

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 508**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/48** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.01.2015 E 15701106 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2948184**

54 Título: **CAFs de duocarmicina que presentan una mejora en la actividad antitumoral in vivo**

30 Prioridad:

**10.01.2014 EP 14150791**  
**10.10.2014 EP 14188450**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**29.06.2016**

73 Titular/es:

**SYNTHON BIOPHARMACEUTICALS B.V. (100.0%)**  
**Microweg 22**  
**6545 CM Nijmegen, NL**

72 Inventor/es:

**DOKTER, WILLEM;**  
**GOEDINGS, PETER JOHANNES;**  
**VERHEIJDEN, GIJSBERTUS FRANCISCUS**  
**MARIA y**  
**BEUSKER, PATRICK HENRY**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 575 508 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

CAFs de duocarmicina que presentan una mejora en la actividad antitumoral *in vivo*

5 **Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a conjugados anticuerpo-fármaco (CAFs) que contienen duocarmicina para su uso en el tratamiento de tumores sólidos y neoplasias hematológicas humanas que expresan el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), en particular, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, osteosarcoma y leucemia linfoblástica aguda.

**Antecedentes de la presente invención**

15 Los anticuerpos se han conjugado en diversos fármacos citotóxicos, incluyendo moléculas pequeñas que alquilan o reticulan ADN (p. ej., duocarmicinas y calicheamicinas o dímeros de pirrolobenzodiazepina, respectivamente), o alteran los microtúbulos (p. ej., maitansinoides y auristatinas) o se unen al ADN (p. ej., antraciclinas). Uno de estos CAFs comprende un anticuerpo anti-CD33 humanizado conjugado a calicheamicina - Mylotarg™ (gemtuzumab ozogamicina, Wyeth) - se aprobó en el año 2000 para la leucemia mieloide aguda. En 2011, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (AAM) aprobó Adcetris™ (brentuximab vedotina, Seattle Genetics), un CAF que comprende un anticuerpo quimérico contra CD30 conjugado a monometil auristatina E (MMAE) para el tratamiento del linfoma de Hodgkin y el linfoma anaplásico de células grandes.

25 Las duocarmicinas, aisladas primero de un caldo de cultivo de especies *Streptomyces*, son miembros de una familia de antibióticos antitumorales que incluyen duocarmicina A, duocarmicina SA, y CC-1065. Estos agentes extremadamente potentes derivan supuestamente su actividad biológica a partir de una capacidad para secuenciar selectivamente el alquilato de ADN en la posición N3 de adenina en el surco menor, que inicia una cascada de acontecimientos que producen la muerte celular del tumor.

30 El documento WO2011/133039A desvela una serie de nuevos análogos del agente alquilante de ADN CC-1065 y CAFs orientados selectivamente a HER2 de los mismos. En el Ejemplo 15, un número de conjugados de trastuzumabduocarmicina se ensayaron contra N87 (es decir, xenoinjertos HER2 por IHQ (inmunohistoquímica) 3+ en tumor gástrico) en ratones desnudos. Los resultados se muestran en las Figuras 4A, 4B y 4C. Tras el tratamiento con una dosis única de 12 mg/kg IV, los seis CAFs redujeron el volumen tumoral y mejoraron la supervivencia en comparación con el propio anticuerpo trastuzumab y el vehículo de control, sin afectar negativamente al peso corporal. Se concluyó que los conjugados que contienen un enlazador relativamente corto poseen una mejor eficacia (antitumoral) que el conjugado correspondiente con un enlazador relativamente largo, y se demostró que tanto la naturaleza del enlazador como la naturaleza del fármaco poseen también un efecto sobre la eficacia.

40 El cáncer de mama sigue siendo la neoplasia maligna más común entre las mujeres de todo el mundo. El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, que exhibe un amplio intervalo de comportamientos clínicos y pronósticos. El cáncer de mama es un crecimiento maligno anormal de las células epiteliales de los lóbulos o conductos de la leche de las glándulas mamarias. El tejido canceroso puede localizarse exclusivamente en el lugar de origen (cáncer *in situ*) o puede haberse invadido por la membrana basal en el tejido circundante (cáncer invasivo). El cáncer metastásico se produce tan pronto como las células cancerosas se han expandido a través de los vasos linfáticos y sanguíneos a otros órganos. La diferenciación histológica y caracterización de las células del cáncer de mama se llevan a cabo con el uso de biomarcadores.

50 La clasificación molecular del cáncer de mama en las decisiones terapéuticas consiste principalmente en la evaluación del receptor de estrógenos (RE), receptor de progesterona (RP), y estado de expresión del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2). Esto implica que pueden diferenciarse tres tipos a nivel mundial de cáncer de mama: (1) tejido de cáncer de mama con expresión del receptor hormonal (RE o RP) sin sobreexpresión de HER2, (2) tejido de cáncer de mama con sobreexpresión de HER2, con o sin expresión del receptor hormonal (RH), y (3) tejido de cáncer de mama que no presenta expresión del receptor hormonal o receptor HER2 terapéuticamente relevante, el denominado cáncer de mama triple negativo (CMTN).

60 Los pacientes con cáncer de mama con receptor hormonal (RH) en estado positivo de tejido canceroso (aprox. 60-70 % de todos los pacientes con cáncer de mama) presentan un mejor pronóstico que aquellos con o sin un estado de receptor hormonal mínimo. Por el contrario, los pacientes cuyo tumor presenta una IHQ 3+ o IHQ 2+/HISF (hibridación *in situ* fluorescente) en estado positivo (se produce en aproximadamente el 20 % de todos los casos de cáncer de mama) tienen un peor pronóstico en comparación con los pacientes con cáncer de mama cuyos tumores presentan un grado inferior de expresión en la membrana de HER2 o una tasa de amplificación negativa por HISF. Ahora que los pacientes con receptor hormonal positivo y tejido de cáncer de mama que sobreexpresa HER2 tienen la opción de una terapia de orientación selectiva, el cáncer de mama triple negativo implica el peor pronóstico, ya que sólo la quimioterapia con eficacia limitada está disponible para estos pacientes cuyo tumor es RE, RP y HER2 negativo.

Herceptin™ (trastuzumab), un anticuerpo monoclonal IgG1 humanizado recombinante contra HER2, se aprobó en los EE. UU. por la AAM en 1998 para el tratamiento con adyuvantes en el cáncer de mama que sobreexpresa HER2 y para el tratamiento del cáncer de mama y cáncer gástrico metastásico que sobreexpresan HER2, es decir, HER2 por IHQ 3+ o HER2 por IHQ 2+/HISF positivo. El fármaco se aprobó en Europa por la AEM en el año 2000.

5 Los estudios clínicos con pacientes que padecen enfermedad de cáncer de mama metastásico han demostrado que sólo existe eficacia clínica relevante del tratamiento con trastuzumab si el paciente posee un tumor con sobreexpresión de HER2 por IHQ o amplificación génica positiva por HISF. Por este motivo, los algoritmos del ensayo de HER2 actuales se dirigen a la identificación de aquellos pacientes con más probabilidades de lograr un beneficio significativo a partir de la orientación selectiva a HER2. Mientras que la expresión en la membrana de HER2 es biológicamente un continuo de una sobreexpresión baja a elevada, aprobada por los ensayos por IHQ, como HercepTest™ (Dako, Glostrup, Dinamarca), categoriza el estado de HER2 en una puntuación semicuantitativa que fluctúa de 0 a 3+. Se asigna una puntuación por IHQ de 3+ si existe una fuerte tinción en la membrana circunferencial en >10 % de las células cancerosas. Se asigna una amplificación génica positiva por HISF si la tasa de amplificación relativa al centrómero es  $\geq 2,0$ . Se identifican a los pacientes que podrían beneficiarse del tratamiento con trastuzumab u otros agentes de orientación selectiva a HER2. Un análisis de 6.556 cánceres de mama reveló que aproximadamente el 92 % de los tumores con una puntuación de 3+ para HER2 tuvieron una amplificación génica positiva por HISF. En cambio, se observó la amplificación de HER2 a tasas inferiores en tumores con puntuaciones de 2+ (23,3 %), 1+ (7,4 %), y 0 (4,1 %). Con la amplificación de HER2 como un indicador de riesgo establecido de la respuesta a los agentes orientados selectivamente a HER2, el algoritmo actual exige ensayos por HISF de tumores con una puntuación para HER2 por IHQ de 2+.

25 Ado-trastuzumab emtansina o trastuzumab emtansina (Kadcyla™, T-DM1) es un CAF en el que trastuzumab se conjuga al agente citotóxico anti-tubulina maitansina DM1. T-DM1 presenta actividad antitumoral en modelos de xenoinjertos tumorales que no responden a la terapia con trastuzumab como agente único. En el ensayo en Fase 3 EMILIA, los pacientes con cáncer de mama avanzado HER2 positivo, tratados previamente con trastuzumab y un taxano, se asignaron al azar para recibir T-DM1 o lapatinib más capecitabina. El tratamiento con T-DM1 efectuó un tiempo de supervivencia libre de progresión y global significativamente mayor en comparación con el tratamiento del grupo de control.

30 Kadcyla™ (T-DM1) se aprobó en los EE. UU. por la AAM en febrero de 2013 para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico HER2 positivo que recibieron tratamiento previo con trastuzumab y un taxano. El fármaco se aprobó en Japón por el MSTB (Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar) en septiembre de 2013 y en Europa por la AEM en noviembre de 2013. El régimen aprobado en la actualidad comprende una dosificación de 3,6 mg/kg de peso corporal IV cada tres semanas. Se investiga una dosificación de 2,4 mg/kg de peso corporal IV semanal en un estudio en curso en Fase II con una combinación de T-DM1 y capecitabina para la 2ª línea de tratamiento para pacientes con cáncer de mama o cáncer gástrico y en un estudio en curso en Fase III que investiga T-DM1 contra un taxano como 2ª línea de tratamiento para pacientes con cáncer gástrico. Un estudio en Fase III también se encuentra en desarrollo para la combinación de T-DM1 con pertuzumab para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico o localmente avanzado HER2 positivo.

45 A pesar de la mejora que la introducción de T-DM1 en la práctica clínica trajo con trastuzumab para el tratamiento de cáncer de mama metastásico HER2 positivo, el uso de T-DM1 se asocia con un número de efectos secundarios graves, principalmente trombocitopenia, hepatotoxicidad, y neuropatía (degeneración axonal irreversible). Además, ni trastuzumab ni T-DM1 se autorizan para el tratamiento de tumores sólidos humanos y neoplasias hematológicas con expresión de HER2 moderada o baja, es decir IHQ 2+ o 1+ y/o estado de amplificación de HER2 negativo por HISF del tejido canceroso.

50 En analogía del cáncer de mama, la expresión de HER2 indica un pobre pronóstico para pacientes con cáncer de ovario (A. Berchuck *et al.*, 1990, *Cancer Res.*, 50, 4087-4091; H. Meden y W. Kuhn, 1997, *Eur. J. Obstet. & Gynecol. Reprod. Biol.*, 71, 173-179). Las células SKOV3 se obtienen a partir del líquido ascítico de un paciente con adenocarcinoma ovárico. Esta línea celular sobreexpresa HER2 y se emplea con frecuencia para la investigación exploratoria *in vitro* e *in vivo* de agentes que se orientan selectivamente a HER2. Trastuzumab y pertuzumab poseen varios efectos anticancerosos en esta línea celular (N. Gaborit *et al.*, 2011, *J. Biol. Chem.*, 286, 13, 11337-11345). Hasta ahora, la monoterapia con los anticuerpos trastuzumab y pertuzumab anti-HER2 poseía una eficacia modesta (G. M. Mantia Smaldone *et al.*, 2011, *Cancer Management Res.* 3, 25-38; S. P. Langdon *et al.*, 2010, *Expert Opin. Biol. Ther.* 10:7, 1113-1120). El efecto antitumoral se aumenta notablemente si un anticuerpo orientado selectivamente a HER2 se combina con quimioterapia (S. Makhija *et al.*, 2010, *J. Clin. Oncol.*, 28:7, 1215-1223; I. Ray-Coquard *et al.*, 2008, *Clin. Ovarian Cancer*, 1:1, 54-59).

60 Además, existe una gran necesidad médica para el tratamiento de la enfermedad de cáncer de vejiga en estadio terminal. La quimioterapia, p. ej., la combinación de cisplatino y gemcitabina para el cáncer de vejiga avanzado o metastásico, ha limitado la eficacia, ya que efectúa en el medio una tasa de respuesta inferior al 50 %, mientras que los pacientes tienen un tiempo de supervivencia global de 6 a 12 meses. En caso de resistencia a la quimioterapia no existe ninguna opción de tratamiento convencional. La positividad de HER2 se asoció significativamente con la reducción completa de las tasas de respuesta (50 % frente a 81,  $p = 0,026$ ) tras la quimiorradiación (A. Chakravarti

*et al.*, 2005, *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 62:2, 309-317). La adición de trastuzumab a un régimen de paclitaxel y carboplatino como tratamiento de primera línea para el cáncer de vejiga avanzado HER2 positivo mostró una tasa de respuesta global del 70 % y un tiempo de supervivencia global de 14,1 meses en un estudio en Fase II (M. H. A Hussain *et al.*, 2007, *J. Clin. Oncol.*, 25:16, 2218-24). En una aplicación casuística, un paciente con recidiva tumoral después de recibir quimioterapia convencional respondió a la combinación de trastuzumab, paclitaxel y carboplatino (D. Amsellem-Ouazana *et al.*, 2004, *Ann. Oncol.*, 15, 3, 538).

En caso de adenocarcinoma de cáncer de pulmón de células no pequeñas invasivo, la mutación y amplificación de HER2 se relacionan con un resultado desfavorable (M. Suzuki *et al.*, 2014, *Lung Cancer*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lungca.2014.10.014>). En pacientes con cáncer de pulmón con mutación de HER2, podría efectuarse una tasa de control de la enfermedad del 93 % con terapias a base de trastuzumab (J. Mazieres *et al.*, 2013, *J. Clin. Oncol.*, 31:16, 1997-2004). La quimiorresistencia del cáncer de pulmón se asocia a menudo con la expresión potenciada de HER2 (C.-M. Tsai *et al.*, 1993, *J. Natl. Cancer Inst.*, 85:11, 897-901; Z. Calikusu *et al.*, 2009, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 28:97) y la resistencia a los inhibidores de la tirosina quinasa se relaciona con la amplificación potenciada de HER2 (K. Takezawa *et al.*, 2012, *Cancer Discov.* 2(10), 922-33).

Los pacientes con cáncer de próstata precoz o avanzado reciben en su mayoría una terapia orientada selectivamente al receptor de andrógenos. Existe una estrecha relación de las funciones de señalización del receptor de andrógenos y HER2 (F.-N. Hsu *et al.*, 2011, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 300:E902-E908; L. Chen *et al.*, 2011, *Clin. Cancer Res.*, 17(19), 6218-28). La activación de HER2 suprime la expresión del receptor de andrógenos (C. Cai *et al.*, 2009, *Cancer Res.*, 69(12), 5202-5209), el aumento de la expresión de HER2 se asocia con la progresión, rápida proliferación y pobre diagnóstico de APE.

(S. Minner *et al.*, 2010, *Clin. Cancer Res.*, 16(5), 1553-1560; S. F. Shariat *et al.*, 2007, *Clin. Cancer Res.*, 13(18), 5377-84). El aumento de la expresión de HER2 parece estar implicado en la progresión a la independencia de andrógenos en aproximadamente una cuarta parte de los casos de cáncer de próstata (J. M. S Bartlett *et al.*, 2005, *J. Pathol.*, 205, 522-529).

El cáncer pancreático es uno de los tumores sólidos humanos más letales debido a su inicio insidioso y resistencia a la terapia. Gemcitabina o la combinación de 5-FU, leucovorina, irinotecán y oxaliplatino puede ayudar a prolongar la vida en pacientes con enfermedad avanzada (H. Burris y A. M. Storniolo, 1997, *Eur. J. Cancer* 33(1):S18-S22; T. Conroy *et al.*, 2011, *N. Engl J. Med.* 364(19): 1817-1825). Más recientemente, se informó que la expresión de HER2 también es predominante en el cáncer pancreático con una proporción igual del 10 % designada como HER2 2+ y 3+. Basándose en este hecho, el tratamiento orientado selectivamente a HER2 que comprende trastuzumab se considera una opción viable en esta población de pacientes sobre la base de los efectos observados en modelos preclínicos [C. Larbouret *et al.*, 2012, *Neoplasia* 14 (2), 121-130).

Empleando métodos de tinción y puntuación aceptados, se observó la sobreexpresión de HER2 en aproximadamente el 6 % de pacientes con cáncer colorrectal (CCR) (A. N. Seo *et al.*, 2014, *PLoS ONE*, 9(5): e98528). Basándose en esto, el tratamiento orientado selectivamente a HER2 puede ser eficaz en este subgrupo de pacientes con CCR. Dos ensayos clínicos han investigado el beneficio de la terapia de combinación que contiene trastuzumab en CCR avanzado o metastásico, y se observaron respuestas clínicas en estos ensayos que proporcionan evidencia de la eficacia del tratamiento (R. K. Ramanathan *et al.*, 2004, *Cancer Invest.* 22(6): 858- 865; J. Clark *et al.*, 2003, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 22: reseña 3584). Además, un estudio sugirió la inclusión de la terapia con trastuzumab como parte de regímenes de tratamiento para pacientes con CCR resistentes a cetuximab (anticuerpo monoclonal anti-RFCE) (A. Bertotti *et al.*, 2011, *Cancer Discov.* 1(6): 508-523).

La gestión del cáncer o carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello avanzado (CCECC) consiste en una terapia de modalidad múltiple con cirugía, radiación y quimioterapia. Beckhardt *et al.* describieron la elevada sobreexpresión de HER2 en el 16 % de las muestras de línea celular, y la expresión moderada y baja de HER2 en el 31 % y 35 % de las muestras, respectivamente (R. N. Beckhardt *et al.*, 1995, *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 121:1265-1270). Esto ilustra el posible potencial terapéutico del tratamiento con trastuzumab en CCECC.

En 1999, Gorlick *et al.* describieron la sobreexpresión de HER2 en 20 de 47 muestras de osteosarcoma, y demostraron que estos pacientes presentaron una pobre respuesta a la terapia y una disminución de la tasa de supervivencia en comparación con pacientes cuyos tumores no sobreexpresaron este antígeno (R. Gorlick *et al.*, 1999, *J. Clin. Oncol.* 17:2781-8). Por consiguiente, HER2 surgió como un candidato prometedor para la terapia biológica diana en esta indicación. Los hallazgos recientes de la investigación clínica empleando trastuzumab indican que el tratamiento anti-HER2 puede administrarse de forma segura en combinación con quimioterapia basada en antraciclina y dextrazoxano (D. Ebb *et al.*, 2012, *J. Clin. Oncol.* 30 (20), 2545-2551).

Además, la sobreexpresión de HER2 se observa en aproximadamente un tercio de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA), aún más frecuente en presencia de la translocación Filadelfia. La inhibición de HER2 induce la apoptosis de las células de leucemia *in vitro* (M. E. Irwin *et al.*, 2013, *PLoS ONE.*, 8:8, e70608). En un estudio en Fase II, se demostró que el tratamiento con trastuzumab en pacientes adultos con LLA B refractarios o recidivantes con sobreexpresión de HER2 en linfocitos B malignos produjo una tasa de respuesta global del 13 %, lo

que muestra la respuesta de esta enfermedad con respecto a un agente orientado selectivamente a HER2 (P. Chevalier *et al.*, *Blood*, 2012, DOI 10.1182/blood-2011-11-390781).

5 Por consiguiente, existe una necesidad de nuevas terapias orientadas selectivamente a HER2, en particular, para el tratamiento de pacientes con tumores y neoplasias que presentan (i) un estado moderado o bajo por IHQ, y/o (ii) un estado por HSF negativo, y/o (iii) un estado negativo del receptor hormonal (RH) del tejido canceroso. En particular, se requieren nuevas terapias aprobadas reguladoras para el tratamiento diana del cáncer de mama triple negativo (CMTN).

## 10 Breve descripción de la presente invención

La presente invención se refiere a conjugados anticuerpo-fármaco (CAFs) que contienen duocarmicina para su uso en el tratamiento de tumores sólidos humanos que expresan HER2, en el que el tumor sólido humano es HER2 por IHQ 2+ o 1+, en particular, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, 15 cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, osteosarcoma y leucemia linfoblástica aguda.

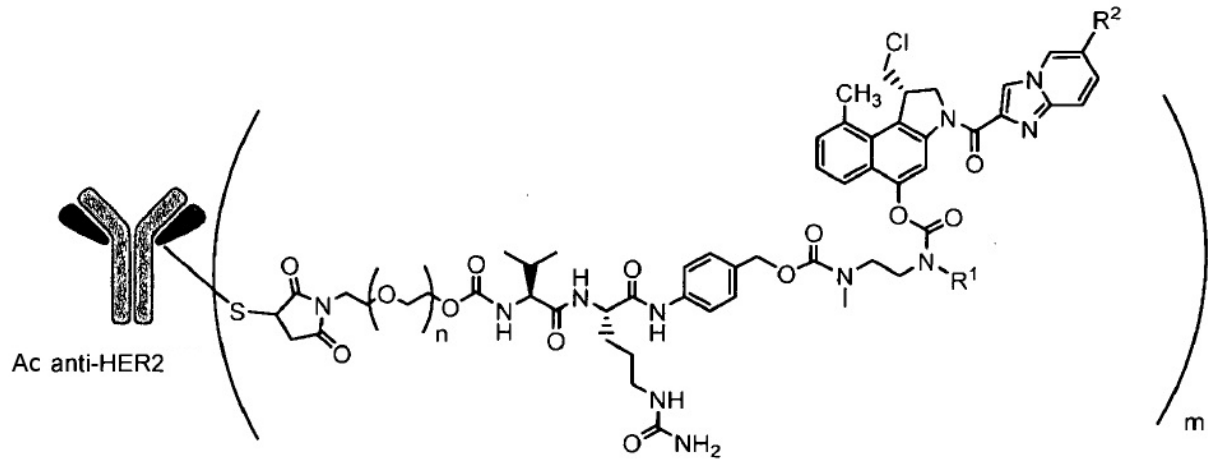
### Breve descripción de los dibujos

20 Figura 1. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD MAXF-1162 (cáncer de mama, adenocarcinoma, HER2 por IHQ 3+, HER2 positivo por HSF) (OIC: Oncotest).  
 Figura 2. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD HBCx-34 (cáncer de mama, carcinoma ductal, HER2 por IHQ 2+, HER2 negativo por HSF, RE y RP positivos) (OIC: XenTech).  
 25 Figura 3. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD MAXF 449 (cáncer de mama, carcinoma ductal invasivo, HER2 por IHQ 1+, HER2 negativo por HSF, RE y RP negativos, es decir, cáncer de mama triple negativo) (OIC: Oncotest).  
 Figura 4. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD HBCx-10 (cáncer de mama, adenocarcinoma ductal, HER2 por IHQ 1+, HER2 negativo por HSF, RE y RP negativos, es decir, 30 cáncer de mama triple negativo) (OIC: XenTech).  
 Figura 5. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD MAXF-MX1 (cáncer de mama, carcinoma ductal invasivo, HER2 por IHQ 1+, HER2 negativo por HSF, RE y RP negativos, es decir, cáncer de mama triple negativo) (OIC: Oncotest).  
 Figura 6. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD ST313 (cáncer de 35 mama, HER2 por IHQ 2+, HER2 negativo para HSF, RE y RP positivos) (OIC: Start).  
 Figura 7. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD GXA3057 (cáncer gástrico, HER2 por IHQ 1+, HER2 negativo por HSF) (OIC: Oncotest).  
 Figura 8. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD GXA3067 (cáncer gástrico, HER2 por IHQ 2+, HER2 positivo por HSF) (OIC: Oncotest).  
 40 Figura 9. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD GXA3054 (cáncer gástrico, HER2 por IHQ 3+, HER2 positivo por HSF) (OIC: Oncotest).  
 Figura 10. Actividad antitumoral de SYD985 en comparación con T-DM1 en el modelo de XPD GXA3038 (cáncer gástrico, HER2 por IHQ 2+, HER2 negativo por HSF) (OIC: Oncotest).  
 Figura 11. Actividad antitumoral de SYD985 en el modelo de XPD BXF439 (cáncer de vejiga, HER2 por IHQ 3+, HER2 positivo por HSF) (OIC: Oncotest).  
 45 Figura 12. Actividad antitumoral de SYD983 en el modelo de xenoinjerto derivado de la línea celular SKOV3 (cáncer de ovario, HER2 por IHQ 2+, HER2 positivo por HSF) (OIC: Piedmont).

### Descripción detallada de la presente invención

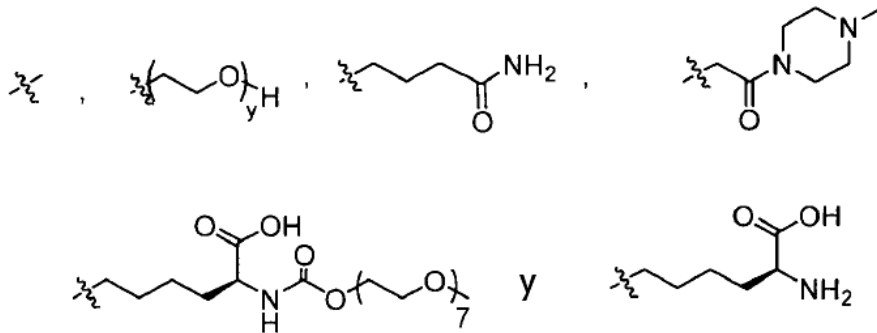
50 La presente invención se refiere a CAFs que contienen duocarmicina para su uso en el tratamiento de tumores sólidos humanos que expresan HER2, en el que el tumor sólido humano es HER2 por IHQ 2 + o 1+.

En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



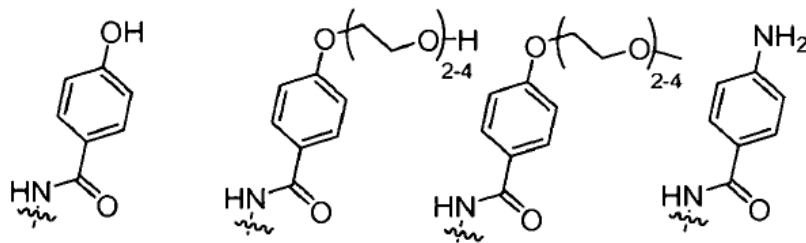
en la que

- 5 Ac anti-HER2 es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo anti-HER2, n es 0-3, preferentemente 0-1, m representa una RAF media (relación de anticuerpo a fármaco) de 1 a 4, R<sup>1</sup> se selecciona entre



10

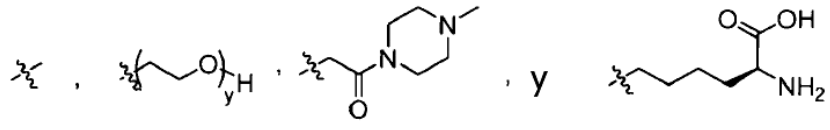
y es 1-16, y R<sup>2</sup> se selecciona entre



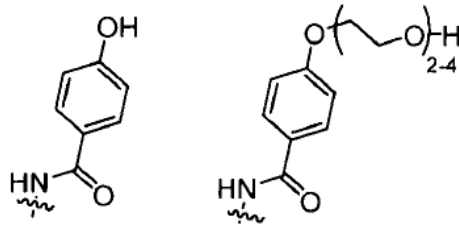
15

para su uso en el tratamiento de tumores sólidos humanos que expresan HER2, en el que el tumor sólido humano es HER2 por IHQ 2 + o 1+.

- 20 En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), en la que Ac anti-HER2 es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo anti-HER2, n es 0-1, m representa una RAF media de 1 a 4, preferentemente de 2 a 3, R<sup>1</sup> se selecciona entre



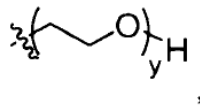
y es 1-16, preferentemente 1-4, y R<sup>2</sup> se selecciona entre



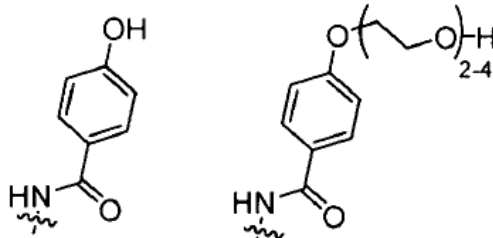
5

En una realización adicional, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), en la que el Ac anti-HER2 es un anticuerpo monoclonal anti-HER2, n es 0-1, m representa una RAF media de 2 a 3, preferentemente 2,5 a 2,9, R<sup>1</sup> se selecciona entre

10



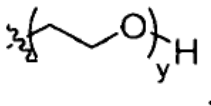
y es 1-4, y R<sup>2</sup> se selecciona entre



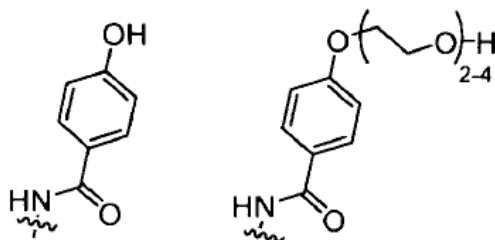
15

En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), en la que el Ac anti-HER2 es trastuzumab o un biosimilar del mismo, n es 0-1, m representa una RAF media de 2 a 3, preferentemente 2,5 a 2,9, R<sup>1</sup> se selecciona entre

20

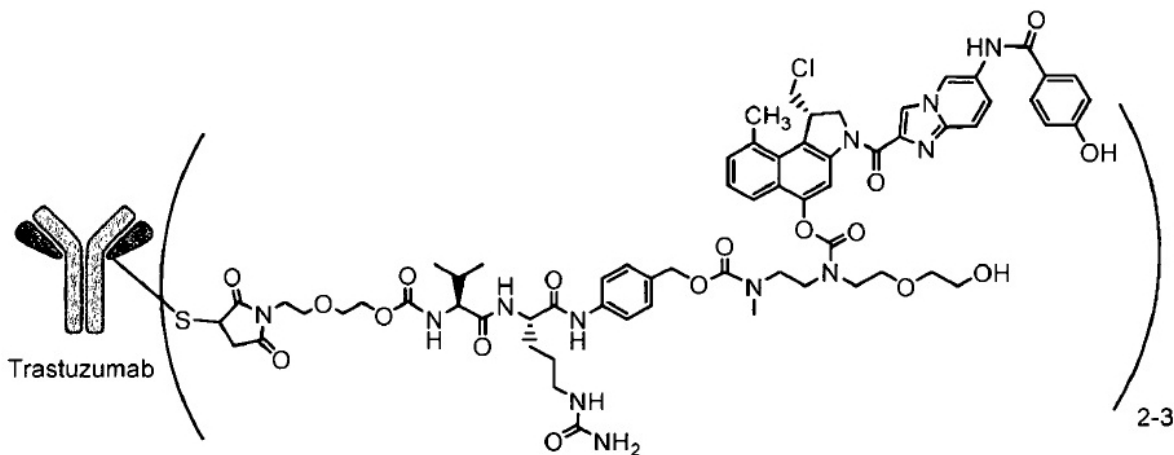


y es 1-4, y R<sup>2</sup> se selecciona entre



En una realización preferente, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (II), que comprende trastuzumab o un biosimilar del mismo

5



El compuesto de fórmula (II) referido como SYD985 en la presente memoria descriptiva presenta una RAF media de 2,6 a 2,9. SYD983 de fórmula (II) presenta una RAF media de 2,0.

10

En las fórmulas estructurales mostradas en la presente memoria descriptiva, n representa un número entero de 0 a 3, mientras que m representa una relación de anticuerpo a fármaco (RAF) media de 1 a 4. Como se conoce adecuadamente en la materia, RAF y la distribución de carga del fármaco pueden determinarse, por ejemplo, utilizando cromatografía de interacción hidrófoba (CIH) o cromatografía líquida de alto rendimiento en fase inversa (CLAT-FI). CIH resulta particularmente adecuada para determinar el promedio de RAF.

15

Ejemplos de tumores sólidos humanos que pueden tratarse según la presente invención son cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, y osteosarcoma, en particular, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer de pulmón y cáncer de próstata, más particularmente, cáncer de mama, cáncer gástrico, y cáncer de vejiga (véase también S. Scholl *et al.*, 2001, *Ann. Oncol.*, 12(1): S81-S87). Un ejemplo de neoplasia hematológica que no se trata según la presente invención reivindicada es leucemia linfoblástica aguda (LLA). El alcance de la presente invención, sin embargo, no se limita a estos ejemplos específicos.

25

En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o (II) para su uso en el tratamiento del cáncer de mama, cáncer gástrico o cáncer de vejiga, particularmente, cáncer de mama o cáncer gástrico, especialmente cáncer de mama. Dicho cáncer de mama, es un receptor hormonal (RE y/o RP) positivo o negativo, ventajosamente RE y RP negativos.

30

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o (II) para su uso en el tratamiento de tumores sólidos humanos que muestran expresión moderada o baja de HER2 (es decir, HER2 por IHQ 2+ o 1+).

35

En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o (II) para su uso en el tratamiento de tumores sólidos humanos sin amplificación génica de HER2 (es decir, HER2 negativo por HISF).

De manera inesperada, los presentes inventores han hallado que los compuestos de CAF que contienen duocarmicina de la presente invención pueden utilizarse en particular para el tratamiento de tumores sólidos humanos, especialmente cáncer de mama y cáncer gástrico, con una expresión moderada o baja de HER2 (es decir,



HER2 por IHQ 2+ o 1+) y posiblemente sin amplificación génica de HER2 (es decir, HER2 negativo por HISF). Ni trastuzumab ni T-DM1 obtuvieron la aprobación de comercialización para el tratamiento en pacientes con este tipo de tumores. Es más, como se muestra en los siguientes Ejemplos y Figuras del presente documento, T-DM1 carece de eficacia en este tipo de tumores. Por consiguiente, los compuestos de CAF que contienen duocarmicina de la presente invención pueden utilizarse para el tratamiento de grupos de pacientes para los que no existe actualmente una terapia disponible orientada selectivamente a HER2. Los compuestos de CAF que contienen duocarmicina que se ensayaron en ratones con xenoinjerto N87 (es decir HER2 por IHQ 3+ en tumor gástrico) en el Ejemplo 15 del documento WO2011/133039A demostraron de hecho eficacia tras una dosis única IV de 12 mg/kg. No obstante, no hay nada en este documento que sugiera al experto en la materia ensayar - y mucho menos esperar encontrar eficacia - en tumores que expresan HER2 en menor grado (es decir, HER2 por IHQ 2+ o 1+) y/o sin amplificación génica de HER2 (es decir, HER2 negativo por HISF), en una dosis de 3 mg/kg.

Sorprendentemente, los presentes inventores hallaron que los compuestos de CAF que contienen duocarmicina de fórmula (I) o (II) muestran una mejora de la actividad antitumoral *in vivo* en modelos de tumores animales en comparación con T-DM1 (véanse los Ejemplos y las Figuras) y trastuzumab cuando se administran a la misma dosis. En particular, se descubrió que la mejora era mayor en modelos tumorales con el menor grado de expresión de HER2 (es decir, HER2 por IHQ 1+), en particular en el cáncer de mama (triple negativo) y cáncer gástrico.

En una realización ventajosa de la presente invención, el tumor sólido humano es cáncer de mama o cáncer gástrico que muestra la expresión moderada o baja de HER2 (es decir, HER2 por IHQ 2+ o 1+) sin amplificación génica de HER2 (es decir, HER2 negativo por HISF).

En una realización particularmente ventajosa de la presente invención, el tumor sólido humano es cáncer de mama triple negativo (es decir, HER2 por IHQ 2+ o 1+, HER2 negativo por HISF, RE y RP negativos).

Generalmente, la actividad antitumoral se evalúa por primera vez en líneas celulares tumorales (humanas) *in vitro* seguido por la evaluación *in vivo*. La actividad antitumoral de los CAFs en el alcance de la presente invención se evalúa ventajosamente en modelos animales, normalmente ratones inmunodeficientes con un xenoinjerto subcutáneo. El xenoinjerto o bien puede ser una línea celular tumoral (humana) o un tumor (primario) derivado del paciente. Preferentemente, el modelo animal es un modelo de xenoinjerto de tumor derivado de paciente (XDP).

Los tumores humanos en modelos de XPD conservan las características biológicas del tumor original como se evaluó mediante examen microscópico. Los modelos de XPD se utilizan ahora rutinariamente en muchas instituciones académicas y se ofrecen comercialmente en una serie de organizaciones de investigación por contrato (OIC), incluyendo Jackson Lab (EE. UU.), Oncotest (Alemania), Molecular Response (EE. UU.), Charles River (EE. UU.), Oncodesign (Francia), XenTech (Francia), Champions Oncology (EE. UU.), y Start (EE.UU.). Muchos han demostrado la retención de características morfológicas e inmunohistoquímicas del tumor humano original en el xenoinjerto. Además de la estrecha relación con lo que respecta a las características biológicas, los modelos de XPD tienen un valor diagnóstico muy bueno para el resultado clínico terapéutico. En general, se podría afirmar que los informes de diferentes fuentes indican al menos 90 % de la replicación correcta de la respuesta a la terapia en XPD en comparación con respecto al del paciente, tanto en términos de sensibilidad como de resistencia del tumor a la terapia (sitio web Champions Oncology, <http://www.championsoncology.com/translational-oncology-solutions/predictive-value>; Fiebig *et al.*, 1984, Behring Inst. Mitt. 74:343-352; Hidalgo *et al.*, 2011, *Mol. Cancer Ther.* 10:1311-1316).

Según la presente invención, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo anti-HER2 puede ser cualquier anticuerpo o fragmento de anticuerpo capaz de unirse a HER2, p. ej., un anticuerpo IgG1 que posee las regiones determinantes de la complementariedad (RDCs) de trastuzumab o un anticuerpo que muestra la unión competitiva con trastuzumab. Un anticuerpo preferente es un anticuerpo monoclonal anti-HER2. Un anticuerpo monoclonal particularmente preferente es trastuzumab o un biosimilar del mismo.

Los compuestos conjugados anticuerpo-fármaco (CAF) de fórmula (I) y (II) según la presente invención tienen el enlazador-fármaco conjugado al anticuerpo a través del átomo S de un residuo de cisteína, es decir, son conjugados anticuerpo-fármaco unidos a cisteína. El residuo de cisteína puede ser o bien un residuo de cisteína natural que está presente en la cadena pesada y/o ligera del anticuerpo (Ac) y forma enlaces disulfuro intercatenarios, o un residuo de cisteína desarrollado por ingeniería genética que se introduce en el Ac en una o más posiciones adecuadas en la cadena pesada y/o ligera. La presente invención está particularmente concebida con respecto a los compuestos de CAF, en los que el enlazador-fármaco se conjuga a través de enlaces disulfuro intercatenarios de Acs, más particularmente Acs monoclonales (AMs). Los anticuerpos de diferentes clases de anticuerpos contienen diferentes números de enlaces disulfuro intercatenarios. Por ejemplo, los anticuerpos IgG1 poseen generalmente cuatro enlaces disulfuro intercatenarios, los cuatro situados en la región de bisagra, y tras la reducción (parcial) de los enlaces disulfuro, el enlazador-fármaco se une al azar a los grupos tiol libres.

Los compuestos de fórmula (I) y (II) para su uso según la presente invención pueden obtenerse de acuerdo con los métodos y procedimientos conocidos adecuadamente por un experto en la materia. La conjugación a través de enlaces disulfuro intercatenarios puede producirse tras la reducción total o parcial de dichos enlaces disulfuro. Los

métodos adecuados para preparar dichos compuestos pueden hallarse en la descripción y ejemplos del documento WO2011/133039A del solicitante. En particular, el Ejemplo 15 del documento WO2011/133039A describe la reducción parcial de trastuzumab para generar 2 grupos tiol libres por AM y la conjugación con un número de enlazadores-fármacos a CAFs con una RAF media de aprox. 2. Los expertos en la materia entienden fácilmente la obtención de CAFs con una RAF media de 1 a 4. Los Ejemplos 7 y 8 del documento WO2005/084390A describen la reducción parcial, la reducción parcial/reoxidación parcial, y las estrategias de reducción completa de la carga (parcial) de los anticuerpos con el enlazador-fármaco vcMMAE.

El estado de IHQ e HISC del tejido tumoral se determina por ensayos, procedimientos y equipos conocidos. Según la presente invención, la amplificación génica de HER2 puede medirse utilizando fluorescencia (HISF) o cromogénica (HISC) o cualquier otro en un ensayo de hibridación *in situ*. Se disponen comercialmente ensayos adecuados para la determinación del estado de la expresión en la membrana de HER2 del tejido tumoral como HercepTest™ (Dako Denmark). Otros ensayos por IHQ para HER2 se comercializan en Ventana Medical Systems (anti-HER2/neu de PATHWAY), BioGenex Laboratories (HER2/neu de InSite™), y Leica Biosystems (HER2 por IHQ de Bond Oracle™). Los ensayos por HISF/HISC pueden obtenerse en Abbott Molecular (kit de sonda ADN HER2 de PathVysion), Life Technologies (Kit HER2 por HISC de SPOT-Light®), Dako Denmark (Kit HER2 por HISC de PharmDx™), Dako Denmark (kit HER2 por HISF de PharmDx™), y Ventana Medical Systems (cóctel de sonda de ADN HER2 por HIS dual de INFORM). HISF positivo significa una relación de amplificación de  $HISF \geq 2,0$  (p. ej., mediante el kit de ensayo HER2 por HISF de Dako pharmDx™). HISF negativo significa una relación de amplificación de  $HISF < 2,0$ .

Los tumores que expresan HER2, HER2 por IHQ 2+ o 1+, que pueden tratarse ventajosamente según la presente invención son cáncer de mama y cáncer gástrico, en particular, cáncer de mama, más particularmente, cáncer de mama negativo triple. Inesperadamente, los presentes inventores han descubierto que los compuestos de CAF según la presente invención eran eficaces, en particular, en modelos de XPD con cáncer de mama que son HER2 por IHQ 2+ o 1+ e HISF negativo, en modelos de XPD con cáncer de mama triple negativo, y en modelos de XPD con cáncer gástrico que son HER2 por IHQ 2+ o 1+ e HISF negativo, como se muestra en los siguientes Ejemplos y Figuras del presente documento. En vista del hecho de que los modelos de XPD tienen un valor diagnóstico muy bueno para el resultado clínico terapéutico, estos hallazgos ofrecen sobre todo una nueva opción de tratamiento orientado selectivamente a HER2 para los cánceres de mama y gástricos para los que actualmente no existe tal opción de tratamiento disponible aprobado.

La presente invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o (II) para el tratamiento de pacientes con tumores sólidos humanos que expresan HER2, que son HER2 por IHQ 2+ o 1+ y que son posiblemente HER2 negativo por HISF como se ha descrito en el presente documento previamente.

La presente invención se refiere además al uso de una combinación de un compuesto de fórmula (I) o (II) con un anticuerpo terapéutico y/o un agente quimioterapéutico, para el tratamiento de tumores sólidos humanos que expresan HER2, que son HER2 por IHQ 2+ o 1+, más particularmente para el tratamiento del cáncer de mama triple negativo.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo terapéutico es pertuzumab, bevacizumab, ramucirumab o trastuzumab y el agente quimioterapéutico es i) un taxano, en particular, docetaxel, paclitaxel, nab-paclitaxel, o cabazitaxel, ii) un inhibidor mitótico, en particular, eribulina, vinorelbina o vinblastina, iii) un agente que daña el ADN, en particular, 5-fluoro-uracilo, capecitabina, gemcitabina, temozolomida, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, ciclofosfamida o ifosfamida, iv) un antifolato, particularmente pemetrexed o metotrexato, v) una antraciclina, en particular, mitoxantrona, doxorubicina, doxorubicina liposomal, epirubicina, daunorubicina o valrubicina, más particularmente doxorubicina, vi) un inhibidor mTOR (diana de rapamicina en mamífero), en particular, temsirolimus o everolimus, vii) un inhibidor de la topo-isomerasa, particularmente, irinotecán o topotecán, viii) un inhibidor de la tirosina quinasa, particularmente, gefitinib, erlotinib, pazopanib, crizotinib, lapatinib o afatinib, ix) un agente modulador del receptor de andrógenos, especialmente enzalutamida o abiraterona acetato, x) una hormona esteroide, particularmente prednisona, xi) un agente terapéutico hormonal, en particular, tamoxifeno, xii) un inhibidor de la aromatasa o un agente modificador de esteroides, en particular, anastrozol, letrozol, fulvestrant o exemestano, o xiii) un inhibidor de PARP, en particular, olaparib. El experto en la materia no tendrá dificultad en seleccionar terapias de combinación adecuadas para su uso en el tratamiento de tumores sólidos humanos y neoplasias hematológicas que expresan HER2.

En otra realización de la presente invención, el anticuerpo terapéutico es pertuzumab y el agente quimioterapéutico es un taxano, en particular, docetaxel o paclitaxel, o una antraciclina, en particular, doxorubicina, epirubicina, daunorubicina o valrubicina, más particularmente doxorubicina.

La presente invención se refiere además al uso de una combinación de un compuesto de fórmula (I) o (II) con otro CAF, como por ejemplo T-DM1, para el tratamiento de tumores sólidos humanos que expresan HER2, que son HER2 por IHQ 2+ o 1+.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o (II) o una combinación con un anticuerpo terapéutico y/o un agente quimioterapéutico de los mismos como se

ha descrito en el presente documento previamente, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las formulaciones farmacéuticas típicas de proteínas terapéuticas, tales como anticuerpos monoclonales y conjugados anticuerpo-fármaco (monoclonales) tienen forma de polvos o tortas liofilizados, que requieren disolución (acuosa) (es decir, reconstitución) antes de la infusión intravenosa, o soluciones congeladas (acuosas), que requieren descongelación antes de su uso. En particular, de acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica se proporciona en forma de torta liofilizada.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para la inclusión en la composición farmacéutica (antes de la liofilización) según la presente invención incluyen soluciones tampón (p. ej., citrato, histidina o sales que contienen succinato en agua), lioprotectores (p. ej. sacarosa, trehalosa), modificadores de la tonicidad (p. ej., cloruro de sodio), tensioactivos (p. ej., polisorbato), y agentes de carga (p. ej., manitol, glicina). Los excipientes utilizados para las formulaciones proteicas liofilizadas se seleccionan por su capacidad para prevenir la desnaturalización de la proteína durante el proceso de liofilización así como durante el almacenamiento.

La formulación de múltiples dosis en polvo liofilizada estéril de Herceptin™ contiene 440 mg de trastuzumab, 400 mg de  $\alpha$ , $\alpha$ -trehalosa dihidrato, 9,9 mg de L-histidina. HCl, 6,4 mg de L-histidina, y 1,8 mg de polisorbato 20, USP. La reconstitución con 20 ml de agua bacteriostática o estéril para inyección (ABPI o AEPI) proporciona una solución de múltiples dosis que contiene 21 mg/ml de trastuzumab en un pH de aproximadamente 6. La formulación de uso único en polvo liofilizada estéril de Kadcyla™ contiene después de la reconstitución 20 mg/ml de ado-trastuzumab emtansina, 0,02 % p/v de polisorbato 20, 10 mM de succinato de sodio, y 6 % p/v de sacarosa con un pH de 5,0.

Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o (II) para su uso según la presente invención se encuentra en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal, en particular en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg, más particularmente en el intervalo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal. Este último intervalo corresponde aproximadamente a una dosis fija en el intervalo de 20 a 800 mg del compuesto de CAF. El compuesto de la presente invención se administra semanalmente, cada dos semanas, cada tres semanas o mensualmente, por ejemplo semanalmente durante las primeras 12 semanas y luego cada tres semanas hasta la progresión de la enfermedad. Pueden utilizarse regímenes de tratamiento alternativos en función de la gravedad de la enfermedad, edad del paciente, compuesto que se va a administrar, y otros factores considerados apropiados por el médico tratante.

## Ejemplos

### Ensayo de amplificación génica de HER2 en XPD

La amplificación del gen HER2 se determinó mediante hibridación *in situ* (HIS) en especímenes de tejido de cáncer de mama humano embebido en parafina y fijado con formalina empleando los ensayos aprobados por la AAM de Ventana Medical Systems (cóctel de sonda de ADN HER2 por HIS dual de INFORM) o Abbott Molecular (kit de sonda de ADN HER2 PathVysion). Los protocolos utilizados se detallaron por los proveedores de los ensayos.

### Tinción de HER2 por IHQ en XPD

Se prepararon las secciones de tejidos de las muestras del xenoinjerto tumoral embebido en parafina y fijado con formalina. HER2 se unió utilizando un Ac apropiado, por ejemplo un anticuerpo policlonal HER2 de conejo anti-humano (DAKO Cat n.º A0485) y se detectó por un Ac secundario adecuado, por ejemplo IgG de cabra anti-conejo biotinilada (JacksonImmuno research, Cat n.º 111-065-04) y un kit ABC Biozol (Cat n.º VEC-PK-4000). La tinción se evaluó semicuantitativamente en un microscopio apto, por ejemplo empleando un microscopio Zeiss Axiovert 35. La tinción se interpretó como la inmunorreactividad, basándose en el número de células tumorales teñidas así como la completitud y la intensidad de la tinción de la membrana.

0: <10 % de las células tumorales exhiben tinción membranosa.

1: >10 % de las células tumorales exhiben tinción membranosa, pero tinción incompleta de la superficie.

2: >10 % de las células tumorales exhiben tinción membranosa débil o moderada distribuida por toda la superficie.

3: >30 % de las células tumorales exhiben una fuerte tinción membranosa distribuida por toda la superficie.

Los portaobjetos tumorales del control HER2 positivo (IHQ 3+) y HER2 negativo (IHQ 0) conocidos se incluyeron en cada procedimiento de tinción de HER2.

### Estudios en animales de XPD y xenoinjerto derivado de la línea celular

Todos los estudios con animales se aprobaron por los comités éticos animales locales y se realizaron según las normas éticas locales de experimentación animal. Se utilizaron ratones nu/nu hembra inmunodeficientes (4-6 semanas de vida) o ratones ISC de un criador de animales profesional como Harlan o Charles River y la

aleatorización se realizó según los protocolos detallados de los respectivos OIC, según se describe por ejemplo por Fiebig *et al.* en *Cancer Genomics & Proteomics* 4:197-210, 1997.

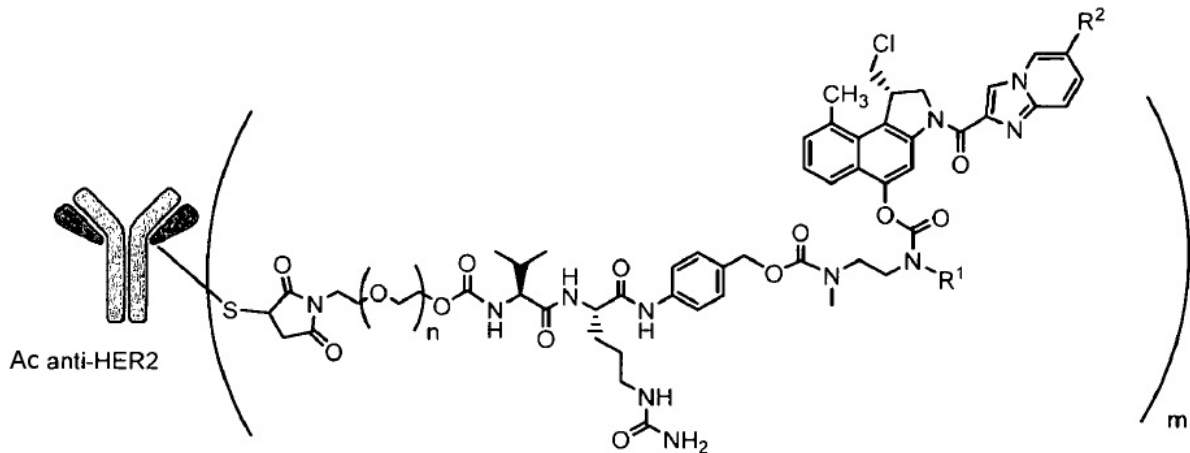
5 En todos los estudios de XPD de cáncer de mama y gástrico se realizaron pruebas de SYD985 comparativas con respecto a T-DM1, ya que este último CAF se aprobó para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico HER2 positivo y la aprobación para T-DM1 en el cáncer gástrico HER2 positivo se está llevando a cabo actualmente. Los estudios realizados en otras indicaciones (vejiga y ovarios) se llevaron a cabo utilizando sólo SYD985, ya que T-DM1 no es un fármaco aprobado en estas indicaciones. Los ratones se trataron con un vehículo, 3 mg/kg de SYD985 o 3 mg/kg de T-DM1 en todos los modelos de XPD de mama (Figuras 1-6) y con un vehículo, 10 mg/kg de SYD985 o 10 mg/kg de T-DM1 en todos los modelos de XPD gástricos (Figuras 7-10). Los ratones se trataron con un vehículo o 10 mg/kg de SYD985 en el modelo de XPD de vejiga (Figura 11) y con un vehículo o 15 mg/kg de SYD983 en el modelo de xenoinjerto ovárico derivado de la línea celular (Figura 12). Todos los tratamientos se llevaron a cabo en el día 0 con una dosis única, inyección IV en la vena de la cola. Los datos, representados como el volumen medio del tumor  $\pm$  DE, consisten en 6-8 animales por grupo experimental. El peso corporal y el tamaño del tumor se midieron dos veces por semana. El volumen tumoral se determinó mediante una medición bidimensional con calibradores. Los criterios finales incluyeron entre otros un volumen tumoral  $>2.000 \text{ mm}^3$  o una pérdida de peso corporal  $>30 \%$ . El tamaño del tumor de cada animal se procesó utilizando GraphPad Prism. Los resultados se muestran en las Figuras 1 a 12.

#### 20 Primer estudio clínico con seres humanos

Un primer estudio en fase I de dos partes con seres humanos (con grupos expandidos) con el conjugado anticuerpo-fármaco SYD985 (trastuzumab vc-seco-DUBA) se está llevando a cabo para evaluar la seguridad, la farmacocinética y la eficacia en pacientes con tumores sólidos metastásicos o localmente avanzados (es decir, NCT02277717). La Parte I es la parte de escalada de dosis en la que se administra una dosis baja de SYD985 a tres pacientes con cáncer (mujeres u hombres con tumores sólidos de cualquier origen). Si se tolera bien, se administrará una dosis mayor de SYD985 a otros tres pacientes con cáncer. Esto continuará hasta que ya no sea seguro aumentar aún más la dosis. En la parte II del estudio, varios grupos de pacientes con un tipo específico de cáncer (incluyendo tumores de mama y gástricos) recibirán la dosis de SYD985 seleccionada para un mayor desarrollo. Todos los pacientes de ambas partes del estudio (se estima que se inscribirán un total de 76 pacientes) recibirán infusiones (intravenosas) de SYD985 cada tres semanas hasta la progresión del cáncer o hasta que se desarrolle toxicidad inaceptable

REIVINDICACIONES

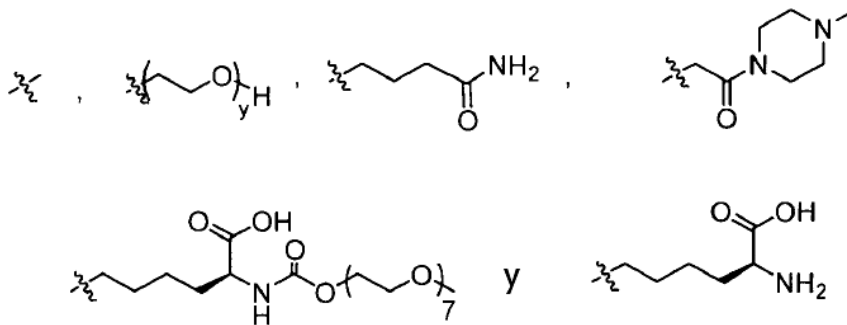
1. Un compuesto de fórmula (I)



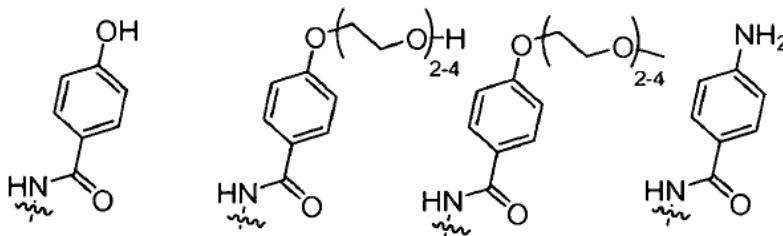
5 en la que

Ac anti-HER2 es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo anti-HER2, n es 0-3,  
 m representa una RAF media de 1 a 4,  
 R<sup>1</sup> se selecciona entre

10



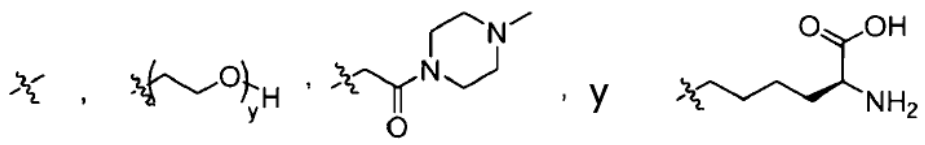
15 y es 1-16, y  
 R<sup>2</sup> se selecciona entre



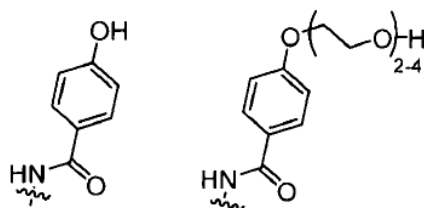
20 para su uso en el tratamiento de tumores sólidos humanos que expresan HER2, en donde el tumor sólido humano es HER2 por IHQ 2+ o 1+.

2. Un compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que  
 Ac anti-HER2 es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo anti-HER2,  
 n es 0-1,

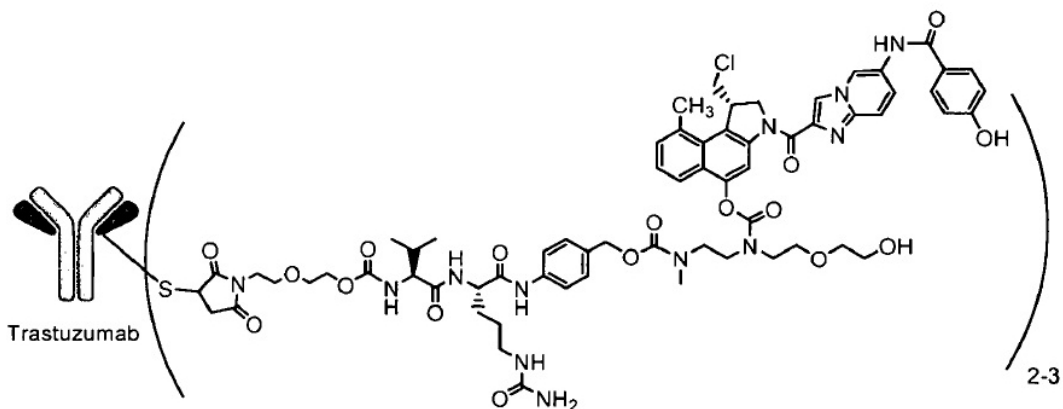
m representa una RAF media de 1 a 4,  
R<sup>1</sup> se selecciona entre



5  
y es 1-16, y  
R<sup>2</sup> se selecciona entre



10  
3. Un compuesto para su uso según las reivindicaciones 1 o 2 de fórmula (II)



- 15 4. Un compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el tumor sólido humano que expresa HER2 es un cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de células escamosas de cabeza y cuello u osteosarcoma.
- 20 5. Un compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el tumor sólido humano que expresa HER2 es cáncer de mama o cáncer gástrico.
6. Un compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el cáncer de mama es un receptor hormonal positivo o negativo.
- 25 7. Un compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el tumor sólido humano es HER2 negativo por HISF.
8. Un compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el tumor sólido humano es cáncer de mama triple negativo.
- 30 9. Una combinación de un compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 con un anticuerpo terapéutico y/o un agente quimioterapéutico, para su uso en el tratamiento de tumores sólidos humanos que expresan HER2.

35

10. Una combinación para su uso según la reivindicación 9, para su uso en el tratamiento del cáncer de mama, particularmente cáncer de mama triple negativo.
- 5 11. Una combinación para su uso según las reivindicaciones 9 o 10, en la que el anticuerpo terapéutico es pertuzumab y el agente quimioterapéutico es un taxano, en particular docetaxel o paclitaxel, o una antraciclina, en particular doxorubicina, epirubicina, daunorrubicina o valrubicina.
- 10 12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una combinación para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
13. Una composición farmacéutica según la reivindicación 12 en forma de un polvo liofilizado o una solución congelada.

Figura 1. XPD MAXF-1162

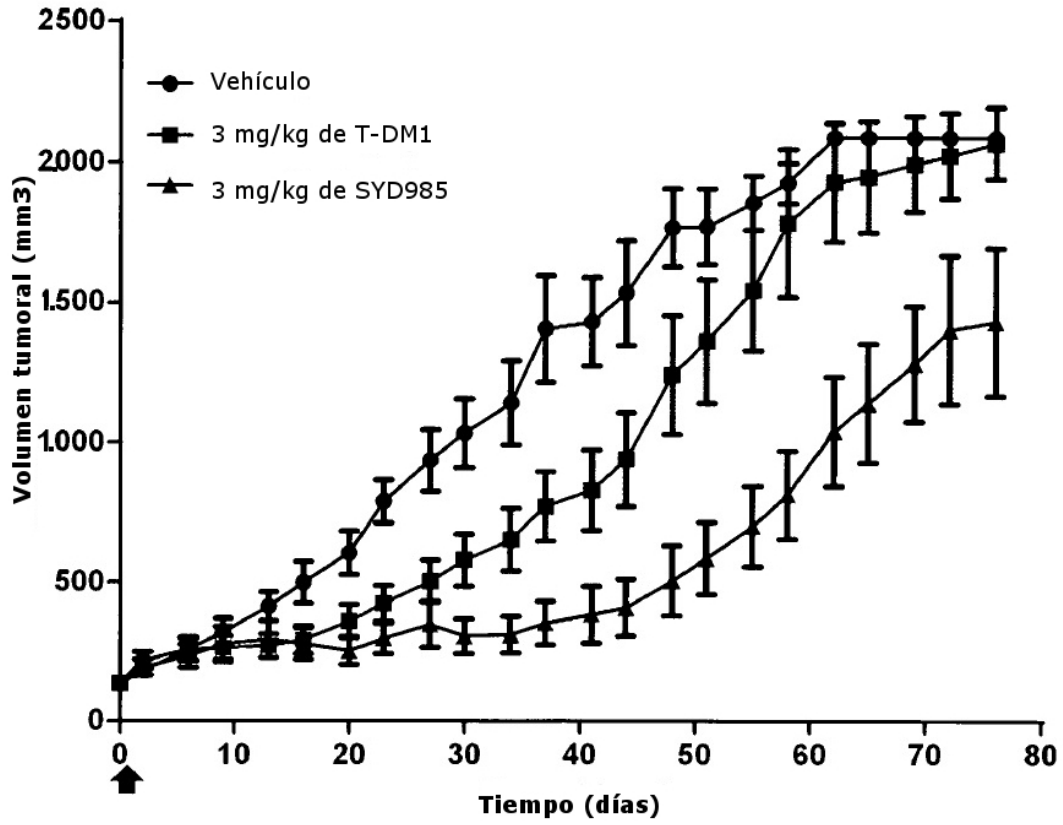




Figura 2. XPD HBCx-34

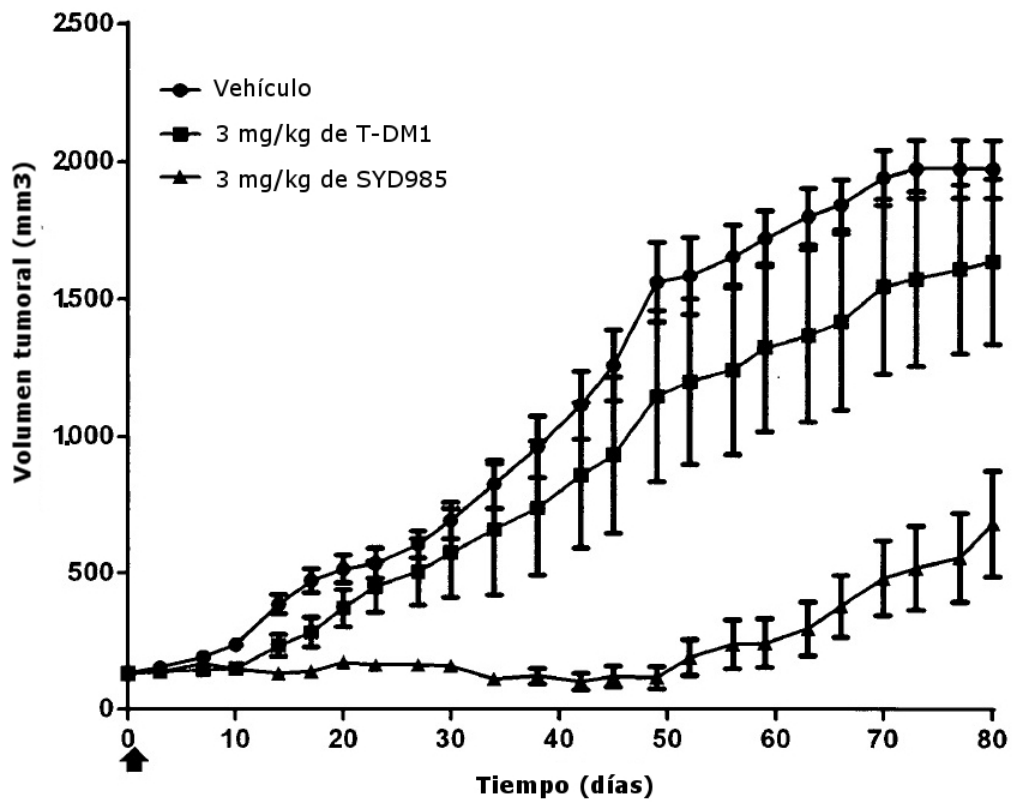


Figura 3. XPD MAXF 449

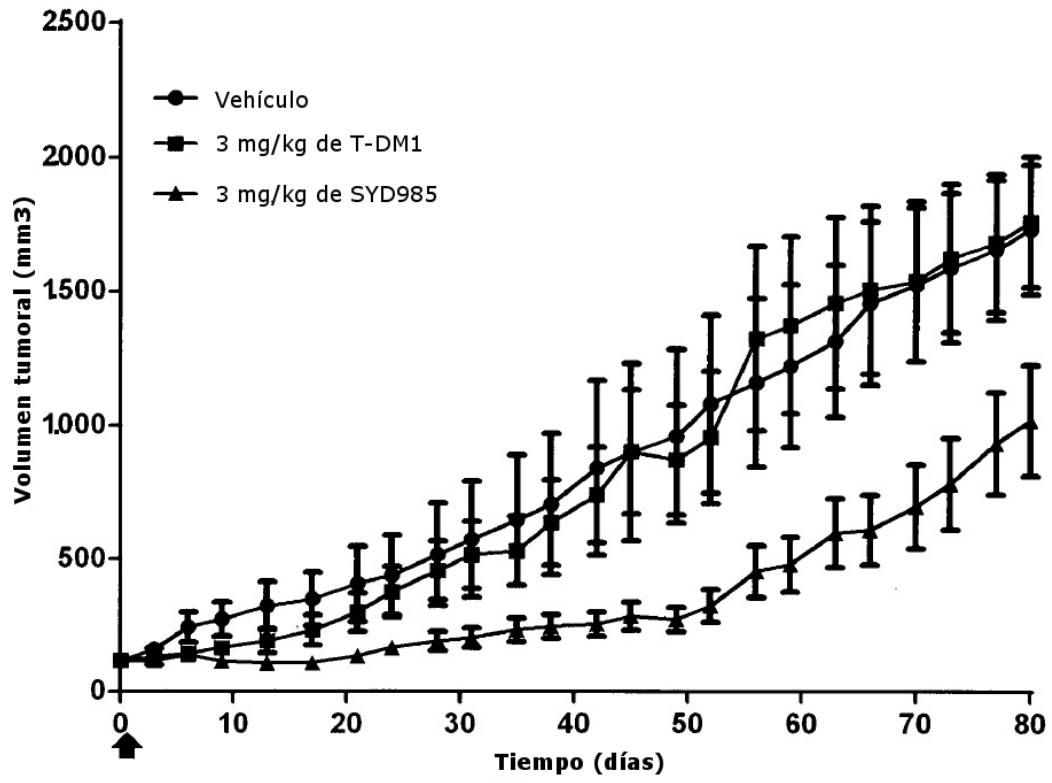


Figura 4. XPD HBCx-10

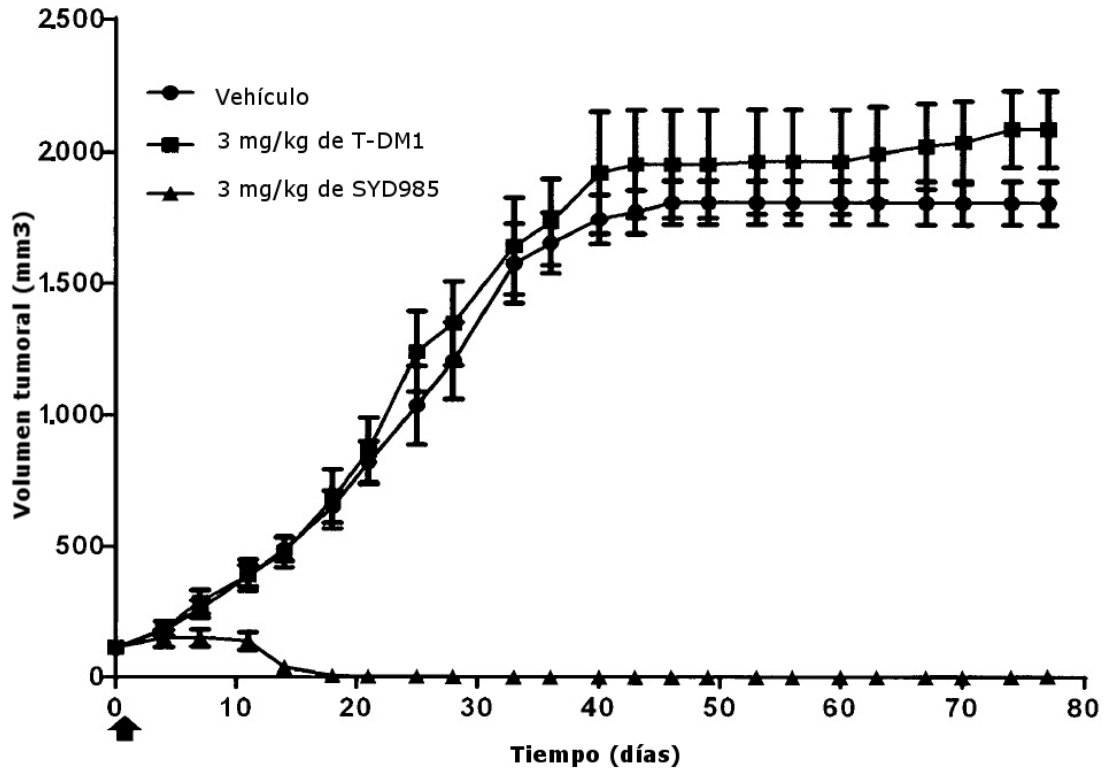


Figura 5. XPD MAXF-MX1

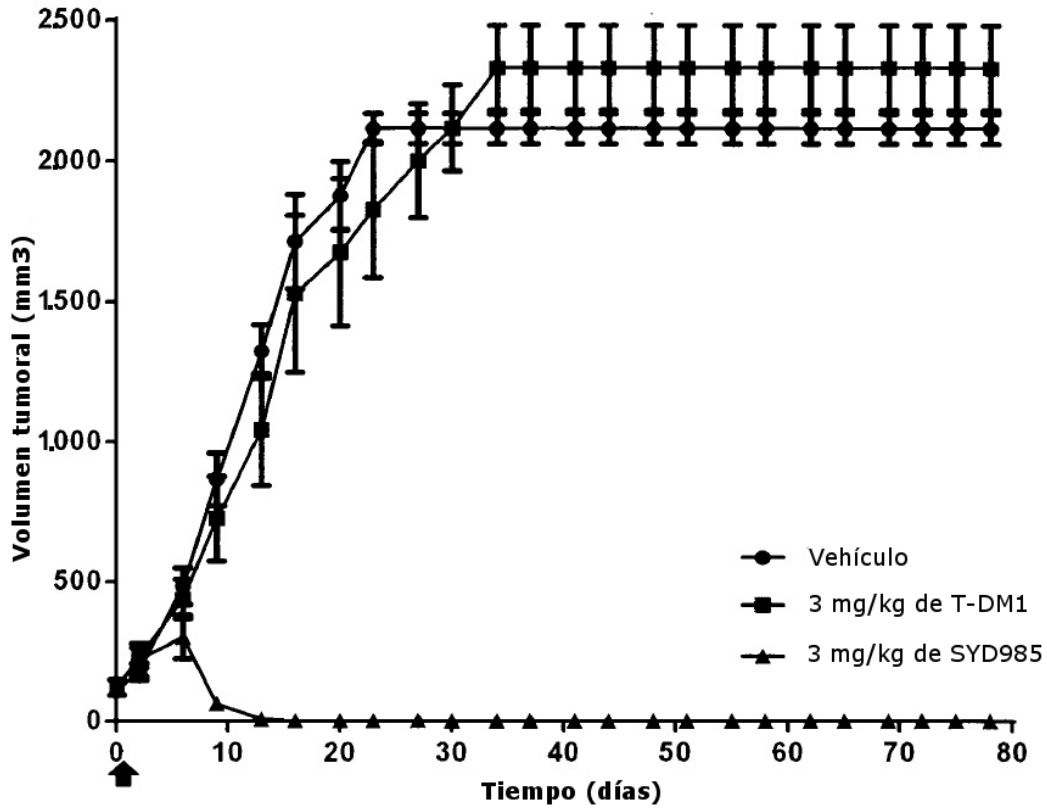


Figura 6. XPD ST313

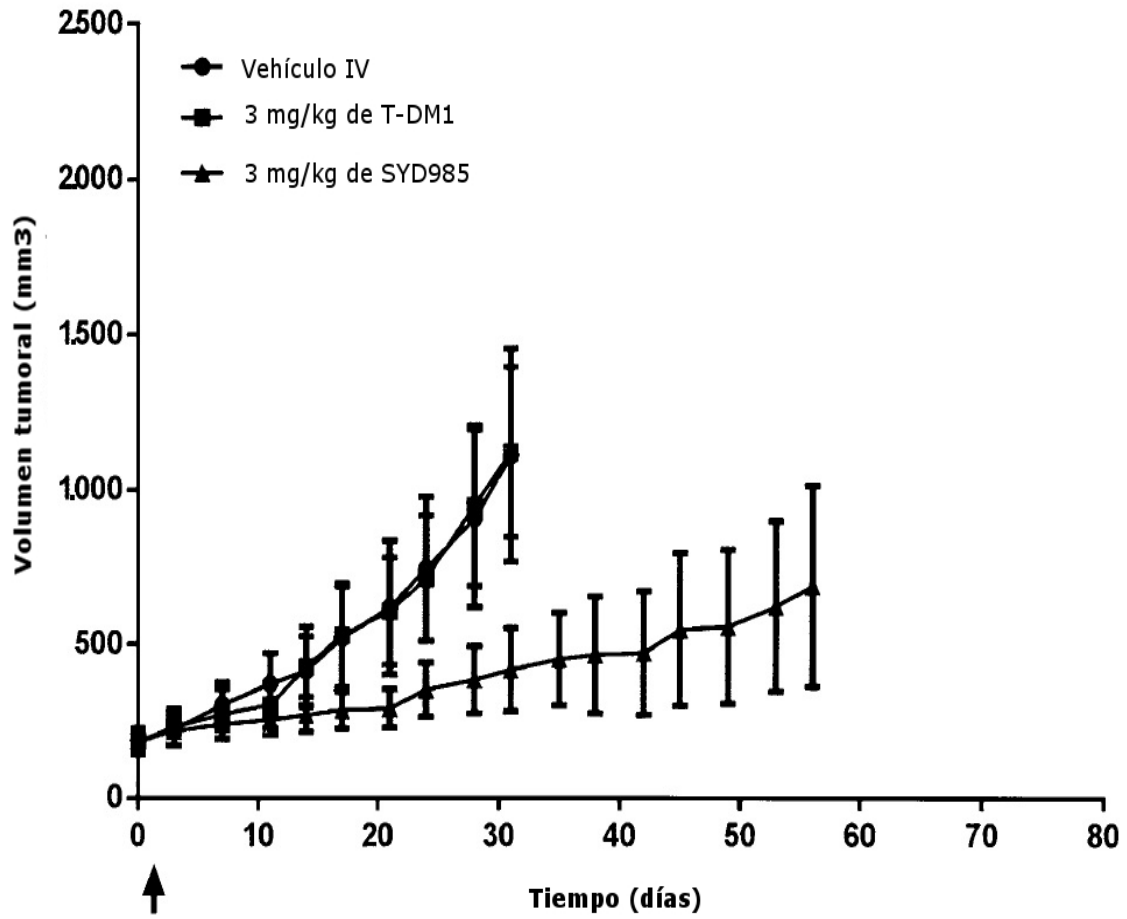


Figura 7. XPD GXA3057

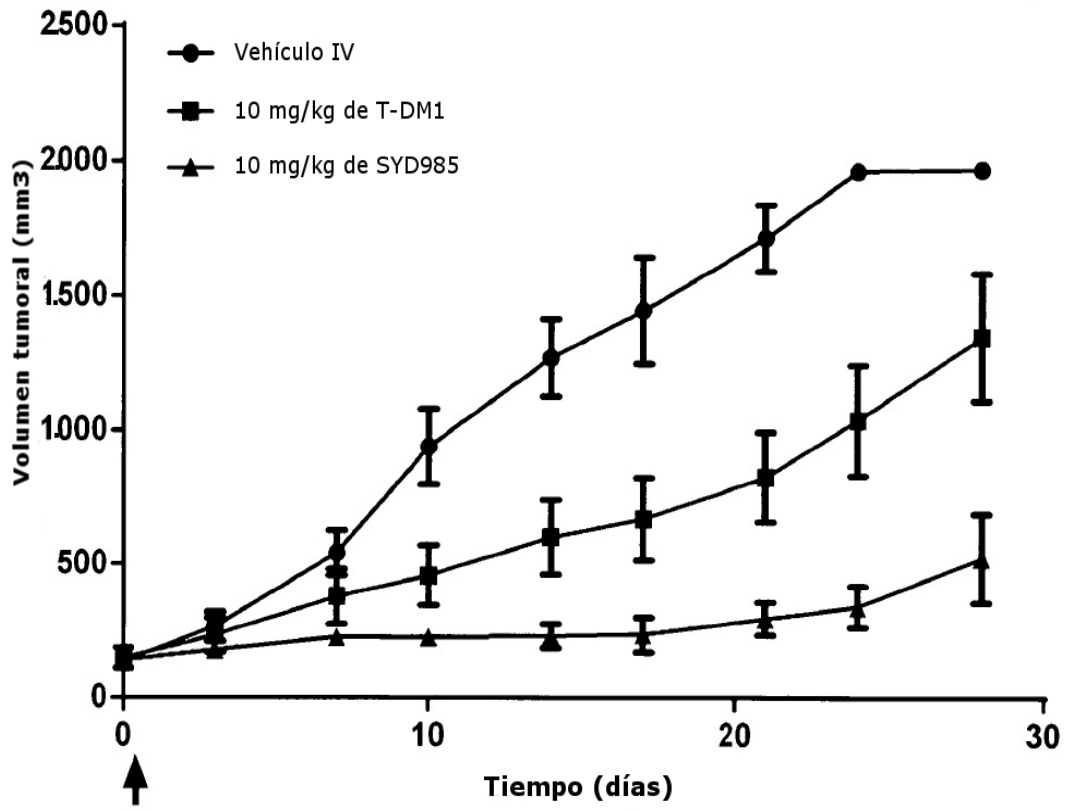


Figura 8. XPD GXA3067

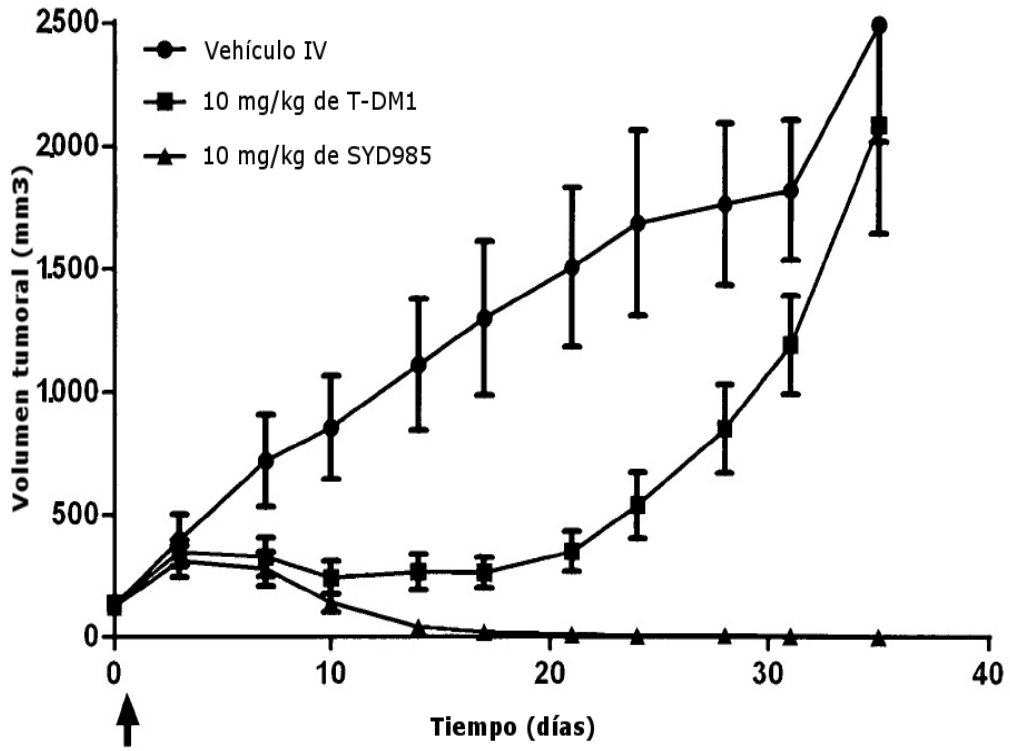


Figura 9. XPD GXA3054

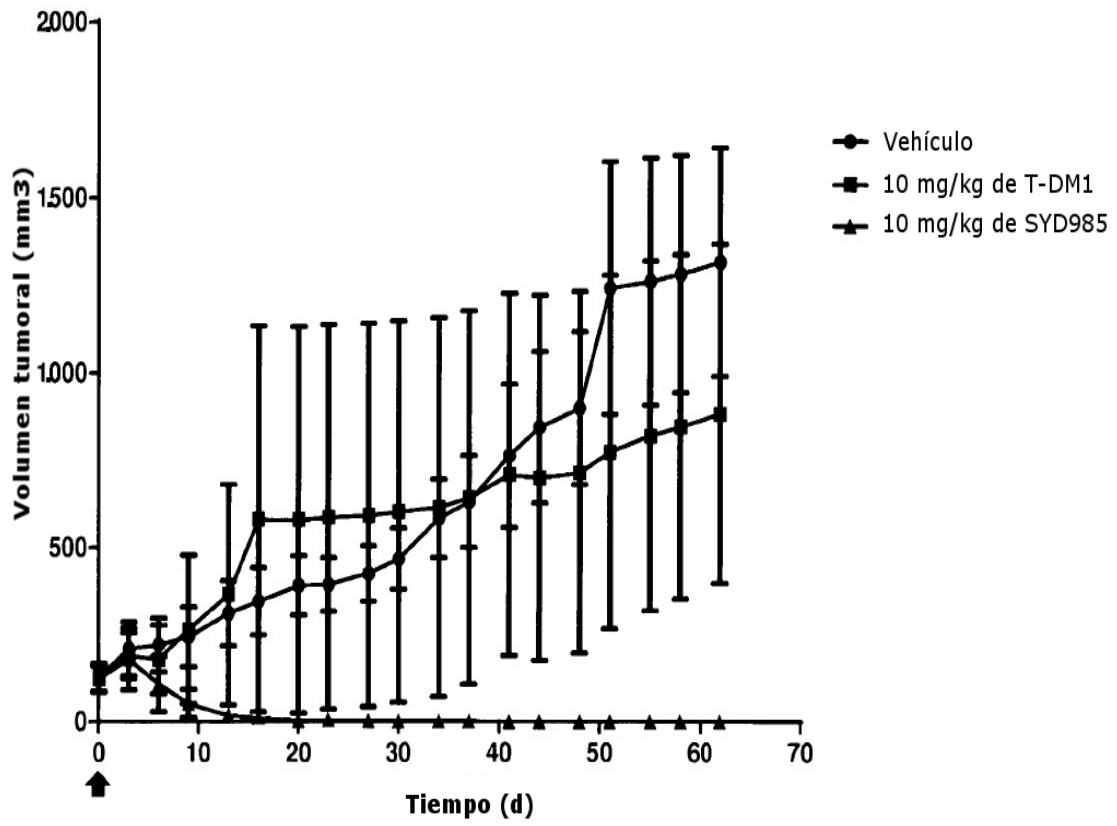




Figura 10. XPD GXA3038

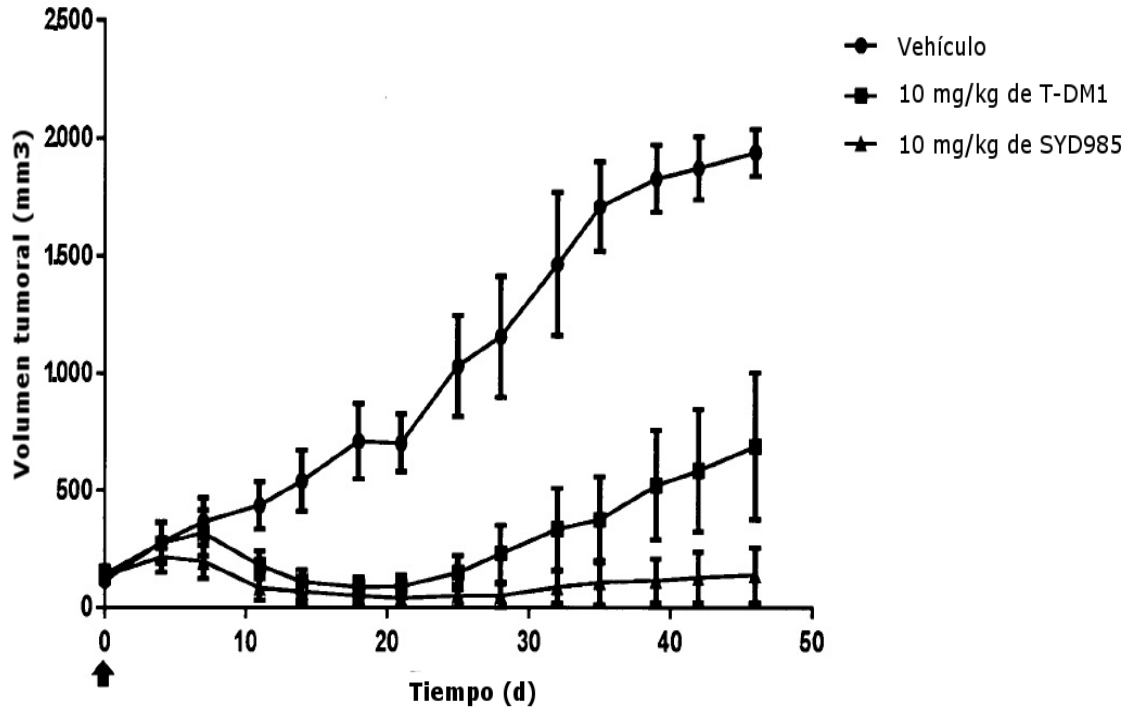


Figura 11. XPD BXF439

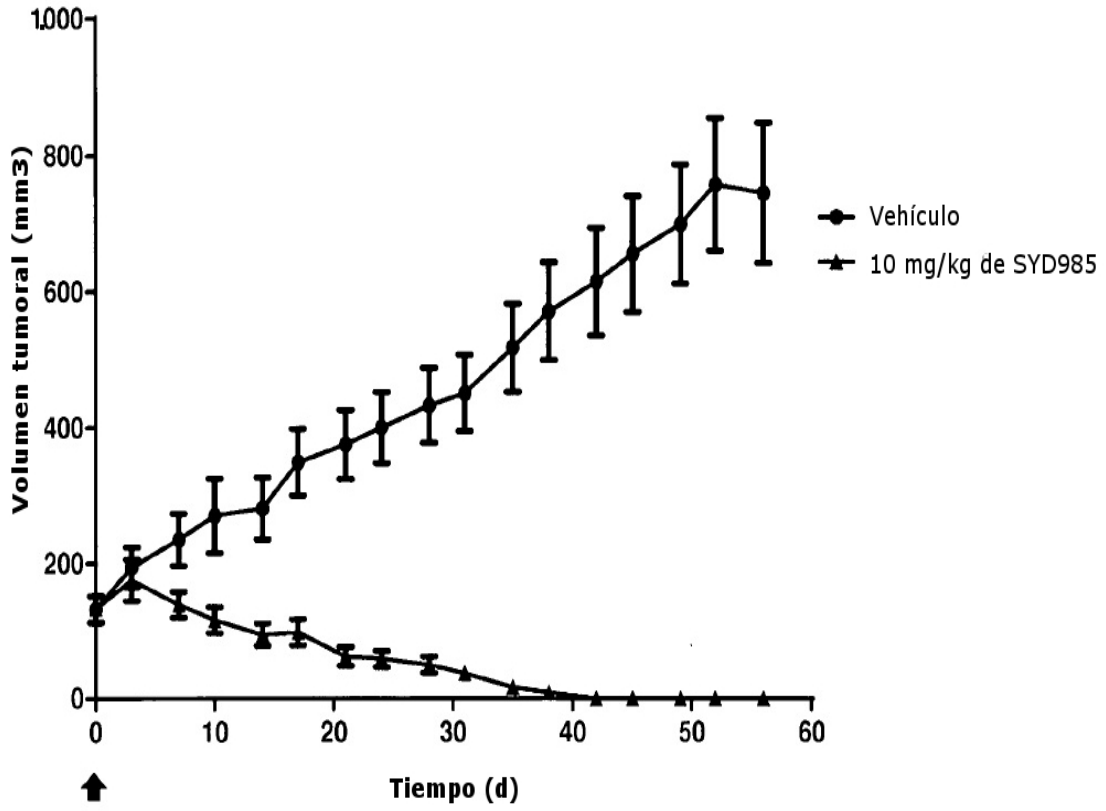


Figura 12. xenoinjerto derivado de la línea celular SKOV3

