

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 535 503**

51 Int. Cl.:

A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2011 E 11730112 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.01.2015 EP 2544680**

54 Título: **Uso de inhibidores de ErbB3 en el tratamiento del cáncer de mama triple negativo**

30 Prioridad:

11.03.2010 US 312895 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.05.2015

73 Titular/es:

**MERRIMACK PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
One Kendall Square Suite B7201
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**MOYO, VICTOR y
GARCIA, GABRIELA**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 535 503 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Uso de inhibidores de ErbB3 en el tratamiento del cáncer de mama triple negativo

Campo de la invención

5 La presente solicitud hace referencia al uso de inhibidores de ErbB3 en el tratamiento del cáncer de mama triple negativo.

Antecedentes de la invención

10 En las mujeres, el cáncer de mama se encuentra entre los tipos de cáncer más comunes y es la quinta causa más común de muertes por cáncer. Debido a la heterogeneidad del cáncer de mama, la supervivencia libre de progresión durante 10 años puede variar ampliamente con el estado y el tipo, de un 98% a un 10%. Diferentes formas de cáncer de mama pueden tener características biológicas y un comportamiento clínico notablemente diferentes. Por tanto, la clasificación del cáncer de mama de un paciente se ha convertido en un componente de vital importancia para determinar un régimen de tratamiento. Por ejemplo, junto con la clasificación del tipo y grado histológico, el cáncer de mama se evalúa actualmente de manera rutinaria para la expresión de receptores hormonales (receptores de estrógeno (ER) y receptor de progesterona (PR)), y la expresión de HER2 (ErbB2), ya que se encuentran
15 actualmente disponibles una cantidad de modalidades de tratamiento que establecen como diana los receptores hormonales o el receptor HER2. Tanto el ER como el PR son receptores nucleares (se encuentran localizados predominantemente en los núcleos celulares, aunque también pueden encontrarse en la membrana celular), y se han desarrollado inhibidores moleculares pequeños que fijan como diana el ER y/o el PR. El HER2, o factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2, es un receptor situado habitualmente en la superficie celular y se han desarrollado anticuerpos que establecen como diana el HER2 como terapéutica. El HER2 es el único miembro de la familia EGFR (que también incluye HER1 (EGFR), HER3 (ErbB3) y HER4 (ErbB4) que no es capaz de unirse a un ligando activador por sí mismo. Por tanto, el HER2 es únicamente funcional como receptor cuando se incorpora a un complejo receptor heterodimérico con otro elemento de la familia EGFR, tal como HER3. Los tipos de cáncer clasificados como del tipo que expresan el receptor de estrógenos (positivos en receptor de estrógenos, o tumores ER+), pueden ser tratados con un antagonista del ER tal como tamoxifeno. De forma similar, los tipos de cáncer clasificados como del tipo que expresan niveles elevados del receptor HER2 pueden ser tratados con un anticuerpo anti-HER2, tal como el trastuzumab, o con un inhibidor de la tirosina quinasa del receptor HER2 activo, tal como lapatinib.

30 El cáncer de mama triple negativo (TN) es un término utilizado para designar un subtipo bien definido y clínicamente relevante de carcinomas de mama que suponen aproximadamente un 15% de todos los casos de cáncer de mama. Los tumores TN dan valores negativos (es decir, utilizando métodos de histopatología y criterios convencionales), en la expresión de ER y PR, y no expresan niveles amplificados de HER2 (es decir, son ER-, PR-, HER2-). El cáncer de mama TN comprende principalmente, pero no de forma exclusiva, un subtipo molecular e histológicamente distinto de cáncer de mama conocido como el subtipo de tipo basal o basal-like (BL). El subtipo BL se caracteriza también por la expresión de citoqueratinas (por ejemplo, CK, CK5/6, CK14, CK17) y otras proteínas que se encuentran en células normales basales/mioepiteliales de la mama. Sin embargo, además del subtipo BL, otros determinados tipos de cáncer de mama, incluyendo algunos del tipo "normal breast-like" (similar a la mama normal), carcinomas metaplásicos, carcinomas medulares y tumores similares a la glándula salivar pueden también mostrar el fenotipo triple negativo (TN). Además, el cáncer de mama TN tiene lugar más frecuentemente en presencia de mutaciones BRCA1 y en mujeres pre-menopáusicas de descendencia afro-americana o hispana. Los tumores TN habitualmente muestran un comportamiento muy agresivo, con tasas de supervivencia posterior a recaídas de menor duración y malas tasas de supervivencia total en relación a otros tipos de cáncer de mama.

45 No todos los tipos de cáncer BL son TN. Los tumores de mama de tipo basal son un tipo de tumor heterogéneo que suponen hasta un 15% de todos los tipos de cáncer de mama y muestran un comportamiento clínico agresivo que los hace particularmente difíciles de tratar con éxito. Una mayoría de los tipos de cáncer BL son ER-, PR-, y bajos en HER2 (HER21+ o HER2 negativo). Además, expresan habitualmente proteínas que suelen encontrarse en células basales (mioepiteliales) de mama normales. Éstas incluyen citoqueratinas de alto peso molecular (por ejemplo, 5/6, 8, 14, 17 y 18), p-cadherina, caveolinas 1 y 2, nestina, cristalina α B, y EGFR. Además, las células tumorales carecen habitualmente de la capacidad para una reparación de ADN por recombinación homóloga competente.

50 Histológicamente, la mayoría de los tipos de cáncer de mama son del tipo carcinoma ductal invasivo o infiltrante de ningún tipo especial o IDC-NST (por sus siglas en inglés), con grado histológico alto, y muestran índices mitóticos muy elevados. También tienen habitualmente zonas necróticas o fibróticas centrales, bordes expansivos (pushing borders), infiltrados linfocíticos manifiestos, y características medulares típicas/atípicas, y muestran en general características similares a las del carcinoma de cabeza y cuello de células escamosas inducido por el virus del papiloma humano.

Una gran mayoría de carcinomas de mama medulares y medulares atípicos, metaplásicos, secretores, mioepiteliales, y quísticos adenoides muestran también características BL.

5 Dada la carencia de expresión de receptores hormonales o de cantidades significativas de HER2 en células cancerígenas de mama TN, las opciones de tratamiento han sido muy limitadas, ya que los tumores no responden a los tratamientos que establecen como diana los ER (por ejemplo, tamoxifeno, inhibidores de aromataasa) o el HER2 (por ejemplo, trastuzumab). En su lugar, estos tumores se tratan con regímenes de quimioterapia adyuvante y neoadyuvante, que tienen una eficacia limitada y muchos efectos secundarios citotóxicos. Además, tales regímenes de quimioterapia pueden conducir a la resistencia a fármacos en los tumores, y el riesgo de recurrencia de la enfermedad en el cáncer de mama TN es mayor dentro de los primeros tres años de tratamiento que para otros tipos de cáncer de mama.

Los tipos de cáncer de mama de tipo basal son también difíciles de tratar y están asociados con malos pronósticos, aunque los carcinomas quísticos adenoides BL están asociados generalmente con mejores resultados clínicos, uso del mismo para la fabricación.

15 En vista de lo anterior, sigue existiendo una necesidad de opciones y métodos de tratamiento adicionales para tratar los tipos de cáncer de mama triple negativo y los tipos de cáncer de mama BL.

Resumen de la invención

20 En la presente patente se proporcionan métodos para el tratamiento del cáncer de mama triple negativo (por ejemplo, tumores), incluyendo tipos de cáncer de tipo basal (por ejemplo, tumores), además de composiciones farmacéuticas que pueden ser utilizadas en tales métodos. Los métodos y composiciones se basan, al menos en parte, en el descubrimiento de que la inhibición de ErbB3 puede suprimir el crecimiento de las células de cáncer de mama TN, tal como células de cáncer de mama BL TN. En particular, está demostrado que la administración de un anticuerpo anti-ErbB3 suprime el crecimiento de células de cáncer de mama TN *in vivo*.

25 Por consiguiente, se proporciona el uso de un inhibidor de ErbB3 (por ejemplo, el uso del mismo para la fabricación de un medicamento) para el tratamiento del cáncer de mama TN, tal como el cáncer de mama BL TN. En otro aspecto, se proporciona un método para suprimir el crecimiento de un tumor de cáncer de mama TN, tal como un tumor de cáncer de mama BL TN, donde el método comprende poner en contacto el tumor con una cantidad efectiva de un inhibidor de ErbB3. En otro aspecto, se proporciona un método para suprimir el crecimiento de un tumor de cáncer de mama TN, tal como un tumor de cáncer de mama BL TN, en un paciente, donde el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de un inhibidor de ErbB3. En aún otro aspecto, se proporciona un método para tratar a un paciente con un tumor de cáncer de mama TN, tal como un tumor de cáncer de mama BL TN, donde el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de un inhibidor de ErbB3. En aún otro aspecto, se proporciona un método para tratar un tumor de cáncer de mama, tal como un tumor de cáncer de mama BL TN, en un paciente, donde el método comprende: seleccionar un paciente con un tumor de cáncer de mama triple negativo, tal como un tumor de cáncer de mama BL TN; y administrar al paciente una cantidad efectiva de un inhibidor de ErbB3.

40 El inhibidor de ErbB3 es un anticuerpo anti-ErbB3. Un ejemplo de anticuerpo anti-ErbB3 es el MM-121 (Ab #6), que comprende secuencias V_H y V_L tal como se muestra en las SEQ ID NOs: 1 y 2, respectivamente. Otro ejemplo de anticuerpos anti-ErbB3 es un anticuerpo que comprende, de manera opcional en el orden amino terminal a carboxi-terminal, secuencias V_H CDR1, 2 y 3, según se muestra en las SEQ ID NOs: 3-5, respectivamente, y, de manera opcional en el orden amino terminal a carboxi-terminal, secuencias V_L CDR1, 2 y 3, según se muestra en las SEQ ID NOs: 6-8, respectivamente. En otros modos de realización, el anticuerpo anti-ErbB3 es Ab #3 (que comprende secuencias V_H y V_L según se muestra en las SEQ ID NOs: 9 y 10, respectivamente), Ab #14 (que comprende secuencias V_H y V_L según se muestra en las SEQ ID NOs: 17 y 18, respectivamente), Ab #17 (que comprende secuencias V_H y V_L según se muestra en las SEQ ID NOs: 25 y 26, respectivamente) o Ab #19 (que comprende secuencias V_H y V_L según se muestra en las SEQ ID NOs: 33 y 34, respectivamente). En aún otros modos de realización, el anticuerpo anti-ErbB3 se selecciona del grupo que consiste en mAb 1B4C3, mAb 2D1D12, AMG-888 y mAb 8B8 humanizado. En otro modo de realización, la administración del anticuerpo anti-ErbB3 inhibe el crecimiento o la invasividad o metástasis del tumor.

50 Los métodos proporcionados en la presente patente pueden ser utilizados en el tratamiento del cáncer de mama TN de diversos fenotipos histopatológicos. Por ejemplo, en un modo de realización, el tumor de cáncer de mama triple negativo se caracteriza histopatológicamente por tener un fenotipo de tipo basal (basal-like). En otro modo de realización, el tumor de cáncer de mama TN se caracteriza histopatológicamente por tener un fenotipo distinto del BL.

55 En cada uno de los anteriores métodos y composiciones, el inhibidor de ErbB3 puede estar comprendido en una formulación que comprende un soporte farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, los métodos de tratamiento proporcionados en la presente patente además comprenden administrar al paciente al menos un agente anti-cancerígeno adicional que no sea un inhibidor de ErbB3. En un modo de realización el, al menos un, agente anti-cancerígeno adicional comprende al menos un fármaco quimioterapéutico, tal como un fármaco o fármacos seleccionados del grupo que consiste en fármacos quimioterapéuticos basados en platino, taxanos, inhibidores de tirosina quinasa, y combinaciones de los mismos. Se ha observado actualmente que en el subgrupo de tipos de cáncer de mama TN que dan positivo en HER2²⁺, el tratamiento con agentes anti-HER2 tales como trastuzumab, pertuzumab o lapatinib puede proporcionar beneficios cuando se utiliza en combinación con anticuerpos anti-ErbB3. Por tanto, en otro aspecto los métodos de tratamiento proporcionados en la presente patente comprenden administrar al paciente una cantidad efectiva de al menos un agente anti-cancerígeno adicional que sea un agente anti-HER2. Tales agentes anti-HER2 son bien conocidos y pueden incluir uno o más anticuerpos anti-ErbB2 tales como C6.5 (y los numerosos derivados del mismo) descrito en la patente Estadounidense 5.977.322, trastuzumab, según se describe en la patente Estadounidense 6.054.297, y pertuzumab, según se describe en la patente Estadounidense 6.949.245; además de agentes anti-HER2 de molécula pequeña tal como el lapatinib (que también inhibe la tirosina quinasa de EGFR) y el AG879.

En otro modo de realización el, al menos un, agente anti-cancerígeno adicional comprende un inhibidor de EGFR, tal como un anticuerpo anti-EGFR o un inhibidor de molécula pequeña de la señalización de EGFR. Un ejemplo de anticuerpo anti-EGFR comprende cetuximab. Otros ejemplos de anticuerpos anti-EGFR incluyen matuzumab, panitumumab, nimotuzumab y mAb 806. Un ejemplo de inhibidor de molécula pequeña de la señalización de EGFR comprende gefitinib. Otros ejemplos de inhibidores de molécula pequeña de la señalización de EGFR incluyen lapatinib, canertinib, erlotinib HCL, pelitinib, PKI-166, PD158780, y AG 1478.

En aún otro modo de realización el, al menos un, agente anti-cancerígeno adicional comprende un inhibidor de VEGF. Un ejemplo de inhibidor de VEGF comprende un anticuerpo anti-VEGF, tal como el anticuerpo bevacizumab.

En otro modo de realización, la administración del anticuerpo anti-ErbB3 y del, al menos un, agente anti-cancerígeno adicional inhibe el crecimiento o la invasividad o metástasis del tumor.

En otro aspecto, los métodos para tratar el cáncer de mama TN, tales como cáncer de mama BL TN en un paciente comprenden administrar a dicho paciente una combinación que comprende MM-121 y paclitaxel. En un modo de realización, la combinación muestra sinergia terapéutica en el tratamiento de los tipos de cáncer de mama TN. En algunos ejemplos, la combinación efectúa un log₁₀ de destrucción celular de al menos 2,8, al menos 2,9 o al menos 3,0. En otros aspectos, la combinación proporciona una mejora en la inhibición del crecimiento tumoral que es al menos aditiva en comparación con la mejora obtenida con cada uno de los agentes individuales de la combinación.

En otro modo de realización, se proporciona una composición que comprende una combinación de MM-121 y paclitaxel, en donde la combinación muestra sinergia terapéutica en el tratamiento de los tipos de cáncer de mama TN. En algunos ejemplos, la composición efectúa un log₁₀ de destrucción celular de al menos 2,8, al menos 2,9 o al menos 3,0.

Se proporcionan también kits que contienen las composiciones farmacéuticas de la combinación.

Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1** es un gráfico que muestra el volumen tumoral (%) relativo del xenoinjerto MAXF449 (eje Y – normalizado al volumen tumoral inicial) representado contra el tiempo en días a continuación de la aleatorización (eje X) en ratones desnudos NMRI tratados con MM-121 o vehículo de control. TGI = 200%.

La **Figura 2** es un gráfico que muestra el cambio en el porcentaje del volumen tumoral del xenoinjerto MDA-MB-231 (eje Y – normalizado al volumen tumoral inicial) representado contra el tiempo en días a continuación de la inyección de células MDA-MB-231 (eje X) en ratones desnudos Balb/c tratados con MM-121 o vehículo de control. Las curvas con cuadrados o círculos huecos a modo de puntos de tiempo indican ratones tratados con MM-121. Las curvas con cuadrados o círculos rellenos a modo de puntos de tiempo indican vehículos de control. En el texto insertado, "mp" indica que se inyectaron células MDA-MB-231 en el pániculo adiposo mamario, mientras que "sc" indica que se inyectaron células MDA-MB-231 en el flanco por vía subcutánea.

La **Figura 3** es un gráfico que muestra el volumen tumoral de MDA-MB-231 en mm³ (eje Y) representado contra el tiempo en días (eje X) comenzando a los 28 días después de la inyección de células MDA-MB-231 en los pániculos adiposos mamaros de ratones Balb/c desnudos. El tratamiento se realizó con MM-121 (150 mg/ratón), paclitaxel (5 mg/kg), una combinación de MM-121 (150 mg/ratón) y paclitaxel (5 mg/kg), o vehículo de control. Cuando se utiliza en las figuras, "mpk" = mg/kg.

La **Figura 4** presenta gráficos que muestran el volumen tumoral de MDA-MB-231 en mm³ (eje Y) representado contra el tiempo en días (eje X) comenzando 28 días después de la inyección de células MDA-MB-231 en los panículos adiposos mamarios de ratones Balb/c desnudos. La **Figura 4A** representa el tratamiento con MM-121, cetuximab, o paclitaxel; MM-121 y cetuximab; y la triple combinación de MM-121 y cetuximab y paclitaxel. La **Figura 4B** representa el tratamiento con MM-121, erlotinib, MM-121 y erlotinib, o la triple combinación de MM-121 y erlotinib y paclitaxel.

Descripción detallada de la invención

Se proporcionan en la presente patente métodos para tratar los tipos de cáncer de mama triple negativo, además de composiciones farmacéuticas que pueden ser utilizadas en la prácticas de tales métodos. Tal como se describe en mayor detalle en los Ejemplos, actualmente se ha demostrado que un inhibidor de ErbB3, en particular un anticuerpo anti-ErbB3, es capaz de suprimir el crecimiento de las células de cáncer de mama TN *in vivo*. Por consiguiente, se proporcionan en la presente patente métodos para suprimir el crecimiento de los tipos de cáncer de mama TN, tales como el cáncer de mama BL TN, además de métodos para tratar tales tipos de cáncer de mama en pacientes, utilizando un anticuerpo inhibidor de ErbB3.

Definiciones:

Tal como se utiliza en la presente patente, el término "triple negativo" o "TN" hace referencia a tumores (por ejemplo, carcinomas), habitualmente tumores de mama, en los que las células tumorales dan negativo (es decir, utilizando métodos de histopatología convencional) para receptor de estrógenos (ER) y para receptor de progesterona (PR), ambos de los cuales son receptores nucleares (es decir, se localizan predominantemente en los núcleos celulares), y las células tumorales no se amplifican para el receptor del factor de crecimiento epidérmico tipo 2 (HER2 o ErbB2), un receptor localizado de forma habitual en la superficie celular. Las células tumorales se consideran negativas en la expresión del ER y del PR si menos del 5% de los núcleos de las células tumorales se colorean para la expresión del ER y PR utilizando técnicas inmunohistoquímicas estándar. Las células tumorales se consideran sumamente amplificadas para HER2 ("HER2³⁺") si, cuando se someten a ensayo con un kit HercepTest™ (Código K5204, Dako Norte América, Inc., Carpintería, CA), un ensayo inmunohistoquímico semi-cuantitativo que utiliza un anticuerpo primario policlonal anti-HER2, producen un valor de resultado del ensayo de 3+, o, dan positivo en HER2 mediante hibridación in-situ con fluorescencia (FISH). Tal como se utiliza en la presente patente, las células tumorales se consideran negativas para la sobreexpresión de HER2 si producen un valor de resultado del ensayo de 0 o 1+, o 2+, o si son negativas en HER2 con FISH.

Además, el término "cáncer (o tipos de cáncer) de mama triple negativo" o "cáncer (o tipos de cáncer) de mama TN" abarca carcinomas de diferentes fenotipos histopatológicos. Por ejemplo, ciertos tipos de cáncer TN se clasifican como "tipo basal" (BL), en los cuales las células neoplásicas expresan genes que habitualmente se encuentran en células basales/mioepiteliales normales de la mama, tales como las citoqueratinas basales de alto peso molecular (CK, CK5/6, CK14, CK17), vimentina, p-caderina, cristalina α B, fascina y caveolinas 1 y 2. Otros tipos determinados de cáncer de mama TN, sin embargo, tienen un fenotipo histopatológico diferente, ejemplos de los cuales incluyen el carcinoma ductal invasivo de ningún tipo especial de alto grado, carcinomas metaplásicos, carcinomas medulares y tumores similares a la glándula salivar de la mama.

Los términos "ErbB3," "HER3," "receptor ErbB3" y "receptor HER3", tal como se utilizan de manera intercambiable en la presente patente, hacen referencia a una proteína ErbB3 humana, según se describe en la patente estadounidense N° 5.480.968.

Tal como se utiliza en la presente patente, el término "inhibidor de ErbB3" tiene la intención de incluir agentes terapéuticos que inhiben, modulan por disminución, suprimen o regulan por disminución la actividad del ErbB3. El término pretende incluir compuestos químicos, tales como inhibidores de moléculas pequeñas, y agentes biológicos, tales como anticuerpos, ARN de interferencia (ARNhc, ARNip), receptores solubles y similares. Un ejemplo de inhibidor de ErbB3 es un anticuerpo anti-ErbB3.

Un "anticuerpo", tal como se utiliza en la presente patente es una proteína que consiste en uno o más polipéptidos que comprenden dominios de unión codificados sustancialmente por los genes de la inmunoglobulina o fragmentos de los genes de la inmunoglobulina, en donde la proteína se une inmunoespecíficamente a un antígeno. Los genes de la inmunoglobulina reconocidos incluyen los genes de la región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, epsilon y mu, además de una miríada de genes de región variable de la inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican bien como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta, o epsilon, las cuales definen a su vez los tipos de inmunoglobulina IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Una unidad estructural de inmunoglobulina típica comprende un tetrámero que está compuesto de dos pares idénticos de cadenas de polipéptidos, cada par con una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kD) y una cadena "pesada" (aproximadamente 50-70 kD). "V_L" y "V_H" hacen referencia a estas cadenas ligera y pesada, respectivamente.

Los anticuerpos incluyen inmunoglobulinas intactas además de fragmentos de unión al antígeno de las mismas, que pueden ser producidas por la digestión con diversas peptidasas, o sintetizadas *de novo* ya sea químicamente o utilizando tecnología de expresión de ADN recombinante. Tales fragmentos incluyen, por ejemplo, dímeros F(ab)₂ y monómeros Fab. Anticuerpos útiles incluyen anticuerpos de cadena única (anticuerpos que existen como una cadena polipeptídica única), por ejemplo, anticuerpos Fv de cadena única (scFv) en los que la cadena V_H y V_L se encuentran unidas entre sí (directamente o mediante un conector peptídico) para formar un polipéptido continuo.

"Inmunoespecífico" o "inmunoespecíficamente" hacen referencia a anticuerpos que se unen a través de dominios sustancialmente codificados por genes de inmunoglobulinas o fragmentos de genes de inmunoglobulinas a uno o más epítomos de una proteína de interés, pero que sustancialmente no reconocen y se unen a otras moléculas en una muestra que contiene una mezcla de población de moléculas antigénicas. Habitualmente, un anticuerpo se une inmunoespecíficamente a un antígeno afín con un K_d con un valor no mayor a 50 nM, según se mide mediante un ensayo de resonancia de plasmones de superficie o un ensayo de unión celular. El uso de tales ensayos se conoce bien en el arte, y se describe en el Ejemplo 3, más adelante.

Un "anticuerpo anti-ErbB3" es un anticuerpo que se une inmunoespecíficamente al ectodominio de ErbB3 y un "anticuerpo anti-ErbB2" es un anticuerpo que se une inmunoespecíficamente al ectodominio de ErbB2. El anticuerpo puede ser un anticuerpo aislado. Tal unión a ErbB3 o ErbB2 muestra un K_d con un valor no mayor a 50 nM según se mide mediante ensayo de resonancia de plasmones de superficie o un ensayo de unión celular. Un anticuerpo anti-ErbB3 puede ser un anticuerpo aislado. Los ejemplos de anticuerpos anti-ErbB3 inhiben la fosforilación mediada por ligando similar a EGF del ErbB3. Los ligandos similares a EGF incluyen EGF, TGF α , betacelulina, factor de crecimiento epidérmico de unión a la heparina, biregulina, epigen, epiregulina, y anfiregulina, que se unen habitualmente a ErbB1 e inducen la heterodimerización de ErbB1 con ErbB3.

Tal como se utiliza en la presente patente, el término "inhibidor de EGFR" tiene la intención de incluir agentes terapéuticos que inhiben, modulan por disminución, suprimen o regulan por disminución la actividad de señalización de EGFR. El término pretende incluir compuestos químicos, tales como inhibidores de molécula pequeña (por ejemplo, inhibidores de tirosina quinasa de molécula pequeña) y agentes biológicos, tales como anticuerpos, ARN de interferencia (ARNhc, ARNip), receptores solubles y similares.

Tal como se utiliza en la presente patente, el término "inhibidor de VEGF" tiene la intención de incluir agentes terapéuticos que inhiben, modulan por disminución, suprimen o regulan por disminución la actividad de señalización de VEGF. El término pretende incluir compuestos químicos, tales como inhibidores de molécula pequeña (por ejemplo, inhibidores de tirosina quinasa de molécula pequeña) y agentes biológicos, tales como anticuerpos, ARN de interferencia (ARNhc, ARNip), receptores solubles y similares.

Los términos "suprimir", "supresión", "inhibir" e "inhibición" tal como se utilizan en la presente patente de manera intercambiable, hacen referencia a cualquier disminución estadísticamente significativa en la actividad biológica (por ejemplo, crecimiento de las células tumorales), incluyendo el bloqueo total de la actividad. Por ejemplo, "inhibición" puede hacer referencia a una disminución de aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, o 100% en la actividad biológica.

El término "paciente" incluye un humano u otro animal mamífero que reciba tratamiento ya sea profiláctico o terapéutico.

Los términos "tratar", "que tratan", y "tratamiento", tal como se utilizan en la presente patente, hacen referencia a medidas terapéuticas o preventivas tales como las descritas en la presente patente. Los métodos de "tratamiento" emplean la administración a un paciente de un inhibidor de ErbB3 proporcionado en la presente patente, por ejemplo un paciente con un tumor de cáncer de mama TN o BL, para prevenir, curar, retrasar, reducir la gravedad de, o mejorar uno o más síntomas de la enfermedad o trastorno, o enfermedad o trastorno recurrente, o para prolongar la supervivencia de un paciente más allá de lo esperado en ausencia de tal tratamiento.

El término "cantidad efectiva", tal como se utiliza en la presente patente, hace referencia a aquella cantidad de un agente, tal como un inhibidor de ErbB3, por ejemplo un anticuerpo anti-ErbB3, que es suficiente para efectuar un tratamiento, pronóstico o diagnóstico de un cáncer de mama TN o BL, cuando se administra a un paciente. Una cantidad terapéuticamente efectiva variará dependiendo del paciente y la condición de la enfermedad a ser tratada, el peso y edad del paciente, la gravedad de la condición de enfermedad, la forma de administración y similares, que puede determinarse fácilmente por parte de un experto habitual en el arte. Las dosis de administración pueden encontrarse en un rango desde, por ejemplo, aproximadamente 1 ng hasta aproximadamente 10.000 mg, aproximadamente 5 ng hasta aproximadamente 9.500 mg, aproximadamente 10 ng hasta aproximadamente 9.000 mg, aproximadamente 20 ng hasta aproximadamente 8.500 mg, aproximadamente 30 ng hasta aproximadamente 7.500 mg, aproximadamente 40 ng hasta aproximadamente 7.000 mg, aproximadamente 50 ng hasta aproximadamente 6.500 mg, aproximadamente 100 ng hasta aproximadamente 6.000 mg, aproximadamente 200 ng hasta aproximadamente 5.500 mg, aproximadamente 300 ng hasta aproximadamente 5.000 mg, aproximadamente 400 ng hasta aproximadamente 4.500 mg, aproximadamente 500 ng hasta aproximadamente 4.000 mg,

aproximadamente 1 µg hasta aproximadamente 3.500 mg, aproximadamente 5 µg hasta aproximadamente 3.000 mg, aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 2.600 mg, aproximadamente 20 µg hasta aproximadamente 2.575 mg, aproximadamente 30 µg hasta aproximadamente 2.550 mg, aproximadamente 40 µg hasta aproximadamente 2.500 mg, aproximadamente 50 µg hasta 2.475 mg, aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 2.450 mg, aproximadamente 200 µg hasta aproximadamente 2.425 mg, aproximadamente 300 µg hasta aproximadamente 2.000, aproximadamente 400 µg hasta aproximadamente 1.175 mg, aproximadamente 500 µg hasta aproximadamente 1.150 mg, aproximadamente 0,5 mg hasta aproximadamente 1.125 mg, aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 1.100 mg, aproximadamente 1,25 mg hasta aproximadamente 1.075 mg, aproximadamente 1,5 mg hasta aproximadamente 1.050 mg, aproximadamente 2,0 mg hasta aproximadamente 1.025 mg, aproximadamente 2,5 mg hasta aproximadamente 1.000 mg, aproximadamente 3,0 mg hasta aproximadamente 975 mg, aproximadamente 3,5 mg hasta aproximadamente 950 mg, aproximadamente 4,0 mg hasta aproximadamente 925 mg, aproximadamente 4,5 mg hasta aproximadamente 900 mg, aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 875 mg, aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 850 mg, aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 825 mg, aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 800 mg, aproximadamente 40 mg hasta aproximadamente 775 mg, aproximadamente 50 mg, hasta aproximadamente 750 mg, aproximadamente 100 mg hasta aproximadamente 725 mg, aproximadamente 200 mg hasta aproximadamente 700 mg, aproximadamente 300 mg hasta aproximadamente 675 mg, aproximadamente 400 mg hasta aproximadamente 650 mg, aproximadamente 500 mg, o aproximadamente 525 mg hasta aproximadamente 625 mg, de un anticuerpo o de una parte de unión al antígeno del mismo, tal como se proporciona en la presente patente. La dosificación puede ser, por ejemplo, cada semana, cada 2 semanas, cada tres semanas, cada 4 semanas, cada 5 semanas o cada 6 semanas. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar una respuesta terapéutica óptima. Una cantidad efectiva es también una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial (efectos secundarios) del agente se minimiza y/o es superado por los efectos beneficiosos. Para el MM- 121, la administración puede ser por vía intravenosa a exactamente o aproximadamente 6 mg/kg o 12 mg/kg por semana, o 12 mg/kg o 24 mg/kg cada dos semanas. Regímenes de dosificación adicionales se describen más adelante.

Los términos “agente anti-cancerígeno” y “agente neoplásico” hacen referencia a fármacos utilizados para tratar casos de malignidad, tales como crecimientos cancerígenos. La terapia farmacológica puede ser utilizada en solitario, o en combinación con otros tratamientos tales como cirugía o terapia de radiación.

Diversos aspectos y modos de realización se describen en mayor detalle en las siguientes subsecciones.

30 I. Inhibidores de ErbB3

Tal como se describe en mayor detalle en la presente patente, los métodos y composiciones proporcionadas en la misma implican el uso de uno o más inhibidores de ErbB3.

Al menos uno de los inhibidores de ErbB3 es un anticuerpo anti-ErbB3, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal. Un ejemplo de anticuerpo monoclonal anti-ErbB3 es el MM-121, descrito en detalle en el documento WO 2008/100624 y en la patente estadounidense N° 7.846.440, y que tienen secuencias V_H y V_L según se muestra en las SEQ ID NOs: 1 y 2, respectivamente. De manera alternativa, el anticuerpo monoclonal anti-ErbB3 es un anticuerpo que compete con el MM-121 para unirse a ErbB3. En otro modo de realización el anticuerpo anti-ErbB3 es un anticuerpo que comprende las secuencias V_H y V_L CDR del MM- 121, que se muestran en las SEQ ID NOs: 3-5 (V_H CDR1, 2, 3) y 6-8 (V_L CDR1, 2, 3), respectivamente. Otros ejemplos de anticuerpos anti-ErbB3 incluyen Ab #3, Ab #14, Ab #17 y Ab #19, también descritos en mayor detalle en la patente WO 2008/100624 y que tiene secuencias V_H y V_L según se muestra en las SEQ ID NOs: 9 y 10, 17 y 18, 25 y 26, y 33 y 34 respectivamente. En otro modo de realización, el anticuerpo anti-ErbB3 es un anticuerpo que comprende las secuencias V_H y V_L CDR del Ab # 3 (mostrada en las SEQ ID NOs: 11-13 y 14-18, respectivamente) o un anticuerpo que comprende las secuencias V_H y V_L CDR del Ab # 14 (mostradas en las SEQ ID NOs: 19-21 y 22-24, respectivamente) o un anticuerpo que comprende las secuencias V_H y V_L CDR del Ab # 17 (mostradas en las SEQ ID NOs: 27-29 y 30-32, respectivamente) o un anticuerpo que comprende las secuencias V_H y V_L CDR del Ab # 19 (mostradas en las SEQ ID NOs: 35-37 y 38-40, respectivamente).

De manera alternativa, el anticuerpo anti-ErbB3 es un anticuerpo monoclonal o una parte de unión al antígeno del mismo que se une a un epítipo del ErbB3 humano que comprende los residuos 92- 104 de la SEQ ID NO:41 y está caracterizado por la inhibición de la proliferación de una célula cancerígena que expresa ErbB3. La célula cancerígena puede ser una célula MALME-3M, una célula ADRR, o una célula ACHN y la proliferación puede ser reducida en al menos un 10% en relación al control. En un modo de realización adicional este anticuerpo monoclonal aislado o la parte de unión al antígeno del mismo, se une a un epítipo que comprende los residuos 92-104 y 129 de la SEQ ID NO:41.

55 Otros ejemplos de anticuerpos anti-ErbB3 útiles incluyen los anticuerpos 1B4C3 y 2D ID 12 (U3 Pharma AG), ambos de los cuales se describen en la Publicación de solicitud de patente estadounidense N° 20040197332 por Ullrich et al., y anticuerpos monoclonales (incluyendo versiones humanizadas de los mismos), tales como AMG-888 (U3 Pharma AG y Amgen) y 8B8, según se describe en la patente estadounidense 5.968.511 por Akita et al.

En aún otro modo de realización, el anticuerpo anti-ErbB3 puede comprender una mezcla, o cóctel, de dos o más anticuerpos anti-ErbB3, cada uno de los cuales se une a un epítipo diferente en el ErbB3. En un modo de realización, la mezcla, o cóctel, comprende tres anticuerpos anti-ErbB3, cada uno de los cuales se une a un epítipo diferente en el ErbB3.

5 En otro modo de realización, el inhibidor de ErbB3 comprende una molécula de ácido nucleico, tal como una molécula de ARN, que inhibe la expresión o la actividad del ErbB3. Los antagonistas de ARN del ErbB3 han sido descritos en el arte (ver por ejemplo, Publicación de solicitud de patente estadounidense N° 20080318894). Más aún, han sido descritos en el arte ARN de interferencia específicos para ErbB3, tales como ARNhc o ARNip que inhiben específicamente la expresión y/o la actividad del ErbB3.

10 En aún otro modo de realización, el inhibidor de ErbB3 comprende una forma soluble del receptor ErbB3 que inhibe la señalización a través de la vía del ErbB3. Tales moléculas solubles de ErbB3 han sido descritas en el arte (ver *por ejemplo*, la patente estadounidense N° 7.390.632, la publicación de solicitud de patente estadounidense N° 20080274504 y la publicación de solicitud de patente estadounidense N° 20080261270, cada una por Maihle et al, y la publicación de solicitud de patente estadounidense N° 20080057064 por Zhou).

15 II. Métodos

En un aspecto, se proporciona el uso de un inhibidor de ErbB3 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer de mama TN, tal como el cáncer de mama BL TN.

En un método para suprimir el crecimiento de una célula de cáncer de mama triple negativo, la célula puede ponerse en contacto con una cantidad efectiva de un inhibidor de ErbB3.

20 En otro aspecto, se proporciona un inhibidor de ErbB3 para su uso en un método para tratar un tumor de cáncer de mama TN en un paciente, en donde el inhibidor es un anticuerpo de ErbB3.

Un método para tratar un tumor de cáncer de mama en un paciente puede comprender:

seleccionar un paciente con un tumor de cáncer de mama TN; y

administrar al paciente una cantidad efectiva de un inhibidor de ErbB3.

25 En otro aspecto, el paciente con un tumor de cáncer de mama TN es un paciente seleccionado adicionalmente mediante el uso de los métodos de selección revelados en la solicitud internacional WO2010/019952.

La identificación de células de cáncer de mama triple negativo, o de un paciente que tenga un tumor de cáncer de mama triple negativo, puede lograrse mediante métodos estándar bien conocidos en el arte. Por ejemplo, la tinción inmunohistoquímica (IHC, por sus siglas en inglés) se utiliza de forma rutinaria en análisis de biopsias y permite la
 30 detección, localización y cuantificación relativa del ER, PR, y HER2 dentro de secciones de tejidos fijados con formalina, incluidos en parafina (por ejemplo, tejidos de cáncer de mama procesados de manera rutinaria para su evaluación histológica). En el contexto de identificar tumores TN, la tinción de menos de un 5% de núcleos celulares tumorales se considera negativa para cada uno de ER y PR. El anticuerpo primario utilizado para la tinción IHC de ER es, *por ejemplo*, 1D5 (Chemicon, Temecula CA, catálogo # IHC2055). El anticuerpo primario utilizado para la tinción IHC de PR es por ejemplo, PgR636 (Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA, catálogo # MS- 1882-R7) o PgR 1294 (Dako North America, Inc., Carpinteria, CA, Código M3568). El ensayo IHC del ErbB2 utilizado es *por ejemplo*, el kit HercepTest™ (Dako North America, Inc., Carpinteria, CA, Código K5204), un ensayo IHC semi-cuantitativo que utiliza un anticuerpo primario policlonal anti-HER2 para determinar la sobreexpresión de la proteína HER2 en tejidos
 35 de cáncer de mama procesados de forma rutinaria para su evaluación histológica, que se utiliza de acuerdo a las indicaciones del fabricante. En el contexto de identificar tumores TN, un resultado de una prueba de 0 a 1+ se considera negativo en Her2.
 40

En un modo de realización, el tumor de cáncer de mama triple negativo se caracteriza histopatológicamente por tener un fenotipo de tipo basal. En otro modo de realización, el tumor de cáncer de mama triple negativo se caracteriza histopatológicamente por tener un fenotipo distinto del tipo basal. Ejemplos de fenotipos histopatológicos
 45 de cáncer de mama TN que son distintos al BL, incluyen el carcinoma ductal invasivo de ningún tipo especial, carcinomas metaplásicos, carcinomas medulares y tumores similares a la glándula salivar de la mama.

En un aspecto, el cáncer de mama TN a ser tratado con el inhibidor de ErbB3 co-expresa ErbB1 (EGFR), ErbB3, y heregulina (HRG). La expresión de EGFR y HRG puede ser identificada mediante RT-PCR o mediante técnicas de inmunoensayos estándar, tales como ensayo ELISA o tinción inmunohistoquímica de tejidos fijados en formalina,
 50 incluidos en parafina (por ejemplo, tejidos de cáncer de mama procesados de manera rutinaria para su evaluación histológica), utilizando un anticuerpo anti-EGFR, un anticuerpo anti-ErbB3 o un anticuerpo anti-HRG. Se exponen

características adicionales de los tumores para el tratamiento de acuerdo con la revelación en la presente patente, en la publicación de patente estadounidense N° 20110027291 en tramitación, que reivindica prioridad sobre la solicitud PCT N° WO2010/019952.

5 El inhibidor de ErbB3 administrado al paciente es un anticuerpo anti-ErbB3. Un ejemplo de anticuerpo anti-ErbB3 es el MM-121, que comprende secuencias V_H y V_L según se muestra en las SEQ ID NOs: 1 y 2, respectivamente, o un anticuerpo que comprende secuencias V_H CDR1, 2 y 3 según se muestra en las SEQ ID NOs: 3-5, respectivamente, y secuencias V_L CDR1, 2 y 3 según se muestra en las SEQ ID NOs: 6-8, respectivamente (es decir, las V_H y V_L CDRs del MM-121). Ejemplos adicionales no limitativos de anticuerpos anti-ErbB3 y otras formas de inhibidores de ErbB3 se describen en detalle en la subsección I anterior.

10 El inhibidor de ErbB3 puede ser administrado por cualquier vía adecuada para la administración efectiva del inhibidor al paciente. Por ejemplo, muchos inhibidores de pequeña molécula son adecuados para su administración por vía oral. Los anticuerpos y otros agentes biológicos se administran por vía parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular. Diversas vías de administración, dosificaciones y formulaciones farmacéuticas adecuadas para su uso en los métodos proporcionados en la presente patente se describen en mayor
15 detalle a continuación.

III. Composiciones farmacéuticas

En otro aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas que pueden ser utilizadas en los métodos revelados en la presente patente, es decir, composiciones farmacéuticas para tratar tumores de cáncer de mama TN.

20 En un modo de realización, la composición farmacéutica para tratar el cáncer de mama TN comprende el inhibidor de ErbB3 y un soporte farmacéutico. El inhibidor de ErbB3 puede formularse con el soporte farmacéutico en una composición farmacéutica. Adicionalmente, la composición farmacéutica puede incluir, por ejemplo, instrucciones para el uso de la composición para el tratamiento de pacientes con tumores de cáncer de mama TN.

25 El inhibidor de ErbB3 en la composición es un anticuerpo anti-ErbB3, por ejemplo el MM-121 o un anticuerpo que comprende las V_H y V_L CDRs del MM-121 posicionadas en el anticuerpo en el mismo orden relativo en el que están presentes en el MM-121, para proporcionar una unión inespecífica del ErbB3. Ejemplos adicionales no limitativos de anticuerpos anti-ErbB3 y otras formas de inhibidores de ErbB3 se describen en detalle en la subsección I anterior.

30 Tal como se utiliza en la presente patente, "soporte farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, tampones, y otros excipientes que sean fisiológicamente compatibles. Preferiblemente, el soporte es adecuado para una administración por vía parenteral, oral, o tópica. Dependiendo de la vía de administración, el compuesto activo, por ejemplo, una molécula pequeña o un agente biológico, puede estar recubierto con un material para proteger el compuesto de la acción de los ácidos y otras condiciones naturales que puedan inactivar el compuesto.

35 Los soportes farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones acuosas o dispersiones estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones estériles, además de excipientes convencionales para la preparación de comprimidos, píldoras, cápsulas y similares. El uso de tales medios y agentes para la formulación de sustancias farmacéuticas activas se conoce en el arte. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla el uso del mismo en las
40 composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente patente. También pueden incorporarse en las composiciones compuestos activos complementarios.

45 Un soporte farmacéuticamente aceptable puede incluir un antioxidante farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito sódico, sulfito sódico y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, butil hidroxianisol (BHA), butilhidroxitoluol (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

50 Ejemplos de soportes acuosos y no acuosos adecuados que pueden ser empleados en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente patente incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, y ésteres orgánicos inyectable, tales como etil-oleato. Cuando se requiera, se puede mantener la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos. En muchos casos, resultará de utilidad incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, o cloruro de sodio en la composición.

La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monostearato y gelatina.

Estas composiciones pueden además contener excipientes funcionales tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes.

- 5 Las composiciones terapéuticas deben ser habitualmente estériles, no pirogénicas, y estables bajo condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede ser formulada como una solución, micro-emulsión, liposoma, u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración del fármaco.

10 Las soluciones estériles inyectables pueden ser preparadas incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un disolvente adecuado con un o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de la esterilización, *por ejemplo*, mediante micro-filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los demás ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación incluyen el secado al vacío y criodesecación (liofilización) que produce polvo del ingrediente activo, más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente filtrada estéril del mismo. El agente o agentes activos pueden ser mezclados bajo condiciones estériles con un soporte o soportes farmacéuticamente aceptables, y con cualquier conservante, tampón, o propelente que pueda ser requerido.

20 La prevención de la presencia de microorganismos puede asegurarse tanto mediante procedimientos de esterilización, *supra*, y mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenol-sorbico, y similares. Puede también ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede lograrse mediante la inclusión de agentes que retrasen la absorción, tales como monostearato de aluminio y gelatina.

25 Las composiciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor de ErbB3 pueden ser administradas en solitario o en una terapia de combinación. Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir una composición proporcionada en la presente patente que comprenda un inhibidor de ErbB3 y al menos uno o más agentes terapéuticos adicionales, tales como uno o más agentes quimioterapéuticos conocidos en el arte, tratados en mayor detalle en la subsección IV más adelante. Las composiciones farmacéuticas pueden también ser administradas en conjunto con terapia de radiación y/o cirugía.

30 Los regímenes de dosificación se ajustan para proporcionar la respuesta óptima deseada (*por ejemplo*, una respuesta terapéutica). Por ejemplo, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse diversas dosis divididas a lo largo del tiempo o la dosis puede reducirse o incrementarse proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica.

35 Ejemplos de rangos de dosificación para la administración de un anticuerpo incluyen: 10-1000 mg (anticuerpo)/kg (peso corporal del paciente), 10-800 mg/kg, 10-600 mg/kg, 10-400 mg/kg, 10-200 mg/kg, 30-1000 mg/kg, 30-800 mg/kg, 30-600 mg/kg, 30-400 mg/kg, 30-200 mg/kg, 50-1000 mg/kg, 50-800 mg/kg, 50-600 mg/kg, 50-400 mg/kg, 50-200 mg/kg, 100-1000 mg/kg, 100-900 mg/kg, 100-800 mg/kg, 100-700 mg/kg, 100-600 mg/kg, 100-500 mg/kg, 100-400 mg/kg, 100-300 mg/kg y 100-200 mg/kg. Ejemplos de pautas posológicas incluyen una vez cada tres días, una vez cada cinco días, una vez cada siete días (*es decir*, una vez a la semana), una vez cada 10 días, una vez cada 14 días (*es decir*, una vez cada dos semanas), una vez cada 21 días (*es decir*, una vez cada tres semanas), una vez cada 28 días (*es decir*, una vez cada cuatro semanas) y una vez al mes.

45 Puede ser ventajoso formular composiciones parenterales en forma de dosis unitarias para facilidad de la administración y uniformidad de la dosificación. Forma de dosificación unitaria tal como se utiliza en la presente patente hace referencia a unidades físicamente discretas apropiadas como dosis unitarias para los pacientes a ser tratados; cada unidad contiene una cantidad pre-determinada del agente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con cualquier soporte farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosificación unitarias están dictadas por y dependen directamente de (a) las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico en particular a ser logrado, y (b) las limitaciones inherentes en el arte de la composición de un compuesto activo de este tipo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos.

50 Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas reveladas en la presente patente, pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea efectiva para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición, y modo de administración en particular, sin que resulte tóxico para el paciente. "Parenteral" tal como se utiliza en la presente patente en el contexto de la administración, significa modos de administración distintos de la administración por vía enteral y tópica, habitualmente mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión por vía intravenosa, intramuscular,

55

intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbitaria, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraspinal, epidural e intraesternal.

Las frases “administración parenteral” y “administrado por vía parenteral” tal como se utilizan en la presente patente, hacen referencia a modos de administración distintos del enteral (*es decir*, a través del tracto digestivo) y la administración tópica, habitualmente mediante inyección o infusión, e incluye, sin limitación, inyección e infusión por vía intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbitaria, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraspinal, epidural e intraesternal. La inyección e infusión intravenosa se utilizan a menudo (pero no exclusivamente) para la administración de anticuerpos.

- 10 Cuando los agentes proporcionados en la presente patente se administran como medicamentos a humanos o animales, éstos pueden proporcionarse solos o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, 0,001 a un 90% (por ejemplo, 0,005 a un 70%, por ejemplo, 0,01 a un 30%) del ingrediente activo en combinación con un soporte farmacéuticamente aceptable.

IV. Terapia de combinación

- 15 En determinados modos de realización, los usos proporcionados en la presente patente para suprimir el crecimiento de las células de cáncer de mama TN, o para tratar un paciente con un tumor de cáncer de mama TN, tal como un tumor de mama BL TN, puede comprender la administración del inhibidor de ErbB3 y al menos un agente adicional anti-cancerígeno que no sea un inhibidor de ErbB3.

- 20 En un modo de realización el, al menos un, agente anti-cancerígeno adicional comprende al menos un fármaco quimioterapéutico. Ejemplos no limitativos de tales fármacos quimioterapéuticos incluyen fármacos de quimioterapia basados en platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino), taxanos (por ejemplo, paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), EndoTAG- 1™ (una formulación de paclitaxel encapsulada en complejos a base de lípidos cargados positivamente; MediGene), Abraxane® (una formulación de paclitaxel enlazada a albúmina)), inhibidores de la tirosina quinasa (por ejemplo imatinib/Gleevec®, sunitinib/Sutent®, dasatinib/Sprycel®), y combinaciones de los mismos.

- 25 En otro modo de realización el, al menos un, agente anti-cancerígeno adicional comprende un inhibidor de EGFR, tal como un anticuerpo anti-EGFR o un inhibidor de molécula pequeña de la señalización de EGFR. Un ejemplo de anticuerpo anti-EGFR es el cetuximab (Erbix®). El cetuximab está comercialmente disponible de ImClone Systems Incorporated. Otros ejemplos de anticuerpos anti-EGFR incluyen matuzumab (EMD72000), panitumumab (Vectibix®; Amgen); nimotuzumab (TheraCIM™) y mAb 806. Un ejemplo de inhibidor de pequeña molécula de la vía de señalización de EGFR es el gefitinib (Iressa®), que se encuentra comercialmente disponible de AstraZeneca y Teva. Otros ejemplos de inhibidores de molécula pequeña de la vía de señalización de EGFR incluyen erlotinib HCL (OSI-774; Tarceva®, OSI Pharma); lapatinib (Tykerb®, GlaxoSmithKline); canertinib (diclorhidrato de canertinib, Pfizer); pelitinib (Pfizer); PKI- 166 (Novartis); PD158780; y AG 1478 (4-(3-Cloroanilino)-6,7-dimetoxiquinazolina).

- 35 En aún otro modo de realización el, al menos un, agente anti-cancerígeno adicional comprende un inhibidor de VEGF. Un ejemplo de inhibidor de VEGF comprende un anticuerpo anti-VEGF, tal como bevacizumab (Avastatin®; Genentech).

En aún otro modo de realización el, al menos un, agente anti-cancerígeno comprende un anticuerpo anti-ErbB2. Anticuerpos anti-ErbB2 adecuados incluyen trastuzumab y pertuzumab.

- 40 En un aspecto, la efectividad mejorada de una combinación de acuerdo con la invención puede ser demostrada logrando sinergia terapéutica.

- 45 El término “sinergia terapéutica” se utiliza cuando la combinación de dos productos en dosis determinadas es más eficaz que el mejor de cada uno de los dos productos solos en las mismas dosis. En un ejemplo, la sinergia terapéutica puede ser evaluada comparando una combinación con el mejor agente único, utilizando valores estimados obtenidos a partir de un análisis de varianza de dos factores con mediciones repetidas (por ejemplo, factor tiempo) sobre el parámetro volumen tumoral.

- 50 El término “aditivo” hace referencia a cuando la combinación de dos o más productos en determinadas dosis es igualmente eficaz que la suma de la eficacia obtenida con cada uno de los dos o más productos, mientras que el término “superaditivo” hace referencia a cuando la combinación es más eficaz que la suma de la eficacia obtenida con cada uno de los dos o más productos.

Otra medida por la cual la efectividad (incluyendo la efectividad de las combinaciones) puede ser cuantificada es calculando el log₁₀ de destrucción celular, que se determina de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Log}_{10} \text{destrucción celular} = T-C (\text{días})/3,32 \times T_d$$

5 en la que T-C representa el retraso en el crecimiento de las células, que es el tiempo medio, en días, para que los tumores del grupo tratado (T) y los tumores del grupo de control (C) hayan alcanzado un valor pre-determinado (1 g, o 10 mL, por ejemplo), y T_d representa el tiempo, en días necesario para que el volumen tumoral se duplique en los animales de control. Cuando se aplica esta medida, se considera que un producto es activo si el \log_{10} de destrucción celular es mayor o igual a 0,7, y se considera que un producto es muy activo si el \log_{10} de destrucción celular es mayor a 2,8.

10 Utilizando esta medida, una combinación, utilizada en su propia dosis máxima tolerada, en la cual cada uno de los constituyentes está presente en una dosis generalmente menor o igual a su máxima dosis tolerada, muestra sinergia terapéutica cuando el \log_{10} de destrucción celular es mayor que el valor del \log_{10} de destrucción celular del mejor constituyente cuando se administra solo. En un caso a modo de ejemplo, \log_{10} de destrucción celular de la combinación excede el valor del \log_{10} de destrucción celular del mejor constituyente de la combinación en al menos un log de destrucción celular.

Ejemplos

15 **Ejemplo 1: efectos del MM-121 sobre el xenoinjerto MAXF449 de cáncer de mama humano triple negativo.**

20 Se lleva a cabo un análisis de la eficacia anti-tumoral y la tolerabilidad del tratamiento con MM-121 de ratones portadores de tumores, utilizando un xenoinjerto MAXF449 de carcinoma mamario humano triple negativo (ONCOTEST GmbH, Freiburg, Alemania) en ratones desnudos NMRI. El MAXF449 es un explante de tumor humano (histológicamente descrito sobre explante como ductal invasivo sólido, y mal definido) establecido mediante inyección subcutánea en pasajes en serie en ratones desnudos. Las células de MAXF449 utilizadas en estos experimentos se han pasado 22 ocasiones. Los ratones NMRI desnudos se obtienen de Taconic farms, Charles River Laboratories International, o Harlan Laboratories. Los ratones se alojan en jaulas de policarbonato ventiladas individualmente Tecniplast (Macrolon) (IVC, por sus siglas en inglés) situadas en habitaciones de clima controlado y tienen libre acceso a comida y agua acidificada.

25 Para investigar la eficacia anti-tumoral en monoterapia, se proporciona MM-121 o vehículo de control (100 μ L) a ratones portadores de tumores a razón de 600 μ g por ratón (MM-121 como una solución de 6 mg/mL en PBS) mediante inyección i.p. cada tres días. Los ratones de control reciben únicamente el vehículo de PBS. La eficacia se determina comparando el crecimiento tumoral entre los ratones tratados con anticuerpos y los ratones con el vehículo de control, y se expresa como la relación del experimento con respecto al control de la mediana de los volúmenes tumorales relativos (valor T/C). Un valor mínimo de T/C por debajo del 50% es un requisito previo para clasificar un tratamiento como efectivo. Los grupos de control y experimentales contienen cada uno 10 ratones portadores de un tumor cada uno. Para obtener 30 ratones portadores de tumores de tamaño similar para la aleatorización, se implantan unilateralmente 40 ratones por tumor.

35 Los ratones son aleatorizados y la terapia comienza cuando un número suficiente de tumores individuales han crecido a un volumen de aproximadamente 200 mm³. Los tumores (L x A) mediante medición con calibrador digital, y el volumen tumoral se calcula utilizando la fórmula $\pi/6 (A^2 \times L)$. La primera dosis se administra bien en el día 0 (día de la aleatorización) o un día más tarde.

40 Aproximadamente 24 horas después de la administración de la dosis final se extrae sangre de todos los ratones para preparar suero; además, los tumores se recogen de los mismos ratones para someterlos a súper-congelación y FFPE (1/2 tumor cada uno).

De acuerdo a las regulaciones para los experimentos con animales, los ratones se sacrifican si el volumen tumoral excede los 1800 mm³ (un tumor por ratón). Los ratones son monitorizados y dosificados hasta que sus tumores hayan crecido hasta ese tamaño pero no más de 60 días. A partir de ahí, son sacrificados para la recogida de muestras.

45 Al final del estudio, aproximadamente 24 horas después de la administración de la dosis final, se extrae sangre a todos los ratones en estudio por vía sublingual, para obtener una cantidad máxima de sangre para la preparación de suero. El suero se alícuota en 2 tubos con aproximadamente 250 μ L en cada uno.

50 Además, los tumores de todos los ratones se extirpan sin demora para su congelación instantánea en nitrógeno líquido (1/2 tumor, se proporcionan bolsas COVARIS para el almacenamiento de las muestras) y para su fijación en formalina tamponada al 10% durante <24 horas, posterior deshidratación e inclusión en parafina (FFPE, 1/2 tumor).

Los pesos de los animales y los diámetros del tumor (A y L) se miden dos veces en semana, y los volúmenes tumorales se calculan utilizando la fórmula $\text{Pi}/6 (A^2 \times L)$. Se representan las curvas de crecimiento tumoral. Se calcula la inhibición tumoral y el retraso absoluto del crecimiento para 2 y 4 tiempos de duplicación.

5 Los resultados de los experimentos que fueron realizados sustancialmente tal como se ha descrito, se presentan en la Figura 1. El tratamiento con MM-121 inhibió o detuvo el crecimiento tumoral, y en algunos casos redujo el tamaño del tumor. Se calculó que la TGI (inhibición del crecimiento tumoral) en estos xenoinjertos de tumor triple negativo humano es de aproximadamente el 200%.

Ejemplo 2: efectos del MM-121 sobre el xenoinjerto MDA-MB-231 de cáncer de mama humano triple negativo

10 Se inyecta a ratones Balb/c desnudos bajo anestesia general, con células 107 MDA-MB-231 de cáncer de mama triple negativo humanas (ATCC), ya sea por vía subcutánea en el flanco o en el panículo adiposo mamario. Los ratones con tumores establecidos (es decir, después de 7-10 días de crecimiento tumoral a continuación de la inyección de las células) se tratan entonces por vía i.p. con PBS o bien con MM-121 cada 3 días con 600 ug de MM-121 por ratón según se describe en el Ejemplo 1. El volumen tumoral se mide dos veces a la semana según se describe en el Ejemplo 1.

15 Los resultados de los experimentos realizados sustancialmente según se ha descrito, se presentan en la Figura 2. El tratamiento con MM-121 detuvo el crecimiento tumoral del cáncer de mama triple negativo humano de forma esencialmente completa en estos experimentos.

Ejemplo 3: Medición de la afinidad de unión (K_D)

20 La disociación de constantes de los anticuerpos anti-ErbB puede ser medida utilizando una cualquiera o ambas de dos técnicas independientes, un ensayo de resonancia de plasmones de superficie y un ensayo de unión celular.

Ensayo de resonancia de plasmones de superficie

25 El ensayo de resonancia de plasmones de superficie se realiza según se describe en Wassaf et al. (2006) Analytical Biochem., 351:241-253. Una implementación utiliza un instrumento BIACORE 3000 (GE Healthcare), que usa una proteína recombinante de ErbB como el analito y el anticuerpo anti-ErbB como el ligando. El valor K_D se calcula en base a la fórmula $K_D = K_d/K_a$.

Ensayo de unión celular

Se realiza un ensayo de unión celular utilizando células MALME-3M (ATCC) para la unión de ErbB3. El ensayo se realiza sustancialmente tal como sigue a continuación.

30 Las células se separaron con 2 mLs tripsina-EDTA + 2 mLs RPMI + 5mM EDTA a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añade RPMI completo (10 mLs) inmediatamente a las células tripsinizadas, se resuspende suavemente y se centrifuga en una centrifugadora Beckman de mesa a 1100 rpm durante 5 minutos. Las células se resuspenden en un tampón de tinción BD (PBS + 2% FBS + 0,1% azida de sodio, Becton Dickinson) en una concentración de 2×10^6 células por ml y 50 μl (1×10^5 células), las alícuotas se colocan en placas de titulación de 96 pocillos.

35 Una solución de 150 μl de 200 nM de anticuerpo anti-ErbB en un tampón de tinción BD se prepara y se diluye en serie 2 veces en 75 μl de tampón de tinción BD. Las concentraciones del anticuerpo diluido se situaron en un rango desde 200 nM a 0,4 nM. Se añaden entonces 50 μl de alícuotas de las diferentes diluciones de proteínas directamente a la suspensión celular de 50 μl , proporcionando las concentraciones finales de 100 nM, 50 nM, 25 nM, 12 nM, 6 nM, 3 nM, 1,5 nM, 0,8 nM, 0,4 nM y 0,2 nM del anticuerpo.

40 Las células alícuotas en la placa de 96 pocillos se incubaron con las diluciones de proteínas durante 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador de plataforma y se lavó 3 veces con 300 μl de tampón de tinción BD. Las células se incuban entonces con 100 μl de anticuerpo secundario (por ejemplo, una dilución 1:750 de IgG anti-humano de cabra marcada con Alexa 647 en tampón de tinción BD) durante 45 minutos en un agitador de plataforma en la habitación fría. Finalmente, las células se lavaron dos veces, se granularon y se resuspendieron en 250 μl de tampón de tinción BD + 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de yoduro de propidio. El análisis de 10.000 células se realiza en un citómetro de flujo FACSCALIBUR utilizando el canal FL4. Los valores MFI y las correspondientes concentraciones del anticuerpo anti-ErbB están representadas en el eje-y y en el eje-x, respectivamente. El K_D de la molécula de determina utilizando el software GraphPad PRISM que utiliza el modelo de unión a un sitio para una curva de regresión no lineal.

50 El valor K_D se calcula en base a la fórmula $Y = B_{\text{max}} \times X / K_D + X$ (B_{max} = fluorescencia en saturación. X = concentración de anticuerpos. Y = grado de unión).

Ejemplo 4: Inhibición del crecimiento tumoral *in vivo* mediante tratamiento de combinación con MM-121 y paclitaxel

Métodos:

Se implantan ratones desnudos Balb/c (hembras, 4-5 semanas de edad de Charles River lab) ortotópicamente con 10 x 10⁶ células en el pániculo mamario. Se permite que los tumores alcancen una media de 100 mm³ en tamaño antes de la aleatorización en 4 grupos de 10 ratones, que contienen ratones con una distribución de tamaño similar de los tumores. Cada grupo de ratones se trata con 1) MM-121 (150ug/ratón, i.p., Q3D) o 2) vehículo de control (PBS, i.p.) o 3) paclitaxel (5mg/kg LC Labs) o 4) paclitaxel (5mg/kg) y MM-121 (150ug/ratón). El tratamiento se continúa durante 4 semanas. Los tumores se miden dos veces por semana y el volumen tumoral se calcula como $p/6 \times \text{longitud} \times \text{ancho}^2$, donde el ancho es la medida más corta.

Resultados:

La combinación de MM-121 con paclitaxel se investigó *in vivo* en el modelo de xenoinjerto MDA-MB-231 de cáncer de mama triple negativo utilizando los métodos descritos anteriormente o variaciones mínimas del mismo. Los ratones fueron tratados con dosis por debajo de la óptima de MM-121, paclitaxel, una combinación de MM-121 y paclitaxel, o un vehículo de control (Figura 3). Mientras que ambos el MM-121 y el paclitaxel cada uno inhibió el crecimiento tumoral *in vivo*, los ratones que reciben una terapia de combinación de MM-121 y paclitaxel mostraron una mejora de la inhibición del crecimiento tumoral cuando se compara con la obtenida con cada uno de los tratamientos individuales. La mejora en la inhibición del crecimiento tumoral mostró sinergia terapéutica y fue al menos aproximadamente aditiva en comparación con la mejora obtenida con cada uno de los agentes individuales de la combinación.

La Tabla 1 muestra los datos utilizados para generar la Figura 3. La Tabla 2 muestra la mediana % del cambio en los volúmenes tumorales utilizando los datos de los mismos experimentos que se muestran en la Figura 3, normalizados al volumen tumoral inicial.

TABLA 1: datos utilizados para generar la Figura 3 – volúmenes tumorales medios en mm³

Vehículo	Media	104,4	137,1	144,5	229,5	253,7	291,0
MM121 150µg	Media	99,4	115,5	137,5	180,4	187,2	242,7
paclitaxel 5mg/kg	Media	97,9	113,5	144,6	166,2	178,8	202,2
MM121 150µg+paclitaxel 5mg/kg	Media	96,2	100,8	98,3	104,1	113,0	121,6

Ejemplo 5: Combinación de MM-121 con dianas y quimioterapias *in vivo*

Métodos:

Se implantan ratones Balb/c desnudos (hembra, 4-5 semanas de edad de Charles River lab) ortotópicamente con 10 x 10⁶ células en el pániculo mamario. Se permite que los tumores alcancen la media de 150 mm³ de tamaño antes de la aleatorización en 9 grupos de 8 ratones, que contienen ratones con una distribución del tamaño de los tumores similar. Cada grupo de ratones se trata con una dosis de 1) MM-121(300ug/ratón, i.p., Q3D) o 2) vehículo de control (PBS, i.p.) o 3) paclitaxel (10mg/kg LC Labs) o 4) erlotinib (50mg/kg PO 5XQD) o 5) cetuximab (2mg/kg Q3D) o terapia de combinación con: 6) erlotinib (50mg/kg) y MM-121 (300ug/ratón), o 7) cetuximab (2mg/kg) y MM-121 (300ug/ratón), u 8) erlotinib (50mg/kg) y MM-121 (300ug/ratón) y paclitaxel (10mg/kg), o 9) cetuximab (2mg/kg) y MM121 (300ug/ratón) y paclitaxel (10mg/kg). El tratamiento se continúa durante 4 semanas. Los tumores se miden dos veces por semana y el volumen tumoral se calcula como $p/6 \times \text{largo} \times \text{ancho}^2$, donde el ancho es la medida más corta.

Resultados: Para probar la eficacia del MM-121 para inhibir el crecimiento tumoral cuando se utiliza en combinación con otros agentes, estas combinaciones se probaron *in vivo* en el modelo de xenoinjerto MDA-MB-231 cáncer de mama triple negativo utilizando métodos descritos anteriormente o variaciones mínimas del mismo. Los ratones fueron tratados con MM-121 (administrado en dosis por debajo de la óptima en las combinaciones), cetuximab, paclitaxel, MM-121 y cetuximab, y la triple combinación MM-121 y cetuximab y paclitaxel. Tal como se muestra en la figura 4A, la terapia de combinación con MM-121 y cetuximab inhibió el crecimiento tumoral a un mayor grado que ya cualquiera de los agentes solo y detuvo esencialmente el crecimiento tumoral hasta al menos el día 39. La tasa de crecimiento disminuida mostró sinergia terapéutica y, en ciertos casos representaba al menos aproximadamente una disminución aditiva en el crecimiento en comparación con las tasas disminuidas obtenidas con cualquiera de las

- 5 terapias individuales. La adición de paclitaxel no mejoró el efecto de MM-121 y cetuximab. Los ratones fueron tratados entonces con MM-121, erlotinib, MM-121 y erlotinib, o la triple combinación de MM-121 y erlotinib y paclitaxel. Tal como se muestra en la Figura 4B, MM-121 en combinación con erlotinib no tuvo un efecto estadístico significativo sobre la tasa de crecimiento tumoral en comparación con el tratamiento con cualquier agente solo. Por el contrario, el tratamiento con la triple combinación de MM-121, erlotinib, y paclitaxel dio como resultado una tasa de crecimiento tumoral claramente disminuida y detuvo esencialmente el crecimiento tumoral hasta al menos el día 39. La tasa de crecimiento disminuida mostró sinergia terapéutica y, ciertos casos representaron al menos aproximadamente una disminución aditiva en el crecimiento en comparación con las tasas disminuidas obtenidas con cualquiera de las terapias individuales o dobles.
- 10 La Tabla 3 muestra los datos utilizados para generar las Figuras 4A y 4B. La Tabla 4 muestra la media % del cambio en el volumen tumoral utilizando los datos de los mismos experimentos que se muestran en las Figuras 4A y 4B, normalizados hasta el volumen tumoral inicial.

TABLA 2. Datos utilizados para generar las Figuras 4A y 4B – volúmenes tumorales medios mm³.

Día	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
MM121 300ug	178,6	197,3	219,1	257,8	269,4	291,4	351,3	425,0
erlotinib 50mg/kg	172,1	182,1	216,1	273,2	252,8	245,6	303,1	327,4
cetuximab 2mg/kg	172,4	210,6	245,0	269,2	296,3	279,7	283,5	358,1
MM121 + erlotinib	170,6	215,5	221,8	261,7	272,5	255,3	305,2	378,3
paclitaxel 10mg/kg	155,2	167,0	182,4	216,6	228,1	247,0	292,6	383,5
MM121 + cetuximab	152,5	149,6	171,6	169,1	196,6	171,2	182,9	241,2
MM121 + erlotinib + paclitaxel	164,8	149,3	139,8	146,5	156,7	163,4	202,9	264,5
MM121 + cetuximab + paclitaxel	176,3	158,5	147,8	160,4	154,4	163,4	203,4	247,7

15 Equivalentes

Los expertos en el arte reconocerán, o serán capaces de determinar, utilizando nada más que la experimentación de rutina, muchos equivalentes de los modos de realización específicos descritos en la presente patente. Tales equivalentes tienen la intención de ser abarcados por las siguientes reivindicaciones. Se contempla que cualquier combinación de los modos de realización revelados en las reivindicaciones dependientes se encuentra dentro del alcance de la invención.

20

RESUMEN DE LA LISTA DE SECUENCIAS

Secuencia de aminoácidos de MM-121 V_H (SEQ ID NO:1)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPGKGLEWVSSISSGG
 WTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQ
 GTLTVSS

Secuencia de aminoácidos de MM-121 V_T (SEQ ID NO:2)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNVVSQYQHPGKAPKLIYEVSQRPSG
 VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGGTKVTVL

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_T CDR2 (SEQ ID NO:7)

EVSQRPS

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

CSYAGSSIFVI

Secuencia de aminoácidos Ab # 3 V_H (SEQ ID NO:9)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSA YNMRWVRQAPGKGLEWVSVIYPSGG
ATRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYYYYGMDVWGQ
GTLVTVSS

Secuencia de aminoácidos Ab # 3 V_L (SEQ ID NO:10)

QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSDSNIGRNYIYQYQFPGTAPKLLIYRNNQRPSG
VPDRISGSKSGTSASLAISGLRSEDAEYHCGTWDDSLSGPVFVGGGTKLTVL

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

Secuencia de aminoácidos Ab # 14 V_H (SEQ ID NO:17)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSA YGMGWVRQAPGKGLEWVSYISPSGG
HTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLETGLLVDAFDIW
GQGTMTVSS

Secuencia de aminoácidos Ab # 14 V_T (SEQ ID NO: 18)

QYELTQPPSVSVYPGQTASITCSGDQLGSKFVSWYQQRPGQSPVLV MYKDKRRPSEI
PERFSGSNSGNTATLTISGTQAIDEADYYCQAWDSSTYVFGTGTKVTVL

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 CDR2 (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

Secuencia de aminoácidos Ab # 17 V_H (SEQ ID NO:25)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYGMGWVRQAPGKGLEWVSYISPSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARLNYYYGLDVWGQG
TTVTVSS

Secuencia de aminoácidos Ab # 17 V_L (SEQ ID NO:26)

QDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDIGDSL N WYQQKPGKAPRLLIYDASNLETG
VPPRFSGSGSGTDFTFTRSLQPEDIATYFCQQSANAPFTFGPGTKVDIK

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

Secuencia de aminoácidos Ab # 19 V_H (SEQ ID NO:33)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMWVVRQAPGKGLEWVSYIGSSGG
PTY YVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAGGRGTPYYFDSWGQ
GTLVTVSS

Secuencia de aminoácidos Ab # 19 V_L (SEQ ID NO:34)

QYELTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGRWNIVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPS
GVS NRF
SGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSYTSSSTWVFGGGTKLTVL

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)

SEVGNLSQAVCPGTLNGLSVTGDAENQYQTLYKLYERCEVVMGNLEIVLTGHNADLS
FLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDYGKFAIFVMLNYNTNSSHAL
RQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIVVKDNGRSCPPCHE
VCKGRCWGPSEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQCCHDECAGGCSGPQDTCF
ACRFNDSGACVPRCPQLVYNKLTFLQLEPNPHTKYQYGGVCVASCPHFVVDQTS
CVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCPKACEGTGSGSRFQTVDSASNIDGFVNCTK
ILGNLDFLITGLNGDPWHKIPALDPEKLVFRTVREITGYLNIQSWPPMHNFVFSN
LTTIGGRSLYNRGSLLIMKNLNVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSLNWTK
VLRGPTEERLDIKHNRPRRDCVAEGKVCPLCSSGGCWGPGPGQCLSCRNYSRGGV
CVTHCNFLNGEPREFAEAEFCFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGP
CVSSCPHGVLGAKGPIYKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQTLVLIGKTH
LTMALTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRIQNKRAMRRYLERGESIEPLDPSEKANK
VLARIFKETELRKLKVLGSGVFGTVHKGWVWPEGESIKIPVCIKVIEDKSGRQSFQAVT
DHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPGSSLQLVTQYLPLGSLLDHVRQHRGALGPQLLNW
GVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNVLLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYS
EAKTPIKWMALESIHFYKQSDVWSYGVTVWELMTFGAEPYAGLRLAEVPDLLE
KGERLAQPQICTIDVYVMVMKCVWIDENIRPTFKELANEFTRMARDPPRYLVIKRES
GPGIAPGPEPHGLTNKKLEEVLEPELDDLLEAEEDNLATTTLGSALSLPVGTLNR
PRGSQSLLSPSSGYMPMNQGNLGESESAVSGSSERCPRPVSHPMPRGCLASESE
GHVTGSEAELEKQVSMCRSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSLTPVTPLSPPGLEEDV
NGYVMPDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEDEEYEMNRRRRHSPPHPPR
PSSLEELGYEYMDVGSDLASLGSTQSCPLHPVPIMPTAGTTPDEDEYEMNRQRDGG
GPGGDYAAMGACPAEQGYEEMRAFGQPGHQAPHVHYARLKTLSLEATDSAFDN
PDYWH SRLFPKANAQRT

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor de ErbB3 para su uso en un método de tratamiento de cáncer de mama triple negativo, en donde el inhibidor es un anticuerpo anti-ErbB3.
- 5 2. El inhibidor para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo anti-ErbB3 comprende, en orden amino terminal a carboxi-terminal, una secuencia V_H CDR1 según se muestra en la SEQ ID NO:3, una secuencia V_H CDR2 según se muestra en la SEQ ID NO:4 y una secuencia V_H CDR3 según se muestra en la SEQ ID NO:5, y, en orden amino terminal a carboxi-terminal, una secuencia V_L CDR1 según se muestra en la SEQ ID NO:6, una secuencia V_L CDR2 según se muestra en la SEQ ID NO:7 y una secuencia V_L CDR3 según se muestra en la SEQ ID NO:8.
3. El inhibidor para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo anti-ErbB3 se selecciona de:
 - 10 (a) un anticuerpo que comprende una secuencia V_H según se muestra en la SEQ ID NO:1 y una secuencia V_L según se muestra en la SEQ ID NO:2;
 - (b) un anticuerpo que comprende una secuencia V_H según se muestra en la SEQ ID NO:9 y una secuencia V_L según se muestra en la SEQ ID NO:10;
 - 15 (c) un anticuerpo que comprende una secuencia V_H según se muestra en la SEQ ID NO:17 y una secuencia V_L según se muestra en la SEQ ID NO:18; y
 - (d) un anticuerpo que comprende una secuencia V_H según se muestra en la SEQ ID NO:25 y una secuencia V_L según se muestra en la SEQ ID NO:26.
4. El inhibidor para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el tumor del cáncer de mama triple negativo se caracteriza histopatológicamente por tener:
 - 20 (i) un fenotipo de tipo basal; o
 - (ii) un fenotipo distinto del tipo basal.
5. El inhibidor para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el método además comprende administrar al menos un agente anti-cancerígeno adicional.
6. El inhibidor según la reivindicación 5, donde el agente anti-cancerígeno adicional no es un inhibidor de ErbB3.
- 25 7. El inhibidor según la reivindicación 5 o 6, donde al menos un agente anti-cancerígeno adicional se selecciona de fármacos de quimioterapia basados en platino, taxanos, inhibidores de tirosina quinasa, anticuerpos anti-EGFR, anticuerpos anti-ErbB2, combinaciones de los mismos, inhibidores de EGFR e inhibidores de VEGF.
8. El inhibidor para su uso según la reivindicación 7, donde al menos un agente anti-cancerígeno adicional es paclitaxel.
- 30 9. El inhibidor para su uso según la reivindicación 7, donde al menos un agente anti-cancerígeno adicional es un anticuerpo anti-EGFR.
10. El inhibidor para su uso según la reivindicación 9, donde el anticuerpo anti-EGFR se selecciona de cetuximab, matuzumab, panitumumab, nimotuzumab y mAb 806.
- 35 11. El inhibidor para su uso según la reivindicación 7, donde el inhibidor de EGFR es un inhibidor de molécula pequeña de la señalización de EGFR seleccionado de gefitinib, lapatinib, canertinib, pelitinib, erlotinib HCL, PKI-166, PD158780, y AG 1478.
12. El inhibidor para su uso según la reivindicación 7, donde el inhibidor de VEGF comprende bevacizumab.
13. El inhibidor para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el tumor de cáncer de mama triple negativo es un tumor en el que las células tumorales dan negativo en receptor de estrógenos (ER) y receptor de progesterona y producen un resultado de la prueba de 0, 1+, o 2+ utilizando un ensayo inmunohistoquímico semi-cuantitativo que utiliza un anticuerpo primario policlonal anti-HER2.
- 40 14. El inhibidor para su uso según la reivindicación 13, donde las células tumorales son negativas en FISH para amplificación de genes de HER2.

15. Uso de un inhibidor de ErbB3 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer de mama triple negativo, donde el inhibidor es un anticuerpo ErbB3.

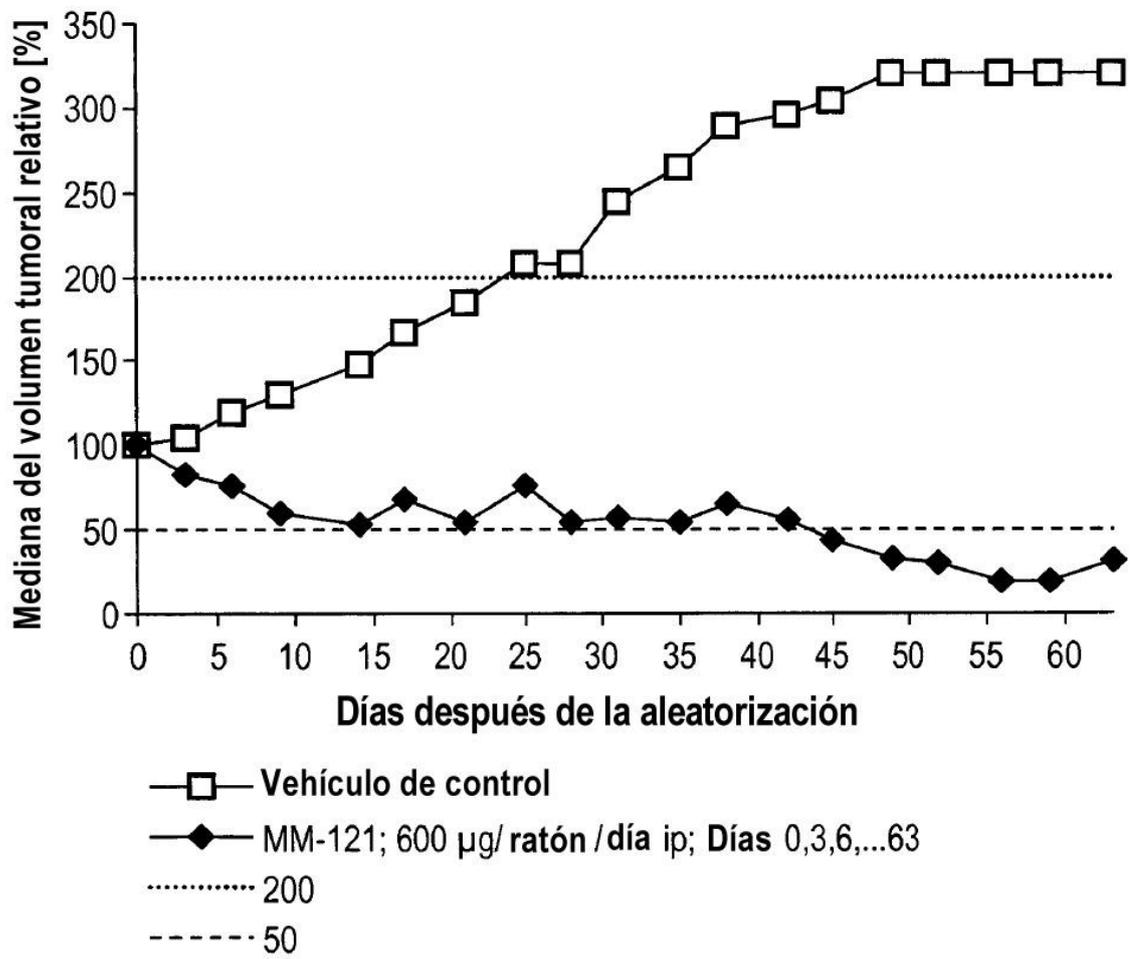


Fig. 1

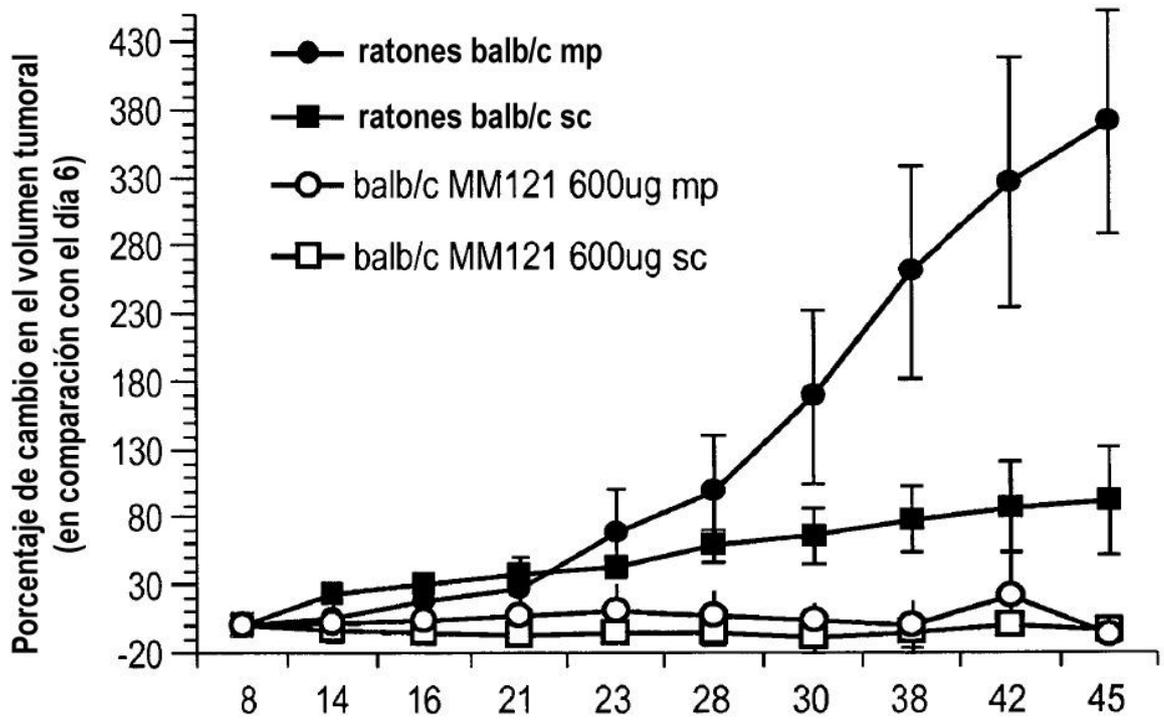


Fig. 2

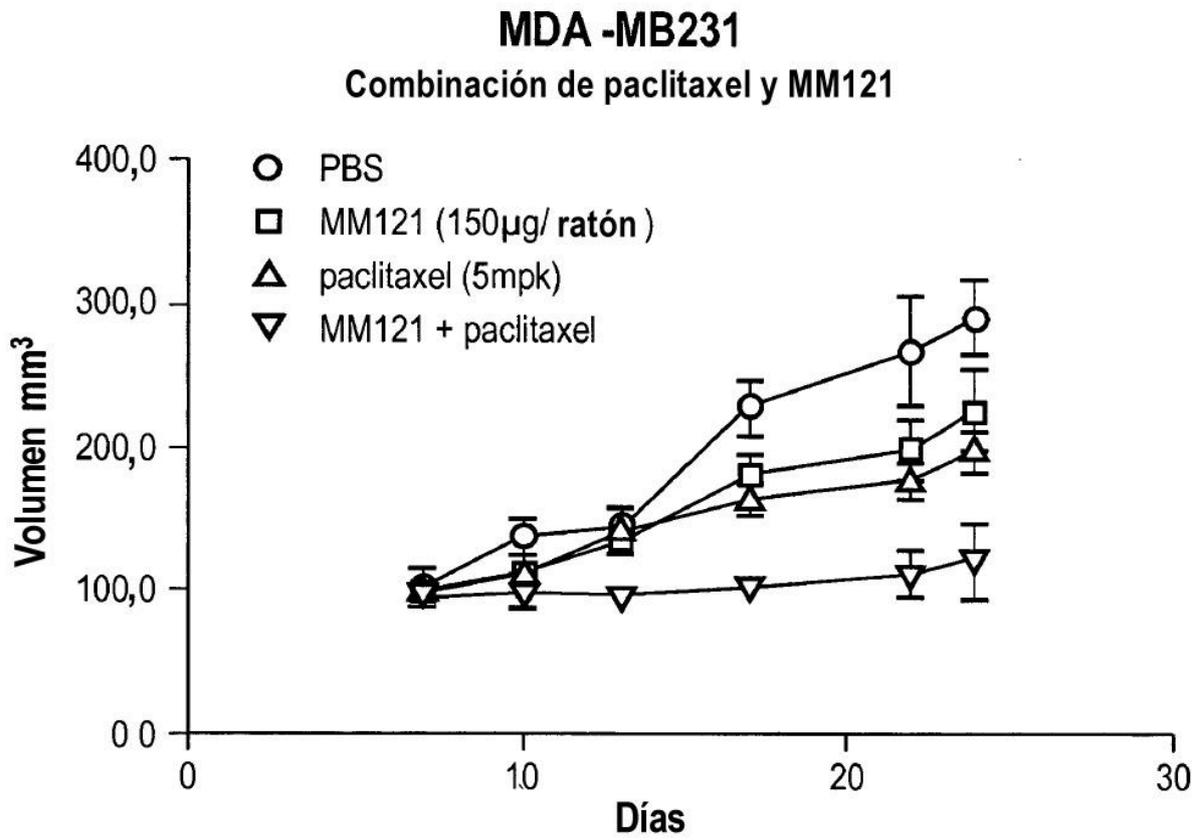


Fig. 3

MDA MB231_MM121 + cetuximab + paclitaxel

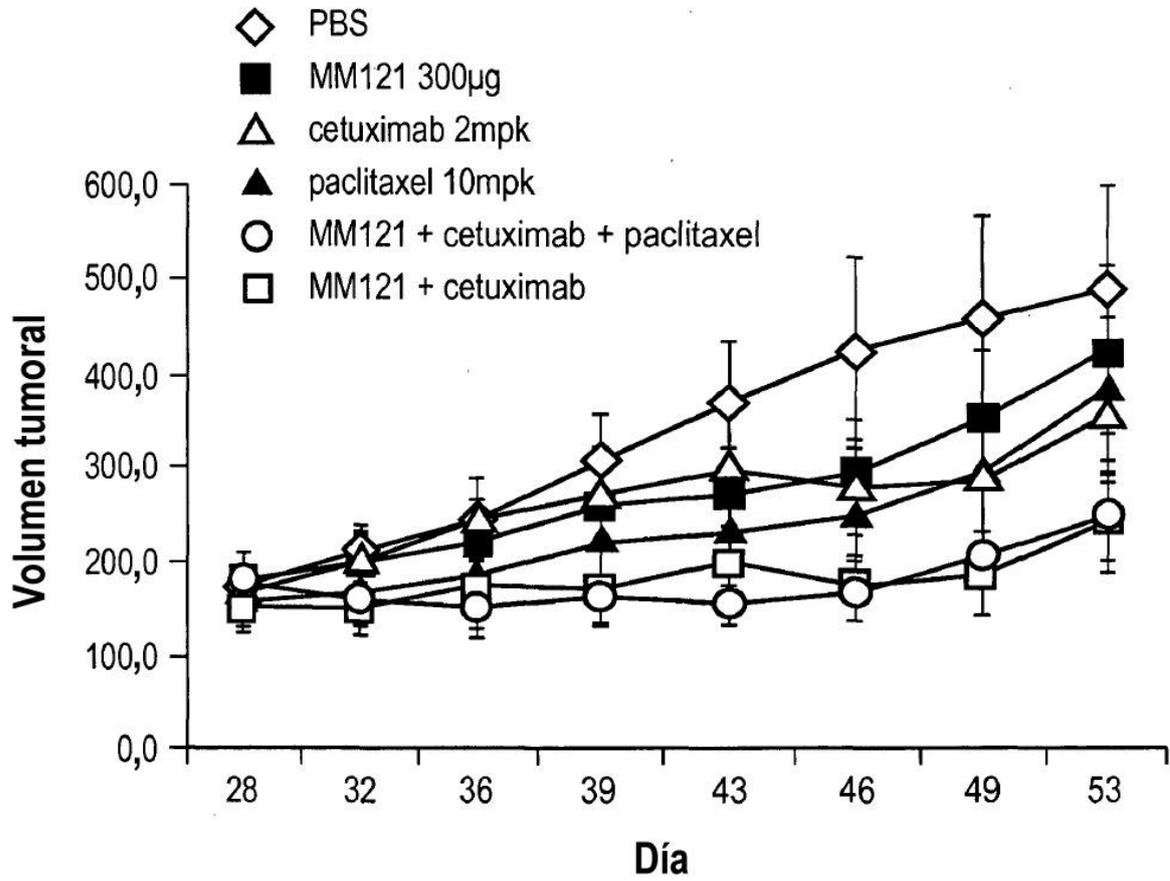


Fig. 4A

MDA MB231 MM121 + erlotinib + paclitaxel

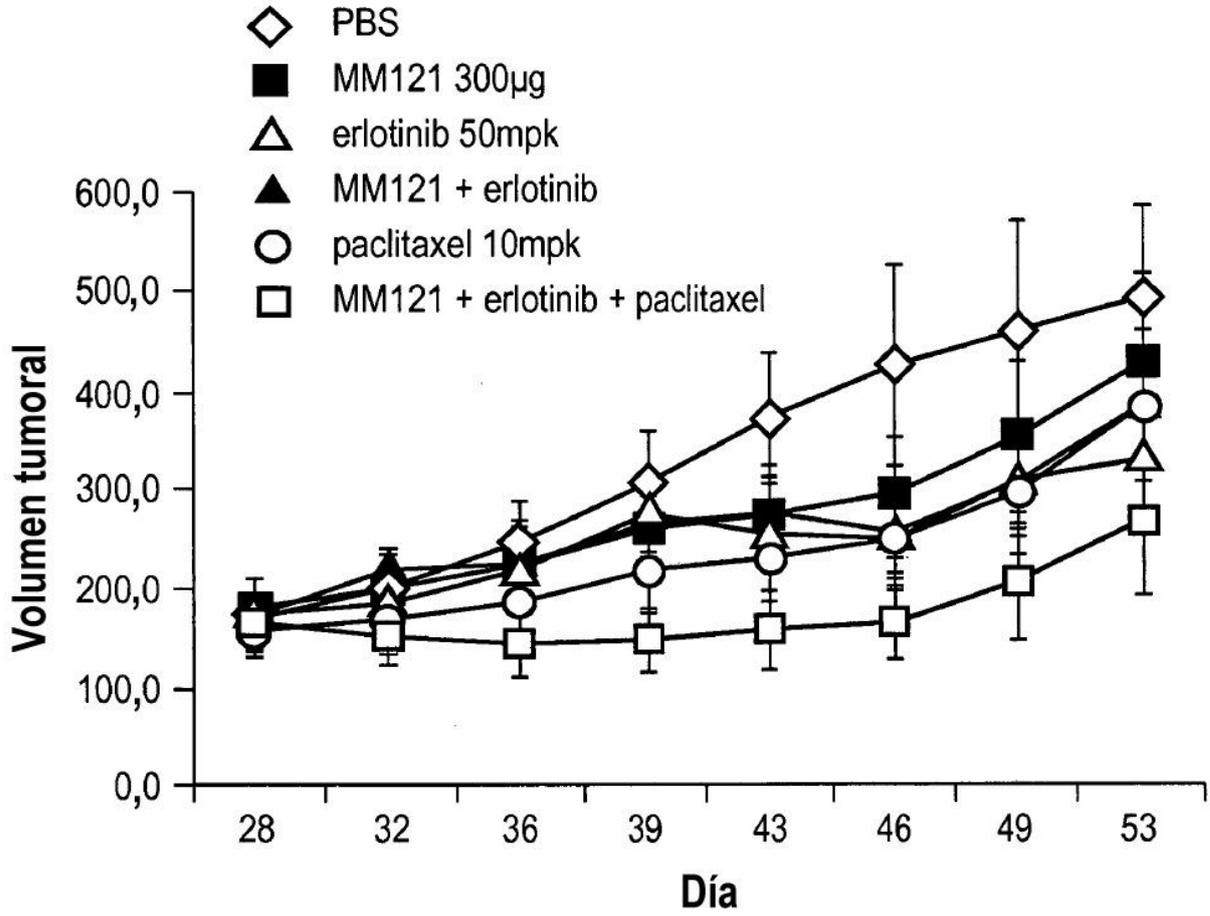


Fig. 4B