



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **111149** (13) **C2**
(51) МПК (2016.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2012 10790</p> <p>(22) Дата подання заявки: 11.03.2011</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 11.04.2016</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/312,895</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 11.03.2010</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 25.12.2012, Бюл.№ 24</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.04.2016, Бюл.№ 7</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2011/028129, 11.03.2011</p>	<p>(72) Винахідник(и): Мойо Віктор (US), Гарсія Габрієла (US)</p> <p>(73) Власник(и): МЕРРІМАК ФАРМАСЮТИКАЛС, ІНК., One Kendall Square, Suite B7201, Cambridge, MA 02139, United States of America (US)</p> <p>(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2010/019952 A2, 18.02.2010 SCHOEBERL BIRGIT ET AL: "An ErbB3 antibody, MM-121, is active in cancers with liganddependent activation", CANCER RESEARCH, AACR, PHILADELPHIA, PA, vol. 70, no. 6, 9 March 2010 (2010-03-09), pages 2485-2494, XP002581703, ISSN: 538-7445, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3145 [retrieved on 2010-03-09] HARRIS LYNDASAY N ET AL: "Molecular subtypes of breast cancer in relation to paclitaxel response and outcomes in women with metastatic disease: results from CALGB 9342", BREAST CANCER RESEARCH, CURRENT SCIENCE, LONDON, GB, vol. 8, no. 6, 27 November 2006 (2006-11-27), page R66, XP021027012, ISSN: 1465-5411, DOI: 10.1186/BCR1622 SCHNEIDER B P ET AL: "Triple-negative breast cancer: Risk factors to potential argets", CLINICAL CANCER RESEARCH, THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 14, no. 24, 15 December 2008 (2008-12-15), pages 8010-8018, 002580460, ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1208 M. R. CAMPBELL ET AL: "HER3 Comes of Age: New Insights into Its Functions and Role in Signaling, Tumor Biology, and Cancer Therapy", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 16, no. 5, 1 March 2010 (2010-03-01), pages 1373-1383, XP55007713, ISSN: 078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1218</p>
---	--

(54) ВИКОРИСТАННЯ ErbV3-ІНГІБІТОРІВ У ЛІКУВАННІ ТРИЧІ НЕГАТИВНОГО РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

UA 111149 C2

(57) Реферат:

Передбачено способи пригнічення зростання тричі негативних пухлин молочної залози й базальноподібних пухлин молочної залози, пов'язані з контактом пухлинних клітин з ErbB3 інгібітором, наприклад, антитілом проти ErbB3. Також передбачені способи лікування тричі негативного раку молочної залози або базально-подібного раку молочної залози у пацієнта шляхом введення пацієнтові ErbB3 інгібітору, наприклад, антитіла проти ErbB3. Способи лікування можуть також включати вибір пацієнта із тричі негативним раком молочної залози або базальноподібним раком молочної залози, а потім введення ErbB3 інгібітору пацієнтові. Способи лікування також можуть додатково містити введення щонайменше одного додаткового протиракового агента пацієнтові в поєднанні з інгібітором ErbB3.

Перехресне посилання на споріднену заявку.

Ця заявка має пріоритет попередньої заявки на патент США № 61/312895, поданої 11 березня 2010 року за назвою "Використання ErbB3 інгібіторів у лікуванні тричі негативного й базально-подібного видів раку молочної залози", зміст якої включено тут як посилання в повному обсязі. Рівень техніки.

У жінок рак молочної залози є одним з найпоширеніших видів раку й п'ятою найпоширенішою причиною смерті від раку. У зв'язку з неоднорідністю раку молочної залози, 10-літня виживаність без прогресування може широко варіюватися залежно від стадії й виду, від 98 % до 10 %. Різні форми раку молочної залози можуть мати надзвичайно різні біологічні характеристики й клінічне поводження. Таким чином, класифікація раку молочної залози у пацієнта стала критичним компонентом для визначення схеми лікування. Наприклад, поряд із класифікацією гістологічних типів і класів, форми раку молочної залози в цей час звичайно оцінюються по експресії гормональних рецепторів (рецепторів естрогена (ER) і прогестерона (PR)) і по експресії HER2 (ErbB2), тому що в цей час доступна велика кількість умов лікування, коли ціль -гормональні рецептори або HER2 рецептор. ER і PR є ядерними рецепторами (вони переважно розташовані в ядрах клітин, хоча вони також можуть бути знайдені на клітинній мембрані) і малі молекули інгібітори, націлені на ER і/або PR, були розроблені. HER2, або людський рецептор епідермального фактору росту 2 типу, являє собою рецептор, що звичайно перебуває на поверхні клітини й антитіл, тому мішень HER2 була розроблена як терапія. HER2 є єдиним членом сімейства EGFR (воно також містить у собі HER1 (EGFR), HER3 (ErbB3) і HER4 (ErbB4), який не здатний зв'язуватися з лігандом активації сам по собі. Таким чином, HER2 є функціональним тільки тоді, коли рецептор включений у гетеродімерний рецепторний комплекс із іншим членом сімейства EGFR, таким як HER3. Форми раку класифікуються за експресією рецепторів естрогена (естроген рецептор позитивні або ER + пухлини), які можна трактувати по взаємодії з антагоністом ER, таким як тамоксифен. Крім того, рак молочної залози класифікується по високих рівнях експресії HER2 рецептора, які можна вивчати з антитілами проти HER2, такими як трастузумаб, або з HER2-аКТНВННМ інгібітором рецептора тирозинкінази, такими як лапатиніб.

Тричі негативний (TN) рак молочної залози - це термін, використовуваний для позначення чіткого клінічно значимого підтипу карцином молочної залози, які становлять приблизно 15 % від всіх випадків раку молочної залози. Скоринг TN пухлин негативний (наприклад, з використанням звичайних гістопатологічних способів і критеріїв) по експресії ER і PR і не показує збільшення рівнів HER2 (тобто, вони ER-, PR-, HER2-). TN рак молочної залози містить у собі, у першу чергу, але не винятково, молекулярно й гістологічно помітний підтип раку молочної залози, відомий як базально-подібний (BL) підтип. Підтип BL також характеризується експресією цитокератинів (наприклад, CK, CK5/6, CK14, CK17) і інших білків, виявлених у нормальних базальних / міоепітеліальних клітинах молочної залози. Однак на додаток до підтипу BL деякі інші види раку молочної залози, у тому числі "нормальній молочної залозі подібний", метастатичні карциноми, медулярні карциноми й пухлини подібні до раку слинних залоз, можуть також мати тричі негативний (TN) фенотип. Крім того, TN форми раку молочної залози частіше виникають при наявності мутації BRCA1 і в пременопаузі жінок афроамериканського або іспанського походження. TN пухлини звичайно показують дуже агресивне поводження, з більш коротким виживанням після рецидиву й низькою загальною виживаністю в порівнянні з іншими типами раку молочної залози.

Не всі BL форми раку молочної залози є TN. Базально-подібні пухлини молочної залози є гетерогенним типом пухлини, які становлять до 15 % всіх випадків раку молочної залози й проявляють агресивне клінічне поводження, що робить їх такими, що особливо важко піддаються успішному лікуванню. Більшість BL форм раку молочної залози є ER-, PR- і HER2 низького типу (HER2¹⁺ або HER2 негативний). Крім того, вони зазвичай експресують білки, які зазвичай знаходяться у нормальних базальних (міоепітеліальних) клітинах молочної залози. До них відносяться високомолекулярні цитокератини (наприклад, 5/6, 8, 14, 17 і 18), p-кадгерін, кавеоліни 1 і 2, нестін, αВ кристалін і EGFR. Крім того, клітини BL пухлини, як правило, не мають у своєму розпорядженні можливостей для компетентної гомологічної рекомбінації, яка репарує ДНК.

Гістологічно більшість BL форм раку молочної залози мають IDC-NST тип, високого гістологічного класу, і демонструють дуже високі показники мітотичності. Крім того, вони зазвичай мають центральну некротичну або фіброзну зони, розширені границі, помітний лімфоцитарний інфільтрат, і типові / атипічні медулярні особливості, і зазвичай мають функції, аналогічні плоскоклітинному раку голови й шиї, викликаному вірусом папіломи людини.

Більшість форм медулярного й нетипового медулярного, метapластичного, секреторного, міоепітеліального й лімфоїдного кістозного раку молочної залози також мають BL характеристики.

З огляду на відсутність експресії рецепторів гормонів або значну кількість HER2 у клітинах TN рака молочної залози, варіанти лікування були дуже обмежені, тому що пухлина не реагує на лікування, у якого ціль ER (наприклад, тамоксифен, інгібітори ароматази) або HER2 (наприклад, трастузумаб). Навпроти, ці пухлини лікуються звичайною неоадьювантною та адьювантною хіміотерапією, що має обмежену ефективність і багато цитотоксичних побічних ефектів. Крім того, такі режими хіміотерапії можуть призвести до медикаментозної стійкості пухлин, а ризик рецидиву захворювання TN раком молочної залози вище протягом перших трьох років лікування, ніж для інших типів раку молочної залози.

Базально-подібні форми раку молочної залози також важко піддаються лікуванню й пов'язані з поганими прогнозами, хоча BL лімфоїдний кістозний рак, як правило, асоційований із кращими клінічними результатами використовувати їх для виробництва.

У зв'язку з вищевикладеним, зберігається необхідність у додаткових способах лікування й способах лікування тричі негативного раку молочної залози й BL рака молочної залози.

Сутність винаходу.

Способи, передбачені в цьому документі, є способами лікування тричі негативних форм рака молочної залози (наприклад, пухлин) і базально-подібних форм раку молочної залози (наприклад, пухлин), а також фармацевтичні композиції, які можуть бути використані в таких способах. Способи й композиції, що базуються, принаймні частково, на відкритті, що EerbB3 інгібування може подавити зростання TN клітин раку молочної залози й BL клітин рака молочної залози. Зокрема, застосування антитіла проти ErbB3 продемонструвало подавлення зростання клітин TN рака молочної залози *in vivo*.

Таким чином, передбачається використання ErbB3 інгібітора (наприклад, використання його для виготовлення лікарського засобу) для лікування TN або BL рака молочної залози. В іншому аспекті, передбачається спосіб подавлення зростання TN ракової пухлини молочної залози або BL рака молочної залози, що включає контакт пухлини з ефективною кількістю ErbB3 інгібітора. В іншому аспекті, передбачається спосіб подавлення зростання TN ракової пухлини молочної залози або BL ракової пухлини молочної залози в пацієнта, що включає введення пацієнтові ефективною кількістю ErbB3 інгібітора. У ще одному аспекті, передбачається спосіб лікування пацієнта з TN раковою пухлиною молочної залози або BL раковою пухлиною молочної залози, що включає введення пацієнтові ефективною кількістю ErbB3 інгібітора. У ще одному аспекті, передбачається спосіб лікування пухлин молочної залози або BL ракової пухлини молочної залози в пацієнта, що включає: вибір пацієнта з пухлиною тричі негативного раку молочної залози або BL раку молочної залози, а також введення пацієнтові ефективною кількістю інгібітору ErbB3.

У зразковому варіанті втілення, інгібітор ErbB3 є антитілом проти ErbB3. Типовим антитілом проти ErbB3 є MM-121 (Ab # 6), що складається з V_H і V_L послідовностей, як показано в SEQ ID NO: 1 і 2 відповідно. Інше типове антитіло проти ErbB3 є антитілом, що включає, опціонально, у напрямку від амінотермінального до карбоксітермінального, V_H CDR1, 2 і 3 послідовності, як показано в SEQ ID NO: 3-5 відповідно, і, можливо, у напрямку від амінотермінального до карбоксітермінального, V_L CDR1, 2 і 3 послідовності, як показано в SEQ ID NO: 6-8 відповідно. В інших варіантах втілення, антитіло проти ErbB3 є Ab # 3 (включаючи V_H і V_L послідовності, як показано в SEQ ID NO: 9 і 10 відповідно), Ab # 14 (включає V_H і V_L послідовності, як показано в SEQ ID NO: 17 і 18 відповідно), Ab # 17 (включає V_H і V_L послідовності, як показано в SEQ ID NO: 25 і 26 відповідно) або Ab # 19 (включає V_H і V_L послідовності, як показано в SEQ ID NO: 33 і 34 відповідно). В інших варіантах втілення антитіло проти ErbB3 вибирають із групи, що складається з mAb 1B4C3, mAb 2D1D12, AMG-888 і гуманізованого mAb 8B8. В іншому варіанті втілення, введення антитіл проти ErbB3 інгібує зростання та інвазії, або метастазування пухлини.

Способи, представлені тут, можуть бути використані в лікуванні TN рака молочної залози різних гістопатологічних фенотипів. Наприклад, в одному варіанті втілення, тричі негативна ракова пухлина молочної залози гістологічно характеризується як базально-подібний фенотип. В іншому варіанті втілення, ракова TN пухлина молочної залози гістологічно характеризується як фенотип, що не є BL.

У кожному із зазначених способів і композицій, інгібітор ErbB3 може містити в складі фармацевтично прийнятний носій.

В іншому аспекті, способи лікування, передбачені тут, додатково включають введення пацієнтові принаймні одного додаткового протиракового агента, що не є ErbB3 інгібітором. В

одному з варіантів втілення, щонайменше один додатковий протираковий агент містить, щонайменше один хіміотерапевтичний препарат, такий як препарат(и), обраний із групи, що складається з хіміотерапевтичних препаратів на основі платини, таксанів, інгібіторів тирозинкінази і їхньої комбінації. У цей час відзначено, що в підгрупі TN рака молочної залози, що тестується як HER2²⁺, лікування агентами проти HER2, такими як трастузумаб, пертузумаб або лапатиніб може дати переваги при використанні в комбінації з антитілами проти ErbB3. Таким чином, в іншому аспекті способи лікування, передбачені тут, додатково включають введення пацієнтові ефективної кількості щонайменше одного додаткового протиракового агента, що є агентом проти HER2. Такі агенти проти HER2 добре відомі й можуть включати одне або більше антитіло проти ErbB2, такі як C6.5 (і численні його похідні), описане у патенті США 5977322, трастузумаб, як описано в патенті США 6054297, і пертузумаб, як описано в патенті США 6949245; також як малі молекули агенти проти HER2, такі як лапатиніб (який також інгібує EGFR тирозинкіназу) і AG879.

В іншому варіанті втілення, щонайменше один додатковий протираковий агент включає EGFR інгібітор, такий як антитіло проти EGFR або малу молекулу інгібітор EGFR сигналізації. Типове антитіло проти EGFR включає цетуксимаб. Інші приклади антитіл проти EGFR включають матузумаб, панитумумаб, нимотузумаб і mAb 806. Типова невелика молекула інгібітор EGFR сигналізації включає гефитиніб. Інші приклади використання невеликих молекул інгібіторів EGFR сигналізації включають лапатиніб, канертиніб, ерлотиніб HCL, пелитиніб, PKI-166, PD158780 і AG 1478.

У ще одному варіанті втілення, щонайменше один додатковий протираковий агент включає інгібітор VEGF. Типовий інгібітор VEGF включає антитіло проти VEGF, таке як антитіло бевацизумаб.

В іншому варіанті втілення, введення антитіла проти ErbB3 і, щонайменше, одного додаткового протиракового агента інгібує зростання або інвазію, або метастазування пухлини.

В іншому аспекті, способи лікування TN рака молочної залози або BL рака молочної залози в пацієнта включають введення зазначеному пацієнтові комбінації із MM-121 і паклитаксела. В одному варіанті втілення комбінація має терапевтичну синергію при лікуванні TN або BL форм раку молочної залози. У деяких прикладах, комбінація впливає на загибель клітин по \log_{10} і становить, щонайменше 2,8, щонайменше 2,9 або щонайменше 3,0. В інших аспектах, комбінація забезпечує покращення інгібування зростання пухлини, що, щонайменше, адитивно в порівнянні з покращенням, отриманим від кожного індивідуального агента комбінації.

В іншому варіанті втілення, пропонується композиція, що містить комбінацію MM-121 і паклитаксела, у якій поєднання має терапевтичний синергізм при лікуванні TN або BL рака молочної залози. У деяких прикладах, комбінація впливає на загибель клітин по \log_{10} і становить, щонайменше 2,8, щонайменше 2,9 або щонайменше 3,0.

Набори, що містять поєднання фармацевтичних композицій, також передбачаються.

Короткий опис фігур.

Фігура 1 представляє графік, що показує відносний об'єм пухлини (%) ксенотрансплантата MAXF449 (вісь Y - нормована на первинний об'єм пухлини), побудований проти часу в днях після рандомізації (вісь X) в NMRI голої миші, обробленої MM-121 або середовищем для розчинення лікарського засобу в якості контролю. TGI=200 %.

Фігура 2 представляє графік, що показує процентну зміну об'єму пухлини ксенотрансплантата MDA-MB-231 (вісь Y - нормована на первинний об'єм пухлини), побудований проти часу в днях після ін'єкції MDA-MB-231 клітин (вісь X) в Balb/c голу мишу, оброблену MM-121 або середовищем для розчинення лікарського засобу в якості контролю. Криві з відкритими площами під крапками часу або кружки показують мишей, оброблених MM-121. Криві із заповненими площами під крапками часу або кола вказують на середовище для розчинення лікарського засобу в якості контролю. На вставці: "mp" означає, що MDA-MB-231 клітини вводили в жирову тканину, а "sc" показує, що MDA-MB-231 клітини вводили підшкірно в бік.

Фігура 3 представляє графік, що показує об'єм пухлини MDA-MB-231 у мм³ (вісь Y), побудований проти часу в днях (вісь X), починаючи з 28 днів після ін'єкції MDA-MB-231 клітин у жирові подушечки Balb/c голих мишей. Лікування здійснювалося MM-121 (150 мкг/миша), паклитакселем (5 мг/кг), комбінацією MM-121 (150 мкг/миша) і паклитаксела (5 мг/кг), або середовищем для розчинення лікарського засобу в якості контролю. Використане позначення у фігурах, "mpk" = мг/кг.

Фігура 4 представляє графіки, що показують об'єм пухлини MDA-MB-231 у мм³ (вісь Y), побудований проти часу в днях (вісь X), починаючи з 28 днів після ін'єкції MDA-MB-231 клітин у жирові подушечки Balb/c голих мишей. Фігура 4A показує лікування MM-121, цетуксимабом або

паклитакселом; MM-121 і цетуксимабом; і потрійною комбінацією MM-121, цетуксимаба й паклитаксела. Фігура 4B показує лікування MM-121, ерлотинібом, MM-121 і ерлотинібом, або потрійною комбінацією MM-121, ерлотиніба й паклитаксела.

Докладний опис.

Способи, передбачені в цьому документі, є способами лікування тричі негативного й базально-подібного видів раку молочної залози, також фармацевтичними композиціями, які можуть бути використані в практиці таких способів. Як зазначено далі в прикладах, у цей час показано, що інгібітор ErbB3, зокрема, антитіла проти ErbB3, здатний пригнічувати зростання клітин TN раку молочної залози в природних умовах. Відповідно, способи для пригнічування зростання TN раку молочної залози й BL раку молочної залози, а також способи лікування раку молочної залози таких хворих за допомогою інгібітору ErbB3 передбачені в цьому документі.

Визначення:

Використовуваний тут термін "тричі негативний" або "TN" відноситься до пухлин (наприклад, карцином), як правило, пухлин молочної залози, у яких пухлинні клітини скоринг негативні (тобто, використовуючи традиційні способи гістопатології) для рецептора естрогена (ER) і рецептора прогестерона (PR), обоє з яких є ядерними рецепторами (тобто, вони знаходяться переважно в ядрах клітин), і пухлинні клітини не ампліфікуються для рецептора епідермального фактору росту типу 2 (HER2 або ErbB2), рецептор звичайно знаходиться на клітинній поверхні. Пухлинні клітини вважаються негативними відносно експресії ER і PR, якщо менш 5 % ядер клітин пухлини забарвлюється по ознаці ER і PR експресії з використанням стандартних імуногістохімічних способів. Пухлинні клітини вважаються досить ампліфікуючимися для HER2 ("HER2³⁺"), якщо при випробуванні з HercepTest™ Kit (код K5204, Dako North America, Inc, Carpinteria, CA), напівкількісний імуногістохімічний аналіз за допомогою поліклональних первинних антитіл проти HER2, дає оцінку результату тесту на 3+, або тест на HER2 позитивний за флуоресценцією при in-situ гібридизації (FISH). Як використовується тут, пухлинні клітини вважаються негативними по гіперекспресії HER2, якщо при оцінці результатів тесту вони дають 0 або 1+, або 2+, або якщо вони HER2 FISH негативні.

Крім того, термін "тричі негативний вид(и) раку молочної залози" або "TN вид(и) раку молочної залози" містить у собі рак різних гістопатологічних фенотипів. Наприклад, деякі TN види раку молочної залози класифікуються як " базально-подібні" ("BL"), у яких неопластичні клітини експресують гени, які звичайно знаходяться у нормальних базальних/міоепітеліальних клітинах молочної залози, такі як високомолекулярні базальні цитокератини (СК, СК5/6, СК14, СК17), виментин, p-кадгерин, αВ кристалін, фасцин і кавеоліни 1 і 2. Деякі інші види TN раку молочної залози, однак, мають гістопатологічний фенотип що відрізняється, прикладами яких є високого ступеня інвазивності рак проток неспеціального типу, метапластичні карциноми, медулярні карциноми й форми раку слинних залоз як пухлини молочної залози.

Терміни "ErbB3", "HER3", "ErbB3 рецептор" і "HER3 рецептор" тут використовуються як синоніми й відносяться до людського ErbB3 білку, як описано в патенті США № 5480968.

Використовуваний тут термін "ErbB3 інгібітор" призначений для визначення терапевтичних агентів, які перешкоджають, знижуючи модулюють, пригнічують або знижуючи регулюють активність ErbB3. Термін призначений для включення хімічних сполук, таких як невеликі молекули інгібіторів і біологічних агентів, таких як антитіла, інтерферуючі РНК (shRNA, siRNA), розчинні рецептори тощо. Зразковий ErbB3 інгібітор є антитілом проти ErbB3.

"Антитіло", використовуване тут, являє собою білок, що складається з одного або декількох поліпептидів, що включає обов'язкову область, істотно закодовану генами імуноглобуліну або фрагментами генів імуноглобулінів, у яких білок імуноспецифічно зв'язується з антигеном. Визнані гени імуноглобуліну включають каппа, лямбда, альфа, гама, дельта, епсилон і мію постійні області генів, а також безліч генів імуноглобуліну варіабельної області. Легкі ланцюги підрозділяються на каппа або лямбда. Важкі ланцюги класифікуються як гама, мію, альфа, дельта або епсилон, які, у свою чергу визначають імуноглобуліни класів IgG, IgM, IgA, IgD і IgE відповідно. Типова структурна одиниця імуноглобуліну містить у собі тетрамер, що складається із двох ідентичних пар поліпептидних ланцюгів, кожна пара має один "легкий" (близько 25 кДа) і один "важкий" ланцюг (50-70 кДа). "V_L" і "V_H" позначає ці легкі й важкі ланцюги відповідно.

Антитіла включають інтактні імуноглобуліни, а також їхні антиген-зв'язуючі фрагменти, які можуть бути зроблені при обробці різними пептидазами або синтезовані de novo хімічно або при використанні технології експресії рекомбінантної ДНК. Такі фрагменти включають, наприклад, F(ab)₂ димери й Fab мономері. Використовувані антитіла включають одноланцюгові антитіла (антитіла, які існують в одному поліпептидному ланцюзі), наприклад, одноланцюгові Fv антитіла (scFv), у яких V_H і V_L ланцюги з'єднуються між собою (безпосередньо або через пептидний лінкер), щоб сформувати безперервний поліпептид.

Терміни "імуноспецифічно" або "імуноспецифічні" відносяться до антитіл, які зв'язуються через домени, істотно закодовані генами імуноглобуліну або фрагментами генів імуноглобуліну, одного або більше епітопів білка, що представляє інтерес, але не істотно розпізнають і зв'язуються з іншими молекулами в зразку, що містить змішану популяцію антигенних молекул.

5 Як правило, антитіла зв'язуються імуноспецифічно з спорідненим антигеном з IQ зі значенням не більше 50 нМ, вимірюваним аналізом поверхневого плазмонного резонансу або аналізом зв'язування клітини. Використання таких тестів добре відомо в даній області й описано в Прикладі 3, нижче.

"Антитіло проти ErbB3" є антитілом, що імуноспецифічно зв'язується з ектодоменом ErbB3 і

10 "антитіло проти ErbB2" є антитілом, що імуноспецифічно зв'язується з ектодоменом ErbB2. Антитіло може бути ізольованим антитілом. Таке зв'язування з ErbB3 або ErbB2 демонструє K_i зі значенням не більше 50 нМ, вимірюваним аналізом поверхневого плазмонного резонансу або аналізом зв'язування клітини. Антитіло проти ErbB3 може бути ізольованим антитілом. Екземпляри антитіл проти ErbB3 інгібують EGF-подібні ліганди, які є медіаторами

15 фосфорилування ErbB3. EGF-подібні ліганди включають EGF, TGF α , бетацелюлін, гепарин-зв'язуючий епідермальний фактор росту, бірегулін, епіген, епірегулін і амфирегулін, які звичайно зв'язуються з ErbB1 і викликають гетеродимеризацію ErbB1 з ErbB3.

Використовуваний тут термін "інгібітор EGFR" призначений для позначення терапевтичних агентів, які перешкоджають, знижуюче модулюють, пригнічують або знижуюче регулюють

20 активність EGFR сигналізації. Термін призначений для позначення хімічних сполук, таких як малі молекули інгібіторів (наприклад, малі молекули інгібіторів тирозинкінази) і біологічних агентів, таких як антитіла, інтерферуючі РНК (shRNA, siRNA), розчинні рецептори тощо.

Використовуваний тут термін "інгібітор VEGF" призначений для позначення терапевтичних агентів, які перешкоджають, знижуюче модулюють, пригнічують або знижуюче регулюють

25 активність VEGF сигналізації. Термін призначений для позначення хімічних сполук, таких як малі молекули інгібіторів (наприклад, малі молекули інгібіторів тирозинкінази) і біологічних агентів, таких як антитіла, інтерферуючі РНК (shRNA, siRNA), розчинні рецептори тощо.

Терміни "пригнічувати", "пригнічення", "гальмувати" і "гальмування", тут використовуються як синоніми, що відбивають будь-яке статистично значиме зниження біологічної активності

30 (наприклад, зростання пухлинних клітин), у тому числі повне блокування активності. Наприклад, "гальмування" може відноситися до зниження приблизно на 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, або 100 % біологічної активності.

Термін "пацієнт" містить у собі людину або іншу тварину ссавця, що одержує профілактичне або терапевтичне лікування.

35 Терміни "лікувати", "піддати лікуванню" і "лікування", використовувані тут, відносяться до терапевтичних або профілактичних заходів, таких, як описано тут.

Способи "лікування" використовують для позначення призначення пацієнтові ErbB3 інгібітора, як зазначено в цьому документі, наприклад, пацієнтові з TN або BL формами ракової

40 пухлини молочної залози, з метою запобігання, лікування, затримки, зменшення тяжкості або поліпшення одного або більше симптомів захворювання або розладу або повторюваних захворювань або розладів, або для того, щоб подовжити виживаність пацієнта більше очікуваного під час відсутності такого лікування.

Термін "ефективна кількість", використовуваний тут, відноситься до такої кількості агента, такого як ErbB3 інгібітор, наприклад антитіло проти ErbB3, достатньої, щоб одержати ефект

45 лікування, прогноз або діагноз TN або BL рака молочної залози при введенні пацієнтові. Терапевтично ефективна кількість буде варіюватися залежно від пацієнта й стану хвороби, що підлягає лікуванню, ваги й віку хворого, тяжкості захворювання, стану, способу введення й т.п., які можуть бути легко визначені одним з фахівців у цій області. Дози для введення можуть варіюватися від, наприклад, близько 1 нг до приблизно 10000 мг, близько 5 нг до приблизно

50 9500 мг, близько 10 нг до приблизно 9000 мг, близько 20 нг до приблизно 8500 мг, близько 30 нг до приблизно 7500 мг, близько 40 нг до приблизно 7000 мг, близько 50 нг до приблизно 6500 мг, близько 100 нг до приблизно 6000 мг, близько 200 нг до приблизно 5500 мг, близько 300 нг до приблизно 5000 мг, близько 400 нг до приблизно 4500 мг, близько 500 нг до приблизно 4000 мг, близько 1 мкг до приблизно 3500 мг, близько 5 мкг до приблизно 3000 мг, близько 10 мкг до

55 приблизно 2600 мг, близько 20 мкг до приблизно 2575 мг, близько 30 мкг до приблизно 2550 мг, близько 40 мкг до приблизно 2500 мг, близько 50 мкг до приблизно 2475 мг, близько 100 мкг до приблизно 2450 мг, близько 200 мкг до приблизно 2425 мг, близько 300 мкг до приблизно 2000, близько 400 мкг до приблизно 175 мг, близько 500 мкг до 1150 мг, близько 0,5 мг до приблизно 1125 мг, близько 1 мг до приблизно 1100 мг, близько 1,25 мг до приблизно 1075 мг, близько 1,5

60 мг до приблизно 1050 мг, близько 2,0 мг до приблизно 1025 мг, близько 2,5 мг до приблизно

1000 мг, близько 3,0 мг до приблизно 975 мг, близько 3,5 мг до приблизно 950 мг, близько 4,0 мг до приблизно 925 мг, близько 4,5 мг до приблизно 900 мг, близько 5 мг до приблизно 875 мг, близько 10 мг до приблизно 850 мг, близько 20 мг до приблизно 825 мг, близько 30 мг до приблизно 800 мг, близько 40 мг до приблизно 775 мг, близько 50 мг до приблизно 750 мг, близько 100 мг до приблизно 725 мг, близько 200 мг до приблизно 700 мг, близько 300 мг до приблизно 675 мг, близько 400 мг до приблизно 650 мг, близько 500 мг або близько 525 мг до приблизно 625 мг, антитіла або антиген-зв'язуючої його частини, як це передбачено в цьому документі. Дозування може бути, наприклад, щотижня, кожні 2 тижні, раз у три тижні,

кожні 4 тижні, кожні 5 тижнів або кожні 6 тижнів. Схема дозування може бути скоректована, щоб забезпечити оптимальний терапевтичний ефект. Ефективна кількість також є така, у якій будь-які токсичні або шкідливі наслідки (побічні ефекти) агента зведені до мінімуму й/або переважають позитивні ефекти. Для MM-121, введення може бути внутрішньовенним точно або приблизно 6 мг/кг або 12 мг/кг у тиждень, або 12 мг/кг або 24 мг/кг два рази на тиждень. Додаткові режими дозування описані нижче.

Терміни "протираковий агент" і "антинеопластичний агент" відносяться до препаратів для лікування злоякісних пухлин, таких як ракові новоутворення. Лікарська терапія може бути використана окремо або в комбінації з іншими способами лікування, такими як хірургія або променева терапія.

Різні аспекти й варіанти втілення описані більш докладно в наступних підрозділах.

1. ErbB3 інгібітори

Як описано надалі тут докладно, способи й композиції, передбачені тут, пов'язані з використанням одного або декількох ErbB3 інгібіторів.

В одному з варіантів втілення, інгібітор ErbB3 є антитілом ErbB3, наприклад, моноклональним антитілом. Типовим моноклональним антитілом проти ErbB3 є MM-121, описане далі в WO 2008/100624 і патенті США № 7846440, і що має V_H і V_L послідовності, як показано в SEQ ID NO: 1 і 2 відповідно. Крім того, моноклональне антитіло проти ErbB3 є антитілом, що конкурує із MM-121 за зв'язування з ErbB3. В іншому варіанті втілення, антитіло проти ErbB3 є антитілом, що включає V_H і V_L CDR послідовності MM-121, які показані в SEQ ID NO: 3-5 (V_H CDR1, 2, 3) і 6-8 (V_L CDR1, 2, 3) відповідно. Інші приклади антитіл проти ErbB3 включають Ab # 3, Ab # 14, Ab # 17 і Ab #19, також описані далі в WO 2008/100624 і що мають V_H і V_L послідовності, як показано в SEQ ID NO: 9 і 10, 17 і 18, 25 і 26, і 33 і 34, відповідно. В іншому варіанті втілення, антитіло проти ErbB3 є антитілом, що включає V_H і V_L CDR послідовності Ab # 3 (показані в SEQ ID NO: 11-13 і 14-18, відповідно) або антитілом, що включає V_H і V_L CDR послідовності Ab # 14 (показані в SEQ ID NO: 19-21 і 22-24, відповідно) або антитілом, що включає V_H і V_L CDR послідовності Ab # 17 (показані в SEQ ID NO: 27-29 і 30-32, відповідно) або антитілом, що включає V_H і V_L CDR послідовності Ab # 19 (показані в SEQ ID NO: 35-37 і 38-40, відповідно).

Альтернативно, антитіло проти ErbB3 є моноклональним антитілом або його антиген-зв'язуючою частиною, що зв'язує епітоп людського ErbB3, що включає залишки 92-104 з SEQ ID NO: 41 і характеризується гальмуванням проліферації ракової клітини, яка експресує ErbB3. Ракова клітина може бути клітиною MALME-3М, клітиною AdrR, або клітиною ACHN і проліферація може бути скорочена мінімум на 10 % у порівнянні з контролем. У додатковому варіанті втілення це ізольоване моноклональне антитіло або його антиген-зв'язуюча частина зв'язує епітоп, що включає залишки 92-104 і 129 з SEQ ID NO: 41.

Інші приклади використовуваних антитіл проти ErbB3 включають антитіла 1B4C3 і 2D1D12 (U3 Pharma AG), обоє з яких описані в заявці на Патент США № 20040197332 Ullrich et al, і моноклональні антитіла (у тому числі їх гуманізовані версії), такі як AMG-888 (U3 Pharma AG і Amgen) і 8B8, як описано в патенті США № 5968511 Akita et al.

У ще одному варіанті втілення, антитіло проти ErbB3 може містити суміш, або коктейль із двох або більше антитіл проти ErbB3, кожне з яких зв'язується з різним епітопом на ErbB3. В одному варіанті втілення суміш, або коктейль, складається із трьох антитіл проти ErbB3, кожне з яких зв'язується з різним епітопом на ErbB3.

В іншому варіанті втілення, інгібітор ErbB3 складається з молекули нуклеїнової кислоти, такої як молекула РНК, що перешкоджає експресії або активності ErbB3. РНК антагоністи ErbB3 були описані в даній області (див. наприклад, публікацію патентної заявки США № 20080318894). Крім того, інтерферуючі РНК, специфічні для ErbB3, такі як shRNA або siRNA, спеціально інгібуючі експресію й/або активність ErbB3, були описані в цій області.

У ще одному варіанті втілення, інгібітор ErbB3 містить у собі розчинну форму ErbB3 рецептора, що пригнічує сигналізацію через ErbB3 шлях. Такі розчинні молекули ErbB3 були описані в даній області (див. наприклад, Патент США № 7390632, публікацію патентної заявки

США № 20080274504 і публікацію патентної заявки США № 20080261270, кожний від Maihle et al, і публікацію патентної заявки США № 20080057064 від Zhou).

II. Способи.

В одному аспекті, передбачається використання інгібітору ErbB3 для виготовлення лікарського засобу для лікування TN раку молочної залози або BL раку молочної залози.

В іншому аспекті, передбачається спосіб пригнічення зростання клітин тричі негативного раку молочної залози, спосіб, що включає контактування клітини з ефективною кількістю ErbB3 інгібітора.

В іншому аспекті, передбачається спосіб пригнічення зростання TN або BL ракової пухлини молочної залози у пацієнта, що включає введення пацієнтові ефективної кількості ErbB3 інгібітора.

У ще одному аспекті, передбачається спосіб лікування пацієнта з TN або BL раковою пухлиною молочної залози, що включає введення пацієнтові ефективної кількості ErbB3 інгібітора.

У ще одному аспекті, передбачається спосіб лікування пухлин молочної залози у пацієнтів, що включає:

вибір пацієнта з TN або BL раковою пухлиною молочної залози; і

введення пацієнтові ефективної кількості ErbB3 інгібітора.

В іншому аспекті, пацієнт із TN або BL раковою пухлиною молочної залози є пацієнтом надалі обраним за допомогою способів вибору, описаних у міжнародній заявці PCT/US2009/054051.

Ідентифікація клітин тричі негативного раку молочної залози, або пацієнта із тричі негативною раковою пухлиною молочної залози, може бути досягнута за допомогою стандартних способів, добре відомих у даній області. Наприклад, імуногістохімічне (ШС) фарбування звичайно використовується при аналізі біопсії й дозволяє виявити, локалізувати й відносно кількісно визначити ER, PR і HER2 у зрізах, фіксованих формаліном, парафінованих тканинах (наприклад, ракові тканини молочної залози рутинно обробляються для гістологічного дослідження). У контексті виявлення TN пухлин, фарбування менш чи на 5 % пухлинних клітинних ядер вважається негативним для ER і PR. Первинне антитіло, використовуване для ШС фарбування ER, є, наприклад, 1D5 (Chemicon, Temecula CA, # за каталогом IHC2055). Первинне антитіло, використовуване для ШС фарбування PR, є, наприклад, PgR636 (Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA, # за каталогом MS-1882-R7) або PgR 1294 (Dako North America, Inc, Carpinteria, CA, код M3568). Для ШС аналізу ErbB2 використовується, наприклад, HercepTest™ Kit (Dako North America, Inc, Carpinteria, CA, код K5204), напівкількісний ШС спосіб з використанням поліклональних первинних антитіл проти HER2 для визначення гіперекспресії HER2 білка в тканинах при раку молочної залози, рутинно обробляється для гістологічного дослідження, що використовується відповідно до вказівок виробника. У контексті визначення TN пухлин, результат тесту від 0 до 1+ вважається Her2 негативним.

В одному з варіантів втілення, тричі негативна ракова пухлина молочної залози гістологічно характеризується як пухлина базально-подібного фенотипу. В іншому варіанті втілення, тричі негативна ракова пухлина молочної залози гістологічно характеризується як пухлина з не базально-подібним фенотипом. Приклади TN раку молочної залози гістопатологічних фенотипів, включають, крім BL, високого ступеня інвазії рак проток неспеціального типу, метастатичні карциноми, медулярні карциноми й пухлини молочної залози, подібні до раку слинних залоз.

В одному аспекті, TN або BL рак молочної залози варто лікувати ErbB3 інгібітором коекспресії ErbB1 (EGFR), ErbB3 і херегуліном (HRG). Експресію EGFR і HRG можна визначити по ПЦР у реальному часі або стандартних способах імуноаналіза, таких як ІФА або імуногістохімічне фарбування фіксованих формаліном, парафінованих тканин (наприклад, тканини молочної залози звичайно обробляються для гістологічного дослідження), використовуючи антитіло проти EGFR, антитіло проти ErbB3 або антитіло проти HRG. Додаткові характеристики пухлин для лікування відповідно до розкриття викладені тут, чекаючи американської патентної публікації № 20110027291, що заявляє пріоритет РСТ заявки № PCT/US2009/054051.

В одному варіанті втілення ErbB3 інгібітор, що вводять пацієнтові, є антитілом проти ErbB3. Типове антитіло проти ErbB3 є MM-121, що складається з V_H і V_L послідовностей, як показано в SEQ ID NO: 1 і 2 відповідно, або антитілом, що включає V_H CDR1, 2 і 3 послідовності, як показано в SEQ ID NO: 3-5 відповідно, і V_L CDR1, 2 і 3 послідовності, як показано в SEQ ID NO: 6-8 відповідно (тобто, V_H і VICDR з MM-121). Додаткові необмежуючі зразки антитіл проти ErbB3 і інших форм ErbB3 інгібіторів докладно описані в підрозділі I вище.

Інгібітор ErbB3 можна вводити пацієнтові будь-яким шляхом, що підходить для ефективної доставки інгібітору пацієнтові. Наприклад, багато малих молекул інгібіторів підходять для прийому усередину. Антитіла й інші біологічні агенти звичайно вводять парентерально, наприклад, внутрішньовенно, внутрішньочеревинно, підшкірно або внутрішньом'язово. Різні шляхи введення, дози й фармацевтичні препарати, придатні для використання в способах, передбачених у цьому документі, більш докладно описані нижче.

III. Фармацевтичні композиції.

В іншому аспекті, передбачаються фармацевтичні композиції, які можуть бути використані в способах, описаних тут, тобто фармацевтичні композиції для лікування TN або BL пухлин молочної залози.

В одному з варіантів втілення, фармацевтична композиція для лікування TN рака молочної залози включає ErbB3 інгібітор і фармацевтичний носій. Інгібітор ErbB3 може бути змішаний з фармацевтичним носієм у фармацевтичній композиції. Крім того, фармацевтична композиція може включати, наприклад, інструкції із застосування композиції для лікування пацієнтів з TN або BL пухлинами молочної залози.

В одному варіанті втілення ErbB3 інгібітор у композиції є антитілом проти ErbB3, наприклад, MM-121 або антитілом, що включає V_H і V_L CDR антитіла MM-121, яке позиціонується як антитіло в тому же відносному порядку, як вони представлені в MM-121, для того щоб забезпечити імуноспецифічне зв'язування з ErbB3. Додаткові необмежуючі зразки антитіл проти ErbB3 і інші форми інгібіторів ErbB3 докладно описані в підрозділі I вище.

Використовуваний тут термін "фармацевтично прийнятний носій" включає будь-які розчинники, дисперсійні середовища, покриття, антибактеріальні й протигрибкові агенти, ізотонічні агенти й агенти, які затримують усмоктування, буфери, і інші наповнювачі, які є фізіологічно сумісними. Бажано, щоб носій був пристосований для парентерального, орального або місцевого введення. Залежно від способу введення, активна сполука, наприклад, мала молекула або біологічний агент, можуть бути покриті матеріалом для захисту сполуки від впливу кислот і інших природних умов, які можуть інактивувати сполуку.

Фармацевтично прийнятні носії включають стерильні водяні розчини або дисперсії й стерильні порошки для екстемпорального приготування стерильних розчинів для ін'єкцій або дисперсій, а також звичайні допоміжні речовини для приготування таблеток, пігулок, капсул тощо. Використання таких середовищ і агентів для розробки фармацевтично активних субстанцій відомо в даній області. За винятком випадків, коли будь-які звичайні середовища або агенти несумісні з активною сполукою, використання їх у фармацевтичних композиціях передбачено в цьому документі. Додаткові активні сполуки можуть також бути включені в композиції.

Фармацевтично прийнятний носій може містити фармацевтично прийнятний антиоксидант. Приклади фармацевтично прийнятних антиоксидантів включають: (1) водорозчинні антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота, цистеїн гідрохлорид, натрію бісульфат, метабісульфіт натрію, сульфат натрію й т.п.; (2) жиророзчинні антиоксиданти, такі як аскорбілпальмітат, бутилгідроксіанізол (BHA), бутилгідроксітолуол (BHT), лецитин, пропілгаллат, альфа-токоферол, тощо; і (3) метал хелатуючі агенти, такі як лимонна кислота, етилендіамінтетраоцетова кислота (EDTA), сорбітол, винна кислота, фосфорна кислота, тощо.

Приклади прийнятних водних і неводних носіїв, які можуть бути використані у фармацевтичних композиціях, передбачених у цьому документі, включають воду, етанол, поліоли (наприклад, гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленгліколь, тощо), а також прийнятні їх суміші, і ін'єкційні органічні складні ефіри, такі, як етилолеат. При

необхідності, належна текучість може бути забезпечена, наприклад, при використанні покриттів, таких як лецитин, шляхом підтримки необхідного розміру часток у випадку дисперсій і за допомогою поверхнево-активних речовин. У багатьох випадках, у композицію буде корисно включити ізотонічні агенти, наприклад, цукри, багатоатомні спирти, такі як манитол, сорбітол або хлорид натрію в складі. Пролонговану абсорбцію ін'єкційних композицій може спричинити включення в композицію агента, що затримує поглинання, наприклад, моностеаратних солей і желатину.

Ці композиції можуть також містити функціональні наповнювачі, такі як консерванти, змочувачі, емульгатори і диспергатори.

Терапевтичні композиції звичайно повинні бути стерильними, непірогенними й стабільними в умовах виробництва і зберігання. Склад може бути скомпонований у вигляді розчину, мікроемульсії, липосом або інших упорядкованих структур, що підходять для високої концентрації препарату.

Стерильні розчини для ін'єкцій можуть бути отримані шляхом включення активної речовини в необхідній кількості у відповідний розчинник з одним або декількома з перерахованих вище компонентів, як це потрібно, з наступною стерилізацією, наприклад, шляхом мікрофільтрації. Як правило, дисперсії готують шляхом включення активної сполуки в стерильний носій, що містить основне дисперсійне середовище й інші необхідні інгредієнти з перерахованих вище. У випадку стерильних порошків для приготування стерильних розчинів для ін'єкцій, способи підготовки включають вакуумне сушіння й сублімаційне сушіння (ліофілізацію), які дають порошок активного інгредієнта плюс будь-які додаткові бажані інгредієнти, отримані раніше стерильною фільтрацією. Активний агент(и) може бути змішаний у стерильних умовах з додатковим фармацевтично прийнятним носієм(и), і з будь-якими консервантами, буферами, або пропілентами, які можуть знадобитися.

Попередження присутності мікроорганізмів може бути забезпечене як стерилізацією, вище, і за рахунок включення різних антибактеріальних і протигрибкових препаратів, наприклад, парабена, хлорбутанола, фенолу сорбинової кислоти, тощо. Також може бути доцільним включити в композиції ізотонічні агенти, такі як цукор, натрію хлорид, і подібні ім. Крім того, пролонгована абсорбція ін'єкційної лікарської форми може бути викликана включенням агентів, які затримують усмоктування, таких як моностеарат алюмінію і желатин.

Фармацевтичні композиції, що містять ErbB3 інгібітор можуть бути введені індивідуально або в складі комбінованої терапії. Наприклад, комбінована терапія може включати передбачену тут композицію, що включає інгібітор ErbB3, і, щонайменше, один або кілька додаткових терапевтичних агентів, таких, як один або декілько хімотерапевтичних препаратів, відомих у даній області, які розглядаються більш докладно в підрозділі IV нижче. Фармацевтичні композиції можуть бути введені в поєднанні із променевою терапією й/або хірургічним втручанням.

Схеми дозування передбачені так, щоб забезпечити оптимальну бажану відповідь (наприклад, терапевтичний ефект). Наприклад, один болюс може бути введений у декількох розділених дозах, може бути введений протягом довгого часу або доза може бути пропорційно зменшена або збільшена, як це зазначено в конкретній терапевтичній ситуації.

Зразкові діапазони дозування для введення антитіл містять у собі: 10-1000 мг (антитіла)/кг (маса тіла пацієнта), 10-800 мг/кг, 10-600 мг/кг, 10-400 мг/кг, 10-200 мг/кг, 30-1000 мг/кг, 30-800 мг/кг, 30-600 мг/кг, 30-400 мг/кг, 30-200 мг/кг, 50-1000 мг/кг, 50-800 мг/кг, 50-600 мг/кг, 50-400 мг/кг, 50-200 мг/кг, 100-1000 мг/кг, 100-900 мг/кг, 100-800 мг/кг, 100-700 мг/кг, 100-600 мг/кг, 100-500 мг/кг, 100-400 мг/кг, 100-300 мг/кг і 100-200 мг/кг. Зразковий графік дозування включає раз у три дні, раз у п'ять днів, раз у сім днів (наприклад, раз у тиждень), раз в 10 днів, раз в 14 днів (наприклад, раз у два тижні), один раз кожні 21 день (тобто, один раз у три тижні), раз у 28 днів (тобто, раз у чотири тижні) і раз в місяць.

Можливо корисно створити парентеральні композиції у формі одиначної дози для легкості введення й рівномірності дозування. Група лікарських форм, використовуваних тут, відноситься до фізично дискретних одиниць, підходить у якості стандартних доз для лікування пацієнтів; кожна одиниця містить задану кількість активної речовини, розраховану для одержання бажаного терапевтичного ефекту, у сполученні з будь-яким необхідним фармацевтичним носієм. Специфікації для одиначних дозованих форм продиктовані й прямо залежать від (а) унікальних характеристик активної сполуки й конкретного терапевтичного ефекту, що повинен бути досягнут, і (б) обмежень, які властиві науці застосування такої активної сполуки для лікування чутливих людей.

Фактичні рівні доз активних інгредієнтів у фармацевтичних композиціях, описані тут, можуть бути змінені так, щоб одержати кількість активного інгредієнта, що ефективна для досягнення бажаного терапевтичного ефекту для конкретного пацієнта, складу й способу введення, не будучи токсичним для пацієнта. "Парентерально", використовуваний тут, у контексті введення означає, що спосіб введення, крім ентерального й місцевого введення, як правило, у вигляді ін'єкцій, включає, крім іншого, внутрішньовенні, внутрішньом'язові, внутрішньоартеріальні, інтратекальні, внутрішньосуглобні, інтраорбітальні, внутрішньосерцеві, внутрішньошкірні, внутрішньочеревинні, транстрахеальні, підшкірні, субкутикулярні, внутрішньосуглобні, субкапсулярні, субарахноїдальні, спинні, епідуральні і інтрастернальні ін'єкції і інфузії.

Фрази "парентерального введення" і "вводять парентерально", використовувані тут, відносяться до режимів введення, крім ентерального (наприклад, через шлунково-кишковий тракт) і місцевого застосування, як правило, через ін'єкції або інфузії, і включають, крім іншого, внутрішньовенні, внутрішньом'язові, внутрішньоартеріальні, інтратекальні, внутрішньосуглобні, інтраорбітальні, внутрішньосерцеві, внутрішньошкірні, внутрішньочеревинні, транстрахеальні, підшкірні, субкутикулярні, внутрішньосуглобні, субкапсулярні, субарахноїдальні, інтраспинальні,

епідуральні й інтратернальні ін'єкції й інфузії. Внутрішньовенні ін'єкції й уливання часто (але не винятково) використовуються для введення антитіла.

Коли агенти, зазначені в цьому документі, вводяться як лікарські засоби, для людей або тварин, вони можуть бути надані самостійно або у вигляді фармацевтичної композиції, що містить, наприклад, від 0,001 до 90 % (наприклад, від 0,005 до 70 %, наприклад, від 0,01 до 30 %) активних інгредієнтів у сполученні з фармацевтично прийнятним носієм.

IV. Комбінована терапія.

У деяких варіантах втілення, способи й використання, передбачені в цьому документі для пригнічення зростання клітин TN рака молочної залози або для лікування пацієнтів з TN пухлиною молочної залози або BL пухлиною молочної залози, можуть містити в собі введення ErbB3 інгібітора й хоча б одного додаткового протиракового агента, що не є ErbB3 інгібітором.

В одному з варіантів втілення, щонайменше один додатковий протираковий агент містить, щонайменше, один хіміотерапевтичний препарат. Необмежуючі приклади таких хіміотерапевтичних препаратів включають хіміотерапевтичні препарати на основі платини (наприклад, цисплатин, карбоплатин), таксани (наприклад, паклитаксел (Таксол®), доцетаксел (Таксотер®), EndoTAG-1™ (форма паклитаксела, інкапсульованого в позитивно заряджений комплекс на основі ліпідів; MediGene), Abraxane® (форма паклитаксела, пов'язаного з альбуміном)), інгібітори тирозинкінази (наприклад, іматиніб/Gleevec®, сунитиніб/Sutent®, дазатиніб/Sprycel), а також їх комбінації.

В іншому варіанті втілення, щонайменше один додатковий протираковий агент включає EGFR інгібітор, такий як антитіло проти EGFR або малу молекулу інгібітор EGFR сигналізації. Типовим антитілом проти EGFR є цетуксимаб (Erbitux®). Цетуксимаб комерційно доступний від ImClone Systems Incorporated. Інші приклади антитіл проти EGFR включають матузумаб (EMD72000), панитумумаб (Vectibix®; Amgen); нимотузумаб (TheraCIM™) і mAb 806. Типовою малою молекулою інгібітором EGFR сигнального шляху є гефитиніб (Iressa®), що є комерційно доступним від компанії AstraZeneca і Teva. Інші приклади малих молекул інгібіторів EGFR сигнального шляху включають ерлотиніб HCL (OSI-774; Tarceva®, OSI Pharma); лапатиніб (Tykerb®, GlaxoSmithKline); канертиніб (канертиніб дигидрохлорид, Pfizer); пелитиніб (Pfizer); PKI-166 (Novartis); PD158780 і AG 1478 (4-(3-хлораниліно)-6,7-диметоксіхіназолін).

У ще одному варіанті втілення, щонайменше один додатковий протираковий агент включає інгібітор VEGF. Типовий інгібітор VEGF включає антитіло проти VEGF, таке як бевацизумаб (Avastatin®, Genentech).

У ще одному варіанті втілення, щонайменше один додатковий протираковий агент містить у собі антитіло проти ErbB2. Підходящі антитіла проти ErbB2 включають трастузумаб і пертузумаб.

В одному аспекті, підвищення ефективності комбінації відповідно до винаходу може продемонструвати досягнення терапевтичного синергізма.

Термін "терапевтичний синергізм" використовується, коли комбінація двох продуктів при заданій дозі більш ефективна, ніж кожного із двох продуктів у тих же дозах. В одному із прикладів, терапевтичний синергізм можна оцінити шляхом порівняння сполучення кращих індивідуальних агентів за допомогою оцінок, отриманих від двунправленого аналізу з повторними вимірами (наприклад, фактор часу) по параметру об'єма пухлини.

Термін "адитивно" відноситься до того случаю, коли комбінація двох або більше продуктів у даній дозі не менш ефективна, ніж сума ефективностей, отриманих від кожного із двох або більше продуктів, у той час як термін "суперадитивно" відноситься до того случаю, коли комбінація більш ефективна, ніж сума ефективностей, отриманих від кожного із двох або більше продуктів.

Ще однією мірою, за допомогою якої ефективність (у тому числі ефективність комбінації) може бути визначена кількісно є розрахунок \log_{10} загибелі клітин, що визначається по наступній формулі:

\log_{10} загибелі клітин = $T-C$ (днів) / $3,32 \times T_d$, у якому $T-C$ являє собою затримку в зростанні клітин, середній час, у днях, для пухлин у розглянутій групі (Т) і пухлин у контрольній групі (С), коли вона досягла заданого значення (1г, або 10 мл, наприклад), і T_d являє собою час у днях, необхідних для подвоєння об'єму пухлини в контрольних тварин. При застосуванні цієї міри, продукт вважається активним, якщо \log_{10} загибелі клітин більше або дорівнює 0,7 і продукт вважається дуже активним, якщо \log_{10} загибелі клітин більше, ніж 2,8.

За допомогою цієї міри, комбінація, використовувана у своїй максимально стерпній дозі, у якій кожний з компонентів присутній у дозі як правило, яка менше або равна максимальній стерпній дозі, має терапевтичний синергізм, коли \log_{10} загибелі клітин більше, ніж значення \log_{10} загибелі клітин із кращих складових, коли вони вводяться індивідуально. У

зразковому випадку, \log_{10} загибелі клітин комбінації перевищує значення \log_{10} загибелі клітин із кращих складових комбінацій, щонайменше на один \log загибелі клітин.

Приклади.

5 Приклад 1: Ефекти дії MM-121 на ксенотрансплантат MAXF449 тричі негативного раку молочної залози людини.

Аналіз протипухлинної ефективності й переносимості MM-121 при лікуванні пухлин мишей здійснюється за допомогою ксенотрансплантата MAXF449 тричі негативного раку молочної залози людини (ONCOTEST GmbH, Freiburg, Німеччина) в NMRI голі миші. MAXF449 є експлантатом пухлини людини (експлант гістологічно описаний, як тверда інвазивна протокова й погано обумовлена пухлина), створеним за допомогою підшкірних ін'єкцій у серійні місця голих мишей. MAXF449 клітини, використовувані в цих експериментах, були пасировані 22 рази. NMRI голі миші були отримані з Тасопіс господарства, Charles River Laboratories International, або Harlan Laboratories. Миші були розміщені в Tecniplast індивідуально вентильовані полікарбонатні (Macrolon) клітки (IVC), установлені в клімат-контрольованих кімнатах, і мали вільний доступ до їжі й підкисленої води.

Для дослідження протипухлинної ефективності в якості монотерапії, MM-121 або середовище для розчинення як контроль (100 мкл) давалася миші-носію пухлини в дозі 600 мкг на мишу (MM-121 у дозі 6 мг/мл розчину в PBS) через IP-ін'єкції кожні три дні. Контрольні миші одержували тільки середовище для розчинення PBS. Ефективність визначалася шляхом порівняння зростання пухлини між мишею, обробленою антитілом, і мишею, обробленою середовищем для розчинення, і виражалася у вигляді відношення експерименту до контролю по середньому відносному об'єму пухлини (Т/С значення). Мінімальне Т/С значення нижче 50 % є необхідною умовою для рейтингу лікування як ефективного. Контрольна й експериментальна групи, кожна містить 10 мишей, що несуть по одній пухлині в кожній. Щоб одержати 30 мишей з пухлинами аналогічних розмірів для рандомізації, 40 мишам пухлини імплантуються в

однорічному порядку. Миші були рандомізовані й лікування почалося тоді, коли достатня кількість окремих пухлин виросла до об'єму близько 200 мм³. Пухлини вимірялися (Д Х Ш) цифровим супортом виміру й об'єм пухлини розраховувався по формулі $Pi/6 (Ш2хД)$. Перша доза вводилася або в день 0 (день рандомізації) або на день пізніше.

Приблизно через 24 години після введення фінальної дози кров всіх мишей використовувалася для підготовки сироватки; крім того, пухлини збиралися з тих же мишей для контактної заморозки і FFPE (1/2 кожної пухлини).

Відповідно до правил для експериментів на тварин, миші були сакрифіковані, якщо об'єм пухлини перевищував 1800 мм (одна пухлина на мишу). Миші мониторилися і дозувалися, поки пухлина не виросла до такого розміру, але не більше 60 днів. Після цього вони були сакрифіковані для відбору проб.

Наприкінці дослідження, близько 24 годин після введення остаточної дози, у всіх мишей брали сублінгвально кров для дослідження, щоб одержати максимальну кількість крові для приготування сироватки. Аліквоти сироватки поміщали в 2-і пробірки по 250 мкл у кожну.

Крім того, з пухлин всіх мишей вирізали без зволікання зразки для швидкого заморожування в рідкому азоті (1/2 пухлини, COVARIS мішки для зберігання зразків у комплекті) і для фіксації в 10 % буферному розчині формаліну для <24 годин, з наступним зневоднюванням і парафінуванням (FFPE, 1/2 пухлини).

Вага тварин і діаметр пухлини (Д и Ш) вимірялися два рази на тиждень і об'єми пухлини розраховувалися по формулі $Pi/6 (Ш2хД)$. Будувалися криві зростання пухлини. Інгібування пухлини й абсолютна затримка зростання для 2 і 4 кратного подвоєння часу розраховувалися.

Результати експериментів, які проводилися в значній мірі, як це описано, представлені на фігурі 1. MM-121 лікування інгібує або зупиняє зростання пухлини, а в деяких випадках зменшує розмір пухлини. TGI (інгібування зростання пухлини) у цих тричі негативних ксенотрансплантатах пухлини людини було розраховано приблизно на 200 %.

Приклад 2: Ефекти дії MM-121 на ксенотрансплантат MDA-MB-231 тричі негативного раку молочної залози людини.

55 Balb/c голим мишам вводили під загальним наркозом 10⁷ клітин MDA-MB-231 тричі негативного раку молочної залози людини (ATCC) або підшкірно в бік або в жирову тканину. Миші із установленими пухлинами (наприклад, через 7-10 днів зростання пухлини після введення клітин), потім оброблялися IP (інтраперитонеально) або PBS або MM-121 кожні 3 дні в дозі 600 мкг MM-121 на мишу, як описано в Прикладі 1. Об'єм пухлини вимірювали два рази на тиждень, як описано в Прикладі 1.

Результати експериментів, проведених у значній мірі, як це описано, представлені на Фігурі 2. Лікування MM-121 практично повністю зупинило зростання тричі негативної ракової пухлини молочної залози людини в цих експериментах.

Приклад 3: Вимір спорідненості зв'язування (K_D)

Константи дисоціації антитіл проти ErbB можуть бути виміряні за допомогою одного або обох із двох незалежних способів: аналізу поверхневого плазмонного резонансу й аналізу клітинного зв'язування. Аналіз поверхневого плазмонного резонансу.

Аналіз поверхневого плазмонного резонансу виконується, як описано Wassaf et al. (2006) Analytical Biochem., 351:241-253. Одна з реалізацій використовує інструмент BIACORE 3000 (GE Healthcare) з використанням рекомбінантного білка ErbB як аналіта й антитіла проти ErbB у якості ліганда. Значення K_D розраховується по формулі $K_D = K_d/K_a$.

Аналіз клітинного зв'язування.

Аналіз клітинного зв'язування здійснюється за допомогою MALME-3М клітин (ATCC) для ErbB3 зв'язування. Аналіз виконується по суті в такий спосіб.

Клітини відокремлювали з 2 мл трипсина-ЕДТА + 2 мл RPMI+5 мМ ЕДТА при кімнатній температурі протягом 5 хвилин. Повне RPMI (10 мл) додавали безпосередньо до трипсинізованих клітин, ресуспендували м'яко й осаджували в настільній центрифугі Beckman при 1100 обертах у хвилину протягом 5 хвилин. Клітини ресуспендували в BD буфері, що офарблює (PBS+2 % FBS+0,1 % азиду натрію, Becton Dickinson) у концентрації 2×10^6 клітин на мл і 50 мкл (1×10^5 клітин) аліквоти висівали в 96-и ямковий титрпланшет.

150 мкл розчину 200 нМ антитіла проти ErbB в BD буфері, що офарблює, готовили й послідовно розбавляли в 2 рази в 75 мкл BD буфера, що офарблює. Концентрації розведеного антитіла коливалися від 200 нМ до 0,4 нМ. 50 мкл аліквот різного розведення білка потім додавали безпосередньо в 50 мкл суспензії клітин до кінцевої концентрації 100 нМ, 50 нМ, 25 нМ, 12 нМ, 6 нМ, 3 нМ, 1,5 нМ, 0,8 нМ, 0,4 нМ і 0,2 нМ антитіла.

Аліквоти клітин у 96-ямковому планшеті інкубували з білком розведення протягом 30 хвилин при кімнатній температурі на платформі шейкера й промивали 3 рази по 300 мкл BD буфера, що офарблює. Потім клітини інкубували з 100 мкл вторинного антитіла (наприклад, 1:750 розведення Aієха 647-міченого козячого антитіла проти людського IgG в BD буфері, що офарблює) протягом 45 хвилин на платформі шейкера в холодній кімнаті. Нарешті, клітини промивали двічі, осаджували й ресуспендували в 250 мкл BD буфера, що офарблює, + 0,5 мкг/мл пропідія йодиду. Аналіз 10000 клітин робили в проточному цитометрі FACSCALIBUR з використанням FL4 каналу. MFI значення й відповідні концентрації антитіла проти ErbB нанесені на осі ординат і осі абсцис, відповідно. K_D молекули визначали за допомогою програмного забезпечення GraphPad PRISM з використанням моделі односайтового зв'язування для нелінійної регресійної кривої.

Ко значення розраховували по формулі $Y = B_{max} * X/(K_d+X)$ (B_{max} = флуоресценція при насиченні. X = концентрація антитіла. Y = ступінь зв'язування).

Приклад 4: Інгібування зростання пухлини in vivo при комбінованій терапії із MM-121 і паклітакселом.

Способи:

Balb/c голим мишам (самки, віку 4-5 тижнів від лабораторії Charles River) імплантували ортотопікально 10×10^6 клітин у молочну площадку. Пухлини можуть досягти в середньому 100 мм³ у розмірі до рандомізації на 4 групи по 10 мишей, що містять мишей з аналогічним розподілом розмірів пухлини. Кожну групу мишей обробляли 1) MM-121 (150 мкг/миша, інтраперитонеально, Q3D) або 2) середовищем для розчинення в якості контролю (PBS, інтраперитонеально) або 3) паклітакселом (5 мг/кг LC Labs) або 4) паклітакселом (5 мг/кг) і MM-121 (150 мкг/миша). Лікування тривало протягом 4 тижнів. Пухлини вимірювали два рази на тиждень і об'єм пухлини розраховували як $\pi/6 \times \text{довжина} \times \text{ширина}^2$, де ширина є більш коротким виміром.

Результати:

Поєднання MM-121 з паклітакселом було досліджено in vivo на моделі ксенотрансплантата MDA-MB-231 тричі негативного раку молочної залози, використовуючи способи, описані вище, або з їхніми незначними змінами. Мишей лікували суб-оптимальними дозами MM-121, паклітаксела, поєднанням MM-121 і паклітаксела, або середовищем для розчинення в якості контролю (Фігура 3). У той час як MM-121 і паклітаксел кожний по собі інгібують зростання пухлини in vivo, миші, що одержували комбіновану терапію MM-121 і паклітаксела, показали поліпшення інгібування зростання пухлини в порівнянні з тими, які одержували індивідуальне лікування. Поліпшення інгібування зростання пухлини показало терапевтичний синергізм і,

щонайменше, адитивність у порівнянні з поліпшенням, отриманим від комбінації кожного з індивідуальних агентів.

У Таблиці 1 наведені дані, використовувані для створення Фігури 3. Таблиця 2 показує середню зміну в % об'єму пухлини, використовуючи дані з тих же експериментів, як показано на Фігурі 3, нормовану на первісний об'єм пухлини.

Таблиця 1: Дані, використовувані для створення Фігури 3 - означає об'єми пухлини у мм.

Приклад 5: Цілеспрямована комбінація MM-121 і хіміотерапії *in vivo*.

Таблиця 1.

Способи:							
Середовище для розчинення, контроль	Значення	104,4	137,1	144,5	229,5	253,7	291,0
MM121 150 мкг	Значення	99,4	115,5	137,5	180,4	187,2	242,7
Паклитаксел 5 мг/кг	Значення	97,9	113,5	144,6	166,2	178,8	202,2
MM121 150 мкг + паклитаксел 5 мг/кг	Значення	96,2	100,8	98,3	104,1	113,0	121,6

Balb/c голим мишам (самки, 4-5 тижнів від Charles River лабораторії) імплантували ортотопікально 10×10^6 клітин у молочну площадку. Пухлини можуть досягти в середньому 150 мм у розмірі до рандомізації в 9 групах з 8 мишей, що містять мишей з аналогічним розподілом розмірів пухлини. Кожну групу мишей обробляли дозою 1) MM-121 (300 мкг/миша, інтраперитонеально, Q3D) або 2) середовища для розчинення в якості контролю (PBS, інтраперитонеально) або 3) паклитаксела (10 мг/кг LC Labs) або 4) ерлотиніба (50 мг/кг PO 5XQD) або 5) цетуксимаба (2 мг/кг Q3D) або комбінованої терапії: 6) ерлотиніба (50 мг/кг) і MM-121 (300 мкг/миша), або 7) цетуксимаба (2 мг/кг) і MM-121 (300 мкг/миша), або 8) ерлотиніба (50 мг/кг) і MM-121 (300 мкг/миша) і паклитаксела (10 мг/кг), або 9) цетуксимаба (2 мг/кг) і MM121 (300 мкг/миша) і паклитаксела (10 мг/кг). Лікування тривало протягом 4 тижнів. Пухлини вимірювали два рази на тиждень і об'єм пухлини розраховували як $r/6 \times \text{довжина} \times \text{ширина}^2$, де ширина - більш короткий вимір.

Результати: Для того щоб перевірити ефективність MM-121 для пригнічення зростання пухлини при використанні в комбінації з іншими агентами, ці комбінації були перевірені *in vivo* на моделі ксенотрансплантата MDA-MB-231 тричі негативного раку молочної залози, використовуючи способи, описані вище або з незначними їхніми змінами. Мишей лікували MM-121 (вводиться в суб-оптимальних дозах у комбінації), цетуксимабом, паклитакселом, MM-121 і цетуксимабом, і потрійною комбінацією MM-121, цетуксимаба й паклитаксела. Як показано на Фігурі 4А, комбінована терапія MM-121 і цетуксимабом інгібує зростання пухлини більшою мірою, ніж кожним препаратом окремо й, по суті, зупинила зростання пухлини, поки, щонайменше, на 39 день. Зниження темпів зростання показало терапевтичний синергізм і, у деяких випадках, презентувало, щонайменше, адитивне зниження зростання в порівнянні зі зменшенням, отриманим з кожним з компонентів при індивідуальній терапії. Додавання паклитаксела не підсилило ефект MM-121 і цетуксимаба. Мишей обробляли MM-121, ерлотинібом, MM-121 і ерлотинібом або потрійною комбінацією MM-121, ерлотиніба й паклитаксела. Як показано на Фігурі 4В, MM-121 у сполученні з ерлотинібом не виявляє статистично значимого впливу на швидкість зростання пухлини в порівнянні з лікуванням кожним препаратом окремо. З іншого боку, при лікуванні потрійною комбінацією MM-121, ерлотиніба й паклитаксела в результаті явно знизилася швидкість зростання пухлини й, по суті, зупинилося зростання пухлини, поки щонайменше, на 39 день. Зниження темпів зростання показало терапевтичний синергізм і, у деяких випадках, представляється, щонайменше, адитивним зниженням зростання в порівнянні зі зменшенням зростання, отриманим з будь-яким варіантом одинарної або подвійної терапії.

У Таблиці 3 наведені дані, використовувані для створення Фігур 4А і 4В.

Таблиця 4 показує середню зміну в % об'єму пухлини за даними з того ж експерименту, що показаний на Фігурах 4А і 4В, нормовану на первісний об'єм пухлини.

Таблиця 2

Дані, пухлини в мм³. використовувані для створення Фігур 4А і 4В середні об'єми пухлину в мм³

День	28	32	36	39	43	46	49	53
PBS	163,7	199,0	242,8	304,5	369,4	423,4	458,4	490,7
ММ121 300 мкг	178,6	197,3	219,1	257,8	269,4	291,4	351,3	425,0
ерлотиніб 50 мг/кг	172,1	182,1	216,1	273,2	252,8	245,6	303,1	327,4
цетуксимаб 2 мг/кг	172,4	210,6	245,0	269,2	296,3	279,7	283,5	358,1
ММ121 + ерлотиніб	170,6	215,5	221,8	261,7	272,5	255,3	305,2	378,3
паклитаксел 10 мг/кг	155,2	167,0	182,4	216,6	228,1	247,0	292,6	383,5
ММ121 + цетуксимаб	152,5	149,6	171,6	169,1	196,6	171,2	182,9	241,2
ММ121 + ерлотиніб + паклитаксел	164,8	149,3	139,8	146,5	156,7	163,4	202,9	264,5
ММ121 + цетуксимаб + паклитаксел	176,3	158,5	147,8	160,4	154,4	163,4	203,4	247,7

Аналоги.

- 5 Фахівцеві в даній області буде зрозуміло, або зможе в стані з'ясувати, не використовуючи більше рутинні експерименти, багато еквівалентів конкретних варіантів втілення, описаних тут. Такі еквіваленти охоплюють наступні вимоги. Будь-які комбінації з варіантів втілення представлені в залежних претензіях, передбачених у рамках даного винаходу.

Включення по посиланню.

- 10 Кожний виданий патент, заявка на патент і публікація, згадані в цьому документі, таким чином, включені сюди посиланням у повному обсязі.

КОРОТКИЙ ОГЛЯД ПЕРЕЛІКУ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ.

MM-121 V_H амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:1)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPGKGLEWVSSISSGG
WTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQ
GTLVTVSS

MM-121 V_L амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:2)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNVVSQHPGKAPKLIYEVSQRPSG
VSNRFGSGKSGNTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGGTKVTVL

MM-121 V_H CDR1 (SEQ ID NO:3)

HYVMA

MM-121 V_H CDR2 (SEQ ID NO:4)

SISSSGGWTLYADSVKG

MM-121 V_H CDR3 (SEQ ID NO:5)

GLKMATIFDY

MM-121 V_L CDR1 (SEQ ID NO:6)

TGTSSDVGSYNVVS

MM-121 V_L CDR2 (SEQ ID NO:7)

EVSQRPS

MM-121 V_L CDR3 (SEQ ID NO:8)

CSYAGSSIFVI

Ab # 3 V_H амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:9)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYNMRWVRQAPGKGLEWVSVIYPSGG
ATRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYYYYGMDVWGQ
GTLVTVSS

Ab # 3 V_L амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:10)

QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSDSNIGRNYIYWYQQFPGTAPKLLIYRNNQRPSGV
PDRISGSKSGTSASLAISGLRSEDEAEYHCGTWDDSLSGPVFGGGKLTVL

Ab # 3 V_H CDR1 (SEQ ID NO:11)

AYNMR

Ab # 3 V_H CDR2 (SEQ ID NO:12)

VIYPSGGATRYADSVKG

Ab # 3 V_H CDR3 (SEQ ID NO:13)

GYYYYGMDV

Ab # 3 V_L CDR1 (SEQ ID NO:14)

SGSDSNIGRNYIY

Ab # 3 V_L CDR2 (SEQ ID NO:15)

RNNQRPS

Ab # 3 V_L CDR3 (SEQ ID NO:16)

GTWDDSLSGPV

Ab # 14 V_H амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:17)

EVQLLESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSAYGMGWVRQAPGKGLEWVSYISPSGG
HTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLETGLLVDAFDIW
GQGTMTVSS

Ab # 14 V_L амінокислотна послідовність (SEQ ID NO: 18)

QYELTQPPSVSVYPGQTASITCSGDQLGSKFVSWYQQRPGQSPVLV MYKDKRRPSEIP
ERFSGSNSGNTATLTISGTQAIDEADYYCQAWDSSTYVFGTGKVTVL

Ab # 14 V_H CDR1 (SEQ ID NO:19)

AYGMG

Ab # 14 V_H CDR2 (SEQ ID NO:20)

YISPSGGHTKYADSVKG

Ab # 14 V_H CDR3 (SEQ ID NO:21)

VLETGLLVDAFDI

Ab # 14 V_L CDR1 (SEQ ID NO:22)

SGDQLGSKFVS

Ab # 14 V_L CDR2 (SEQ ID NO:23)

YKDKRRPS

Ab # 14 V_L CDR3 (SEQ ID NO:24)

QAWDSSTYV

Ab # 17 V_H амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:25)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYGMGWVRQAPGKGLEWVSYISPSGGI
TVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLNYYYGLDVWGQGT
TVTVSS

Ab # 17 V_L амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:26)

QDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDIGDSL N WYQKPGKAPRL LIYDASNLETG
VPPRFSGSGSGTDF TFRSLQPEDIATYFCQQSANAPFTFGPGTKVDIK

Ab # 17 V_H CDR1 (SEQ ID NO:27)

WYGMG

Ab # 17 V_H CDR2 (SEQ ID NO:28)

YISPSGGITVYADSVKG

Ab # 17 V_H CDR3 (SEQ ID NO:29)

LNYYYGLDV

Ab # 17 V_L CDR1 (SEQ ID NO:30)

QASQDIGDSL N

Ab # 17 V_L CDR2 (SEQ ID NO:31)

DASNLET

Ab # 17 V_L CDR3 (SEQ ID NO:32)

QQSANAPFT

Ab # 19 V_H амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:33)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMWWVRQAPGKGLEWVSYIGSSGG
PTYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGRGTPYYFDSWGQG
TLVTVSS

Ab # 19 V_L амінокислотна послідовність (SEQ ID NO:34)

QYELTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGRWNIVSWYQHPGKAPKLMYDVSNRPS
GVSNRF
SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTWVFGGGTKLTVL

Ab # 19 V_H CDR1 (SEQ ID NO:35)

RYGMW

Ab # 19 V_H CDR2 (SEQ ID NO:36)

YIGSSGGPTYVDSVKG

Ab # 19 V_H CDR3 (SEQ ID NO:37)

GRGTPYYFDS

Ab # 19 V_L CDR1 (SEQ ID NO:38)

TGTSSDIGRWNIVS

Ab # 19 V_L CDR2 (SEQ ID NO:39)

DVSNRPS

Ab # 19 V_L CDR3 (SEQ ID NO:40)

SSYTSSSTWV

ErbB3 (SEQ ID NO:41)

SEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGDAENQYQTLYKLYERCEVVMGNLEIVLTGHNADLS
 FLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDGKFAIFVMLNYNTNSSHALR
 QLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIVVKDNGRSCPPCHEV
 CKGRCWGPGEEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQCCHDECAGGCSGPQDTCFA
 CRHFNDSGACVPRCPQLVYNKLTQLEPNPHTKYQYGGVCVASCPhNFVVDQTSC
 VRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCPKACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKIL
 GNLDLITGLNGDPWHKIPALDPEKLNVFRTVREITGYLNIQSWPPHMHNFVFSNLT
 TIGGRSLYNRGSLLIMKNLNVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSLNWTKVLR
 GPTEERLDIKHNRPRRDCVAEGKVCDPLCSSGGCWGPGPGQCLSCRNYSRGGVCVT
 HCNFLNGEPREFAHEAEFCFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGPCHCVSS
 CPHGVLGAKGPIYKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPQLQDCLGQTLVLIGKTHLTM
 ALTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRRIQNKRAMRRYLERGESIEPLDPSEKANKVLA
 RIFKETELRKLKVLGSGVFGTVHKGWVWIEGESIKIPVCIKVIEDKSGRQSFQAVTDHM
 LAIGSLDHAHIVRLLGLCPGSSLQLVTQYLPGLSLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQI
 AKGMYYLEEHGMVHRNLAARNVLLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKT
 PIKWMALESIHFGKYTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAEPYAGLRLAEVPDLLEKGER
 LAQPQICTIDVYVMVMVKCWMIDENIRPTFKELANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPGIA
 PGPEPHGLTNKKLEEVELEPELDLDLDLEAEEDNLATTLGSALSPLVGTLNRPRGSQ
 SLLSPSSGYMPMNQGNLGESCQESAVSGSSERCPRVSLHPMPRGCLASESSEGHVTG
 SEAELEKQVSMCRSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSLTPVTPLSPPGLEEEDVNNGYVM
 PDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEDEEYEMNRRRRHSPPHPPRPSLEEL
 GYEYMDVGSDLSASLGSTQSCPLHPVPIMPTAGTTPDEDYEMNRQRDGGGPGGDY
 AAMGACPASEQGYEEMRAFGQPGHQAPHVHYARLKTLSLEATDSAFDNPDYWHS
 RLFPKANAQRT

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> MERRIMACK PHARMACEUTICALS, INC.

<120> ВИКОРИСТАННЯ ERBB3 ІНГІБІТОРІВ У ЛІКУВАННІ
ТРИЧІ НЕГАТИВНОГО Й БАЗАЛЬНО-ПОДІБНОГО ВИДІВ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

<130> MMJ-024PC

<140> PCT/US2011/028129

<141> 2011-03-11

<150> 61/312,895

<151> 2010-03-11

<160> 41

<170> Патентна Версія 3.5

<210> 1

<211> 119

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 1

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	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	Thr	Phe	Ser	His	Tyr
			20					25					30		

Val	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35						40						45	

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Gly Gly Trp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Gly Leu Lys Met Ala Thr Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2

<211> 111

<212> Билнок

<213> Homo sapiens

<400> 2

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr
20 25 30

Asn Val Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Ile Tyr Glu Val Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Ser Ile Phe Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 3

<211> 5

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 3

His Tyr Val Met Ala

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 4

Ser Ile Ser Ser Ser Gly Gly Trp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 10

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 5

Gly Leu Lys Met Ala Thr Ile Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 6

<211> 14

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 6

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Val Val Ser

1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 7

Glu Val Ser Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 8

<211> 11

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 8

Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Ile Phe Val Ile

1 5 10

<210> 9

<211> 118

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 9

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asn Met Arg Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Val Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ala Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10

<211> 110

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 10

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

Tyr Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Ile Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Glu Tyr His Cys Gly Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 11

<211> 5

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 11

Ala Tyr Asn Met Arg

1 5

<210> 12

<211> 17

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 12

Val Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ala Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 13

<211> 9

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 13

Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5

<210> 14

<211> 13

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 14

Ser Gly Ser Asp Ser Asn Ile Gly Arg Asn Tyr Ile Tyr
1 5 10

<210> 15

<211> 7

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 15

Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 16

<211> 11

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 16

Gly Thr Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Pro Val

1 5 10

<210> 17

<211> 122

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 17

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Ala Tyr

20 25 30

Gly Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly His Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Val Leu Glu Thr Gly Leu Leu Val Asp Ala Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18

<211> 106

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 18

Gln Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Tyr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Gln Leu Gly Ser Lys Phe Val
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Met Tyr
35 40 45

Lys Asp Lys Arg Arg Pro Ser Glu Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Ile
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Tyr Val
85 90 95

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 19

<211> 5

<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 19
Ala Tyr Gly Met Gly
1 5

<210> 20
<211> 17
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 20
Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly His Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 21
<211> 13
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 21
Val Leu Glu Thr Gly Leu Leu Val Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 22
<211> 11
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 22
Ser Gly Asp Gln Leu Gly Ser Lys Phe Val Ser
1 5 10

<210> 23

<211> 8

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 23

Tyr Lys Asp Lys Arg Arg Pro Ser

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 24

Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Tyr Val

1 5

<210> 25

<211> 118

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 25

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Trp Tyr

20 25 30

Gly Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Leu Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26

<211> 108

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 26

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

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

Ser Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Pro Arg Phe Ser
50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Ala Asn Ala Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 5
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 27
Trp Tyr Gly Met Gly
1 5

<210> 28
<211> 17
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 28
Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 29
<211> 9
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 29

Leu Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5

<210> 30
<211> 11
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 30
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asp Ser Leu Asn
1 5 10

<210> 31
<211> 7
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 31
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 32
<211> 9
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 32
Gln Gln Ser Ala Asn Ala Pro Phe Thr
1 5

<210> 33
<211> 119
<212> білок
<213> Homo sapiens

<400> 33
Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Arg Tyr
      20             25             30

Gly Met Trp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35             40             45

Ser Tyr Ile Gly Ser Ser Gly Gly Pro Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
      50             55             60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
      65             70             75             80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115

<210> 34
<211> 110
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 34
Gln Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1             5             10             15

```

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Arg Trp
 20 25 30

Asn Ile Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
 85 90 95

Ser Thr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 35

<211> 5

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 35

Arg Tyr Gly Met Trp

1 5

<210> 36

<211> 17

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 36

Tyr Ile Gly Ser Ser Gly Gly Pro Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 37

<211> 10

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 37

Gly Arg Gly Thr Pro Tyr Tyr Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 38

<211> 14

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 38

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Arg Trp Asn Ile Val Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 39

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 40

<211> 10

<212> білок

<213> Homo sapiens

<400> 40

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Trp Val
1 5 10

<210> 41

<211> 1323

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 41

Ser Glu Val Gly Asn Ser Gln Ala Val Cys Pro Gly Thr Leu Asn Gly
1 5 10 15

Leu Ser Val Thr Gly Asp Ala Glu Asn Gln Tyr Gln Thr Leu Tyr Lys
20 25 30

Leu Tyr Glu Arg Cys Glu Val Val Met Gly Asn Leu Glu Ile Val Leu
35 40 45

Thr Gly His Asn Ala Asp Leu Ser Phe Leu Gln Trp Ile Arg Glu Val
50 55 60

Thr Gly Tyr Val Leu Val Ala Met Asn Glu Phe Ser Thr Leu Pro Leu
65 70 75 80

Pro Asn Leu Arg Val Val Arg Gly Thr Gln Val Tyr Asp Gly Lys Phe
85 90 95

Ala Ile Phe Val Met Leu Asn Tyr Asn Thr Asn Ser Ser His Ala Leu
100 105 110

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

115	120	125
Tyr Ile Glu Lys Asn Asp Lys Leu Cys His Met Asp Thr Ile Asp Trp		
130	135	140
Arg Asp Ile Val Arg Asp Arg Asp Ala Glu Ile Val Val Lys Asp Asn		
145	150	155
Gly Arg Ser Cys Pro Pro Cys His Glu Val Cys Lys Gly Arg Cys Trp		
165	170	175
Gly Pro Gly Ser Glu Asp Cys Gln Thr Leu Thr Lys Thr Ile Cys Ala		
180	185	190
Pro Gln Cys Asn Gly His Cys Phe Gly Pro Asn Pro Asn Gln Cys Cys		
195	200	205
His Asp Glu Cys Ala Gly Gly Cys Ser Gly Pro Gln Asp Thr Asp Cys		
210	215	220
Phe Ala Cys Arg His Phe Asn Asp Ser Gly Ala Cys Val Pro Arg Cys		
225	230	235
Pro Gln Pro Leu Val Tyr Asn Lys Leu Thr Phe Gln Leu Glu Pro Asn		
245	250	255
Pro His Thr Lys Tyr Gln Tyr Gly Gly Val Cys Val Ala Ser Cys Pro		
260	265	270
His Asn Phe Val Val Asp Gln Thr Ser Cys Val Arg Ala Cys Pro Pro		
275	280	285

Asp Lys Met Glu Val Asp Lys Asn Gly Leu Lys Met Cys Glu Pro Cys
 290 295 300

Gly Gly Leu Cys Pro Lys Ala Cys Glu Gly Thr Gly Ser Gly Ser Arg
 305 310 315 320

Phe Gln Thr Val Asp Ser Ser Asn Ile Asp Gly Phe Val Asn Cys Thr
 325 330 335

Lys Ile Leu Gly Asn Leu Asp Phe Leu Ile Thr Gly Leu Asn Gly Asp
 340 345 350

Pro Trp His Lys Ile Pro Ala Leu Asp Pro Glu Lys Leu Asn Val Phe
 355 360 365

Arg Thr Val Arg Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Asn Ile Gln Ser Trp Pro
 370 375 380

Pro His Met His Asn Phe Ser Val Phe Ser Asn Leu Thr Thr Ile Gly
 385 390 395 400

Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Arg Gly Phe Ser Leu Leu Ile Met Lys Asn
 405 410 415

Leu Asn Val Thr Ser Leu Gly Phe Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Ala
 420 425 430

Gly Arg Ile Tyr Ile Ser Ala Asn Arg Gln Leu Cys Tyr His His Ser
 435 440 445

Leu Asn Trp Thr Lys Val Leu Arg Gly Pro Thr Glu Glu Arg Leu Asp
 450 455 460

Ile Lys His Asn Arg Pro Arg Arg Asp Cys Val Ala Glu Gly Lys Val
 465 470 475 480

Cys Asp Pro Leu Cys Ser Ser Gly Gly Cys Trp Gly Pro Gly Pro Gly
 485 490 495

Gln Cys Leu Ser Cys Arg Asn Tyr Ser Arg Gly Gly Val Cys Val Thr
 500 505 510

His Cys Asn Phe Leu Asn Gly Glu Pro Arg Glu Phe Ala His Glu Ala
 515 520 525

Glu Cys Phe Ser Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Met Glu Gly Thr Ala
 530 535 540

Thr Cys Asn Gly Ser Gly Ser Asp Thr Cys Ala Gln Cys Ala His Phe
 545 550 555 560

Arg Asp Gly Pro His Cys Val Ser Ser Cys Pro His Gly Val Leu Gly
 565 570 575

Ala Lys Gly Pro Ile Tyr Lys Tyr Pro Asp Val Gln Asn Glu Cys Arg
 580 585 590

Pro Cys His Glu Asn Cys Thr Gln Gly Cys Lys Gly Pro Glu Leu Gln
 595 600 605

Asp Cys Leu Gly Gln Thr Leu Val Leu Ile Gly Lys Thr His Leu Thr
610 615 620

Met Ala Leu Thr Val Ile Ala Gly Leu Val Val Ile Phe Met Met Leu
625 630 635 640

Gly Gly Thr Phe Leu Tyr Trp Arg Gly Arg Arg Ile Gln Asn Lys Arg
645 650 655

Ala Met Arg Arg Tyr Leu Glu Arg Gly Glu Ser Ile Glu Pro Leu Asp
660 665 670

Pro Ser Glu Lys Ala Asn Lys Val Leu Ala Arg Ile Phe Lys Glu Thr
675 680 685

Glu Leu Arg Lys Leu Lys Val Leu Gly Ser Gly Val Phe Gly Thr Val
690 695 700

His Lys Gly Val Trp Ile Pro Glu Gly Glu Ser Ile Lys Ile Pro Val
705 710 715 720

Cys Ile Lys Val Ile Glu Asp Lys Ser Gly Arg Gln Ser Phe Gln Ala
725 730 735

Val Thr Asp His Met Leu Ala Ile Gly Ser Leu Asp His Ala His Ile
740 745 750

Val Arg Leu Leu Gly Leu Cys Pro Gly Ser Ser Leu Gln Leu Val Thr
755 760 765

Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Ser Leu Leu Asp His Val Arg Gln His Arg

770		775		780											
Gly	Ala	Leu	Gly	Pro	Gln	Leu	Leu	Leu	Asn	Trp	Gly	Val	Gln	Ile	Ala
785				790					795						800
Lys	Gly	Met	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Glu	His	Gly	Met	Val	His	Arg	Asn	Leu
				805					810					815	
Ala	Ala	Arg	Asn	Val	Leu	Leu	Lys	Ser	Pro	Ser	Gln	Val	Gln	Val	Ala
			820					825						830	
Asp	Phe	Gly	Val	Ala	Asp	Leu	Leu	Pro	Pro	Asp	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu
	835						840					845			
Tyr	Ser	Glu	Ala	Lys	Thr	Pro	Ile	Lys	Trp	Met	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile
	850					855					860				
His	Phe	Gly	Lys	Tyr	Thr	His	Gln	Ser	Asp	Val	Trp	Ser	Tyr	Gly	Val
865					870					875				880	
Thr	Val	Trp	Glu	Leu	Met	Thr	Phe	Gly	Ala	Glu	Pro	Tyr	Ala	Gly	Leu
				885					890					895	
Arg	Leu	Ala	Glu	Val	Pro	Asp	Leu	Leu	Glu	Lys	Gly	Glu	Arg	Leu	Ala
			900					905					910		
Gln	Pro	Gln	Ile	Cys	Thr	Ile	Asp	Val	Tyr	Met	Val	Met	Val	Lys	Cys
	915						920					925			
Trp	Met	Ile	Asp	Glu	Asn	Ile	Arg	Pro	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Ala	Asn
930						935					940				

Glu Phe Thr Arg Met Ala Arg Asp Pro Pro Arg Tyr Leu Val Ile Lys
945 950 955 960

Arg Glu Ser Gly Pro Gly Ile Ala Pro Gly Pro Glu Pro His Gly Leu
965 970 975

Thr Asn Lys Lys Leu Glu Glu Val Glu Leu Glu Pro Glu Leu Asp Leu
980 985 990

Asp Leu Asp Leu Glu Ala Glu Glu Asp Asn Leu Ala Thr Thr Thr Leu
995 1000 1005

Gly Ser Ala Leu Ser Leu Pro Val Gly Thr Leu Asn Arg Pro Arg
1010 1015 1020

Gly Ser Gln Ser Leu Leu Ser Pro Ser Ser Gly Tyr Met Pro Met
1025 1030 1035

Asn Gln Gly Asn Leu Gly Glu Ser Cys Gln Glu Ser Ala Val Ser
1040 1045 1050

Gly Ser Ser Glu Arg Cys Pro Arg Pro Val Ser Leu His Pro Met
1055 1060 1065

Pro Arg Gly Cys Leu Ala Ser Glu Ser Ser Glu Gly His Val Thr
1070 1075 1080

Gly Ser Glu Ala Glu Leu Gln Glu Lys Val Ser Met Cys Arg Ser
1085 1090 1095

Arg	Ser	Arg	Ser	Arg	Ser	Pro	Arg	Pro	Arg	Gly	Asp	Ser	Ala	Tyr
1100						1105					1110			

His	Ser	Gln	Arg	His	Ser	Leu	Leu	Thr	Pro	Val	Thr	Pro	Leu	Ser
1115						1120					1125			

Pro	Pro	Gly	Leu	Glu	Glu	Glu	Asp	Val	Asn	Gly	Tyr	Val	Met	Pro
1130						1135					1140			

Asp	Thr	His	Leu	Lys	Gly	Thr	Pro	Ser	Ser	Arg	Glu	Gly	Thr	Leu
1145						1150					1155			

Ser	Ser	Val	Gly	Leu	Ser	Ser	Val	Leu	Gly	Thr	Glu	Glu	Glu	Asp
1160						1165					1170			

Glu	Asp	Glu	Glu	Tyr	Glu	Tyr	Met	Asn	Arg	Arg	Arg	Arg	His	Ser
1175						1180					1185			

Pro	Pro	His	Pro	Pro	Arg	Pro	Ser	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Gly	Tyr
1190						1195					1200			

Glu	Tyr	Met	Asp	Val	Gly	Ser	Asp	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Gly	Ser
1205						1210					1215			

Thr	Gln	Ser	Cys	Pro	Leu	His	Pro	Val	Pro	Ile	Met	Pro	Thr	Ala
1220						1225					1230			

Gly	Thr	Thr	Pro	Asp	Glu	Asp	Tyr	Glu	Tyr	Met	Asn	Arg	Gln	Arg
1235						1240					1245			

Asp Gly Gly Gly Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Ala Met Gly Ala Cys
1250 1255 1260

Pro Ala Ser Glu Gln Gly Tyr Glu Glu Met Arg Ala Phe Gln Gly
1265 1270 1275

Pro Gly His Gln Ala Pro His Val His Tyr Ala Arg Leu Lys Thr
1280 1285 1290

Leu Arg Ser Leu Glu Ala Thr Asp Ser Ala Phe Asp Asn Pro Asp
1295 1300 1305

Tyr Trp His Ser Arg Leu Phe Pro Lys Ala Asn Ala Gln Arg Thr
1310 1315 1320

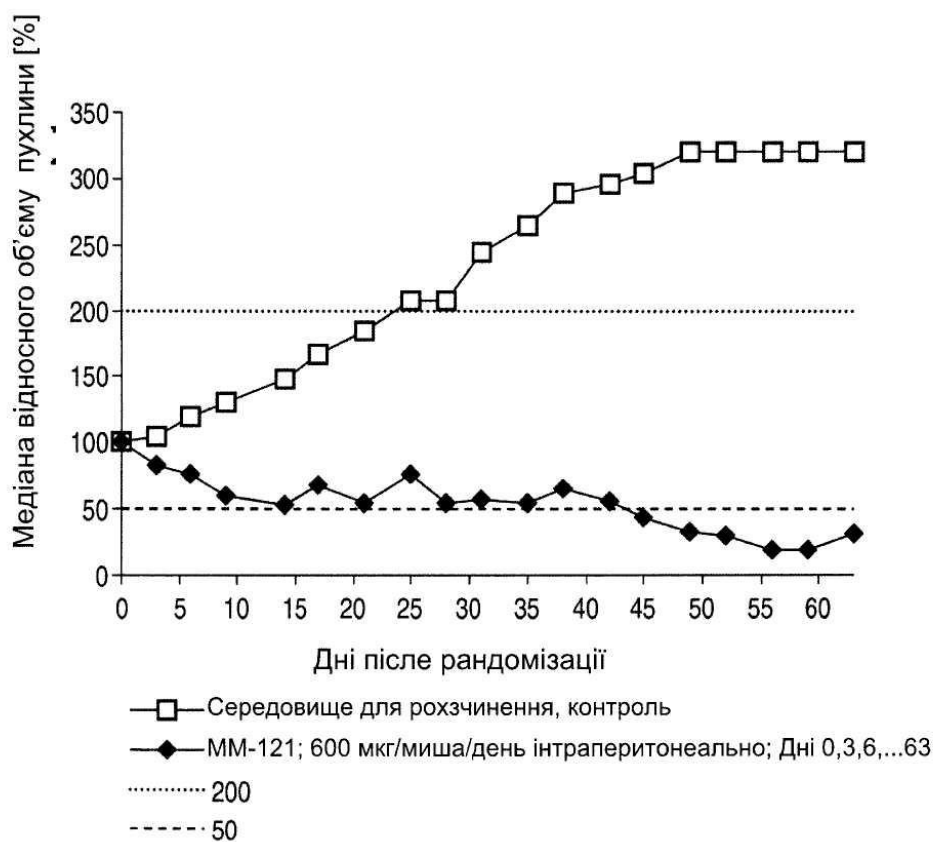
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. ErbB3-інгібітор для застосування в способі лікування тричі негативного раку молочної залози, при цьому інгібітор є антитілом проти ErbB3, що містить, в порядку від амінотермінального до карбокситермінального, V_H CDR1 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 3, V_H CDR2 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 4, і V_H CDR3 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 5, і, в порядку від амінотермінального до карбокситермінального, V_L CDR1 послідовність, як
- 10 показано в SEQ ID NO: 6, V_L CDR2 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 7, і V_L CDR3 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 8.
2. Інгібітор за п. 1 для застосування за п. 1, де антитіло проти ErbB3 містить V_H послідовність, як показано в SEQ ID NO: 1, і V_L послідовність, як показано в SEQ ID NO: 2.
3. Інгібітор за п. 1 або 2 для застосування за п. 1 або 2, де пухлина тричі негативного раку
- 15 молочної залози гістопатологічно характеризується як така, що має:
 - (i) базальноподібний фенотип; або
 - (ii) небазальноподібний фенотип.
4. Інгібітор за будь-яким з пп. 1-3 для застосування за будь-яким з пп. 1-3, де спосіб додатково
- включає введення щонайменше одного додаткового протиракового агента.
- 20 5. Інгібітор за п. 4 для застосування за п. 4, де додатковий протираковий агент не є ErbB3-інгібітором.
6. Інгібітор за п. 4 або п. 5 для застосування за п. 4 або п. 5, де щонайменше один додатковий
- протираковий агент вибраний з групи, що складається з препаратів хіміотерапії на основі платини, таксанів, інгібіторів тирозинкінази, антитіл проти EGFR, антитіл проти ErbB2, їх
- 25 комбінацій, інгібіторів EGFR і інгібіторів VEGF.
7. Інгібітор за п. 6 для застосування за п. 6, де щонайменше один додатковий протираковий
- агент є паклітакселом.
8. Інгібітор за п. 6 для застосування за п. 6, де щонайменше один додатковий протираковий
- агент є антитілом проти EGFR.
- 30 9. Інгібітор за п. 8 для застосування за п. 8, де антитіло проти EGFR вибране з групи, що
- складається з цетуксимабу, матузумабу, панітумумабу, німотузумабу і mAb 806.
10. Інгібітор за п. 6 для застосування за п. 6, де інгібітор EGFR є малою молекулою-інгібітором
- EGFR-сигналізації, вибраним з групи, що складається з гефітінібу, лапатинібу, канертинібу,
- пелітинібу, ерлотинібу HCL, PKI-166, PD158780 і AG 1478.
- 35 11. Інгібітор за п. 6 для застосування за п. 6, де інгібітор VEGF включає бевацизумаб.

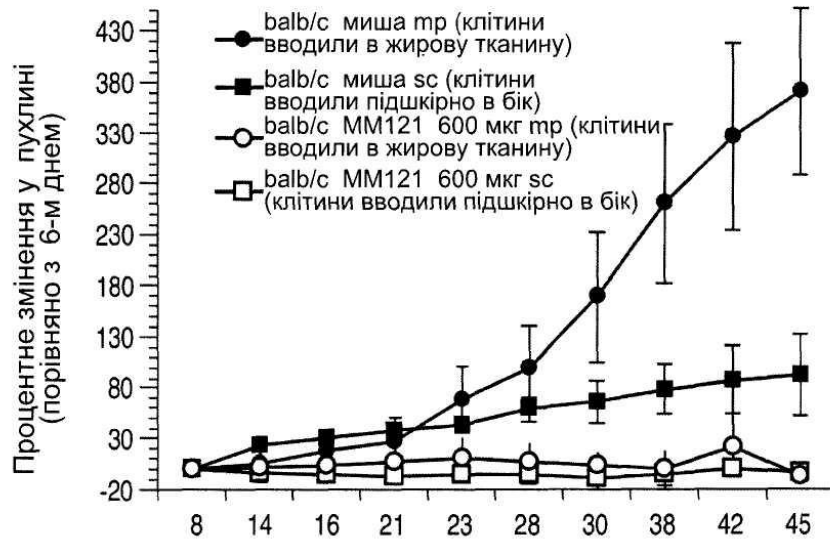
12. Інгібітор за п. 1 або 2 для застосування за п. 1 або 2, де пухлина тричі негативного раку молочної залози є пухлиною, в якій пухлинні клітини показують негативний скоринг на рецептор естрогену (ER) і рецептор прогестерону і дають результат тесту 0, 1 + або 2 + з використанням напівкількісного імуногістохімічного аналізу із застосуванням поліклонального первинного антитіла проти HER2.

13. Інгібітор за п. 12 для застосування за п. 12, де пухлинні клітини є FISH негативними для ампліфікації гена HER2.

14. Застосування ErbB3-інгібітору для виготовлення лікарського засобу для лікування тричі негативного раку молочної залози, при цьому інгібітор є антитілом ErbB3, що містить, в порядку від амінотермінального до карбокситермінального, V_H CDR1 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 3, V_H CDR2 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 4, і V_H CDR3 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 5, і, в порядку від амінотермінального до карбокситермінального, V_L CDR1 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 6, V_L CDR2 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 7, і V_L CDR3 послідовність, як показано в SEQ ID NO: 8.

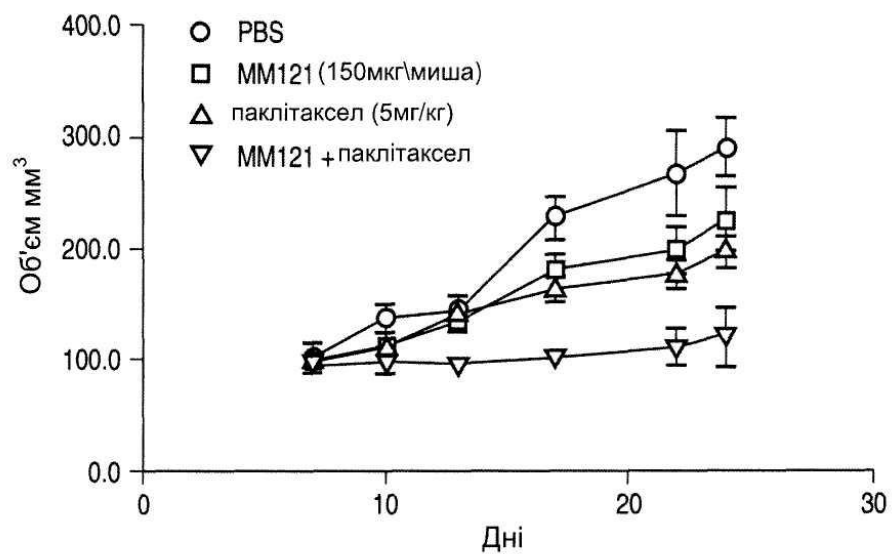


Фіг. 1

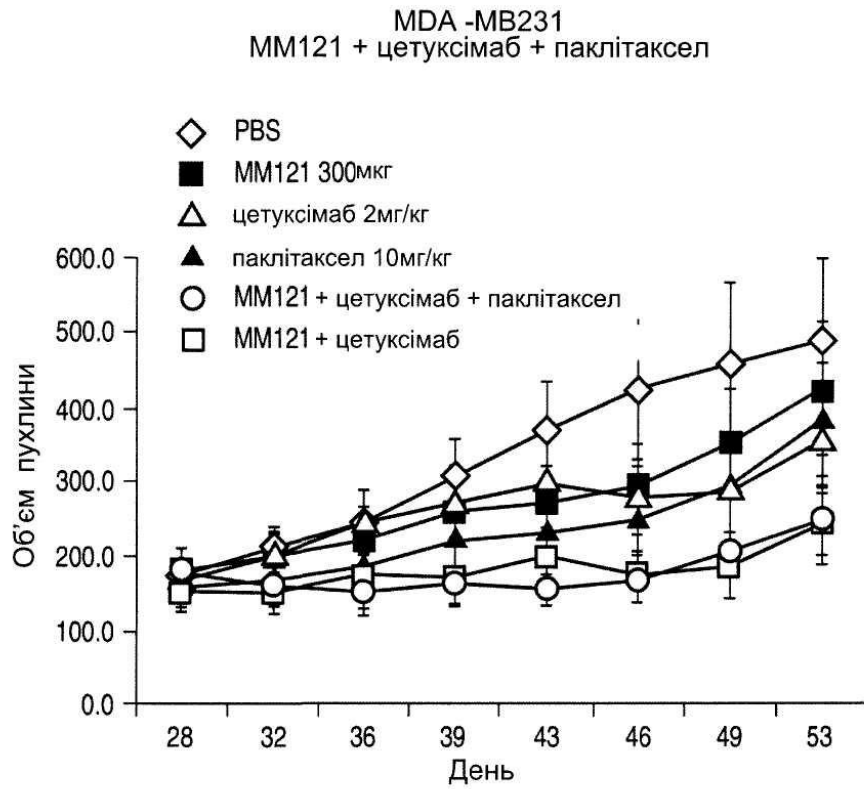


Фіг. 2

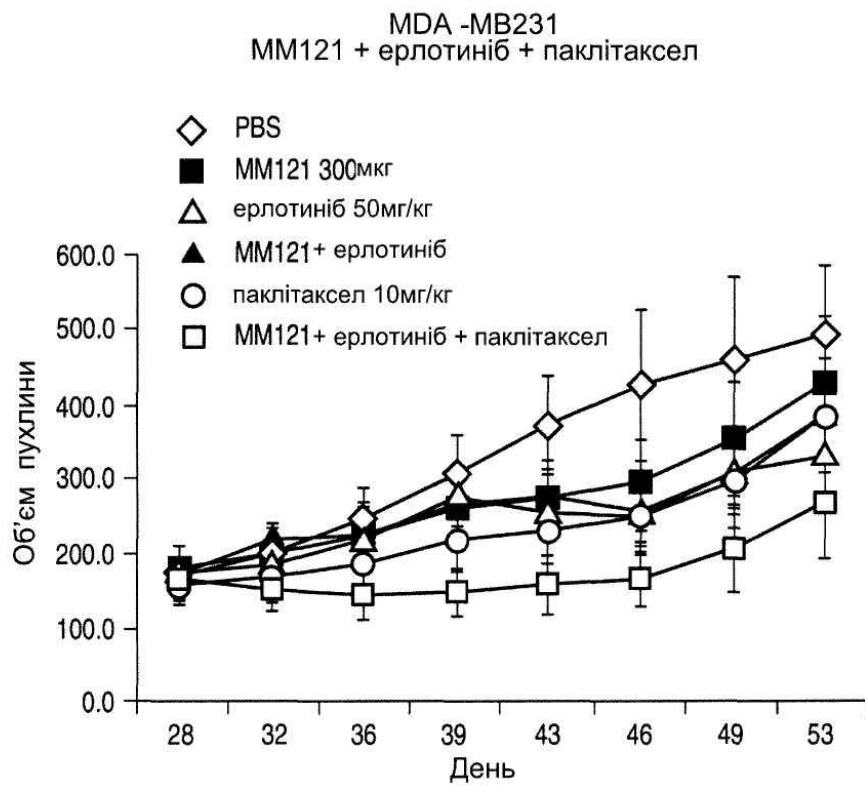
MDA -MB231
Комбінація паклітаксел та MM121



Фіг. 3



Фіг. 4А



Фіг. 4В

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601