послідовності імуноглобуліну). В інших випадках PD-1-зв'язувальний антагоніст являє собою AMP-224. AMP-224, також відомий як B7-DCIg, являє собою розчинний PD-L2-Fc-злитий рецептор, описаний у публікаціях PCT №№ WO 2010/027827 і WO 2011/066342.

В інших випадках PD-L2-зв'язувальний антагоніст являє собою антитіло до PD-L2 (наприклад, людське, гуманізоване або химерне антитіло до PD-L2). У деяких випадках PD-L2-зв'язувальний антагоніст являє собою імунoadгезин.

У додатковому варіанті здійснення додатковий терапевтичний агент являє собою додатковий хіміотерапевтичний агент і/або кон'югат антитіло – лікарський засіб (ADC). В одному варіанті здійснення HER2 TDB і/або антитіло до HER2 вводять разом з одним або більше додатковими хіміотерапевтичними агентами, вибраними з циклофосфаміду, доксорубіцину, вінкристину та преднізолону (CHOP). В одному варіанті здійснення HER2 TDB і/або антитіло до HER2 вводять разом з ADC, вибраним із кон'югата антитіла до CD79b і лікарського засобу (такого як анти-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE або анти-CD79b кон'югат антитіло – лікарський засіб, описані у будь-якій з робіт U.S. 8088378 і/або US 2014/0030280, або полатузумаб ведотин).

У деяких випадках додаткова терапія включає алкілюючий агент. В одному випадку алкілюючий агент являє собою 4-[5-[біс(2-хлоретил)аміно]-1-метілбензімідазол-2-іл]бутанову кислоту та її солі. В одному випадку алкілюючий агент являє собою бендамустин.

У деяких випадках додаткова терапія включає інгібітор BCL-2. В одному варіанті здійснення інгібітор BCL-2 являє собою 4-(4-[[2-(4-хлорфеніл)-4,4-диметилциклогекс-1-ен-1-іл]метил]піперазин-1-іл)-N-({3-нітро-4-[(тетрагідро-2H-піран-4-ілметил)аміно]феніл}сульфоніл)-2-(1H-піроло[2,3-b]піридин-5-ілокси)бензамід і його солі. В одному випадку інгібітор BCL-2 являє собою венетоклакс (CAS №: 1257044-40-8).

У деяких випадках додаткова терапія включає інгібітор фосфоінозитид-3-кінази (PI3K). В одному випадку інгібітор PI3K інгібує дельта-ізоформу PI3K (тобто P110δ). У деяких випадках інгібітор PI3K являє собою 5-фтор-3-феніл-2-[(1S)-1-(7H-пурин-6-іламіно)пропіл]-4(3H)-хіназолінон і його солі. В одному випадку інгібітор PI3K являє собою ідепалісіб (CAS №: 870281-82-6). В одному випадку інгібітор PI3K інгібує альфа- та дельта-ізоформи PI3K. У деяких випадках інгібітор PI3K являє собою 2-{3-[2-(1-ізопропіл-3-метил-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)-5,6-дигідробензо[*f*]імідазо[1,2-*d*][1,4]оксазепін-9-іл]-1H-піразол-1-іл]-2-метилпропанамід і його солі.

У додатковому аспекті винаходу додаткова терапія включає інгібітор тирозинкінази Брутона (BTK). В одному випадку інгібітор BTK являє собою 1-[(3R)-3-[4-аміно-3-(4-феноксифеніл)-1H-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл]піперидин-1-іл]проп-2-ен-1-он і його солі. В одному випадку інгібітор BTK являє собою ібрутиніб (CAS №: 936563-96-1).

У деяких випадках додаткова терапія включає талідомід або його похідне. В одному випадку талідомід або його похідне являє собою (RS)-3-(4-аміно-1-оксо-1,3-дигідро-2H-ізоіндол-2-іл)піперидин-2,6-діон і його солі. В одному випадку талідомід або його похідне являє собою леналідомід (CAS №: 191732-72-6).

Фармацевтичні композиції та суміші

Фармацевтичні композиції та суміші HER2 TDB і/або антитіл до HER2, описаних вище, можна отримувати, змішуючи такі агенти, що мають необхідну міру чистоти, з одним або більше необов'язковими фармацевтично прийнятними носіями (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), у формі ліофілізованих сумішей або водних розчинів. Фармацевтично прийнятні носії зазвичай є нетоксичними для реципієнтів у застосовних дозах та концентраціях і включають, без обмеження: буфери, такі як фосфат, цитрат та інші органічні кислоти; антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту та метіонін; консерванти (такі як октадецилдиметилбензилхлорид амонію; гексаметонію хлорид; бензалконію хлорид; бензетонію хлорид; феноловий, бутиловий або бензиловий спирт; алкілпарабени, такі як метил- або пропілпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол; та м-крезол); низькомолекулярні (менше ніж приблизно 10 залишків) поліпептиди; білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, глутамін, аспарагін, гістидин, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди та інші вуглеводи, включаючи глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі агенти, такі як ЕДТА; цукри, такі як сахароза, маніт, трегалоза або сорбіт; солетворні протиіони, такі як натрій; металеві комплекси (наприклад, Zn-білкові комплекси); та/або неіонні поверхнево-активні речовини, такі як поліетиленгліколь (ПЕГ). Ілюстративні фармацевтично прийнятні носії у цьому документі додатково включають агенти диспергування лікарських препаратів у інтерстиціальному просторі, такі як розчинні нейтрально активні глікопротеїни гіалуронідази (sHASEGP), наприклад, людські розчинні глікопротеїни гіалуронідази PH-20, такі як rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.). Деякі типові sHASEGP, зокрема rHuPH20, та способи їх використання описано в публікаціях патентів США №№ 2005/0260186 і 2006/0104968. В одному аспекті sHASEGP комбінують з однією або більше додатковими глікозаміногліканазами, такими як хондроїтинази.

Ілюстративні ліофілізовані суміші антитіл описано в патенті США № 6267958. Водні препарати антитіл включають ті, що описані в патенті США № 6171586 і WO2006/044908, причому останні препарати містять гістидин-ацетатний буфер.

Суміш за цим документом також може містити більше одного активного інгредієнта, за

необхідності у випадку конкретного показання, яке підлягає лікуванню, переважно сполуки, які мають взаємодоповнювальну активність і не впливають негативно одна на одну. Наприклад, може існувати потреба в додатковому терапевтичному агенті (наприклад, хіміотерапевтичному агенті, цитотоксичному агенті, агенті, що інгібує ріст, і/або антигормональному агенті, такому як ті, що перелічені вище). Такі активні інгредієнти належним чином присутні у комбінації у кількостях, які є ефективними для мети, що передбачається.

Активні інгредієнти можуть бути заключені в мікрокапсули, отримані, наприклад, за допомогою методик коацервації або шляхом міжфазної полімеризації, наприклад, гідроксиметилцелюлозні або желатинові мікрокапсули та мікрокапсули з поліметилметакрилату, відповідно у системах доставлення колоїдних препаратів (наприклад, ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки та нанокапсули) або в макроемульсіях. Такі методики описані в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

Можна готувати препарати з уповільненим вивільненням. Придатні приклади препаратів з уповільненим вивільненням включають напівпроникні матриці твердих гідрофобних полімерів, що містять антиіло, причому матриці являють собою виріб певної форми, наприклад, плівки або мікрокапсули.

Суміші, призначені для використання для введення *in vivo*, зазвичай є стерильними. Стерильність можна легко забезпечити, наприклад, за допомогою фільтрування через стерильні фільтраційні мембрани.

III. Готові вироби

У винаході додатково запропоновані готові вироби, які містять матеріали, застосовні для лікування або відвертання HER2-позитивного раку. Готовий виріб містить контейнер та етикетку або вкладення в упакування на або у поєднанні з контейнером. Відповідні контейнери включають, наприклад, пляшки, флакони, шприци, пакети з розчином для в/в введення тощо. Контейнери можуть бути виготовлені з різних матеріалів, таких як скло або пластик. Контейнер утримує композицію, яка знаходиться сама по собі або в комбінації з іншою композицією, ефективною для лікування або відвертання патологічного стану, та може мати стерильний порт доступу (наприклад, контейнер може являти собою пакет для внутрішньовенного розчину або флакон, що має пробку, яка проколюється підшкірною голкою для ін'єкцій). Щонайменше один активний агент в композиції являє собою описане в цьому документі HER TDB. На етикетці або вкладенні в упакуванні вказано, що композицію використовують для лікування вибраного HER2-позитивного раку (наприклад, HER2-позитивного раку молочної залози або HER2-позитивного раку шлунку), і додатково наведена інформація щодо щонайменше однієї з схем дозування, описаних у цьому документі. Окрім того, промисловий виріб може містити (а) перший контейнер з композицією, що міститься в ньому, причому композиція містить HER2 TDB; і (б) другий контейнер з композицією, що міститься в ньому, причому композиція містить додаткове антиіло до HER (наприклад, багатовалентне (наприклад, двовалентне) HER2-зв'язувальне антиіло, наприклад, трастузумаб). В альтернативному або додатковому варіанті готовий виріб може додатково містити один або більше додаткових контейнерів, що містять (а) додатковий терапевтичний агент; і/або (б) фармацевтично прийнятний буфер, такий як бактеріостатична вода для ін'єкцій (БВДІ), фосфатно-сольовий буферний розчин, розчин Рінгера та розчин декстрази. Контейнери можуть додатково містити інші матеріали, необхідні з комерційної та споживацької точки зору, включаючи інші буфери, розчинники, фільтри, голки та шприци.

IV. Приклади

Нижче наведено приклади способів за винаходом. Необхідно розуміти, що різні інші варіанти здійснення можуть бути здійснені на практиці з урахуванням загального опису, наведеного вище.

Приклад 1. Доклінічна ефективність спільного лікування BTRC4017A і трастузумабом

Створювали повнорозмірне IgG1 TDB, BTRC4017A, яке зв'язує як HER2, так і CD3, використовуючи конструювання за типом "виступ у западину" (дивіться, наприклад, патент США № 5731168), і має плече проти HER2, що містить HER2-зв'язувальний сайт 4D5, і плече проти CD3, що містить CD3-зв'язувальний сайт 40G5c (дивіться, наприклад, WO 2015/095392). HER2-зв'язувальний сайт 4D5 із BTRC4017A отриманий із трастузумабу (ГЕРЦЕПТИН®) і зв'язує той самий епітоп у домені IV HER2, як проілюстровано на Фіг. 1. Трастузумаб конкурує з BTRC4017A за зв'язування з HER2 і, отже, може перешкоджати активності BTRC4017A.

In Vitro фармакологія BTRC4017A в комбінації з трастузумабом (Герцептин)

Досліджували вплив трастузумабу на активність BTRC4017A *in vitro* та *in vivo*, використовуючи HER2-ампліфіковану лінію клітин KPL4, яка представляє HER2-позитивний рак. Вплив комбінації також моделювали, використовуючи лінію клітин HT55, яка експресує низькі рівні HER2, схожі з нормальними рівнями HER2 у людських тканинах. Пухлини HT55

використовували для моделювання цільової активності щодо нормальних клітин/тканин, які експресують низькі рівні HER2, тоді як пухлинні клітини KPL4 представляли пухлину з надекспресією HER2. MCF7 є лінією клітин раку молочної залози HER2 IHC0, включену як негативний контроль. Рівні експресії HER2 у модельних лініях клітин наведені на Фіг. 2.

Щоб оцінити ефект трастузумабу на *in vitro* активність BTRC4017A, проводили експерименти доза – відповідь у присутності 230 мкг/мл і 60 мкг/мл трастузумабу. Ці концентрації трастузумабу представляють клінічні максимальну сироваткову концентрацію ($C_{\text{макс}}$) і мінімальну сироваткову концентрацію ($C_{\text{мін}}$) при раку молочної залози при рекомендованих дозах (8 або 6 мкг/кг кожні 3 тижні [Q3W]). Очищені людські CD8⁺T- клітини використовували як ефектори, щоб звести до мінімуму цільове знищення клітин трастузумабом за допомогою клітинноопосередкованої АЗКЦ. Трастузумаб інгібував активність BTRC4017A в обох лініях клітин (Фіг. 3А і 3Б), а для досягнення 50 % ефективної концентрації знищення KPL4 (Фіг. 3А) у присутності трастузумаба було потрібно в 600–2000 разів більше BTRC4017A. Інгібувальний ефект трастузумабу на активність BTRC4017A відповідав такому самому діапазону, коли мішеннями слугували клітини HT55, але за вищих концентрацій BTRC4017A був здатний долати інгібувальний ефект трастузумабу в обох лініях клітин.

In Vivo фармакологія BTRC4017A в комбінації з трастузумабом-LALAPG

Опосередковані Fc-рецепторами ефекторні функції грають основну роль в *in vivo* активності трастузумабу та можуть заважати експериментам *in vivo*, направляючи інгібувальний ефект трастузумабу на активність BTRC4017A. Тому Fc-ділянку трастузумабу модифікували шляхом внесення ряду амінокислотних замінів, які послаблюють ефекторні функції людського IgG₁, щоб створити варіант трастузумаб-LALAPG. Мутаціями LALAPG є L234A, L235A і P329G. Fab проти HER2 в трастузумабі не був модифікований у варіанті трастузумаб-LALAPG, ця модифікація не змінювала зв'язування HER2, що підтвердив аналіз зв'язування HER2 методом проточної цитометрії (Фіг. 4).

Щоб дослідити ефект трастузумабу/LALAPG на активність BTRC4017A, використовували мишачу модель з подвійною пухлиною з мишами з сильно ослабленим імунітетом NOD scid-gamma (NSG). Мишам NSG додатково вводили людські Т-клітини шляхом внутрішньоочеревної ін'єкції людських мононуклеарних клітин периферичної крові (МКПК). Кожній миші прищеплювали в один бік пухлину KPL4, а пухлину HT55 прищеплювали в протилежний бік. KPL4 являє собою HER2-ампліфіковану лінію клітин і представляє пухлину з надекспресією HER2, тоді як пухлини HT55 використовували для моделювання цільової/позапухлинної активності в нормальних клітинах/тканинах, які експресують низькі рівні HER2 (Фіг. 2).

Як показано на Фіг. 5А, одна доза BTRC4017A індукувала регресію пухлин KPL4 за $\geq 0,05$ мкг/кг. Для індукції регресії пухлин HT55 була потрібна вдесятеро більша доза BTRC4017A (Фіг. 5Б), що вказує на те, що терапевтичний індекс можна підвищити на основі високої експресії HER2 у HER2-позитивних пухлинах.

У групах спільної обробки 5,0 мкг/кг трастузумабу-LALAPG вводили за чотири години до введення BTRC4017A. Трастузумаб-LALAPG не впливав на ефективність BTRC4017A при націлюванні на пухлини KPL4 за будь-якого досліджуваного рівня дози BTRC4017A. На відміну від цього, попередня обробка трастузумабом-LALAPG усувала активність BTRC4017A за усіх рівнів дози BTRC4017A у пухлинах HT55. Ці дані демонструють, що вплив попередньої обробки трастузумабом-LALAPG на активність BTRC4017A дуже відрізняється між пухлинами, які експресують різні рівні HER2. Зокрема, активність зберігалася в пухлинах KPL4 (HER2-ампліфікованих), але була усунена в пухлинах HT55, які експресують HER2 на такому самому рівні, що й нормальні людські тканини.

Ці дані дозволяють припустити, що обробка трастузумабом перед введенням BTRC4017A може зменшити ризик цільової/позапухлинної токсичності BTRC4017A у нормальних тканинах, які експресують низькі рівні HER2, зі збереженням протипухлинної активності в пухлинах з надекспресією HER2. Спільне введення трастузумабу з BTRC4017A в *in vivo* дослідженні на мишах не порушило протипухлинну активність BTRC4017A у HER2-позитивних пухлинах, але повністю усунуло протипухлинну активність BTRC4017A у пухлинах з низькою експресією HER2, які були репрезентативними для рівнів експресії HER2 у нормальних тканинах. Без обмеження теорією, трастузумаб може насичувати HER2 (тим самим запобігаючи зв'язуванню BTRC4017A) у нормальних тканинах із низькою експресією HER2, але при цьому не здатний насичувати HER2 у пухлинах, які експресують велику щільність HER2. Таким чином, спільне введення трастузумабу перед кожною дозою BTRC4017A може послабити цільову/позапухлинну токсичність BTRC4017A у нормальних тканинах, що експресують HER2, але при цьому по суті не впливати на протипухлинну активність BTRC4017A у пацієнтів із HER2-позитивними пухлинами. Таким чином, спільне введення трастузумабу може підвищити терапевтичний індекс

BTRC4017A.

Приклад 2. Схеми дозування з фракціонуванням і збільшенням дози для лікування HER2-позитивних видів раку BTRC4017A і трастузумабом

Щоб послабити потенційну пов'язану з цитокінами токсичність, BTRC4017A вводять за фракціонованою схемою дозування 1 (C1), в якій перша доза менша за другу дозу. У двоетапній фракціонованій схемі дозування друга доза в C1 менше за третю дозу. Цикл 2 і будь-які необхідні подальші цикли включають одне введення дози BTRC4017A, еквівалентної найбільшій дозі BTRC4017A у C1.

Трастузумаб вводять у день -1 C1, щоб належним чином розділити будь-які пов'язані з інфузією реакції (IRR), які можуть бути пов'язані з BTRC4017A і з трастузумабом. Усі подальші дози трастузумабу для циклу 2 (C2) і далі вводять у день 1 циклу перед введенням BTRC4017A. Узагальнені дані по процедурах введення трастузумабу наведені в таблиці 4 нижче:

Таблиця 4

Час і періоди спостереження у разі інфузії трастузумабу

Час останньої дози трастузумабу перед C1, день 1	C1, день -1 Час дози/інфузії трастузумабу	C1, день 1 Час спостереження після інфузії трастузумабу перед дозуванням BTRC4017A	C2, день 1 і далі Час дози/інфузії трастузумабу	C2, день 1 і далі Час спостереження після інфузії трастузумабу перед BTRC4017A
>4 тижнів	8 мг/кг протягом 90 хвилин	4-24 години	6 мг/кг протягом 30-90 хвилин	0,5-2 години
3 тижні (+ 7 днів)	6 мг/кг протягом 30-60 хвилин	0,5-2 години	6 мг/кг протягом 30-90 хвилин	0,5-2 години
C1, день -1 = цикл 1, день -1; C1, день 1 = цикл 1, день 1; C2, день 1 = цикл 2, день 1.				

BTRC4017A вводять за допомогою фракціонованого дозування під час першого 21-денного циклу та в перший день кожного подальшого циклу, аж до 17 циклів. Введення BTRC4017A здійснюють у постійній (фіксованій) дозі, незалежно від маси тіла, шляхом внутрішньовенної інфузії, використовуючи стандартні медичні шприци та шприцеві помпи або пакети для внутрішньовенних розчинів залежно від ситуації. Лікарський продукт доставляють за допомогою шприцевої помпи за допомогою інфузійного пристрою або пакету для внутрішньовенних розчинів, причому кінцевий об'єм BTRC4017A визначається дозою. У разі початкових низьких доз BTRC4017A вводитимуть тільки через периферичний катетер. Конкретна доза BTRC4017A визначає відповідні концентрації, об'єми дозування, час інфузії та також вимагає застосування конкретного пристрою для введення (наприклад, периферичного катетера, або шприцевої помпи, або в/в пакету).

Починаючи з дня 1 C1, суб'єкти отримують зростаючі дози BTRC4017A у дні 1 і 8 або в дні 1, 8 і 15 для одноетапної та двоетапної фракціонованої схеми, відповідно. У циклі 2 і далі BTRC4017A вводять у вигляді однієї дози тільки в день 1 кожного 21-денного циклу. BTRC4017A можна вводити на ± 2 дні від запланованої дати (тобто з мінімум 19 днями між дозами) з причин логістики/планування.

Премедикацію кортикостероїдами, що складається з дексаметазону (20 мг внутрішньовенно) або метилпреднізолону (80 мг внутрішньовенно), вводять за одну годину до введення кожної дози BTRC4017A в циклі 1. Окрім того, премедикацію пероральним ацетамінофеном або парацетамолом (наприклад, 500-1000 мг) і/або 25-50 мг дифенгідраміну вводять відповідно до стандартної інституціональної практики до введення BTRC4017A, якщо відсутні протипоказання. За необхідності пацієнтам можна внутрішньовенно вводити тоцилізумаб у дозі 8 мг/кг.

За відсутності дозопімітуючої токсичності (ДЛТ), неприйнятної токсичності або прогресування захворювання, пацієнтам, що мають клінічну користь, пропонують продовжити лікування BTRC4017A у вигляді єдиного агента або в комбінації з трастузумабом кожен 21 день, аж до максимум 17 циклів, до прогресування або непереносимої токсичності, залежно від того, що настане раніше.

Статус захворювання оцінюють, використовуючи Критерії оцінки відповіді при солідних пухлинах (RECIST v1.1). Пацієнти проходять оцінки пухлин під час скринінгу, під час

дослідження до припинення лікування, і по завершенню дослідження. Імуно-модифіковані критерії RECIST також використовують для характеристики профілів відповідей, пов'язаних з імунотерапією раку. Імуно-модифіковані критерії RECIST можуть доповнити стандартні критерії RECIST v1.1 і дозволити провести інтегровану оцінку користі та ризику для пацієнтів. У цілому в контексті BTRC4017A і біспецифічних антитіл може спостерігатися псевдопрогресування. Отже, пацієнти, які мають клінічну користь, попри рентгенографічні свідчення прогресивного захворювання за визначенням за стандартними критеріями RECIST v1.1, можуть продовжувати лікування.

Небажані явища оцінюють відповідно до Загальних термінологічних критеріїв небажаних явищ Національного інституту раку, версія 5.0 (NCI CTCAE v5.0), за винятком синдрому вивільнення цитокінів (СВЦ), який оцінюють відповідно до Модифікованої системи оцінки синдрому вивільнення цитокінів (дивіться таблиці 1 і 2 вище).

Інші варіанти здійснення

Попри те, що вищезазначений винахід був детально описаний як ілюстрація та приклад для ясності розуміння, описи та приклади не повинні тлумачитися як обмеження обсягу винаходу. Розкриття всіх патентів та наукової літератури, процитованої в цьому документі, явно включено в повному обсязі шляхом посилання.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Genentech, Inc.

<120> ЛІКУВАННЯ РАКУ БІСПЕЦИФІЧНИМИ АНТИТІЛАМИ ДО HER2XCD3 У
КОМБІНАЦІЇ З МОНОКЛОНАЛЬНИМ АНТИТІЛОМ ДО HER2

<130> 50474-197WO2

<150> US 62/818,556

<151> 2019-03-14

<160> 17

<170> PatentIn, версія 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 1

Asp Thr Tyr Ile His

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 2

Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 11

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 3

Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 5

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 6

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 7

<211> 120

<212> Блок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 8

<211> 167

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

85

90

95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Gln Ile Lys

100

105

<210> 9

<211> 5

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 9

Asn Tyr Tyr Ile His

1

5

<210> 16

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 10

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 11

<211> 10

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 11

Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 12

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 12

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 13

<211> 7

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 13

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 14

<211> 8

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 14

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr

1 5

<210> 15

<211> 119

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 16

<211> 112

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 16

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln

85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 17

<211> 142

<212> Biotin

<213> Homo sapiens

<400> 17

Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr

1

5

10

15

Gln Cys Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu

20

25

30

Glu Cys Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg

35

40

45

His Cys Leu Pro Cys His Pro Gln Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val

50 55 60

Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr

65 70 75 80

Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro

85 90 95

Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Gln Gln Gly Ala

100 105 110

Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp

115 120 125

Asp Lys Gly Cys Pro Ala Gln Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr

130 135 140

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Спосіб лікування або вповільнення прогресування HER2-позитивного раку у суб'єкта, що потребує цього, який включає призначення суб'єкту схеми лікування, яка включає антитіло до HER2 і залежне від Т-клітин біспецифічне (TDB) антитіло до HER2, причому HER2 TDB містить плече проти HER2 і плече проти CD3, при цьому антитіло до HER2 і HER2 TDB конкурентно зв'язуються з доменом IV HER2, і при цьому схема лікування спричиняє підвищення
- 10 терапевтичного індексу HER2 TDB у порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2, причому антитіло до HER2 містить:
 - (i) ділянку, що визначає комплементарність (CDR)-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1;
 - (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2;
 - 15 (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3;
 - (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4;
 - (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і
 - (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6;в якому плече проти HER2 у HER2 TDB містить HER2-зв'язувальний домен, що містить:

- (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1;
 - (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2;
 - (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3;
 - (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4;
 - 5 (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і
 - (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; і
- в якому плече проти CD3 у HER2 TDB містить CD3-зв'язувальний домен, що містить:
- (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9;
 - (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10;
 - 10 (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11;
 - (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12;
 - (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; і
 - (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14.
2. Спосіб за п. 1, в якому підвищення терапевтичного індексу пов'язане зі зниженням ймовірності зазнати цільового/позапухлинного ефекту в порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2.
- 15 3. Спосіб за п. 2, в якому цільовий/позапухлинний ефект являє собою симптом легеневої токсичності.
4. Спосіб за п. 3, в якому симптом легеневої токсичності є вибраним із групи, що складається з інтерстиціального захворювання легенів, гострого респіраторного дистрес-синдрому, задишки, кашлю, стомлюваності та легеневих інфільтратів.
- 20 5. Спосіб за п. 2, в якому цільовий/позапухлинний ефект є вибраним із групи, що складається з підвищеного рівня печінкових ферментів, сухості в роті, сухості очей, мукозиту, езофагіту та симптомів з боку сечовивідної системи.
- 25 6. Спосіб за будь-яким із пп. 1-5, в якому підвищення терапевтичного індексу пов'язане зі зниженням ймовірності зазнати імуногенного побічного ефекту в порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2.
7. Спосіб за п. 6, в якому імуногенний побічний ефект є вибраним із групи, що складається з підвищеного рівня антитіл до лікарського засобу, пов'язаної з інфузією/введенням реакції (ARR), дисфункції серця, легеневої реакції та синдрому вивільнення цитокінів.
- 30 8. Спосіб за будь-яким із пп. 1-7, в якому антитіло до HER2 містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 7, і/або варіабельний домен легкого ланцюга (VL), що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 8.
- 35 9. Спосіб за п. 8, в якому VH містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7 і/або VL містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8.
10. Спосіб за будь-яким із пп. 1-9, в якому антитіло до HER2 є моноспецифічним.
11. Спосіб за будь-яким із пп. 1-10, в якому антитіло до HER2 являє собою повнорозмірне антитіло, що містить Fc-ділянку.
- 40 12. Спосіб за будь-яким із пп. 1-11, в якому антитіло до HER2 являє собою трастузумаб.
13. Спосіб за будь-яким із пп. 1-11, в якому антитіло до HER2 являє собою Fc-модифікований варіант трастузумабу.
14. Спосіб за п. 13, в якому Fc-модифікований варіант трастузумабу містить одну або більше амінокислотних модифікацій, що зменшують ефекторну функцію.
- 45 15. Спосіб за п. 14, в якому одна або більше амінокислотних модифікацій являють собою мутацію заміни.
16. Спосіб за п. 15, в якому мутація заміни знаходиться в амінокислотному залишку L234, L235 і/або P329 (нумерація EU).
17. Спосіб за п. 16, в якому одна або більше амінокислотних модифікацій включають мутації заміни L234A, L235A і P329G (LALAPG).
- 50 18. Спосіб за будь-яким із пп. 1-17, в якому плече проти HER2 у HER2 TDB містить HER2-зв'язувальний домен, який містить VH, що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 7, і/або VL, що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 8.
- 55 19. Спосіб за п. 18, в якому VH HER2-зв'язувального домену містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7 і/або VL HER2-зв'язувального домену містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8.
20. Спосіб за будь-яким із пп. 1-19, в якому плече проти CD3 у HER2 TDB містить CD3-зв'язувальний домен, який містить VH, що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності з

амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 15, і/або VL, що має щонайменше 95 % ідентичності послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 16.

21. Спосіб за п. 20, в якому VH CD3-зв'язувального домену містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15 і/або VL CD3-зв'язувального домену містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

22. Спосіб за будь-яким із пп. 1-21, в якому (i) плече проти HER2 у HER2 TDB містить HER2-зв'язувальний домен, що містить (а) VH, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, і (б) VL, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8, і (ii) плече проти CD3 у HER2 TDB містить CD3-зв'язувальний домен, що містить (а) VH, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і (б) VL, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

23. Спосіб за будь-яким із пп. 1-22, в якому HER2 TDB являє собою повнорозмірне антитіло, що містить модифіковану Fc-ділянку.

24. Спосіб за п. 23, в якому модифікована Fc-ділянка містить одну або більше мутацій заміни, що зменшують ефекторну функцію HER2 TDB.

25. Спосіб за п. 24, в якому одна або більше мутацій заміни включають мутації в амінокислотних залишках L234, L235 і/або D265 (нумерація EU).

26. Спосіб за п. 25, в якому одна або більше мутацій заміни являють собою L234A, L235A і D265A.

27. Спосіб за п. 24, в якому одна або більше мутацій заміни включають мутацію в сайті аглікозилювання.

28. Спосіб за п. 27, в якому мутація в сайті аглікозилювання знаходиться в амінокислотному залишку N297 (нумерація EU).

29. Спосіб за п. 27, в якому мутація в сайті аглікозилювання являє собою N297G.

30. Спосіб за п. 27, в якому мутація в сайті аглікозилювання являє собою N297A.

31. Спосіб за будь-яким із пп. 23-29, в якому модифікована Fc-ділянка містить мутації заміни N297G, L234A, L235A і D265A.

32. Спосіб за будь-яким із пп. 1-31, в якому HER2 TDB містить один або більше константних доменів важкого ланцюга, причому один або більше константних доменів важкого ланцюга є вибраними з першого домену CH1 (CH11), першого домену CH2 (CH21), першого домену CH3 (CH31), другого домену CH1 (CH12), другого домену CH2 (CH22) і другого домену CH3 (CH32).

33. Спосіб за п. 32, в якому щонайменше один або більше константних доменів важкого ланцюга є спареним з іншим константним доменом важкого ланцюга, причому:

(i) кожен із доменів CH31 і CH32 містить виступ або западину, і при цьому виступ або западина в домені CH31 може розміщуватися в западині або виступі, відповідно, в домені CH32; або

(ii) кожен із доменів CH21 і CH22 містить виступ або западину, і при цьому виступ або западина в домені CH21 може розміщуватися в западині або виступі, відповідно, в домені CH22.

34. Спосіб лікування або вповільнення прогресування HER2-позитивного раку у суб'єкта, що потребує цього, який включає призначення суб'єкту схеми лікування, яка включає антитіло до HER2 і HER2 TDB, причому (а) антитіло до HER2 являє собою трастузумаб або Fc-модифікований варіант трастузумабу, і (б) HER2 TDB містить плече проти HER2 і плече проти CD3, причому плече проти HER2 містить HER2-зв'язувальний домен, що містить:

(i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1;

(ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2;

(iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3;

(iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4;

(v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і

(vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; і

причому плече проти CD3 містить CD3-зв'язувальний домен, що містить:

(i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10;

(iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11;

(iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12;

(v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; і

(vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14;

причому схема лікування спричиняє підвищення терапевтичного індексу HER2 TDB у порівнянні з лікуванням HER2 TDB за відсутності антитіла до HER2.

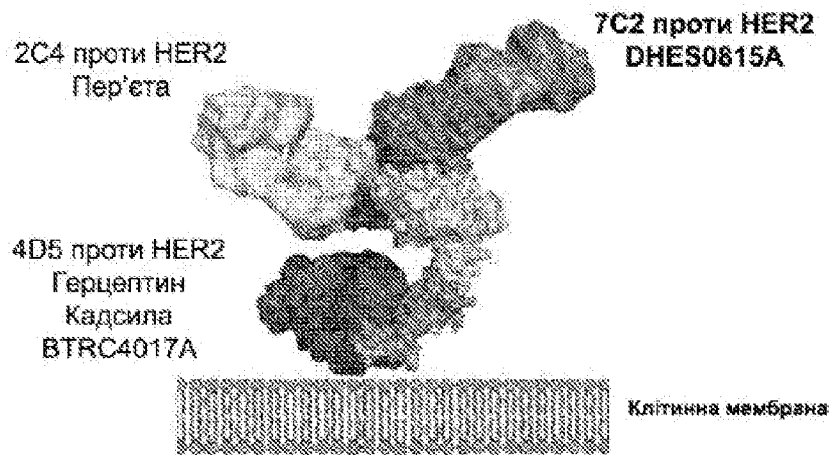
35. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, в якому антитіло до HER2 вводять перед введенням HER2 TDB.

36. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33 і 35, в якому антитіло до HER2 вводять у дозі від 5 до 10 мг/кг.

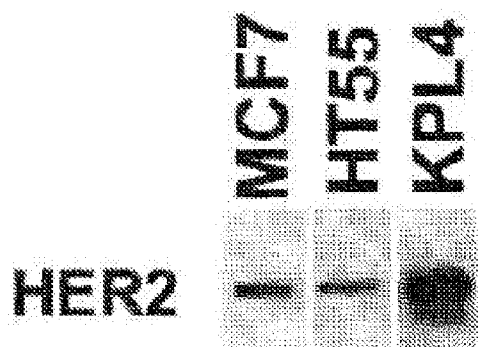
37. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, 35 і 36, в якому антитіло до HER2 вводять приблизно один раз кожні три тижні.
38. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33 і 35-37, в якому HER2 TDB вводять у фіксованій дозі від 0,001 до 500 мг.
- 5 39. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33 і 35-38, в якому HER2 TDB вводять приблизно один раз кожні три тижні.
40. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33 і 35-39, в якому схема лікування включає:
- (а) першу дозу антитіла до HER2;
- (б) перший цикл дозування (C1) після першої дози антитіла до HER2, при цьому C1 включає
- 10 першу дозу HER2 TDB (C1D1) і другу дозу HER2 TDB (C1D2), причому C1D2 є більшою за C1D1;
- (в) другий цикл дозування (C2) після C1, причому C2 включає:
- (і) другу дозу антитіла до HER2; і
- (іі) додаткову дозу HER2 TDB (C2D1) після другої дози антитіла до HER2, причому C2D1 є
- 15 еквівалентною до найвищої дози HER2 TDB - C1.
41. Спосіб лікування або вповільнення прогресування HER2-позитивного раку у суб'єкта, що потребує цього, який включає призначення суб'єкту схеми лікування, яка включає антитіло до HER2 і HER2 TDB, причому HER2 TDB містить плече проти HER2 і плече проти CD3, при цьому антитіло до HER2 і HER2 TDB конкурентно зв'язуються з доменом IV HER2, причому схема
- 20 лікування включає:
- (а) першу дозу антитіла до HER2;
- (б) перший цикл дозування (C1) після першої дози антитіла до HER2, при цьому C1 включає першу дозу HER2 TDB (C1D1) і другу дозу HER2 TDB (C1D2), причому C1D2 є більшою за C1D1;
- (в) другий цикл дозування (C2) після C1, причому C2 включає:
- (і) другу дозу антитіла до HER2; і
- (іі) додаткову дозу HER2 TDB (C2D1) після другої дози антитіла до HER2, причому C2D1 є еквівалентною до найвищої дози HER2 TDB - C1, причому антитіло до HER2 містить:
- (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1;
- 30 (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2;
- (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3;
- (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4;
- (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і
- (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6;
- 35 в якому плече проти HER2 у HER2 TDB містить HER2-зв'язувальний домен, що містить:
- (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1;
- (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2;
- (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3;
- (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4;
- 40 (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і
- (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; і
- в якому плече проти CD3 у HER2 TDB містить CD3-зв'язувальний домен, що містить:
- (i) CDR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9;
- (ii) CDR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10;
- 45 (iii) CDR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11;
- (iv) CDR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12;
- (v) CDR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; і
- (vi) CDR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14.
42. Спосіб за п. 40, в якому першу дозу антитіла до HER2 вводять за один день до C1D1, і при цьому спостереження за суб'єктом проводять упродовж періоду від 30 хвилин до 24 годин між першою дозою антитіла до HER2 і C1D1.
- 50 43. Спосіб за п. 40 або 42, в якому перша доза антитіла до HER2 становить від 5 до 10 мг/кг.
44. Спосіб за п. 43, в якому перша доза антитіла до HER2 становить 6 або 8 мг/кг.
45. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-44, в якому друга доза антитіла до HER2 становить від 5 до
- 55 10 мг/кг.
46. Спосіб за п. 45, в якому друга доза антитіла до HER2 становить 6 мг/кг.
47. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-46, в якому першу та/або другу дозу антитіла до HER2 вводять шляхом інфузії впродовж періоду щонайменше 30 хвилин.
48. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-47, в якому другу дозу антитіла до HER2 вводять того
- 60 самого дня, що й C2D1.

49. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-48, в якому C1D2 щонайменше у два рази перевищує дозу C1D1.
50. Спосіб за п. 49, в якому C1D2 щонайменше в три рази перевищує дозу C1D1.
51. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-50, в якому C1D1 становить від 0,003 до 50 мг.
- 5 52. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-51, в якому C1D2 становить від 0,009 до 200 мг.
53. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-52, в якому C2D1 і C1D2 є еквівалентними.
54. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-52, в якому C1 додатково включає третю дозу HER2 TDB (C1D3), причому C1D3 є більшою за C1D2.
55. Спосіб за п. 54, в якому C1D1, C1D2 і C1D3 разом перевищують найбільшу дозволenu дозу
- 10 HER2 TDB у першому циклі дозування в схемі дозування з одноетапним фракціонуванням і збільшенням дози.
56. Спосіб за п. 55, в якому найбільша дозволена доза становить від приблизно 0,01 мг до приблизно 30 мг.
57. Спосіб за будь-яким із пп. 54-56, в якому C1D2 щонайменше у два-десять разів перевищує
- 15 дозу C1D1.
58. Спосіб за будь-яким із пп. 54-57, в якому C1D3 щонайменше у два-три рази перевищує дозу C1D2.
59. Спосіб за будь-яким із пп. 54-58, в якому C2D1 і C1D3 є еквівалентними.
60. Спосіб за будь-яким із пп. 54-59, в якому C1D1 становить від 0,01 до 20 мг.
- 20 61. Спосіб за будь-яким із пп. 54-60, в якому C1D2 становить від 0,1 до 100 мг.
62. Спосіб за будь-яким із пп. 54-61, в якому C1D3 становить від 1 до 200 мг.
63. Спосіб за будь-яким із пп. 54-62, який включає введення суб'єкту C1D1, C1D2 і C1D3 у дні або приблизно у дні 1, 8 і 15, відповідно, C1.
64. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-63, в якому тривалість C1 становить 21 день.
- 25 65. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-64, в якому тривалість C2 становить 21 день.
66. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-65, який включає введення суб'єкту C2D1 у день 1 C2.
67. Спосіб за будь-яким із пп. 40 і 42-66, в якому схема лікування включає один або більше додаткових циклів дозування.
68. Спосіб за п. 67, в якому схема лікування включає до 15 додаткових циклів дозування.
- 30 69. Спосіб за п. 67 або 68, в якому тривалість кожного одного або більше додаткових циклів дозування становить 21 день.
70. Спосіб за будь-яким із пп. 67-69, в якому кожен з одного або більше додаткових циклів дозування включає одну дозу антитіла до HER2 та одну дозу HER2 TDB.
71. Спосіб за будь-яким із пп. 67-70, який включає введення суб'єкту антитіла до HER2 і HER2
- 35 TDB у день 1 кожного з одного або більше додаткових циклів дозування.
72. Спосіб за п. 71, в якому антитіло до HER2 вводять перед HER2 TDB у день 1 кожного з одного або більше додаткових циклів дозування.
73. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, 35-40 і 42-72, в якому антитіло до HER2 і/або HER2 TDB вводять шляхом внутрішньовенної інфузії.
- 40 74. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, 35-40 і 42-73, який додатково включає введення одного або більше додаткових терапевтичних агентів.
75. Спосіб за п. 74, в якому один або більше додаткових терапевтичних агентів є вибраними з групи, що складається з тоцилізумабу, кортикостероїду, антагоніста осі PD-1 і кон'югата антитіло-лікарський засіб.
- 45 76. Спосіб за п. 75, в якому антагоніст, що зв'язує вісь PD-1, є вибраним із групи, що складається з PD-L1-зв'язувального антагоніста, PD-1-зв'язувального антагоніста та PD-L2-зв'язувального антагоніста.
77. Спосіб за п. 76, в якому антагоніст, що зв'язує вісь PD-1, є PD-L1-зв'язувальним антагоністом.
- 50 78. Спосіб за п. 77, в якому PD-L1-зв'язувальний антагоніст є вибраним із групи, що складається з MPDL3280A (атезолізумаб), MDX-1105 і MEDI4736.
79. Спосіб за п. 76, в якому антагоніст, що зв'язує вісь PD-1, є PD-1-зв'язувальним антагоністом.
80. Спосіб за п. 79, в якому PD-1-зв'язувальний антагоніст є вибраним із групи, що складається з MDX-1106 (ніволумаб), MK-3475 (пембролізумаб) і AMP-224.
- 55 81. Спосіб за п. 76, в якому антагоніст, що зв'язує вісь PD-1, є PD-L2-зв'язувальним антагоністом.
82. Спосіб за п. 81, в якому PD-L2-зв'язувальний антагоніст є антитілом або імуноадгезином.
83. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, 35-40 і 42-82, в якому в попередній схемі лікування суб'єкту вводили трастузумаб.

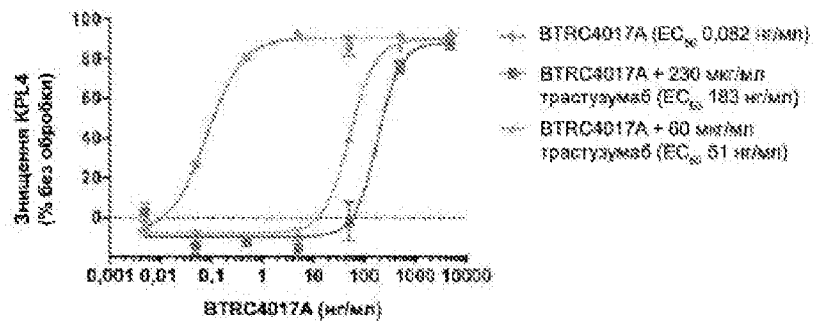
84. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, 35-40 і 42-83, в якому HER2-позитивний рак являє собою HER2-позитивну солідну пухлину.
85. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, 35-40 і 42-84, в якому HER2-позитивний рак являє собою місцеворозповсюджений або метастатичний HER2-позитивний рак.
- 5 86. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, 35-40 і 42-85, в якому HER2-позитивний рак являє собою HER2-позитивний рак молочної залози або HER2-позитивний рак шлунка.
87. Спосіб за будь-яким із пп. 1-33, 35-40 і 42-85, в якому HER2-позитивний рак є вибраним із групи, що складається з HER2-позитивного раку стравохідно-шлункового переходу, HER2-позитивного колоректального раку, HER2-позитивного раку легенів, HER2-позитивного раку підшлункової залози, HER2-позитивного раку сечового міхура, HER2-позитивного раку протоки слинної залози, HER2-позитивного раку яєчників або HER2-позитивного раку ендометрія.
- 10 88. Спосіб за п. 87, в якому HER2-позитивний рак легенів являє собою HER2-позитивну недрібноклітинну карциному легенів.
89. Спосіб за п. 87, в якому HER2-позитивний рак яєчників являє собою HER2-позитивний епітеліальний рак яєчників.
- 15



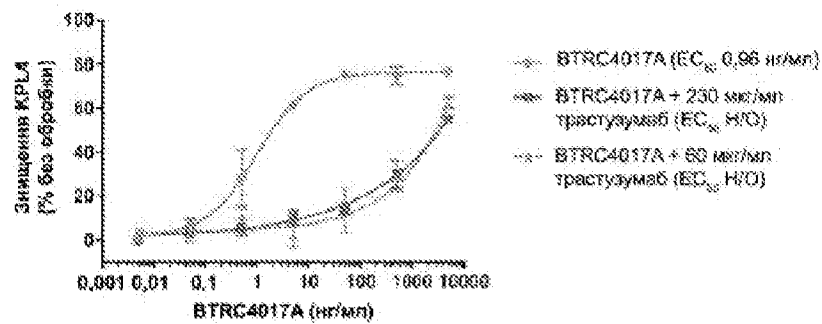
Фіг. 1



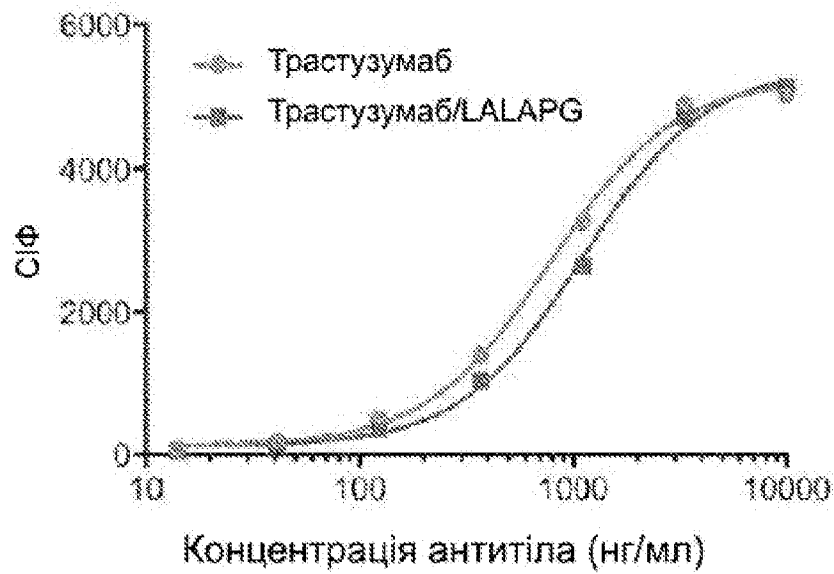
Фіг. 2



Фиг. 3А



Фиг. 3Б



Фиг. 4

