

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 969 041**

51 Int. Cl.:

C07K 16/32 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.02.2018** **PCT/US2018/020154**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.09.2018** **WO18160654**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2018** **E 18712044 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2023** **EP 3589661**

54 Título: **Tratamiento adyuvante del cáncer de mama positivo para HER2**

30 Prioridad:

02.03.2017 US 201762466239 P
09.03.2017 US 201762469317 P
18.04.2017 US 201762486876 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.05.2024

73 Titular/es:

GENENTECH, INC. (50.0%)
1 DNA Way
South San Francisco, CA 94080, US y
F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (50.0%)

72 Inventor/es:

BENYUNES, MARK, C. y
ROSS, GRAHAM, ALEXANDER

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 969 041 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

Tratamiento adyuvante del cáncer de mama positivo para HER2

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método para reducir el riesgo de recurrencia de cáncer de mama invasivo o muerte en pacientes diagnosticadas con cáncer de mama temprano (CMt) positivo para HER2 en comparación con la administración de trastuzumab y quimioterapia, sin pertuzumab, como se define en las reivindicaciones.

Antecedentes de la invención

Los miembros de la familia HER de receptores tirosina quinasas son mediadores importantes del crecimiento, la diferenciación y la supervivencia celular. La familia de receptores incluye cuatro miembros diferentes, incluyendo el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, ErbB1 o HER1), HER2 (ErbB2 o p185^{neu}), HER3 (ErbB3) y HER4 (ErbB4 o tyro2). Los miembros de la familia de receptores participan en varios tipos de neoplasias malignas humanas.

Una versión humanizada recombinante del anticuerpo anti-HER2 murino 4D5 (huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, trastuzumab o HERCEPTIN®; patente de EE.UU. n.º 5.821.337) es clínicamente activa en pacientes con cánceres de mama metastásicos que expresan en exceso HER2 que han recibido una amplia terapia anticancerosa previa (Baselga *et al.*, J. Clin. Oncol. 14:737-744 (1996)).

Trastuzumab recibió la aprobación para la comercialización de la Administración de Medicamentos y Alimentos el 25 de septiembre de 1998, para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico cuyos tumores expresaban en exceso la proteína HER2. En la actualidad, trastuzumab está aprobado para su uso como agente único o en combinación con quimioterapia o terapia hormonal en el entorno metastásico y como agente único o en combinación con quimioterapia como tratamiento adyuvante para pacientes con cáncer de mama positivo para HER2 en estadio temprano. La terapia basada en trastuzumab es ahora el tratamiento recomendado para pacientes con cáncer de mama en estadio temprano positivo para HER2 que no tienen contraindicaciones para su uso (ficha técnica de Herceptin®; NCCN Guidelines, versión 2.2011). Trastuzumab más docetaxel (o paclitaxel) es una referencia de tratamiento registrado en el entorno de tratamiento de primera línea del cáncer de mama metastásico (CMM) (Slamon *et al.* N Engl J Med. 2001;344(11):783-792.; Marty *et al.* J Clin Oncol. 2005; 23(19):4265-4274).

Los pacientes tratados con el anticuerpo de HER2 trastuzumab se seleccionan para la terapia basada en la expresión de HER2. Véase, por ejemplo, el documento WO99/31140 (Paton *et al.*), el documento US2003/0170234A1 (Hellmann, S.), y el documento US2003/0147884 (Paton *et al.*); así como el documento WO01/89566, el documento US2002/0064785 y el documento US2003/0134344 (Mass *et al.*). Véase, asimismo, la patente de Estados Unidos n.º 6.573.043, la patente de Estados Unidos 6.905.830 y el documento US2003/0152987, Cohen *et al.*, en relación con la inmunohistoquímica (IHC) y la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) para detectar la sobreexpresión y amplificación de HER2. Así, el tratamiento óptimo del cáncer de mama metastásico ahora tiene en cuenta no sólo el estado general del paciente, el historial médico y el estado del receptor, sino también el estado de HER2.

Pertuzumab (conocido también como anticuerpo 2C4 monoclonal humanizado recombinante (rhuMAb 2C4); Genentech, Inc, South San Francisco) representa el primero de una nueva clase de agentes conocidos como inhibidores de la dimerización de HER (HDI) y funciona inhibiendo la capacidad de HER2 para formar heterodímeros u homodímeros activos con otros receptores de HER (tales como EGFR/HER1, HER2, HER3 y HER4). Véase, por ejemplo, Harari y Yarden Oncogene 19:6102-14 (2000); Yarden y Sliwkowski. Nat Rev Mol Cell Biol 2:127-37 (2001); Sliwkowski Nat Struct Biol 10: 158-9 (2003); Cho *et al.* Nature 421:756-60 (2003); y Malik *et al.* Pro Am Soc Cancer Res 44:176-7 (2003).

Se ha demostrado que el bloqueo de pertuzumab de la formación de heterodímeros de HER2-HER3 en células tumorales inhibe la señalización celular crítica, lo que da como resultado una proliferación y supervivencia tumorales reducidas (Agus *et al.* Cancer Cell 2:127-37 (2002)).

Pertuzumab se ha sometido a pruebas como agente único en la clínica con un ensayo de fase I en pacientes con cánceres avanzados y ensayos de fase II en pacientes con cáncer de ovario y cáncer de mama, así como cáncer de pulmón y próstata. En un estudio de fase I, los pacientes con tumores sólidos incurables, localmente avanzados, recurrentes o metastásicos que habían progresado durante o después del tratamiento convencional fueron tratados con pertuzumab administrado por vía intravenosa cada 3 semanas. Pertuzumab fue generalmente bien tolerado. La regresión del tumor se logró en 3 de 20 pacientes evaluables para la respuesta. Dos pacientes habían confirmado respuestas parciales. Se observó una enfermedad estable que duró más de 2,5 meses en 6 de 21 pacientes (Agus *et al.* Pro Am Soc Clin Oncol 22:192 (2003)). A dosis de 2,0-15 mg/kg, la farmacocinética de pertuzumab fue lineal y el aclaramiento medio varió de 2,69 a 3,74 ml/día/kg y la semivida de eliminación terminal varió de 15,3 a 27,6 días. No se detectaron anticuerpos contra pertuzumab (Allison *et al.* Pro Am Soc Clin Oncol 22:197 (2003)).

El documento US 2006/0034842 describe métodos para tratar el cáncer que expresa ErbB con combinaciones de anticuerpos anti-ErbB2. El documento US 2008/0102069 describe el uso de trastuzumab y pertuzumab en el tratamiento del cáncer metastásico positivo para HER2, tal como cáncer de mama. Baselga *et al.*, J Clin Oncol, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I, Col. 25, No. 18S (Suplemento del 20 de junio), 2007: 1004 informa sobre el tratamiento de pacientes con cáncer de mama positivo para HER2 pretratado, que ha progresado durante el tratamiento con trastuzumab, con una combinación de trastuzumab y pertuzumab. Portera *et al.*, J Clin Oncol, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol. 25, No. 18S (Suplemento del 20 de junio), 2007: 1028 evaluaron la eficacia y la seguridad de la terapia combinada de trastuzumab + pertuzumab en pacientes con cáncer de mama positivo para HER2, que tenían enfermedad progresiva con terapia a base de trastuzumab. Los autores concluyeron que se necesitaba una evaluación adicional de la eficacia del tratamiento combinado para definir el riesgo y beneficio generales de este régimen de tratamiento.

Se ha evaluado Pertuzumab en estudios en Fase II junto con trastuzumab en pacientes con cáncer de mama metastásico positivo para HER2 que habían recibido previamente trastuzumab para la enfermedad metastásica. Un estudio, realizado por el Instituto Nacional del Cáncer (NCI), inscribió a 11 pacientes con cáncer de mama metastásico positivo para HER2 previamente tratado. Dos de los 11 pacientes presentaron una respuesta parcial (RP) (Baselga *et al.*, J Clin Oncol 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings; 25:18S (Suplemento 20 de junio): 1004).

Los resultados de un estudio en Fase II con neoadyuvantes que evaluó el efecto de un novedoso régimen combinado de pertuzumab y trastuzumab más quimioterapia (docetaxel) en mujeres con cáncer de mama positivo para HER2 en estadio temprano, presentado en el CTRC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS), 8-12 de diciembre de 2010, mostraron que los dos anticuerpos de HER2 más docetaxel administrados en el escenario neoadyuvante antes de la cirugía mejoraron significativamente la tasa de desaparición completa del tumor (tasa de respuesta patológica completa, pCR, del 45,8 por ciento) en la mama en más de la mitad en comparación con trastuzumab más docetaxel (pCR del 29,0 por ciento), $p = 0,014$.

El estudio clínico de fase II de Evaluación clínica de pertuzumab y trastuzumab (CLEOPATRA) evaluó la eficacia y seguridad de pertuzumab más trastuzumab más docetaxel, en comparación con placebo más trastuzumab más docetaxel, como tratamiento de primera línea para pacientes con cáncer de mama positivo para HER2 recurrente localmente, irreseccable o metastásico. La combinación de pertuzumab más trastuzumab más docetaxel, en comparación con placebo más trastuzumab más docetaxel, cuando se utiliza como tratamiento de primera línea para el cáncer de mama metastásico positivo para HER2, prolongó significativamente la supervivencia sin progresión, sin aumento de los efectos tóxicos cardíacos. (Baselga *et al.*, N Eng J Med 2012 366:2, 109-119).

El estudio clínico de fase II NeoSphere evaluó la eficacia y seguridad de la administración neoadyuvante de pertuzumab y trastuzumab en mujeres sin tratamiento previo (pacientes que no han recibido ninguna terapia previa contra el cáncer) con cáncer de mama operable, localmente avanzado e inflamatorio. Los pacientes que recibieron pertuzumab y trastuzumab más docetaxel mostraron una tasa de respuesta patológica completa significativamente mejor en comparación con los que recibieron trastuzumab más docetaxel, sin diferencias sustanciales en la tolerabilidad (Gianni *et al.*, Lancet Oncol 2012 13(1):25-32). En Gianni *et al.*, Lancet Oncol 2016 17(6):791-800 se publican resultados de un seguimiento a 5 años.

Terapia adyuvante, en el sentido más amplio, es un tratamiento que se administra además de la terapia primaria para destruir cualquier célula cancerosa que pueda haberse diseminado, incluso si la propagación no puede detectarse mediante pruebas radiológicas o de laboratorio.

Las publicaciones o seminarios relacionados con la terapia adyuvante incluyen: Paik *et al.*, J. Natl. Cancer Inst., 92(24):1991-1998 (2000); Paik *et al.*, J. Natl. Cancer Inst., 94:852-854 (2002); Paik *et al.* Successful quality assurance program for HER2 testing in the NSABP Trial for Herceptin. San Antonio Breast Cancer Symposium, 2002; Roche P C *et al.*, J. Natl. Cancer Inst., 94(11):855-7 (2002); Albain *et al.*, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Thirty-Eighth Annual Meeting, 18-21 de mayo de 2002, Orlando, Fla., Resumen 143; The ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) Trialists' Group, Lancet, 359:2131-39 (2002); Geyer *et al.*, 26th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS), Diciembre de 2003, Resumen 12; Perez *et al.*, Proc. ASCO, 2005, Resumen 556.

La publicación de patente de Estados Unidos n.º 2004/0014694 (publicada el 22 de enero de 2004) describe un método de terapia adyuvante para el tratamiento del cáncer de mama temprano, que comprende la administración de docetaxel, doxorubicina y ciclofosfamida.

El tratamiento adyuvante del cáncer de mama mediante la administración de HERCEPTIN® se desvela en la patente de Estados Unidos n.º 8.591.897.

Las publicaciones de patente relacionadas con los anticuerpos contra HER2 incluyen: las patentes de EE.UU. n.º 5.677.171; 5720937; 5720954; 5725856; 5770195; 5772997; 6165464; 6387371; 6399063; 6015567; 6333169; 4968603; 5821337; 6054297; 6407213; 6.639.055; 6.719.971; 6800738; 5648237; 7018809; 6267958; 6695940; 6821515; 7060268; 7682609; 7371376; 6127526; 6333398; 6797814; 6339142; 6417335; 6489447; 7074404; 7531645; 7846441; 7892549; 6573043; 6905830; 7129840; 7344840; 7468252; 7674589; 6949245; 7485302;

- 7498030; 7501122; 7537931; 7618631; 7862817; 7041292; 6627196; 7371379; 6632979; 7097840; 7575748; 6984494; 7279287; 7811773; 7993834; 7435797; 7850966; 7485704; 7807799; 7560111; 7879325; 7449184; 7700299; 8591897; y US 2010/0016556; US 2005/0244929; US 2001/0014326; US 2003/0202972; US 2006/0099201; US 2010/0158899; US 2011/0236383; US 2011/0033460; US 2005/0063972; US 2006/018739; US 2009/0220492; US 2003/0147884; US 2004/0037823; US 2005/0002928; US 2007/0292419; US 2008/0187533; US 2003/0152987; US 2005/0100944; US 2006/0183150; US 2008/0050748; US 2010/0120053; US 2005/0244417; US 2007/0026001; US 2008/0160026; US 2008/0241146; US 2005/0208043; US 2005/0238640; US 2006/0034842; US 2006/0073143; US 2006/0193854; US 2006/0198843; US 2011/0129464; US 2007/0184055; US 2007/0269429; US 2008/0050373; US 2006/0083739; US 2009/0087432; US 2006/0210561; US 2002/0035736; US 2002/0001587; US 2008/0226659; US 2002/0090662; US 2006/0046270; US 2008/0108096; US 2007/0166753; US 2008/0112958; US 2009/0239236; US 2004/008204; US 2009/0187007; US 2004/0106161; US 2011/0117096; US 2004/048525; US 2004/0258685; US 2009/0148401; US 2011/0117097; US 2006/0034840; US 2011/0064737; US 2005/0276812; US 2008/0171040; US 2009/0202536; US 2006/0013819; US 2006/0018899; US 2009/0285837; US 2011/0117097; US 2006/0088523; US 2010/0015157; US 2006/0121044; US 2008/0317753; US 2006/0165702; US 2009/0081223; US 2006/0188509; US 2009/0155259; US 2011/0165157; US 2006/0204505; US 2006/0212956; US 2006/0275305; US 2007/0009976; US 2007/0020261; US 2007/0037228; US 2010/0112603; US 2006/0067930; US 2007/0224203; US 2008/0038271; US 2008/0050385; US 2010/0285010; US 2008/0102069; US 2010/0008975; US 2011/0027190; US 2010/0298156; US 2009/0098135; US 2009/0148435; US 2009/0202546; US 2009/0226455; US 2009/0317387; y US 2011/0044977.
- 20 El estudio clínico de fase III de dos brazos, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo (Adjuvant Pertuzumab and Herceptin IN Initial Therapy in Breast Cancer (APHINITY), NCT01358877/BO25126) tuvo como objetivo evaluar la seguridad y eficacia de pertuzumab además de quimioterapia más trastuzumab como terapia adyuvante en pacientes con cáncer primario operable positivo para HER2.
- 25 El comunicado de prensa disponible en <https://www.gene.com/media/press-releases/14655/2017-03-01/phase-iii-aphinity-study-shows-genentech> describe que pertuzumab más trastuzumab y quimioterapia mostraron una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia sin enfermedad invasiva para personas con cáncer de mama temprano positivo para HER2 en comparación con trastuzumab y quimioterapia sola.
- 30 Singh *et al.*, *Oncologist* 2017 22(2): 139-143 investiga el papel de la doxorrubicina y la ciclofosfamida seguidas de paclitaxel y terapia dual anti-HER2 con trastuzumab y pertuzumab en pacientes con cáncer de mama positivo para HER2 en estadio temprano en el entorno neoadyuvante.

Sumario de la invención

- 35 Se requieren nuevos tratamientos activos para pacientes con cáncer de mama positivo para HER2, que se estima que representa aproximadamente entre 6000 y 8000 muertes al año en Estados Unidos, 12.000-15.000 muertes anuales en Europa y 60.000-90.000 muertes anuales en todo el mundo (según las tasas de mortalidad por cáncer de mama en general) (Levi *et al.*, *Eur J Cancer Prev* 2005;14:497-502; Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127:2893-917; SEER cancer statistics review, 1975-2008 [Internet]. Bethesda, MD: National Cancer Institute; Noviembre de 2010 [actualizado, 2011]; Malvezzi *et al.*, *Ann Oncol* 2013; 24:792-800). La edad promedio de las pacientes que presentan cáncer de mama positivo para HER2 es de alrededor de 50 años, aproximadamente 5 años más jóvenes que la población general con cáncer de mama (Breast Cancer Res Treat 2008;110: 153-9; Breast Cancer Res 2009; 11:R31). En un momento en que la supervivencia actuarial de las mujeres es >80 años, la mediana de años de vida perdidos por paciente es de aproximadamente dos décadas. Mejorar los resultados de la terapia inicial cuando la enfermedad todavía está localizada en la mama y los ganglios linfáticos regionales ofrece la posibilidad de curar potencialmente la enfermedad, así como retrasar la recurrencia de la enfermedad y la muerte en aquellos que no se curan.
- 50 La presente invención se basa, al menos en parte, en el análisis de los resultados de un estudio clínico de fase III de dos brazos, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo (Adjuvant Pertuzumab and Herceptin IN Initial Therapy in Breast Cancer (APHINITY), NCT01358877/BO25126) que evalúa la seguridad y la eficacia de pertuzumab además de quimioterapia más trastuzumab como terapia adyuvante en pacientes con cáncer primario operable positivo para HER2.
- 55 La presente invención proporciona pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método para reducir el riesgo de recurrencia de cáncer de mama invasivo o muerte en pacientes diagnosticadas con cáncer de mama temprano (CMT) positivo para HER2 en comparación con la administración de trastuzumab y quimioterapia, sin pertuzumab, que comprende administrar a dichos pacientes, después de una cirugía de cáncer de mama, pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia, en donde los pacientes tienen cáncer de mama temprano con ganglios linfáticos positivos, en donde la quimioterapia se selecciona de cualquiera de
- 60 a) 5-fluorouracilo + epirrubicina + ciclofosfamida o 5-fluorouracilo + doxorrubicina + ciclofosfamida, en donde la quimioterapia comprende además la administración de docetaxel o paclitaxel; o
- 65 b) doxorrubicina + ciclofosfamida o epirrubicina + ciclofosfamida, en donde la quimioterapia comprende además la administración de docetaxel o paclitaxel; o

c) docetaxel + carboplatino, como se define en las reivindicaciones.

En diversas realizaciones, los pacientes pueden permanecer vivos sin recurrencia del cáncer de mama invasivo durante al menos 2 años o durante al menos 3 años después de la administración.

En una realización, los pacientes son negativos para receptores hormonales (HR).

En una realización, el riesgo de recurrencia del cáncer de mama invasivo o de muerte se reduce en al menos aproximadamente un 5 % o al menos aproximadamente un 10 % o al menos aproximadamente un 15 % o al menos aproximadamente un 20 % o al menos aproximadamente un 25 % en comparación con la administración de trastuzumab y quimioterapia, sin pertuzumab, tal como, por ejemplo, en al menos un 19 % en comparación con la administración de trastuzumab y quimioterapia, sin pertuzumab.

En una realización, el cáncer positivo para HER2 se caracteriza por un nivel de expresión de HER2 de IHC 2+ o 3+.

En una realización, el cáncer está amplificado por HER2, donde la amplificación de HER2 puede, por ejemplo, determinarse mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH).

Pertuzumab y/o trastuzumab se pueden administrar por vía intravenosa o subcutánea.

En diversas realizaciones, pertuzumab y trastuzumab se administran normalmente cada tres semanas.

Según una pauta posológica, pertuzumab se administra como una dosis de carga intravenosa de 840 mg, seguido de 420 mg, administrados por vía intravenosa cada 3 semanas.

Según una pauta posológica, trastuzumab se administra como una dosis de carga intravenosa (IV) de 8 mg/kg, seguido de 6 mg/kg, administrados mediante infusión intravenosa cada 3 semanas.

Según otra pauta posológica, pertuzumab se administra por vía subcutánea con una dosis de carga de 1200 mg seguida de 600 mg cada 3 semanas.

Pertuzumab y trastuzumab se pueden coadministrar por vía subcutánea como dos inyecciones subcutáneas separadas, o mezclarlos como una única inyección subcutánea, o administrarse como una única coformulación para administración subcutánea.

En una realización, pertuzumab y trastuzumab se administran durante al menos 52 semanas.

En otra realización, la administración de pertuzumab y trastuzumab sigue a la quimioterapia.

En una realización, la quimioterapia comprende la administración de 5-fluorouracilo + epirrubicina o doxorrubicina + ciclofosfamida, que comprende además la administración de docetaxel y/o paclitaxel.

En una segunda realización, la quimioterapia comprende la administración de doxorrubicina o epirrubicina + ciclofosfamida, que comprende además la administración de docetaxel y/o paclitaxel.

En otra realización, la quimioterapia comprende la administración de docetaxel + carboplatino.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 proporciona un esquema de la estructura proteica de HER2 y secuencias de aminoácidos para los dominios I-IV (SEQ ID NO:1-4, respectivamente) del dominio extracelular de la misma.

Las figuras 2A y 2B representan alineamientos de las secuencias de aminoácidos de los dominios ligero variable (V_L) (Figura 2A) y pesado variable (V_H) (Figura 2B) del anticuerpo monoclonal murino 2C4 (SEQ ID NO:5 y 6, respectivamente); los dominios V_L y V_H de la variante 574/pertuzumab (SEQ ID NO. 7 y 8, respectivamente) y los marcos consenso humanos V_L y V_H (hum κ1, subgrupo I kappa ligero; humIII, subgrupo pesado III) (SEQ ID NO:9 y 10, respectivamente). Los asteriscos identifican diferencias entre los dominios variables de pertuzumab y el anticuerpo monoclonal murino 2C4 o entre los dominios variables de pertuzumab y el marco humano. Las regiones determinantes de complementariedad (CDR) están entre corchetes.

Las figuras 3A y 3B muestran las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera de pertuzumab (Figura 3A; SEQ ID NO. 11) y la cadena pesada (Figura 3B; SEQ ID No. 12). Las CDR se muestran en negrita. La masa molecular calculada de la cadena ligera y la cadena pesada son 23.526,22 Da y 49.216,56 Da (cisteínas en forma reducida). El resto de carbohidrato está unido con Asn 299 de la cadena pesada.

Las figuras 4A y 4B muestran las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera de trastuzumab (Figura 4A; SEQ

ID NO. 13) y la cadena pesada (Figura 4B; SEQ ID NO. 14), respectivamente. Los límites de los dominios variable ligero y variable pesado se indican mediante flechas.

Las figuras 5A y 5B representan una secuencia variante de la cadena ligera de pertuzumab (Figura 5A; SEQ ID NO. 15) y una secuencia variante de la cadena pesada de pertuzumab (Figura 5B; SEQ ID NO. 16), respectivamente.

La Figura 6A es el esquema del ensayo clínico APHINITY que evalúa la eficacia de la terapia adyuvante a base de pertuzumab en cáncer de mama temprano (CMT) positivo para HER2 operable como se describe en el Ejemplo 1. Notas: ^atrastuzumab 6 mg/kg IV cada 3 semanas, pertuzumab 420 mg IV cada 3 semanas; ^bya sea un régimen a base de antraciclina con un taxano o Taxotere con carboplatino; ^cTerapia HER2 durante 1 año (52 semanas). Abreviaturas: HER: receptor del factor de crecimiento epidérmico humano; IV: vía intravenosa; c3 semanas: cada 3 semanas.

La figura 6B muestra el diseño del estudio del ensayo clínico APHINITY, usando quimioterapia a base de antraciclina

La figura 6C muestra el diseño del estudio del ensayo clínico APHINITY, usando quimioterapia sin antraciclina.

La figura 7A muestra los resultados de eficacia, utilizando la supervivencia sin enfermedad invasiva (SSEI) como criterio de valoración clínico principal, en pacientes tratados con pertuzumab + trastuzumab (n=2400) y placebo + trastuzumab (n=2404), respectivamente, tal como se describe en el ejemplo 1.

La figura 7B muestra un gráfico de Kaplan-Meier del intervalo libre de recurrencia a distancia (meses) en pacientes tratados con pertuzumab + trastuzumab (n=2400) y placebo + trastuzumab (n=2404), respectivamente, tal como se describe en el ejemplo 1.

La figura 8A muestra los resultados de eficacia (SSEI) en pacientes con cáncer de mama con ganglios positivos tratados con pertuzumab + trastuzumab (n = 1503) y placebo + trastuzumab (n = 1502), respectivamente, tal como se describe en el ejemplo 1.

La figura 8B muestra un gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento de SSEI (meses) por régimen de tratamiento en una cohorte de pacientes con cáncer de mama con ganglios positivos tratados con pertuzumab + trastuzumab (n=1503) y placebo + trastuzumab (n=1502), respectivamente, tal como se describe en el ejemplo 1.

La figura 8C muestra un gráfico de Kaplan-Meier del tiempo transcurrido hasta el primer acontecimiento de SSEI (meses) por régimen de tratamiento en una cohorte de pacientes con cáncer de mama con ganglios negativos tratados con pertuzumab + trastuzumab (n=987) y placebo + trastuzumab (n=902), respectivamente, tal como se describe en el ejemplo 1.

La figura 9A muestra los resultados de eficacia (SSEI) en pacientes con cáncer de mama con receptor hormonal central negativo tratados con pertuzumab + trastuzumab (n = 864) y placebo + trastuzumab (n = 858), respectivamente, tal como se describe en el ejemplo 1.

La figura 9B muestra un gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento de SSEI (meses) por régimen de tratamiento en pacientes con receptor hormonal central negativo tratados con pertuzumab + trastuzumab (n=864) y placebo + trastuzumab (n=858), respectivamente, tal como se describe en el ejemplo 1.

La figura 9C muestra un gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento de SSEI (meses) por régimen de tratamiento en pacientes con receptor hormonal central positivo tratados con pertuzumab + trastuzumab (n=1536) y placebo + trastuzumab (n=1546), respectivamente, tal como se describe en el ejemplo 1.

La figura 10 muestra un gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento de SSEI (meses), mostrando pacientes censurados, por régimen de tratamiento (pacientes tratados con pertuzumab (Ptz) + trastuzumab (H) + quimioterapia (n = 2400) y placebo (Pla) + trastuzumab + quimioterapia (n = 2404), respectivamente), población ITT, tal como se describe en el ejemplo 1.

Descripción detallada de las realizaciones preferentes

I. Definiciones

El término "quimioterapia" como se usa en el presente documento se refiere a un tratamiento que comprende la administración de una quimioterapia, como se define a continuación en el presente documento.

El término "supervivencia" se refiere a que el paciente siga vivo e incluye la supervivencia global, así como la

supervivencia sin progresión.

"Supervivencia global" o "SG" se refiere al paciente que sigue vivo durante un periodo definido de tiempo, tal como 1 año, 5 años, etc. desde el momento del diagnóstico o tratamiento. Para los fines del ensayo clínico descrito en el ejemplo, la supervivencia global (SG) se define como el tiempo desde la fecha de aleatorización de la población de pacientes hasta la fecha de muerte por cualquier causa.

"Supervivencia sin progresión" o "SSP" se refiere al paciente que sigue vivo, sin que el cáncer progrese o empeore. Para los fines del ensayo clínico descrito en el ejemplo, la supervivencia sin progresión (SSP) se define como el tiempo desde la aleatorización de la población del estudio hasta la primera enfermedad progresiva documentada, o toxicidad inmanejable, o muerte por cualquier causa, lo primero que se produzca. La progresión de la enfermedad puede documentarse mediante cualquier método clínicamente aceptado, tal como, por ejemplo, enfermedad progresiva radiológica, según lo determinado por los Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST) (Therasse *et al.*, J Natl Ca Inst 2000; 92(3):205-216), meningitis carcinomatosa diagnosticada mediante evaluación citológica del líquido cefalorraquídeo y/o fotografía médica para controlar las recurrencias de lesiones subcutáneas en la pared torácica.

"Supervivencia sin enfermedad (SSE)" se refiere al paciente que sigue vivo, sin reaparición del cáncer, durante un periodo definido de tiempo tal como aproximadamente 1 año, aproximadamente 2 años, aproximadamente 3 años, aproximadamente 4 años, aproximadamente 5 años, aproximadamente 10 años, etc., desde el inicio del tratamiento o desde el diagnóstico inicial. En los estudios subyacentes a la presente invención, la SSE se analiza de acuerdo con el principio de intención de tratar, es decir, los pacientes se evaluaron sobre la base de su terapia asignada. Los acontecimientos utilizados en el análisis de la SSE pueden incluir la recurrencia local, regional y distante del cáncer, aparición de cáncer secundario, muerte por cualquier causa en pacientes sin un acontecimiento previo (recurrencia del cáncer de mama o segundo cáncer primario).

"Supervivencia sin enfermedad invasiva" de "SSEI", tal como se define en el presente documento, es el tiempo que un paciente vive sin que regrese el cáncer de mama invasivo en cualquier sitio o sin morir por cualquier causa después del tratamiento adyuvante. Dicho de otro modo, SSEI se define como el paciente que permanece vivo (sobrevive) sin que regrese la enfermedad invasiva después del tratamiento adyuvante durante un periodo de tiempo definido, tal como aproximadamente 1 año, aproximadamente 2 años, aproximadamente 3 años, aproximadamente 4 años, aproximadamente 5 años, aproximadamente 10 años, etc., desde el inicio del tratamiento o desde el diagnóstico inicial. En una realización, la SSEI es de aproximadamente 1 año, o aproximadamente 3 años, desde el inicio del tratamiento.

Por "prolongar la supervivencia" se entiende aumentar la supervivencia global o sin progresión en un paciente tratado de acuerdo con la presente invención en relación con un paciente no tratado y/o en relación con un paciente tratado con uno o más agentes antitumorales aprobados, pero sin recibir tratamiento de acuerdo con la presente invención. En un ejemplo particular, "prolongar la supervivencia" significa ampliar la supervivencia sin progresión (SSP) y/o la supervivencia global (SG) de los pacientes con cáncer que reciben la terapia combinada definida en la reivindicación (es decir, la combinación de pertuzumab, trastuzumab y quimioterapia) en relación con los pacientes tratados con trastuzumab y la quimioterapia solamente. En otro ejemplo particular, "prolongar la supervivencia" significa ampliar la supervivencia sin progresión (SSP) y/o la supervivencia global (SG) de los pacientes con cáncer que reciben la terapia combinada definida en la reivindicación (es decir, la combinación de pertuzumab, trastuzumab y quimioterapia) en relación con los pacientes tratados con pertuzumab y la quimioterapia solamente.

Una "respuesta objetiva" se refiere a una respuesta medible, incluyendo la respuesta completa (CR, por sus siglas en inglés) o la respuesta parcial (PR, por sus siglas en inglés).

Por "respuesta completa" o "RC" se entiende la desaparición de todos los signos de cáncer en respuesta al tratamiento. Esto no siempre significa que el cáncer se haya curado.

"Respuesta parcial" o "RP" se refiere a una reducción en el tamaño de uno o más tumores o lesiones o en el alcance del cáncer en el organismo, en respuesta al tratamiento.

Un "receptor HER" es una proteína tirosina quinasa receptora que pertenece a la familia del receptor HER e incluye receptores EGFR, HER2, HER3 y HER4. El receptor HER comprenderá generalmente un dominio extracelular, que puede unirse a un ligando HER y/o dimerizarse con otra molécula receptora HER; un dominio transmembrana lipófilo; un dominio tirosina quinasa intracelular conservado; y un dominio de señalización carboxilo-terminal que alberga varios restos de tirosina que pueden fosforilarse. El receptor HER puede ser un receptor HER de "secuencia nativa" o una "variante de la secuencia de aminoácidos" del mismo. Preferentemente el receptor HER es un receptor HER humano de secuencia nativa.

Las expresiones "ErbB2" y "HER2" se usan de forma intercambiable en el presente documento y se refieren a proteína de HER2 humana descrita, por ejemplo, en Semba *et al.*, PNAS (USA) 82:6497-6501 (1985) and Yamamoto *et al.* Nature 319:230-234 (1986) (número de registro en Genbank X03363). El término "erbB2" se refiere al gen que codifica ErbB2 humano y "neu" se refiere al gen que codifica p185^{neu} de rata. El HER2 preferente es HER2 humano

de secuencia nativa.

En el presente documento, "dominio extracelular de HER2" o "DEC de HER2" se refiere a un dominio de HER2 que está fuera de una célula, ya sea anclado a una membrana celular, o en circulación, incluyendo fragmentos de los mismos. La secuencia de aminoácidos de HER2 se muestra en la figura 1. El dominio extracelular de HER2 puede comprender cuatro dominios: "Dominio I" (restos de aminoácidos de aproximadamente 1-195; SEQ ID NO: 1), "Dominio II" (restos de aminoácidos de aproximadamente 196-319; SEQ ID NO: 2), "Dominio III" (restos de aminoácidos de aproximadamente 320-488; SEQ ID NO: 3) y "Dominio IV" (restos de aminoácidos de aproximadamente 489-630; SEQ ID NO: 4) (numeración de restos sin péptido señal). Véase Garrett *et al.* Mol. Cell. 11: 495-505 (2003), Cho *et al.* Nature 421:756-760 (2003), Franklin *et al.* Cancer Cell 5:317-328 (2004) y Plowman *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. 90:1746-1750 (1993), así como en la figura 1 en el presente documento.

"HER3" o "ErbB3" en el presente documento se refieren al receptor como se divulga, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. n.º 5.183.884 y 5.480.968 así como en Kraus *et al.* PNAS (USA) 86:9193-9197 (1989).

Un cáncer con "bajo nivel de HER3" es aquel que expresa HER3 a un nivel menor que el nivel medio para la expresión de HER3 en el tipo de cáncer. El nivel de ADN, la proteína y/o el ARNm de HER3 en el cáncer se puede evaluar para determinar si el cáncer es un cáncer con niveles bajos de HER3. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. 7.981.418 para obtener información adicional sobre el cáncer con niveles bajos de HER3. Opcionalmente, se realiza un ensayo de expresión de ARNm de HER3 para determinar que el cáncer es un cáncer con niveles bajos de HER3. Se puede evaluar el nivel de ARNm de HER3 en el cáncer, por ejemplo, una reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tal como PCR de transcripción inversa cuantitativa (qRT-PCR). Opcionalmente, el cáncer expresa HER3 en una relación de concentración igual o inferior a aproximadamente 2,81 según lo evaluado por qRT-PCR, por ejemplo, usando un instrumento COBAS z480®.

Un "dímero de HER" en el presente documento es un dímero asociado de forma no covalente que comprende al menos dos receptores HER. Dichos complejos pueden formarse cuando una célula que expresa dos o más receptores HER se expone a un ligando de HER y puede aislarse por inmunoprecipitación y analizarse por SDS-PAGE como se describe en Sliwkowski *et al.*, J. Biol. Chem., 269(20): 14661-14665 (1994), por ejemplo. Otras proteínas, tales como una subunidad del receptor de citocinas (por ejemplo, gp130) pueden asociarse con el dímero. Preferentemente, el dímero HER comprende HER2.

Un "heterodímero de HER" en el presente documento es un heterodímero asociado de forma no covalente que comprende al menos dos receptores HER diferentes, tal como los heterodímeros EGFR-HER2, HER2-HER3 o HER2-HER4.

Un "anticuerpo de HER" es un anticuerpo que se une a un receptor HER. Opcionalmente, el anticuerpo HER también interfiere con la activación o función de HER. Preferentemente, el anticuerpo HER se une al receptor HER2. Los anticuerpos HER2 de interés en el presente documento son pertuzumab y trastuzumab.

"Activación de HER" se refiere a la activación, o fosforilación, de uno cualquiera o más receptores HER. Generalmente, la activación de HER da como resultado la transducción de señal (por ejemplo la provocada por un dominio quinasa intracelular de un receptor HER que fosforila restos de tirosina en el receptor HER o un polipéptido sustrato). La activación de HER puede estar mediada por la unión de un ligando de HER con un dímero de HER que comprende el receptor HER de interés. La unión del ligando de HER con un dímero de HER puede activar un dominio quinasa de uno o más de los receptores HER y por lo tanto da como resultado la fosforilación de restos de tirosina en uno o más de los receptores HER y/o fosforilación de restos de tirosina en un polipéptido o polipéptidos sustrato adicionales, tales como quinasas intracelulares MAPK o Akt.

"Fosforilación" se refiere a la adición de uno o más grupos fosfato a una proteína, tal como un receptor HER o un sustrato del mismo.

Un anticuerpo que "inhibe la dimerización de HER" es un anticuerpo que inhibe, o interfiere con, la formación de un dímero HER. Preferentemente, dicho anticuerpo se une a HER2 en el sitio de unión heterodimérico del mismo. El anticuerpo inhibidor de la dimerización más preferente en el presente documento es pertuzumab o Mab 2C4. Otros ejemplos de anticuerpos que inhiben la dimerización de HER incluyen anticuerpos que se unen a EGFR e inhiben la dimerización de los mismos con uno o más receptores HER de otro tipo (por ejemplo, el anticuerpo monoclonal EGFR 806, Mab 806, que se une a EGFR activado o "sin ataduras"; véase Johns *et al.*, J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384 (2004)); anticuerpos que se unen a HER3 e inhiben la dimerización de los mismos con uno o más receptores HER de otro tipo; y anticuerpos que se unen a HER4 e inhiben su dimerización con uno o más receptores HER de otro tipo.

Un "inhibidor de la dimerización de HER2" es un agente que inhibe la formación de un dímero o heterodímero que comprende HER2.

Un "sitio de unión heterodimérico" en HER2, se refiere a un región en el dominio extracelular de HER2 que entra en contacto, o forma interfase, con una región en el dominio extracelular de EGFR, HER3 o HER4 tras la formación de

un dímero con el mismo. La región se encuentra en el dominio II de HER2 (SEQ ID NO: 15). Franklin *et al.* Cancer Cell 5:317-328 (2004).

Un anticuerpo de HER2 que "se une con un sitio de unión heterodimérico" de HER2, se une a restos en el dominio II (SEQ ID NO: 2) y opcionalmente también se une a restos en otro de los dominios del dominio extracelular de HER2, tales como los dominios I y III, SEQ ID NO: 1 y 3), y puede obstaculizar estéricamente, al menos hasta cierto punto, la formación de un heterodímero de HER2-EGFR, HER2-HER3 o HER2-HER4. Franklin *et al.* Cancer Cell 5:317-328 (2004) caracterizan la estructura cristalina de HER2-pertuzumab, depositada en el Banco de Datos de Proteínas RCSB (ID Código IS78), que ilustra un anticuerpo de ejemplo que se une con el sitio de unión heterodimérico de HER2.

Un anticuerpo que "se une al dominio II" de HER2 se une a restos en el dominio II (SEQ ID NO: 2) y opcionalmente restos en otro u otros dominios de HER2, tales como los dominios I y III (SEQ ID NO: 1 y 3, respectivamente). Preferentemente, el anticuerpo que se une al dominio II se une a la unión entre los dominios I, II y III de HER2.

Para los fines del presente documento, "pertuzumab" y "rhuMAb 2C4", que se usan indistintamente, se refieren a un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácido ligera variable y pesada variable en las SEQ ID NO: 7 y 8, respectivamente. Cuando pertuzumab es un anticuerpo intacto, comprende, preferentemente, un anticuerpo IgG1; puede comprender la secuencia de aminoácidos de cadena ligera en las SEQ ID NO: 11 o 15, y la secuencia de aminoácidos de cadena pesada en las SEQ ID NO: 12 o 16. El anticuerpo se produce opcionalmente por células de ovario de hámster chino (CHO) recombinantes. Los términos "pertuzumab" y "rhuMAb 2C4" en el presente documento cubren versiones biosimilares del medicamento con el nombre adoptado en Estados Unidos (USAN) o el nombre común internacional (INN): pertuzumab.

Para los fines del presente documento, "trastuzumab" y "rhuMAb4D5", que se usan indistintamente, se refieren a un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos ligeras variables y pesadas variables de las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente. Cuando trastuzumab es un anticuerpo intacto, comprende, preferentemente, un anticuerpo IgG1; puede comprender la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de la SEQ ID NO: 13 y la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 14. El anticuerpo se produce opcionalmente en células de ovario de hámster chino (CHO) recombinantes. Los términos "trastuzumab" y "rhuMAb4D5" en el presente documento cubren versiones biosimilares del medicamento con el nombre adoptado en Estados Unidos (USAN) o el nombre común internacional (INN): trastuzumab.

El término "anticuerpo" se usa en el presente documento en el sentido más amplio y específicamente abarca anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada.

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, roedores) son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima procedente de inmunoglobulina no humana. En su mayoría, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en la que los restos de una región hipervariable del receptor se sustituyen por restos de una región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante), tal como ratón, rata, conejo o primate no humano que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, los restos de la región marco (FR, por sus siglas en inglés) de la inmunoglobulina humana están sustituidos por los correspondientes restos no humanos. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender restos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se efectúan para perfeccionar adicionalmente el rendimiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente la totalidad de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables, en los que todos o sustancialmente todos los bucles hipervariables corresponden a los de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las regiones FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado comprenderá también opcionalmente al menos una parte de una región constante de inmunoglobulina (Fc), normalmente la de una inmunoglobulina humana. Para más detalles, véanse Jones *et al.*, Nature 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature 332:323-329 (1988); y Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992). Los anticuerpos humanizados contra HER2 incluyen específicamente trastuzumab (HERCEPTIN®) como se describe en la Tabla 3 de la Patente de EE.UU. 5.821.337 como se define en el presente documento; y los anticuerpos 2C4 humanizados tales como pertuzumab como se describe y define en el presente documento.

Un "anticuerpo intacto" en el presente documento es uno que comprende dos regiones de unión a antígeno, y una región Fc. Preferentemente, el anticuerpo intacto tiene una región Fc funcional.

Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, que comprende preferentemente la región de unión a antígeno del mismo. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo monocatenario; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmento(s) de anticuerpo.

Los "anticuerpos nativos" son por lo general glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 Dalton, compuestas por dos cadenas ligeras (L, del inglés *light*) idénticas y dos cadenas pesadas (H, del inglés *heavy*) idénticas. Cada cadena ligera está unida a una cadena pesada mediante un enlace disulfuro covalente, aunque el

número de enlaces disulfuro varía entre las cadenas pesadas de diferentes isotipos de inmunoglobulina. Cada cadena pesada y ligera tiene también puentes disulfuro intracatenarios a espacios regulares. Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (V_H) seguido de varios dominios constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable en un extremo (V_L) y un dominio constante en su otro extremo. El dominio constante de la cadena ligera está alineado con el primer dominio constante de la cadena pesada, y el dominio variable de la cadena ligera está alineado con el dominio variable de la cadena pesada. Se cree que restos de aminoácidos particulares forman una interfase entre los dominios variables de cadena ligera y cadena pesada.

El término "región hipervariable" cuando se usa en el presente documento se refiere a los restos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la unión a antígeno. La región hipervariable generalmente comprende restos de aminoácidos de una región determinante de la complementariedad o "CDR" (por ejemplo, restos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de la cadena ligera y 31-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en el dominio variable de cadena pesada; Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) y/o aquellos restos de un "bucle hipervariable" (por ejemplo restos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en el dominio variable de la cadena ligera y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en el dominio variable de cadena pesada; Chothia y Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Los restos de "región marco conservada" o "FR" son los restos de dominio variable distintos de los restos de región hipervariable como se define en el presente documento.

La expresión "región Fc" en el presente documento se utiliza para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina, incluyendo regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, habitualmente se define que la región Fc de cadena pesada de IgG humana se extiende desde un resto de aminoácido en la posición Cys226, o desde Pro230, al extremo carboxilo de la misma. La lisina C-terminal (resto 447 de acuerdo con el sistema de numeración EU) de la región Fc puede eliminarse, por ejemplo, durante la producción o purificación del anticuerpo o mediante ingeniería recombinante del ácido nucleico que codifica una cadena pesada del anticuerpo. En consecuencia, una composición de anticuerpos intactos puede comprender poblaciones de anticuerpos con todos los restos K447 eliminados, poblaciones de anticuerpos sin restos K447 eliminados y poblaciones de anticuerpos que tienen una mezcla de anticuerpos con y sin el resto K447.

A menos que se indique de otro modo, en el presente documento la numeración de los restos en una cadena pesada de inmunoglobulina es la del índice EU tal como en Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). El "índice EU como en Kabat" se refiere a la numeración de restos del anticuerpo EU de IgG1 humano.

Una "región Fc funcional" posee una "función efectora" de una región Fc de secuencia nativa. Las "funciones efectoras" ilustrativas incluyen la unión de C1q; citotoxicidad dependiente del complemento; unión al receptor de Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC, por sus siglas en inglés); fagocitosis; regulación por disminución de receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B); BCR, etc. Tales funciones efectoras habitualmente requieren que la región Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo, un dominio variable de anticuerpo) y se puede evaluar usando diversos ensayos como se divulgan en el presente documento, por ejemplo.

Una "región Fc de secuencia nativa" comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región Fc encontrada en la naturaleza. Las regiones Fc humanas de secuencia nativa incluyen una región Fc de IgG1 humana de secuencia nativa (alotipos no A y A); región Fc de IgG2 humana de secuencia nativa; región Fc de IgG3 humana de secuencia nativa; y región Fc de IgG4 humana de secuencia nativa así como variantes de las mismas de origen natural.

Una "región Fc variante" comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de aquella de una región Fc de secuencia nativa en virtud de al menos una modificación de aminoácidos, preferentemente una o más sustituciones de aminoácidos. Preferentemente, la región Fc variante tiene al menos una sustitución de aminoácido en comparación con una región Fc de secuencia nativa o con la región Fc de un polipéptido original, por ejemplo, de aproximadamente una a aproximadamente diez sustituciones de aminoácidos y, preferentemente, de aproximadamente una a aproximadamente cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de secuencia nativa o en la región Fc del polipéptido original. La región Fc variante en el presente documento preferentemente poseerá al menos aproximadamente un 80 % de homología con una región Fc de secuencia nativa y/o con una región Fc de un polipéptido original y, más preferentemente, al menos aproximadamente un 90 % de homología con la misma, más preferentemente al menos aproximadamente un 95 % de homología con el mismo.

Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos intactos se pueden asignar a diferentes "clases". Hay cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas pueden subdividirse adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Los dominios constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de anticuerpos se denominan α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de las distintas clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

Un "anticuerpo desnudo" es un anticuerpo que no está conjugado con una molécula heteróloga, tal como una fracción citotóxica o radiomarcador.

5 Un anticuerpo "madurado por afinidad" es uno con una o más alteraciones en uno o más regiones hipervariables del mismo que da como resultado una mejora en la afinidad del anticuerpo por el antígeno, en comparación con un anticuerpo parental que no posee dicha modificación (o modificaciones). Los anticuerpos con afinidad madurada preferentes tendrán afinidades nanomolares o incluso picomolares para el antígeno diana. Los anticuerpos con afinidad maduras se producen mediante procedimientos conocidos en la técnica. Marks *et al.* Bio/Technology 10:779-783 (1992) describe la maduración por afinidad por el reordenamiento de dominios VH y VL. La mutagénesis aleatoria de los restos de CDR y/o de armazón se describe por: Barbas *et al.* Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813 (1994); Schier *et al.* Gene 169: 147-155 (1995); Yelton *et al.* J. Immunol. 155: 1994-2004 (1995); Jackson *et al.*, J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); y Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992).

15 Un anticuerpo "desamidado" es uno en el que se han derivatizado uno o más restos de asparagina del mismo, por ejemplo, a un ácido aspártico, una succinimida o un ácido iso-aspártico.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento celular no regulado.

20 "Cáncer de mama en estadio temprano" o "cáncer de mama temprano" o "CMt", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al cáncer de mama que no se ha extendido más allá de la mama o de los ganglios linfáticos axilares. Este tipo de cáncer generalmente se trata con terapia neoadyuvante o adyuvante.

25 Un cáncer "avanzado" es uno que se ha diseminado fuera del sitio u órgano de origen, ya sea mediante invasión local o metástasis. En consecuencia, el término cáncer "avanzado" incluye tanto la enfermedad localmente avanzada como la metastásica, tal como "cáncer de mama avanzado".

30 Un cáncer "resistente" es aquel que progresa a pesar de la administración de un agente antitumoral, como una quimioterapia, al paciente con cáncer. Un ejemplo de cáncer resistente es el que es resistente al platino.

Un cáncer "recurrente" es uno que tiene recurrencia, ya sea en el sitio inicial o en un sitio distante, tras una respuesta a la terapia inicial, tal como cirugía.

35 Un cáncer "localmente recurrente" es un cáncer que vuelve después del tratamiento al mismo lugar que el cáncer tratado anteriormente.

Un cáncer "no resecable" o "irresecable" no se puede eliminar (resecar) mediante cirugía.

40 "Terapia adyuvante" o "tratamiento adyuvante" o "administración adyuvante" se refiere a terapia sistémica administrada después de la cirugía. Se puede administrar tratamiento adyuvante después de la cirugía definitiva, donde no se pueden detectar evidencias residuales de enfermedad, de tal manera que reduce el riesgo de recidiva de la enfermedad. El objetivo de la terapia adyuvante es evitar la recurrencia del cáncer y, por tanto, reducir la posibilidad de muerte relacionada con el cáncer.

45 "Cirugía definitiva" se refiere a la extirpación completa del tumor y el tejido circundante, así como de los ganglios linfáticos afectados. Dicha cirugía incluye lumpectomía, mastectomía, tal como mastectomía total más disección axilar, mastectomía doble, etc.

50 El cáncer de mama con "ganglios positivos" o "ganglios linfáticos positivos" es un cáncer de mama que se ha diseminado a los ganglios linfáticos regionales (generalmente los que se encuentran debajo del brazo). Los sujetos con cáncer de mama con ganglios positivos aquí incluyeron aquellos con 1-3 ganglios afectados; 4-9 ganglios afectados; y 10 o más ganglios afectados. Los sujetos con 4 o más ganglios afectados tienen mayor riesgo de recurrencia que aquellos con menos o ningún ganglio afectado.

55 El cáncer "positivo para receptores de estrógenos (RE)" es un cáncer que da positivo en la expresión de ER. Por el contrario, el cáncer "negativo para ER" da negativo para tal expresión. Se puede realizar el análisis del estado de ER mediante cualquier método conocido en la técnica. Para el fin de los estudios del presente documento, los tumores positivos para ER se definen como ≥ 10 fmol/mg de proteína del citosol mediante el método de gradiente de densidad de sacarosa o carbón recubierto de dextrano, o positivos (utilizando criterios de laboratorio individuales) mediante el método de inmunoensayo enzimático (EIA) o mediante ensayo inmunocitoquímico.

60 "Recurrencia del cáncer" en el presente documento se refiere a un retorno del cáncer tras el tratamiento e incluye el retorno del cáncer en la mama, así como la recurrencia distante, donde el cáncer regresa fuera de la mama.

65 Un sujeto con "alto riesgo de recurrencia del cáncer" es aquel que tiene mayores posibilidades de sufrir una recurrencia

del cáncer, por ejemplo, sujetos relativamente jóvenes (por ejemplo, menos de aproximadamente 50 años), aquellos con ganglios linfáticos positivos, particularmente 4 o más ganglios linfáticos afectados (incluidos 4-9 ganglios linfáticos afectados y 10 o más ganglios linfáticos afectados), aquellos con tumores mayores de 2 cm de diámetro, aquellas con cáncer de mama positivo para HER2 y aquellas con cáncer de mama con receptores hormonales negativos (es decir, receptores de estrógeno (ER) negativos y receptores de progesterona (PR) negativos). Un médico experto puede determinar el nivel de riesgo de un sujeto. Generalmente, dichos sujetos de alto riesgo tendrán afectación de los ganglios linfáticos (por ejemplo, con 4 o más ganglios linfáticos afectados); no obstante, los sujetos sin afectación de los ganglios linfáticos también tienen un alto riesgo, por ejemplo si su tumor es mayor o igual a 2 cm.

El cáncer "positivo al receptor de progesterona (PR)" es un cáncer que da positivo en la expresión de PR. Por el contrario, el cáncer "negativo a PR" da negativo para tal expresión. Se puede realizar el análisis del estado de RP mediante cualquier método conocido en la técnica. Para el fin de los estudios del presente documento, los métodos aceptables incluyen el carbón recubierto de dextrano o los métodos de gradiente de densidad de sacarosa, técnicas de inmunoensayo enzimático (EIA) y ensayos inmunocitoquímicos.

"Terapia neoadyuvante" o "tratamiento neoadyuvante" o "administración neoadyuvante" se refiere a terapia sistémica administrada antes de la cirugía.

En el presente documento, "inicio del tratamiento" se refiere al inicio de un régimen de tratamiento después de la extirpación quirúrgica del tumor. Esto puede referirse a la administración de AC después de la cirugía. Alternativamente, esto puede referirse a una administración inicial del anticuerpo HER2 y/o agente quimioterapéutico.

Por "administración inicial" de un anticuerpo HER2 y agente quimioterapéutico se entiende una primera dosis del anticuerpo HER2 o agente quimioterapéutico como parte de un programa de tratamiento.

Por "curar" el cáncer en el presente documento se entiende la ausencia de recurrencia del cáncer aproximadamente 4 o aproximadamente 5 años después de comenzar la terapia adyuvante.

El cáncer "metastásico" se refiere al cáncer que se ha diseminado de una parte del cuerpo (por ejemplo, la mama) a otra parte del cuerpo.

En el presente documento, un "paciente" o "sujeto" es un paciente humano. El paciente puede ser un "paciente con cáncer", es decir, uno que padece o está en riesgo de padecer uno o más síntomas de cáncer, en particular cáncer de mama.

Una "población de pacientes" se refiere a un grupo de pacientes con cáncer. Dichas poblaciones se pueden usar para demostrar la eficacia estadísticamente significativa y/o la seguridad de un fármaco, tal como pertuzumab y/o trastuzumab.

Un paciente "recidivante" es uno que tiene signos o síntomas de cáncer tras la remisión. Opcionalmente, el paciente ha recidivado tras la terapia adyuvante o neoadyuvante.

Un cáncer o una muestra biológica que "muestra la expresión, amplificación o activación de HER" es una que, en un ensayo diagnóstico, expresa (incluso sobreexpresa) un receptor HER, tiene el gen HER amplificado y/o demuestra de otra manera la activación o la fosforilación de un receptor HER.

Una muestra de cáncer o biológica que "presenta activación de HER" es una que, en un ensayo diagnóstico, demuestra activación o fosforilación de un receptor HER. Dicha activación se puede determinar directamente (por ejemplo, midiendo la fosforilación de HER mediante ELISA) o indirectamente (por ejemplo, mediante el perfil de expresión génica o detectando heterodímeros de HER, como se describe en el presente documento).

Un cáncer con "sobreexpresión o amplificación del receptor HER" es uno que tiene niveles significativamente más altos de una proteína o gen del receptor HER en comparación con una célula no cancerosa del mismo tipo de tejido. Dicha sobreexpresión puede estar provocada por la amplificación génica o por transcripción o traducción aumentadas. La sobreexpresión o amplificación del receptor HER puede determinarse en un ensayo de diagnóstico o pronóstico evaluando los niveles aumentados de la proteína HER presente en la superficie de una célula (por ejemplo mediante un ensayo inmunohistoquímico; IHC). Como alternativa o adicionalmente, se pueden medir los niveles de ácido nucleico que codifica HER en la célula, por ejemplo, mediante hibridación *in situ* (ISH), incluyendo hibridación fluorescente *in situ* (FISH; véase el documento WO98/45479 publicado en octubre de 1998) e hibridación cromogénica *in situ* (CISH; véase, por ejemplo, Tanner *et al.*, Am. J. Pathol. 157(5): 1467-1472 (2000); Bella *et al.*, J. Clin. Oncol. 26: (Suplemento del 20 de mayo; resumen 22147) (2008)), técnicas de transferencia Southern o reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tales como PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR). También se puede estudiar la sobreexpresión o amplificación de receptor HER midiendo el antígeno desprendido (por ejemplo, dominio extracelular de HER) en un fluido biológico tal como suero (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 4.933.294 emitida el 12 de junio de 1990; el documento WO91/05264 publicado el 18 de abril de 1991; la patente de Estados Unidos 5.401.638 emitida el 28 de marzo de 1995; y Sias *et al.* J. Immunol. Methods 132: 73-80 (1990)). Además de los anteriores

ensayos, están disponibles diversos ensayos *in vivo* para el facultativo experto. Por ejemplo, se pueden exponer células dentro del cuerpo del paciente a un anticuerpo que está marcado opcionalmente con un marcador detectable, por ejemplo, un isótopo radioactivo, y puede evaluarse la unión del anticuerpo con células en el paciente, por ejemplo, mediante exploración externa por radioactividad o analizando una biopsia tomada de un paciente previamente expuesto al anticuerpo.

Un cáncer "positivo para HER2" comprende células cancerosas que tienen niveles de HER2 mayores que los normales, tal como cáncer de mama positivo para HER2. Opcionalmente, el cáncer positivo para HER2 tiene una puntuación inmunohistoquímica (IHC) de 2+ o 3+ y/o una relación de amplificación de la hibridación *in situ* (ISH) $\geq 2,0$.

En el presente documento, un "agente antitumoral" se refiere a un fármaco utilizado para tratar el cáncer. Los ejemplos no limitantes de agentes antitumorales en el presente documento incluyen agentes de quimioterapia, inhibidores de la dimerización de HER, anticuerpos contra HER, anticuerpos dirigidos contra antígenos asociados a tumores, compuestos antihormonales, citocinas, fármacos dirigidos a EGFR, agentes antiangiogénicos, inhibidores de tirosina cinasa, agentes inhibidores del crecimiento y anticuerpos, agentes citotóxicos, anticuerpos que inducen apoptosis, inhibidores de COX, inhibidores de farnesil transferasa, anticuerpos que se unen a la proteína oncofetal CA 125, vacunas de HER2, inhibidores de raf o ras, doxorubicina liposómica, topotecán, taxano, inhibidores duales de la tirosina quinasa, TLK286, EMD-7200, pertuzumab, trastuzumab, erlotinib y bevacizumab.

El "epítipo 2C4" es la región del dominio extracelular de HER2 con la que se une el anticuerpo 2C4. Para cribar anticuerpos que se unen esencialmente al epítipo 2C4, puede realizarse un ensayo de bloqueo cruzado rutinario tal como el descrito en Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow y David Lane (1988). Preferentemente, el anticuerpo bloquea la unión de 2C4 a HER2 en aproximadamente un 50 % o más. Alternativamente, se puede llevar a cabo el cartografiado del epítipo para evaluar si el anticuerpo se une esencialmente al epítipo 2C4 de HER2. El epítipo 2C4 comprende restos del dominio II (SEQ ID NO: 2) en el dominio extracelular de HER2. 2C4 y pertuzumab se unen al dominio extracelular de HER2 en la unión de los dominios I, II y III (SEQ ID NO: 1, 2 y 3, respectivamente). Franklin *et al.* Cancer Cell 5:317-328 (2004).

El "epítipo 4D5" es la región en el dominio extracelular de HER2 a la que se une el anticuerpo 4D5 (ATCC CRL 10463) y trastuzumab. Este epítipo está cerca del dominio transmembrana de HER2 y dentro del dominio IV de HER2 (SEQ ID NO: 4). Para detectar anticuerpos que se unen esencialmente al epítipo 4D5, puede realizarse un ensayo de bloqueo cruzado rutinario tal como el descrito en Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow y David Lane (1988). Alternativamente, se puede llevar a cabo el cartografiado del epítipo para evaluar si el anticuerpo se une esencialmente al epítipo 4D5 de HER2 (por ejemplo, uno cualquiera o más restos en la región desde aproximadamente el resto 529 hasta aproximadamente el resto 625, incluido el ECD de HER2, incluyendo la numeración del resto el péptido señal).

"Tratamiento" se refiere tanto a tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas. Los que necesiten tratamiento incluyen los que ya tienen cáncer así como en los que va a prevenirse el cáncer. Por consiguiente, el paciente a tratar en el presente documento puede haber sido diagnosticado que tiene cáncer o puede estar predispuesto o ser susceptible a sufrir cáncer.

La expresión "cantidad efectiva" se refiere a una cantidad de un fármaco eficaz para tratar el cáncer en el paciente. La cantidad efectiva del fármaco puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, hasta cierto punto, el crecimiento tumoral; y/o aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. En la medida en que el fármaco puede evitar el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. La cantidad eficaz puede extender la supervivencia exenta de progresión (por ejemplo, según se mide con los criterios de Evaluación de la respuesta para tumores sólidos, RECIST o cambios en CA-125), y da como resultado una respuesta objetiva (que incluye una respuesta parcial, RP, o una respuesta completa, RC), un aumento del tiempo de supervivencia global, y/o una mejora en uno o más síntomas del cáncer (por ejemplo, según se evalúa mediante FOSI).

La expresión "agente citotóxico", como se usa en el presente documento, se refiere a una sustancia que inhibe o impide la función de las células y/o produce la destrucción de las células. Con el término se pretende incluir isótopos radiactivos (por ejemplo, At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} e isótopos radioactivos de Lu), agentes quimioterapéuticos y toxinas tales como toxinas de moléculas pequeñas o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, incluyendo fragmentos y/o variantes de las mismas.

Una "quimioterapia" es el uso de un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos, utilizados en quimioterapia, incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y CYTOXAN® ciclofosfamida; alquilsulfonatos, tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocina, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilmelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida y trimetilolmelamina; TLK 286 (TELCYTA™); acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); delta-9-tetrahidrocannabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapachol;

colchicinas; ácido betulínico; una camptotecina (incluyendo el análogo sintético de topotecan (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecán, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escoplectina y 9-aminocamptotecina); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos, adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofilínico; tenipósido; criptoficinas (en particular, criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas, tales como clorambucilo, clomafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; bisfosfonatos, tales como clodronato; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo, caliqueamicina, especialmente calicheamicina gammall y calicheamicina omegall (véase, por ejemplo, Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)) y antraciclinas tales como annamicina, AD 32, alcarrubicina, daunorrubicina, doxorubicina, dexrazoxano, DX-52-1, epirubicina, GPX-100, idarrubicina, valrubicina, KRN5500, menogarilo, dinemicina, incluyendo dinemicina A, una esperamicina, cromóforos de neocarzinostatina y cromóforos del antibiótico enediina de la cromoproteína relacionada, aclacinomisinina, actinomycinina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomycinina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomycinina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina ADRIAMYCIN® (incluyendo morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, doxorubicina liposómica y desoxidoxorrubicina), esorrubicina, marcelomicina, mitomicinas, tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiomicina, puomicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina y zorrubicina; análogos del ácido fólico, tales como denopterina, pteropterina y trimetrexato; análogos de purina, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiampirina, y tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina y floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestana y testolactona; antiadrenales tales como aminoglutetimida, mitotano y trilostano; relleno de ácido fólico tal como ácido folínico (leucovorina); aceglatona; agentes antineoplásicos dirigidos contra folato tales como ALIMTA®, LY231514 pemetrexed, inhibidores de la dihidrofolato reductasa tales como metotrexato, antimetabolitos tales como 5-fluorouracilo (5-FU) y sus profármacos tales como UFT, S-1 y capecitabina, e inhibidores de la timidilato sintasa e inhibidores de la glicinamida ribonucleótido formiltransferasa tales como raltitrexed (TOMUDEX^{RM}, TDX); inhibidores de la dihidropirimidina deshidrogenasa tal como eniluracilo; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; 2-etilhidracida; procarbazona; complejo de polisacárido PSK7 (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxanos; clorambucilo; gemcitabina (GEMZAR®); 6-tioguanina; mercaptopurina; platino; análogos de platino o análogos basados en platino tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina (VELBAN®); etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina (ONCOVIN®); alcaloide de la vinca; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilhilomitina (DMFO); retinoides, tales como ácido retinoico; sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores tales como CHOP, una abreviatura de una terapia combinada de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona y FOLFOX, una abreviatura para una pauta de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATINTM) combinado con 5-FU y leucovorina.

También se incluyen en esta definición agentes antihormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción de hormonas sobre tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERM, por sus siglas en inglés), que incluyen, por ejemplo, tamoxifeno (incluido NOLVADEX® tamoxifeno), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y FARESTON® toremifeno; inhibidores de aromatasa; y antiandrógenos, tales como flutamina, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; así como troxacitabina (un análogo nucleosídico de 1,3-dioxolano citosina); oligonucleótidos antisentido, particularmente, los que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, tal como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras, y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R); vacunas tales como vacunas para terapia génica, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, la vacuna LEUVECTIN® y la vacuna VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; LURTOTECAN® Inhibidor de la topoisomerasa 1; rmRH ABARELIX®; y sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores.

Un "taxano" es una quimioterapia que inhibe la mitosis e interfiere con los microtúbulos. Ejemplos de taxanos incluyen paclitaxel (TAXOL®; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.); formulación de nanopartículas sin cremóforo diseñadas con albúmina de paclitaxel o *nab*-paclitaxel (ABRAXANETM; American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois); y docetaxel (TAXOTERE®; Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia).

Una "antaciclina" es un tipo de antibiótico que proviene del hongo *Streptococcus peucetius*, los ejemplos incluyen: daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina y cualquier otro agente quimioterapéutico con antraciclina, incluidos los enumerados anteriormente.

"Quimioterapia a base de antraciclina" se refiere a un régimen de quimioterapia que consiste en o incluye una o más antraciclinas. Los ejemplos incluyen, sin limitación, 5-FU, epirrubicina y ciclofosfamida (FEC); 5-FU, doxorubicina y ciclofosfamida (FAC); doxorubicina y ciclofosfamida (AC); epirrubicina y ciclofosfamida (EC); doxorubicina y ciclofosfamida (ddAC) en dosis densas, y similares.

5 Para los fines del presente documento, "quimioterapia a base de carboplatino" se refiere a un régimen de quimioterapia que consiste en o incluye uno o más carboplatinos. Un ejemplo es TCH (docetaxel/TAXOL®, carboplatino y trastuzumab/HERCEPTIN®).

10 Un "inhibidor de la aromatasa" inhibe la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales. Ejemplos de inhibidores de la aromatasa incluyen: 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, MEGASE® acetato de megestrol, exemestano AROMASIN®, formestanio, fadrozol, vorozol RIVISOR®, FEMARA® letrozol y ARIMIDEX® anastrozol. El inhibidor de la aromatasa en el presente documento puede ser letrozol o anastrozol.

15 Una "quimioterapia antimetabolitos" es el uso de un agente que es estructuralmente similar a un metabolito, pero el cuerpo no puede usarlo de manera productiva. Muchas quimioterapias con antimetabolitos interfieren con la producción de ácidos nucleicos, ARN y ADN. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos antimetabolitos incluyen gemcitabina (GEMZAR®), 5-fluorouracilo (5-FU), capecitabina (XELODA™), 6-mercaptopurina, metotrexato, 6-tioguanina, pemetrexed, raltitrexed, arabinosilcitosina ARA-C citarabina (CYTOSAR-U®), dacarbacina (DTIC-DOME®), azocitosina, desoxicitosina, piridmideno, fludarabina (FLUDARA®), cladribina, 2-desoxi-D-glucosa, etc.

20 Por cáncer "resistente a quimioterapia" se entiende que el paciente con cáncer ha progresado mientras recibía un régimen de quimioterapia (es decir, el paciente es "resistente a la quimioterapia"), o el paciente ha progresado en los 12 meses siguientes (por ejemplo, en los 6 meses siguientes) después de completar un régimen de quimioterapia.

25 El término "platino" se utiliza en el presente documento para referirse a la quimioterapia a base de platino, que incluyen, sin limitación, cisplatino, carboplatino y oxaliplatino.

30 El término "fluoropirimidina" se utiliza en el presente documento para referirse a una quimioterapia antimetabólica, que incluyen, sin limitación, capecitabina, floxuridina y fluorouracilo (5-FU).

En el contexto de la invención que se reivindica en el presente documento, "quimioterapia" se selecciona entre

- 35 a) 5-fluorouracilo + epirrubicina + ciclofosfamida o 5-fluorouracilo + doxorubicina + ciclofosfamida, en donde la quimioterapia comprende además la administración de docetaxel o paclitaxel; o
b) doxorubicina + ciclofosfamida o epirrubicina + ciclofosfamida, en donde la quimioterapia comprende además la administración de docetaxel o paclitaxel; o
c) docetaxel + carboplatino, como se define en las reivindicaciones.

40 En una realización, la quimioterapia comprende la administración de 5-fluorouracilo + epirrubicina o doxorubicina + ciclofosfamida, que comprende además la administración de docetaxel y/o paclitaxel. En otra realización, la quimioterapia comprende la administración de doxorubicina o epirrubicina + ciclofosfamida, que comprende además la administración de docetaxel y/o paclitaxel.

45 En el presente documento, una dosis "fija" o "uniforme" de un agente terapéutico se refiere a una dosis que se administra a un paciente humano sin tener en cuenta el peso (WT) o el área de la superficie corporal (ASC) del paciente. La dosis fija o plana por lo tanto no se proporciona como una dosis mg/kg o una dosis mg/m², sino más bien como una cantidad absoluta del agente terapéutico.

50 En el presente documento, una dosis de "carga" comprende generalmente una dosis inicial de un agente terapéutico administrada a un paciente y va seguida por una o más dosis de mantenimiento de la misma. Generalmente, se administra una única dosis de carga, pero en el presente documento se contemplan múltiples dosis de carga. Por lo general, la cantidad de dosis de carga administrada(s) excede la cantidad de la(s) dosis de mantenimiento administrada(s) y/o la(s) dosis de carga se administra(n) con mayor frecuencia que la(s) dosis de mantenimiento, a fin
55 de lograr la concentración de equilibrio deseada del agente terapéutico antes de lo que se puede lograr con la(s) dosis de mantenimiento.

60 En el presente documento, una dosis de "mantenimiento" se refiere a una o más dosis de un agente terapéutico administrada(s) al paciente durante un periodo de tratamiento. Por lo general, las dosis de mantenimiento se administran a intervalos de tratamiento separados, tales como aproximadamente cada semana, aproximadamente cada 2 semanas, aproximadamente cada 3 semanas o aproximadamente cada 4 semanas, preferentemente cada 3 semanas.

65 Administración "intravenosa" se refiere a la administración de un fármaco (por ejemplo, trastuzumab y/o pertuzumab y/o quimioterapia) en una vena de un paciente, por ejemplo, mediante infusión (introducción terapéutica lenta en la vena).

Administración "subcutánea" se refiere a administrar un fármaco (por ejemplo, trastuzumab y/o pertuzumab y/o quimioterapia) debajo de la piel del paciente.

- 5 "Infusión" o "infundir" se refiere a la introducción de una solución que contiene un fármaco en el cuerpo a través de una vena para fines terapéuticos. Generalmente, esto se consigue mediante una bolsa intravenosa (IV).

Una "bolsa intravenosa" o "bolsa IV" es una bolsa que puede mantener una solución que se puede administrar a través de la vena de un paciente. La solución puede ser una solución salina (por ejemplo, aproximadamente 0,9 % o 10 aproximadamente 0,45 % de NaCl). Opcionalmente, la bolsa IV está hecha de poliolefina o policloruro de vinilo.

Por "coadministrar" se entiende administrar por vía intravenosa dos (o más) fármacos durante la misma administración, en lugar de infusiones secuenciales de los dos o más fármacos. Generalmente, esto implicará combinar los dos (o 15 más) fármacos en la misma bolsa IV antes de la coadministración de los mismos.

"Toxicidad cardíaca" se refiere a cualquier efecto secundario tóxico resultante de la administración de un fármaco o combinación de fármacos. La toxicidad cardíaca se puede evaluar basándose en uno o más de: incidencia de 20 disfunción sistólica del ventrículo izquierdo (DVI) sintomática o insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), o disminución de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI).

La expresión "sin aumentar la toxicidad cardíaca" para una combinación de medicamentos que incluye pertuzumab se refiere a una incidencia de toxicidad cardíaca que es igual o menor que la observada en pacientes tratados con fármacos distintos de pertuzumab en la combinación de fármacos (por ejemplo, igual o menor que la resultante de 25 administración de trastuzumab y quimioterapia, por ejemplo, docetaxel).

Un "vial" es un envase adecuado para mantener una preparación líquida o liofilizada.

Un "prospecto" es un folleto que, por orden de la Food and Drug Administration (FDA) u otra autoridad reguladora, debe colocarse dentro del paquete de cada fármaco recetado. El prospecto generalmente incluye la marca registrada 30 del fármaco, su nombre genérico y su mecanismo de acción; expresa sus indicaciones, contraindicaciones, advertencias, precauciones, efectos adversos y formas de dosificación; e incluye instrucciones para la dosis recomendada, el tiempo y la vía de administración.

La expresión "datos de seguridad" se refiere a los datos obtenidos en un ensayo clínico controlado que muestran la prevalencia y la gravedad de los acontecimientos adversos para orientar al usuario sobre la seguridad del fármaco, incluyendo orientación sobre cómo monitorizar y prevenir reacciones adversas al fármaco. Las Tablas 3 y 4 del presente documento proporcionan datos de seguridad para pertuzumab. Los datos de seguridad comprenden uno 35 cualquiera o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro o más) de los acontecimientos adversos (AA) o reacciones adversas (RAD) más comunes en las Tablas 3 y 4. Por ejemplo, los datos de seguridad comprenden información sobre neutropenia, neutropenia febril, diarrea y/o toxicidad cardíaca como se describe en el presente documento.

"Datos de eficacia" se refiere a los datos obtenidos en un ensayo clínico controlado que muestran que un fármaco trata eficazmente una enfermedad, tal como cáncer.

45 Por "mezcla estable" cuando se hace referencia a una mezcla de dos o más fármacos, tales como pertuzumab y trastuzumab", significa que cada uno de los fármacos en la mezcla esencialmente conserva su estabilidad física y química en la mezcla según lo evaluado por uno o más ensayos analíticos. Los ensayos analíticos de ejemplo para este fin incluyen: color, aspecto y transparencia (CAC), análisis de concentración y turbidez, análisis de partículas, cromatografía de exclusión molecular (SEC), cromatografía de intercambio iónico (IEC), electroforesis en zona capilar 50 (CZE), isoelectroenfoque capilar fotografiado (iCIEF) y ensayo de potencia.

Un fármaco que se administra de forma "simultánea" con uno o más fármacos diferentes se administra durante el mismo ciclo de tratamiento, el mismo día de tratamiento que el uno o más fármacos diferentes, opcionalmente, al mismo tiempo que el uno o más fármacos diferentes. Por ejemplo, para terapias contra el cáncer que se administran 55 cada 3 semanas, los fármacos administrados simultáneamente se administran cada uno en el día 1 de un ciclo de 3 semanas.

II. Composiciones de anticuerpos y quimioterapia

60 El antígeno de HER2 a usar para producción de anticuerpos puede ser, por ejemplo, una forma soluble del dominio extracelular de un receptor HER2 o una parte del mismo, que contiene el epítipo deseado. Alternativamente, pueden usarse células que expresan HER2 en su superficie celular (por ejemplo células, NIH-3T3 transformadas para expresar en exceso HER2; o una línea celular de carcinoma tal como células SK-BR-3, véase Stancovski *et al.* PNAS (USA) 88:8691-8695 (1991) para generar anticuerpos. Otras formas de receptor HER2 útiles para generar anticuerpos serán 65 evidentes para los expertos en la técnica.

En la técnica se dispone de diversos métodos para fabricar anticuerpos monoclonales en el presente documento. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales pueden prepararse usando el método del hibridoma descrito por primera vez por Kohler *et al.*, Nature, 256: 495 (1975), por métodos de ADN recombinante (patente de EE.UU. n.º 4.816.567).

- 5 Los anticuerpos anti-HER2 usados de acuerdo con la presente invención, trastuzumab y pertuzumab, están disponibles en el mercado.

(i) *Anticuerpos humanizados*

- 10 Se han descrito en la materia métodos para humanizar anticuerpos no humanos. Preferentemente, un anticuerpo humanizado tiene uno o más restos de aminoácidos introducidos en este a partir de una fuente que es no humana. Estos restos de aminoácido no humanos se citan a menudo como restos "importados", que se toman normalmente de un dominio variable "importado". La humanización puede llevarse a cabo esencialmente siguiendo los métodos de Winter y colaboradores (Jones *et al.*, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature, 332:323-327 (1988);
 15 Verhoeyen *et al.*, Science, 239: 1534-1536 (1988)), sustituyendo las secuencias de la región hipervariable por las secuencias correspondientes de un anticuerpo humano. En consecuencia, dichos anticuerpos "humanizados" son anticuerpos quiméricos (patente de Estados Unidos N.º 4.816.567) en donde sustancialmente menos de un dominio variable humano intacto se ha sustituido por la secuencia correspondiente de una especie no humana. En la práctica, los anticuerpos humanizados son normalmente anticuerpos humanos en los que algunos restos de la región
 20 hipervariable y posiblemente algunos restos de FR se sustituyen por restos de sitios análogos en anticuerpos de roedor.

- La elección de dominios variables humanos, tanto ligeros como pesados, para usar en la fabricación de los anticuerpos humanizados es muy importante para reducir la antigenicidad. De acuerdo con el método denominado de "mejor
 25 ajuste", la secuencia del dominio variable de un anticuerpo de roedor se criba frente a la biblioteca completa de secuencias conocidas de dominio variable humano. La secuencia humana que es más cercana a la del roedor se acepta entonces como la región marco conservada humana (FR) para el anticuerpo humanizado (Sims *et al.*, J. Immunol., 151:2296 (1993); Chothia *et al.*, J. Mol. Biol., 196:901 (1987)). Otro método usa una región marco conservada concreta procedente de la secuencia consenso de todos los anticuerpos humanos de un subgrupo
 30 concreto de cadenas ligera o pesada. El mismo marco se puede usar para varios anticuerpos humanizados diferentes (Carter *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta *et al.*, J. Immunol., 151:2623 (1993)).

- Además, es importante que los anticuerpos se humanicen con la conservación de una afinidad alta para el antígeno y otras propiedades biológicas favorables. Para conseguir este objetivo, de acuerdo con un método preferido, los
 35 anticuerpos humanizados se preparan mediante un proceso de análisis de las secuencias precursoras y diversos productos humanizados conceptuales utilizando modelos tridimensionales de las secuencias precursoras y humanizadas. Los modelos tridimensionales de inmunoglobulina están comúnmente disponibles y son conocidos por los expertos en la materia. Se dispone de programas informáticos que ilustran y exponen posibles estructuras conformacionales tridimensionales de secuencias seleccionadas de la inmunoglobulina candidata. La inspección de
 40 estas presentaciones permite el análisis del papel probable de los restos en el funcionamiento de la secuencia de inmunoglobulina candidata, es decir, el análisis de los restos que influyen en la capacidad de la inmunoglobulina candidata para unirse a su antígeno. De este modo, los restos de FR pueden seleccionarse y combinarse a partir de las secuencias receptoras e importadas de tal forma que se logra la característica deseada del anticuerpo, de tal manera que se consigue una afinidad aumentada por el antígeno (o antígenos) diana. En general, los restos de la
 45 región hipervariable están directamente y muy sustancialmente implicados en la influencia de la unión a antígeno.

La Patente de Estados Unidos N.º 6.949.245 describe la producción de anticuerpos de HER2 humanizados de ejemplo que se unen con HER2 y bloquean la activación del ligando de un receptor HER.

- 50 Los anticuerpos humanizados contra HER2 incluyen específicamente trastuzumab como se describe en la Tabla 3 de la patente de Estados Unidos 5.821.337 como se define en el presente documento; y los anticuerpos 2C4 humanizados tales como pertuzumab como se describe y define en el presente documento.

- Los anticuerpos humanizados en el presente documento pueden, por ejemplo, comprender restos de región
 55 hipervariable no humana incorporados en un dominio pesado variable humano y puede comprender además una sustitución de la región marco conservada (FR) en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en 69H, 71H y 73H utilizando el sistema de numeración de dominio variable expuesto en Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). El anticuerpo humanizado puede comprender sustituciones de FR en dos o todas las posiciones 69H, 71H y 73H.

- 60 Un anticuerpo humanizado de ejemplo de interés en el presente documento comprende los restos determinantes de la complementariedad del dominio pesado variable GFTFTDYTMX (SEQ ID NO: 17), donde X es, preferentemente, D o S; DVNPNSGGSIYNQRFGK (SEQ ID NO: 18); y/o NLGPSFYFDY (SEQ ID NO:19), que comprende opcionalmente modificaciones de aminoácidos de esos restos de CDR, por ejemplo, donde las modificaciones esencialmente
 65 mantienen o mejoran la afinidad del anticuerpo. Dichas variantes de anticuerpo pueden prepararse por maduración de afinidad, por ejemplo, como se describe a continuación.

El anticuerpo humanizado puede comprender restos determinantes de complementariedad de dominio ligero variable KASQDVSGVA (SEQ ID NO:20); SASYX¹X²X³, en la que X¹ es preferentemente en R o L, X² es preferentemente Y o E, y X³ es preferentemente T o S (SEQ ID NO:21); y/o QQYYIYPYT (SEQ ID NO:22), por ejemplo además de aquellos restos de CDR de dominio pesado variable en el párrafo anterior. Dichos anticuerpos humanizados comprenden opcionalmente modificaciones de aminoácidos de los restos CDR anteriores, por ejemplo, donde las modificaciones esencialmente mantienen o mejoran la afinidad del anticuerpo. Por ejemplo, la variante de anticuerpo de interés puede tener de aproximadamente una a aproximadamente siete o de aproximadamente cinco sustituciones de aminoácidos en las secuencias de CDR ligeras variables anteriores. Dichas variantes de anticuerpo pueden prepararse por maduración de afinidad, por ejemplo, como se describe a continuación.

En el presente documento también se desvelan, aunque no se reivindican, anticuerpos madurados por afinidad que se unen a HER2. El anticuerpo precursor puede ser un anticuerpo humano o un anticuerpo humanizado, por ejemplo, uno que comprende las secuencias ligera variable y/o pesada variable de SEQ ID Nos. 7 y 8, respectivamente (es decir, que comprenden la VL y/o VH de pertuzumab). Una variante madurada por afinidad de pertuzumab se une preferentemente al receptor HER2 con una afinidad superior a la del 2C4 o pertuzumab murino (por ejemplo, de aproximadamente dos o aproximadamente cuatro veces, hasta una afinidad mejorada aproximadamente 100 veces o aproximadamente 1000 veces, por ejemplo, como se evalúa usando un ELISA de dominio extracelular de HER2 (ECD)). Los restos de CDR variables pesados de ejemplo para sustitución incluyen H28, H30, H34, H35, H64, H96, H99 o combinaciones de dos o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete de estos restos). Ejemplos de restos de CDR variables ligeros para alteración incluyen L28, L50, L53, L56, L91, L92, L93, L94, L96, L97 o combinaciones de dos o más (por ejemplo, de dos a tres, cuatro, cuatro, cinco o hasta aproximadamente diez de estos restos).

Humanización del anticuerpo 4D5 murino para generar variantes humanizadas del mismo, incluyendo trastuzumab, se describe en las patentes de Estados Unidos n.º 5.821.337, 6.054.297, 6.407.213, 6.639.055, 6.719.971 y 6.800.738, así como Carter *et al.* PNAS (USA), 89:4285-4289 (1992). HuMAb4D5-8 (trastuzumab) se unió al antígeno HER2 3 veces más estrechamente que el anticuerpo 4D5 de ratón y tenía una función inmune secundaria (ADCC) que permitió la actividad citotóxica dirigida del anticuerpo humanizado en presencia de células efectoras humanas. HuMAb4D5-8 comprendía los restos de CDR ligera variable (V_L) incorporados en un marco consenso del subgrupo I V_L κ y restos de CDR variable pesada (V_H) incorporados en un marco consenso del subgrupo III de V_H. El anticuerpo comprendía además sustituciones de la región marco (FR) como posiciones: 71, 73, 78 y 93 de los restos V_H (Numeración Kabat de restos FR; y una sustitución de FR en la posición 66 de la V_L (numeración Kabat de restos FR). Trastuzumab comprende la región γ1Fc humana de alotipo no A.

Se contemplan diversas formas del anticuerpo humanizado o anticuerpo madurado por afinidad. Por ejemplo, el anticuerpo humanizado o anticuerpo madurado por afinidad puede ser un fragmento de anticuerpo. Alternativamente, el anticuerpo humanizado o anticuerpo madurado por afinidad puede ser un anticuerpo intacto, tal como un anticuerpo IgG1 intacto.

(ii) Composiciones de pertuzumab

Una composición de anticuerpo HER2 descrita en el presente documento puede comprender una mezcla de un anticuerpo de pertuzumab de la especie principal y una o más variantes del mismo. En el presente documento se describe un anticuerpo de la especie principal de pertuzumab que comprende las secuencias de aminoácidos ligeras variables y pesadas variables en las SEQ ID NO 5 y 6, y más preferentemente que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO 11, y un aminoácido de cadena pesada. secuencia de SEQ ID NO 12 (incluidas variantes desamidadas y/u oxidadas de esas secuencias). La composición puede comprender una mezcla del anticuerpo pertuzumab de la especie principal y una variante de la secuencia de aminoácidos del mismo que comprende una extensión líder amino-terminal. Preferentemente, la extensión líder del extremo amino está en una cadena ligera de la variante de anticuerpo (por ejemplo, en una o dos cadenas ligeras de la variante de anticuerpo). El anticuerpo HER2 de la especie principal o la variante del anticuerpo puede ser un anticuerpo de longitud completa o un fragmento de anticuerpo (por ejemplo, fragmentos Fab de F(ab')₂, pero preferentemente ambos son anticuerpos de longitud completa. La variante de anticuerpo del presente documento puede comprender una extensión líder en el extremo amino en una cualquiera o más de las cadenas pesadas o ligeras de la misma. Preferentemente, la extensión líder del extremo amino se encuentra en una o dos cadenas ligeras del anticuerpo. La extensión líder amino-terminal preferentemente comprende o consiste en VHS-. La presencia de la extensión líder del extremo amino en la composición puede detectarse mediante diversas técnicas analíticas que incluyen, pero sin limitaciones, el análisis de la secuencia del extremo N, ensayo para heterogeneidad de carga (por ejemplo, cromatografía de intercambio catiónico o electroforesis de zona capilar), espectrometría de masas, etc. La cantidad de la variante de anticuerpo en la composición varía generalmente entre una cantidad que constituye el límite de detección de cualquier ensayo (preferentemente el análisis de la secuencia del extremo amino) usado para detectar la variante hasta una cantidad menor que la cantidad del anticuerpo de la especie principal. Generalmente, aproximadamente el 20 % o menos (por ejemplo, desde aproximadamente el 1 % hasta aproximadamente el 15 %, por ejemplo, de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 15 %) de las moléculas de anticuerpo en la composición comprenden una extensión líder amino-terminal. Dichas cantidades porcentuales se determinan preferentemente usando el análisis cuantitativo de la

secuencia del extremo N o el análisis del intercambio de cationes (usando preferentemente una columna de intercambio de cationes débiles de alta resolución, tal como una columna de intercambio catiónico PROPAC WCX-10™). Aparte de la variante de extensión del extremo amino, se contemplan otras alteraciones de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo y/o variante de la especie principal, incluyendo, aunque no de forma limitativa un anticuerpo que comprende un resto de lisina en el extremo C en una o ambas cadenas del mismo, una variante de anticuerpo desamidado, etc.

Por otra parte, el anticuerpo de la especie principal o variante puede comprender además variaciones de glucosilación, cuyos ejemplos no limitativos incluyen anticuerpo que comprende una estructura de oligosacárido G1 o G2 unida con la región Fc del mismo, un anticuerpo que comprende un resto carbohidrato unido a la cadena ligera del mismo (por ejemplo uno o dos restos de carbohidrato, tales como glucosa o galactosa, unidos a una o dos cadenas ligeras del anticuerpo, por ejemplo unidos a uno o más restos de lisina), un anticuerpo que comprende una o dos cadenas pesadas no glucosiladas, o un anticuerpo que comprende un oligosacárido sialidado unido a una o dos cadenas pesadas del mismo, etc.

La composición puede recuperarse de una línea celular modificada por ingeniería genética, por ejemplo, una línea de células de ovario de hámster chino (CHO) que expresa el anticuerpo HER2, o puede prepararse mediante síntesis peptídica.

Para más información con respecto a las composiciones de pertuzumab ilustrativas, véanse las patentes de Estados Unidos números 7.560.111 y 7.879.325 así como el documento US 2009/0202546A1.

(iii) Composiciones de trastuzumab

La composición de trastuzumab generalmente comprende una mezcla de un anticuerpo de especie principal (que comprende secuencias de cadena ligera y pesada de SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente), y formas variantes de los mismos, en particular variantes ácidas (incluidas variantes desamidadas). Preferentemente, la cantidad de dichas variantes ácidas en la composición es inferior a aproximadamente el 25 % o menos de aproximadamente el 20 % o menos de aproximadamente el 15 %. Véase, la patente de EE.UU. n.º 6.339.142. Véase, asimismo, Harris *et al.*, J. Chromatography, B 752:233-245 (2001) sobre formas de trastuzumab resolubles mediante cromatografía de intercambio catiónico, incluyendo el Pico A (Asn30 desamidata a Asp en ambas cadenas ligeras); Pico B (Asn55 desamidata a isoAsp en una cadena pesada); Pico 1 (Asn30 desamidata a Asp en una cadena ligera); Pico 2 (Asn30 desamidata a Asp en una cadena ligera y Asp102 isomerizada a isoAsp en una cadena pesada); Pico 3 (forma de pico principal o anticuerpo de especie principal); Pico 4 (Asp102 isomerizado a isoAsp en una cadena pesada); y Pico C (Asp 102 succinimida (Asu) en una cadena pesada). Tales formas y composiciones variantes están incluidas en la presente invención.

(iv) Quimioterapia

La quimioterapia estándar para el tratamiento del cáncer de mama temprano (CMt) positivo para HER2 incluye, sin limitación, quimioterapias que contienen antraciclina y no contienen antraciclina, tales como el tratamiento con uno o más de doxorrubicina, epirubicina, 5-fluorouracilo + epirubicina, doxorrubicina + ciclofosfamida y taxanos (por ejemplo, docetaxel o paclitaxel). La quimioterapia utilizada de acuerdo con la presente invención se define en las reivindicaciones e incluye específicamente 1) 3-4 ciclos (cada 3 semanas) de 5-fluorouracilo + epirubicina o doxorrubicina + ciclofosfamida seguidos de 4 ciclos (cada 3 semanas) de docetaxel o 12 ciclos semanales de paclitaxel. 2) 4 ciclos (cada 3 semanas) de doxorrubicina o epirubicina + ciclofosfamida seguidos de 4 ciclos (cada 3 semanas) de docetaxel o 12 ciclos semanales de paclitaxel y 3) (terapia de quimioterapia sin antraciclinas) 6 ciclos (cada 3 semanas) de docetaxel + carboplatino, tal como se describe en el ejemplo 1. Los fármacos utilizados en los diversos regímenes de quimioterapia estándar están disponibles comercialmente y se administran de acuerdo con la información de prescripción local y como se describe en el Ejemplo 1.

III. Selección de pacientes para terapia

La detección de HER2 se puede utilizar para seleccionar pacientes para tratamiento de acuerdo con la presente invención. Se encuentran disponibles varios ensayos comerciales aprobados por la FDA para identificar pacientes con cáncer positivo para HER2. Estos métodos incluyen HERCEPTEST® (Dako) y PATHWAY® HER2 (ensayos de inmunohistoquímica (IHC)) y PathVysion® y HER2 FISH pharmDx™ (ensayos de FISH). Los usuarios deben consultar los prospectos de los kits de ensayo específicos para obtener información sobre la validación y el rendimiento de cada ensayo.

Por ejemplo, la sobreexpresión de HER2 puede ser analizada por IHC, por ejemplo, usando el HERCEPTEST® (Dako). Las secciones de tejido embebidas en parafina de una biopsia de tumor se pueden someter al ensayo de IHC y se les otorga un criterio de intensidad de tinción de la proteína HER2 como sigue:

Puntuación 0, no se observa tinción o se observa tinción de membrana en menos del 10 % de las células tumorales. Puntuación 1+ se detecta una tinción de la membrana débil/apenas perceptible en más del 10 % de las células

tumorales. Las células solo se tiñen en parte de su membrana.

Puntuación 2+, se observa una tinción de membrana completa de débil a moderada en más del 10 % de las células tumorales.

Puntuación 3+, se observa una tinción de membrana completa de moderada a fuerte en más del 10 % de las células tumorales.

Los tumores con puntuaciones de 0 o 1+ para la evaluación de la sobreexpresión de HER2 pueden caracterizarse como negativos para HER2, mientras que los tumores con puntuaciones de 2+ o 3+ pueden caracterizarse como positivos para HER2.

Los tumores que sobreexpresan HER2 pueden clasificarse por puntuaciones inmunohistoquímicas correspondientes al número de copias de moléculas de HER2 expresadas por célula, y pueden determinarse bioquímicamente:

0 = 0-10.000 copias/célula,

1+ = al menos aproximadamente 200.000 copias/célula,

2+ = al menos aproximadamente 500000 copias/célula,

3+ = al menos aproximadamente 2000000 copias/célula,

La sobreexpresión de HER2 en el nivel 3+, que conduce a la activación independiente de ligando de la tirosina quinasa (Hudziak *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84:7159-7163 (1987)), se produce en aproximadamente un 30 % de los cánceres de mama y, en estos pacientes, la supervivencia sin recaída y la supervivencia global disminuyen (Slamon *et al.*, Science, 244:707-712 (1989); Slamon *et al.*, Science, 235: 177-182 (1987)).

La presencia de sobreexpresión de la proteína HER2 y la amplificación del gen están altamente correlacionadas, por consiguiente, como alternativa o adicionalmente, también se puede emplear el uso de ensayos de hibridación *in situ* (ISH), por ejemplo, mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH), para detectar la amplificación genética para la selección de pacientes apropiados para el tratamiento de acuerdo con la presente invención. Ensayos FISH tales como INFORM™ (vendido por Ventana, Arizona) o PathVysion® (Vysis, Illinois) se puede realizar en tejido tumoral fijado en formalina embebido en parafina para determinar el grado (si corresponde) de la amplificación de HER2 en el tumor.

Más comúnmente, el estado positivo de HER2 se confirma utilizando tejido tumoral de archivo incluido en parafina, usando cualquiera de los métodos anteriores.

Preferentemente, los pacientes positivo para HER2s que tienen una puntuación IHC de 2+ o 3+ o que son positivos para FISH o ISH se seleccionan para el tratamiento de acuerdo con la presente invención.

Véase también la patente de EE.UU. n.º 7.981.418 para ensayos alternativos para la detección de pacientes para terapia con pertuzumab y los ejemplos.

IV. Formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones terapéuticas de los anticuerpos HER2 utilizadas de acuerdo con la presente invención se preparan para su almacenamiento mezclando un anticuerpo que tiene el grado de pureza deseado con vehículos opcionales farmacéuticamente aceptables, excipientes o estabilizadores ("Remington's Pharmaceutical Sciences" 16ª edición, Osol, A. Ed. (1980)), generalmente en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. También se contemplan cristales de anticuerpos (véase la solicitud de patente de EE.UU. 2002/0136719). Los vehículos, excipientes y/o estabilizantes aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquil parabenos, tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos, tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Las formulaciones de anticuerpos liofilizados se describen en el documento WO 97/04801.

Las formulaciones de anticuerpos liofilizados se describen en las patentes de EE.UU. NO. 6.267.958, 6.685.940 y 6.821.515.

En una realización, la formulación de trastuzumab es polvo liofilizado sin conservantes de color blanco a amarillo pálido estéril para administración intravenosa (IV), que comprende 440 mg de trastuzumab, 400 mg de alfa α , α -trehalosa deshidratada, 9,9 mg de L-histidina-HCl, 6,4 mg de L-histidina y 1,8 mg de polisorbato 20, USP. La reconstitución de 20 ml de agua bacteriostática para inyectables (BWF1), que contiene 1,1 % de alcohol bencílico como conservante, produce una solución multidosis que contiene 21 mg/ml de trastuzumab, a un pH de aproximadamente 6,0. Para más detalles, véase la información de prescripción de trastuzumab.

En otra realización, una formulación de trastuzumab, por ejemplo adecuado para administración subcutánea, como se divulga en la patente de Estados Unidos n.º 9.345.661. Esta formulación comprende

- (a) de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 mg/ml de trastuzumab;
- (b) de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mM de un agente tampón que proporciona un pH de $5,5 \pm 2,0$;
- (c) de aproximadamente 150 a aproximadamente 250 mM de α , α -trehalosa dihidratada o sacarosa como primer estabilizante y de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 mM de metionina como segundo estabilizante;
- (d) de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,08 % de un tensioactivo no iónico; y
- (e) de aproximadamente 1.000 a 16.000 U/ml de al menos una enzima hialuronidasa.

En una realización, la formulación de pertuzumab para uso terapéutico comprende 30 mg/ml de pertuzumab en acetato de histidina 20 mM, sacarosa 120 mM, polisorbato 20 al 0,02 %, a pH 6,0. Una formulación alternativa de pertuzumab comprende 25 mg/ml de pertuzumab, tampón de histidina-HCl 10 mM, sacarosa 240 mM, polisorbato 20 al 0,02 %, pH 6,0.

En otra realización, la formulación de pertuzumab para uso terapéutico es adecuada para administración subcutánea y comprende 600 mg de pertuzumab a una concentración de 60 mg/ml, 600 mg de trastuzumab a una concentración de 60 mg/ml, 1.000 U/ml de rHuPH20, His-HCl 20 mM, pH 5,5, trehalosa 105 mM, sacarosa 100 mM, polisorbato 20 al 0,04 %, metionina 10 mM y agua estéril para inyectables hasta un volumen total de 10 ml, que puede estar contenido en un vial de 15 ml.

En una realización adicional, la formulación de pertuzumab para uso terapéutico es adecuada para administración subcutánea y comprende 1.200 mg de pertuzumab a una concentración de 80 mg/ml, 600 mg de trastuzumab a una concentración de 40 mg/ml, 1.000 U/ml de rHuPH20, His-HCl 20 mM, pH 5,5, trehalosa 70 mM, sacarosa 133 mM, polisorbato 20 al 0,04 %, metionina 10 mM y agua estéril para inyectables hasta un volumen total de 15 ml, que puede estar contenido en un vial de 20 ml.

En aún una realización adicional, una coformulación de pertuzumab y trastuzumab, por ejemplo adecuado para administración subcutánea comprende una dosis única fija de aproximadamente 600 mg de pertuzumab y una dosis única fija de aproximadamente 600 mg de trastuzumab, o una dosis única fija de aproximadamente 1200 mg de pertuzumab y una dosis única fija de aproximadamente 600 mg de trastuzumab, y una enzima hialuronidasa, tal como hialuronidasa humana recombinante (rHuPH20), en una cantidad suficiente para dar como resultado un aumento en la dispersión del pertuzumab y trastuzumab contenidos en la misma formulación líquida durante la administración subcutánea, tal como a una concentración de al menos aproximadamente 600 U/ml, o a una concentración de entre aproximadamente 600 U/ml y aproximadamente 2.000 U/ml, por ejemplo a una concentración de aproximadamente 1.000 U/ml.

En otras realizaciones, una coformulación de pertuzumab y trastuzumab, por ejemplo adecuado para administración subcutánea, comprende:

- 600 mg de pertuzumab a una concentración de 60 mg/ml, 600 mg de trastuzumab a una concentración de 60 mg/ml, 1.000 U/ml de rHuPH20, His-HCl 20 mM, pH 5,5, trehalosa 105 mM, sacarosa 100 mM, polisorbato 20 al 0,04 %, metionina 10 mM y agua estéril para inyectables hasta un volumen total de 10 ml, o
- 1.200 mg de pertuzumab a una concentración de 80 mg/ml, 600 mg de trastuzumab a una concentración de 40 mg/ml, 1.000 U/ml de rHuPH20, His-HCl 20 mM, pH 5,5, trehalosa 70 mM, sacarosa 133 mM, polisorbato 20 al 0,04 %, metionina 10 mM y agua estéril para inyectables hasta un volumen total de 15 ml.

La formulación del placebo utilizada en los ensayos clínicos descritos en los Ejemplos es equivalente a pertuzumab, sin el agente activo.

La formulación del presente documento también puede contener más de un compuesto activo según sea necesario para la indicación particular a tratar, preferentemente los que tienen actividades complementarias que no se afectan negativamente entre sí. En la sección Método a continuación se describen varios medicamentos que se pueden combinar con el inhibidor de la dimerización de HER. Dichas moléculas están presentes de manera adecuada en combinación en cantidades que son eficaces para el fin previsto.

Las formulaciones que se van a utilizar para su administración *in vivo* deben ser estériles. Esto se lleva a cabo fácilmente mediante filtración a través de membranas de filtración estériles.

V. Usos médicos

La invención se refiere a pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método para reducir el riesgo de recurrencia de cáncer de mama invasivo o muerte en pacientes diagnosticadas con cáncer de mama temprano (CMT) positivo para HER2 en comparación con la administración de trastuzumab y quimioterapia, sin pertuzumab, como se define en las reivindicaciones.

En una realización, los pacientes tratados de acuerdo con la presente invención han sido diagnosticados con cáncer de mama positivo para HER2, negativo para receptores hormonales.

En una realización, pertuzumab, trastuzumab y quimioterapia se administran siguiendo uno de los siguientes esquemas: pertuzumab IV y trastuzumab IV cada 3 semanas en combinación con quimioterapia según uno de los siguientes esquemas (según el criterio del médico tratante): 1) 3-4 ciclos (cada 3 semanas) o 5-fluorouracilo + epirrubicina o doxorrubicina + ciclofosfamida seguidos de 4 ciclos (cada 3 semanas) (cada 3 semanas) de docetaxel o 12 ciclos semanales de paclitaxel; 2) 4 ciclos (cada 3 semanas) de doxorrubicina o epirrubicina + ciclofosfamida seguidos de 4 ciclos (cada 3 semanas) o docetaxel o 12 ciclos semanales de paclitaxel; 3) (terapia sin antraciclina) 6 ciclos (cada 3 semanas) de docetaxel + carboplatino.

En una realización, trastuzumab y/o pertuzumab se administran por vía intravenosa. En otra realización, trastuzumab y/o pertuzumab se administran por vía subcutánea (por ejemplo, mediante una coformulación que incluye trastuzumab y pertuzumab que es adecuada para la administración subcutánea).

En una realización, se administra pertuzumab iv con una dosis de carga de 840 mg seguida de 420 mg cada 3 semanas.

En una realización, se administra trastuzumab iv con una dosis de carga de 8 mg/mg seguida de 6 mg/kg cada 3 semanas.

En una realización, pertuzumab sc se administra con una dosis de carga de 1200 mg seguida de 600 mg cada 3 semanas.

En una realización, se administra trastuzumab sc con una dosis de carga de 600 mg seguida de 600 mg cada 3 semanas.

En los siguientes ejemplos se describen dosis y pautas adicionales para la quimioterapia utilizada para tratar el cáncer de mama temprano positivo para HER2, pero se conocen y contemplan otras dosis y pautas según la presente invención.

VI. Depósito de materiales biológicos

Las siguientes líneas celulares de hibridomas se han depositado en la Colección Americana de Cultivos Tipo, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, EE.UU (ATCC):

| Denominación del anticuerpo | Nº de ATCC | Fecha del depósito |
|-----------------------------|------------------|--------------------|
| 4D5 | ATCC CRL 10463 | 24 de mayo de 1990 |
| 2C4 | ATCC de HB-12697 | 8 de abril de 1999 |

TABLA 1

| TABLA DE SECUENCIAS | | |
|-----------------------------------|-----------|------|
| descripción | SEQ ID NO | FIG. |
| dominio I de HER2 | 1 | 1 |
| dominio II de HER2 | 2 | 1 |
| dominio III de HER2 | 3 | 1 |
| dominio IV de HER2 | 4 | 1 |
| Ligera variable 2C4 | 5 | 2A |
| Pesada variable 2C4 | 6 | 2B |
| 574/ligera variable de pertuzumab | 7 | 2A |

(continuación)

| TABLA DE SECUENCIAS | | |
|---|-----------|------|
| descripción | SEQ ID NO | FIG. |
| 574/pesada variable de pertuzumab | 8 | 2B |
| marco consenso de V _L humano | 9 | 2A |
| marco consenso de V _H humano | 10 | 2B |
| cadena ligera de pertuzumab | 11 | 3A |
| cadena pesada de pertuzumab | 12 | 3B |
| cadena ligera de trastuzumab | 13 | 4A |
| cadena pesada de trastuzumab | 14 | 4B |
| Cadena ligera variante de pertuzumab | 15 | 5A |
| Cadena pesada variante de pertuzumab | 16 | 5B |
| GFTFTDYTMX | 17 | |
| DVNPNSGGSIYNQRFKG | 18 | |
| NLGPSFYFDY | 19 | |
| KASQDVSIGVA | 20 | |
| SASYX' X ² X ³ | 21 | |
| QQYYIYPYT | 22 | |

Se ilustran más detalles de la invención por el siguiente Ejemplo no limitante.

- 5 Una lista de abreviaturas y definición de términos, como se utiliza a lo largo de la memoria descriptiva, incluyendo los Ejemplos, se proporciona en la siguiente Tabla 2.

| Abreviatura | Definición |
|-------------|---|
| AC | doxorrubicina (Adriamycin®) más ciclofosfamida |
| ADCC | citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos |
| AA | acontecimiento adverso |
| SDRA | síndrome de dificultad respiratoria aguda |
| ATA | anticuerpo antiterapéutico |
| BCS | cirugía conservadora de mama |
| bpCR | respuesta patológica mamaria completa |
| BSA | área superficial corporal |
| CALGB | Cáncer y Leucemia Grupo B |
| CBE | exploración clínica de mama |
| CHF | insuficiencia cardíaca congestiva |
| CISH | hibridación cromogénica <i>in situ</i> |
| CR | respuesta completa |
| CSR | Informe del estudio clínico |
| CT | tomografía computarizada |
| CTCAE | Criterios comunes de terminología para acontecimientos adversos |
| D | Docetaxel |

(continuación)

| Abreviatura | Definición |
|-------------|--|
| DCarbH | docetaxel, carboplatino y trastuzumab (Herceptin®) (también conocido como TCH) |
| CDIS | carcinoma ductal <i>in situ</i> |
| dd | dosis densa |
| ddAC | doxorrubicina en dosis densa (Adriamycin®) más ciclofosfamida |
| SSE | supervivencia sin enfermedad |
| CMT o CMt | cáncer de mama temprano |
| EBCTCG | Grupo colaborativo de investigadores tempranos de cáncer de mama |
| ECG | Electrocardiograma |
| ECO | Ecocardiograma |
| ECOG | Grupo Cooperativo de Oncología del Este |
| CRDe | Cuaderno de Recogida de Datos en soporte electrónico |
| EDC | Captura electrónica de datos |
| EFS | Supervivencia sin acontecimientos |
| EGFR | Receptor del factor de crecimiento epidérmico |
| ER | Receptor de estrógenos |
| ESMO | Sociedad Europea de Oncología Médica |
| FFPE | Fijado en formalina, incluido en parafina |
| FISH | Hibridación <i>in situ</i> con fluorescencia |
| GCG | Grupo de mama alemán |
| G-CSF | factor estimulante de colonias de granulocitos |
| H | <i>Herceptin</i> |
| HER2 | Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano |
| HR | cociente de riesgos instantáneos |
| IB | Manual del investigador |
| CMI | cáncer de mama inflamatorio |
| ICH | Conferencia internacional de armonización |
| SSEI | supervivencia sin enfermedad invasiva |
| PMI | medicamento en investigación |
| NFI | Nuevo Fármaco en Investigación |
| ISH | hibridación <i>in situ</i> |
| ITT | intención de tratar |
| IV | Vía intravenosa |
| DIU | dispositivo intrauterino |
| IxRS | sistema interactivo de respuesta de voz/web |
| LABC | cáncer de mama localmente avanzado |
| CLIS | carcinoma lobulillar <i>in situ</i> |

(continuación)

| Abreviatura | Definición |
|-------------|--|
| LPLV | último paciente, última visita |
| FEVI | fracción de eyección ventricular izquierda |
| LVSD | disfunción sistólica ventricular izquierda |
| MAPK | proteína cinasa activada por mitógenos |
| CBM | cáncer mama metastásico |
| RMN | imagen de resonancia magnética |
| ARNm | ARN mensajero |
| MUGA | escaneo de adquisición de acotación múltiple |
| NCCN | National Comprehensive Cancer Network |
| NCCTG | North Central Cancer Treatment Group |
| NCI | Instituto Nacional del Cáncer |
| NSABP | National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project |
| NYHA | Asociación del Corazón de Nueva York |
| SG | supervivencia global |
| P | Paclitaxel |
| pCR | respuesta patológica completa |
| PET | tomografía por emisión de positrones |
| SSP | supervivencia sin progresión |
| PgR | receptor de progesterona |
| PH | <i>Perjeta® y Herceptin®</i> |
| PI3K | fosfoinositol 3-quinasa |
| Pla | Placebo |
| PR | respuesta parcial |
| PVC | cloruro de polivinilo |
| RCB | Carga de cáncer residual |
| RCR | Repositorio clínico de Roche |
| RECIST | Criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos |
| RT | radioterapia |
| EE | enfermedad estable |
| SISH | hibridación <i>in situ</i> de plata |
| SLN | ganglio linfático centinela |
| SLNB | biopsia del ganglio linfático centinela |
| SWFI | Agua estéril para inyectables |
| T | paclitaxel (Taxol®) |
| TCH | docetaxel (Taxotere®), ciclofosfamida y trastuzumab (Herceptin®) (abreviado como DCarbH en este documento) |
| TH | paclitaxel más <i>Herceptin®</i> |

(continuación)

| Abreviatura | Definición |
|-------------|-------------------------------------|
| tpCR | respuesta patológica completa total |
| LSN | límite superior de lo normal |

EJEMPLO 1

Un estudio de fase III de pertuzumab además de quimioterapia y trastuzumab como terapia adyuvante en participantes con cáncer de mama primario positivo para HER2.

Finalidad

Este estudio de fase III de dos brazos, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo (Adjuvant Pertuzumab and perceptible Initial Therapy in Breast Cancer, APHINITY, NCT01358877) que actualmente inscribe a 4806 pacientes, para evaluar la seguridad y la eficacia de pertuzumab además de quimioterapia más trastuzumab como terapia adyuvante en participantes con cáncer de mama primario operable positivo para HER2. Este estudio se lleva a cabo en colaboración con Breast International Group (BIG).

Diseño del estudio

En las Figuras 6A, 6B y 6C se muestra una representación esquemática del diseño del estudio. Los pacientes inscritos en el estudio se sometieron a cirugía y fueron asignados al azar a uno de dos grupos de tratamiento (1:1) para recibir:

- PERJETA® y Herceptin con seis a ocho ciclos de quimioterapia (régimen que contenía antraciclina o sin antraciclina), seguido de PERJETA® y HERCEPTIN® cada tres semanas durante un total de un año (52 semanas) de tratamiento. En particular, en este brazo experimental, los participantes reciben pertuzumab IV y trastuzumab IV cada 3 semanas durante 1 año de tratamiento en combinación con quimioterapia de acuerdo con uno de los siguientes programas (según el criterio del investigador): 1) 3-4 ciclos (cada 3 semanas) de 5-fluorouracilo + epirrubicina o doxorrubicina + ciclofosfamida seguidos de 4 ciclos (cada 3 semanas) de docetaxel o 12 ciclos semanales de paclitaxel. 2) 4 ciclos (cada 3 semanas) de doxorrubicina o epirrubicina + ciclofosfamida seguidos de 4 ciclos (cada 3 semanas) o docetaxel o 12 ciclos semanales de paclitaxel. 3) (Terapia sin antraciclina) 6 ciclos (cada 3 semanas) de docetaxel + carboplatino.
- Placebo y HERCEPTIN® con seis a ocho ciclos de quimioterapia (régimen con antraciclina o sin antraciclina), seguido de placebo y Herceptin cada tres semanas durante un total de un año (52 semanas) de tratamiento. En particular, en este brazo de comparación de placebo, los participantes reciben placebo IV y trastuzumab IV cada 3 semanas durante 1 año de tratamiento en combinación con quimioterapia de acuerdo con uno de los siguientes programas (según el criterio del investigador): 1) 3-4 ciclos (cada 3 semanas) de 5-fluorouracilo + epirrubicina o doxorrubicina + ciclofosfamida seguidos de 4 ciclos (cada 3 semanas) de docetaxel o 12 ciclos semanales de paclitaxel. 2) 4 ciclos (cada 3 semanas) de doxorrubicina o epirrubicina + ciclofosfamida seguidos de 4 ciclos (cada 3 semanas) o docetaxel o 12 ciclos semanales de paclitaxel. 3) (Terapia sin antraciclina) 6 ciclos (cada 3 semanas) de docetaxel + carboplatino.
- Fármaco Pertuzumab: Los participantes recibieron una dosis de carga de pertuzumab de 840 mg IV en el ciclo 1, seguido de 420 mg IV cada 3 semanas.
- Fármaco Trastuzumab: Los participantes recibieron trastuzumab en una dosis de carga de 8 miligramos por kilogramo (mg/kg) seguida de 6 mg/kg IV cada 3 semanas.
- Fármaco: 5-fluorouracilo: Los participantes podrán recibir 5-fluorouracilo de 500-600 miligramos por metro cuadrado (mg/m²) IV cada 3 semanas.
- Fármaco: Carboplatino: Los participantes pueden recibir una dosis de carboplatino de 6 veces el área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC) (dosis máxima de 900 mg) IV cada 3 semanas.
- Fármaco: Ciclofosfamida: Los participantes pueden recibir ciclofosfamida 500-600 mg/m² IV cada 3 semanas.
- Fármaco: Docetaxel: Los participantes pueden recibir docetaxel 75 mg/m² IV cada 3 semanas o 100 mg/m² IV cada 3 semanas o 75 mg/m² IV cada 3 semanas para el primer ciclo seguido de 100 mg/m² IV cada 3 semanas.
- Fármaco: Doxorrubicina: Los participantes pueden recibir doxorrubicina 50 mg/m² IV cada 3 semanas.
- Fármaco: Epirrubicina: Los participantes pueden recibir epirrubicina 90-120 mg/m² IV cada 3 semanas.
- Fármaco: Paclitaxel: Los participantes pueden recibir paclitaxel 80 mg/m² IV una vez por semana.

Se podría iniciar radioterapia y/o terapia endocrina al final de la terapia adyuvante. El estudio APHINITY permitió el uso de regímenes de quimioterapia adyuvante estándar. Tanto los participantes con ganglios linfáticos positivos como con ganglios linfáticos negativos fueron elegibles para la inscripción (véase a continuación).

Elegibilidad

Edades elegibles para el estudio: 18 años y mayores (adulto, senior)

Sexos elegibles para el estudio: Todos
Acepta voluntarios sanos: No

Criterios de inclusión

- 5 • Carcinoma de mama positivo para HER2 invasivo primario operable no metastásico que se confirma histológicamente y se extirpa adecuadamente
- Enfermedad con ganglios linfáticos positivos o enfermedad con ganglios negativos (pN0) y un tamaño del tumor de >1,0 cm. Los pacientes con tumores pN0 y un tamaño de tumor entre 0,5 y 1,0 cm eran inicialmente elegibles si al menos una de las siguientes características estaba presente: grado 3, ambos receptores hormonales negativos o edad <35 años. Los pacientes con pN0 ya no eran elegibles según una enmienda del protocolo después de que 3655 pacientes fueran aleatorizados.
- 10 • Estado funcional del Grupo Cooperativo de Oncología del Este (ECOG) menor o igual a (\leq) 1
- 15 • El intervalo entre la cirugía definitiva por cáncer de mama y la primera dosis de quimioterapia no debe ser mayor a 8 semanas (56 días). El primer ciclo de quimioterapia debe administrarse dentro de los 7 días posteriores a la aleatorización o el día 56, lo que ocurra primero
- Estado conocido del receptor hormonal (receptor de estrógeno y receptor de progesterona)
- FEVI inicial mayor o igual a (\geq) 55 por ciento (%) medida por ecocardiograma (ECHO) o exploración de adquisición de acotación múltiple (MUGA)
- 20 • Estado positivo de HER2 confirmado, lo que requiere confirmación de que el cáncer de mama del paciente tiene una puntuación inmunohistoquímica de 3+ en >10 % de células inmunorreactivas o amplificación del gen c-erbB2 mediante hibridación *in situ* (relación de señales del gen c-erbB2 a señales del centrómero 17 \geq 2).
- Las mujeres en edad fértil y los participantes masculinos con parejas en edad fértil deben aceptar el uso de métodos anticonceptivos eficaces (como se define en el protocolo) por parte del participante y/o la pareja durante el tratamiento del estudio y durante al menos 7 meses después de la última dosis del fármaco del estudio.
- 25

Criterios de exclusión

- Antecedentes de cualquier cáncer de mama invasivo (ipso y/o contralateral) previo
- 30 • Historial de neoplasias malignas no mamarias dentro de los 5 años anteriores al ingreso al estudio, excepto el carcinoma *in situ* del cuello uterino, carcinoma *in situ* de colon, melanoma *in situ* y carcinomas de piel de células basales y de células escamosas
- Cualquier tumor T4 "clínico" según lo definido por Tumor primario/ganglios linfáticos regionales/metástasis a distancia (TNM), que incluye el cáncer de mama inflamatorio
- 35 • Cualquier quimioterapia sistémica previa para el cáncer o radioterapia para el cáncer
- Uso previo de terapia anti-HER2 por cualquier motivo u otra terapia biológica o inmunoterapia previa para el cáncer
- Tratamiento anticancerígeno simultáneo en otro ensayo de investigación
- Enfermedad o afección cardíaca o cardiovascular grave
- Otras enfermedades graves concurrentes que puedan interferir con el tratamiento planificado, incluidas afecciones/enfermedades pulmonares graves
- 40 • Pruebas de laboratorio anormales inmediatamente antes de la aleatorización
- Mujeres embarazadas o lactantes
- Sensibilidad a cualquiera de los medicamentos del estudio o cualquiera de los ingredientes o excipientes de estos medicamentos
- 45

Medidas de resultado

A continuación se enumera una lista completa de las medidas de resultado primarias y secundarias del estudio.

- 50 Un criterio de valoración principal de eficacia del estudio APHINITY es la SSEI, que es el tiempo que una paciente vive sin reaparición de cáncer de mama invasivo en cualquier sitio o muerte por cualquier causa después del tratamiento adyuvante.

- Se utilizó la prueba de rangos logarítmicos estratificados para comparar la SSEI entre los dos grupos de tratamiento.
- 55 Se utilizó el enfoque de Kaplan-Meier para estimar los porcentajes de SSEI a 3 años para cada grupo de tratamiento. Se utilizó el modelo estratificado de riesgos proporcionales de Cox para estimar el cociente de riesgos instantáneos (HR) entre los dos grupos de tratamiento y su intervalo de confianza (IC) del 95 %. El análisis primario se basó en la población por intención de tratar (ITT). El estudio fue diseñado para tener una potencia del 80 % para detectar un cociente de riesgos instantáneos de 0,75 al 5 %, nivel de significancia bilateral. Se asumió un porcentaje de SSEI a 3 años del 89,2 % para el grupo de placebo según los hallazgos del estudio BCIRG 006 (NCT00021255). Según estos supuestos, se requieren aproximadamente 379 acontecimientos SSEI para el análisis primario de SSEI.
- 60

Los criterios de valoración secundarios de eficacia incluyen seguridad cardíaca y global, supervivencia global, supervivencia sin enfermedad y calidad de vida relacionada con la salud.

- 65 El intervalo sin recurrencia a distancia (DRFI) se define como el tiempo entre la aleatorización y la fecha de recurrencia

del cáncer de mama a distancia. Los pacientes sin recurrencia de la enfermedad a distancia en el momento del análisis serán censurados en la fecha de muerte o en la última fecha conocida con vida. El análisis definitivo de la SG (dirigida por acontecimientos finales) está previsto cuando se hayan producido 640 muertes. El primer análisis intermedio de la SG estará disponible en el momento del análisis primario de SSEI, con información limitada en comparación con el análisis definitivo. Se realizarán dos análisis intermedios posteriores. Para fines reguladores, el nivel alfa general se controlará en 0,05 para los cuatro análisis de SG. El nivel de significancia bilateral ajustado en el primer análisis intermedio de SG es $<0,00001$.

Los pacientes que recibieron cualquier cantidad de tratamiento del estudio (quimioterapia o terapia dirigida) se incluyeron en los análisis de seguridad según el tratamiento que los pacientes realmente recibieron. Los pacientes que recibieron pertuzumab adyuvante se encuentran en el grupo de población del análisis de seguridad de pertuzumab. Los pacientes que recibieron la medicación del estudio pero no pertuzumab están en el grupo de población del análisis de seguridad de placebo.

El criterio de valoración cardíaco principal fue la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) grave, definida como: insuficiencia cardíaca NYHA Clase III o IV y una caída en la FEVI de al menos 10 puntos de FE desde el inicio y por debajo del 50 % o muerte cardíaca. La muerte cardíaca fue identificada por el Consejo Asesor Cardíaco (CAB) de APHINITY.

Un criterio de valoración cardíaco secundario se definió como una caída significativa asintomática o levemente sintomática (NYHA Clase II) en la FEVI mediante exploración MUGA o ECHO, confirmado por una segunda evaluación de la FEVI dentro de aproximadamente 3 semanas que muestra también una caída significativa O según lo confirmado por APHINITY CAB.

Medidas de los resultados principales

- Duración de la supervivencia sin enfermedad invasiva (SSEI) (excluyendo el segundo cáncer primario distinto del de mama como acontecimiento SSEI), según lo evaluado mediante radiología, Exámenes histológicos o hallazgos de laboratorio [Período de tiempo: Aleatorización hasta el acontecimiento SSEI definido por el protocolo (excluyendo segundos cánceres primarios distintos de los de mama) (hasta 12 años en total)]
- Porcentaje de participantes con insuficiencia cardíaca de clase III o IV de la New York Heart Association (NYHA) y una caída en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) de al menos 10 puntos desde el valor inicial y por debajo del 50 por ciento (%) [Marco de tiempo: basal hasta 12 años (evaluada cada 12 semanas hasta los primeros 12 meses; meses 18, 24, 30, 36, 48, 60 y posteriormente cada 12 meses hasta 12 años en total)]

Medidas de los resultados secundarios

- Duración del SSEI (incluido el segundo cáncer primario distinto del de mama como acontecimiento SSEI), según lo evaluado mediante exploraciones radiológicas, histológicas o hallazgos de laboratorio [Período de tiempo: Aleatorización hasta el acontecimiento SSEI definido por el protocolo (incluyendo segundos cánceres primarios distintos de los de mama) (hasta 12 años en total)]
- Duración de la supervivencia sin enfermedad (SSE) (incluidos segundos cánceres primarios distintos de los de mama o carcinoma ductal in situ contralateral o ipsilateral como acontecimiento), según lo evaluado mediante exploraciones radiológicas, histológicas o hallazgos de laboratorio [Período de tiempo: Aleatorización hasta el acontecimiento de SSE definido por el protocolo (incluidos segundos cánceres primarios distintos de los de mama o carcinoma ductal in situ contralateral o ipsilateral) (hasta 12 años en total)]
- Supervivencia global (SG) [Período de tiempo: Aleatorización hasta la muerte por cualquier causa (hasta 12 años en total)]
- Intervalo sin recurrencia (RFI), según lo evaluado mediante exploraciones radiológicas, histológicas o hallazgos de laboratorio [Período de tiempo: Aleatorización hasta recurrencia del cáncer de mama local, regional o distante (hasta 12 años en total)]
- Intervalo sin recurrencia distante (DRFI), según lo evaluado mediante exploraciones radiológicas, histológicas o hallazgos de laboratorio [Período de tiempo: Aleatorización hasta la recurrencia del cáncer de mama a distancia (hasta 12 años en total)]
- Porcentaje de participantes con acontecimientos adversos [Período de tiempo: basal hasta 12 años]
- Porcentaje de participantes con una caída asintomática o levemente sintomática (clase II de la NYHA) en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) de al menos 10 puntos desde el valor inicial y por debajo del 50 % [Período de tiempo: basal hasta 12 años (evaluada cada 12 semanas hasta los primeros 12 meses; meses 18, 24, 30, 36, 48, 60 y posteriormente cada 12 meses hasta 12 años en total)]

- Mediciones de la FEVI durante el transcurso del estudio [Periodo de tiempo: basal hasta 12 años (evaluada cada 12 semanas hasta los primeros 12 meses; meses 18, 24, 30, 36, 48, 60 y posteriormente cada 12 meses hasta 12 años en total)]
- 5 • Cuestionario de calidad de vida de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer - Puntuación Core 30 (EORTC QLQ-C30) [Marco de tiempo: Valor inicial, Semanas 10, 13, 19 y 25; 28 días después de la última dosis del medicamento del estudio (semana 56); y Meses 18, 24 y 36]
- 10 • Puntuación de escala funcional de calidad de vida del módulo de cáncer de mama de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer (EORTC QLQ BR23) [Marco de tiempo: Valor inicial, Semanas 10, 13, 19 y 25; 28 días después de la última dosis del medicamento del estudio (semana 56); y Meses 18, 24 y 36]
- 15 • Puntuación del Cuestionario Europeo de Calidad de Vida-5 Dimensiones (EQ-5D) [Periodo de tiempo: Valor inicial, Semanas 10, 13, 19 y 25; 28 días después de la última dosis del medicamento del estudio (semana 56); y meses 18, 24 y 36.]

Formulación, Embalaje y manipulación

- 20 PERJETA® se proporciona como una formulación de un solo uso que contiene 30 mg/ml de pertuzumab formulado en L-histidina 20 mM (pH 6,0), sacarosa 120 mM y polisorbato-20 al 0,02 %. Cada vial de 20 cc contiene aproximadamente 420 mg de pertuzumab (14,0 ml/vial). Para más detalles, consúltese el IB de PERJETA® o la información de prescripción local para PERJETA®.

25 Etiquetado de PERJETA®

PERJETA® será etiquetado según los requisitos reglamentarios de cada país, así como de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH). El promotor del estudio proporcionará PERJETA® a todos los sitios de estudio etiquetados solo para uso en investigación.

30 Almacenamiento de PERJETA®

Los viales de PERJETA® se envían a una temperatura que oscila entre 2 °C y 8 °C (36 °F y 46 °F) y deben colocarse en un refrigerador (mismo intervalo de temperatura) inmediatamente después de la recepción para garantizar una retención óptima de la integridad física y bioquímica, y debe permanecer refrigerado hasta inmediatamente antes de su uso. Se deben mantener registros de temperatura (de acuerdo con la práctica farmacéutica local) en el refrigerador para garantizar condiciones de almacenamiento adecuadas. Si se encuentra una desviación de temperatura de los 2 °C-8 °C permitidos durante el envío o el almacenamiento, comuníquese con el Promotor para determinar si el medicamento aún es apropiado para su uso.

- 40 Los viales de PERJETA® no se pueden agitar. Todos los viales deben almacenarse dentro del embalaje exterior y protegerse de la luz. El medicamento no debe usarse más allá de la fecha de caducidad proporcionada en la etiqueta del kit IMP.

45 Preparación de PERJETA®

Dado que la formulación de PERJETA® no contiene conservantes, el sello del vial sólo se puede perforar una vez. Cualquier solución restante debe desecharse.

- 50 El volumen indicado de la solución PERJETA® debe retirarse de los viales y agregarse a una bolsa intravenosa de 250 cc de inyección de cloruro de sodio al 0,9 %. La bolsa debe invertirse suavemente para mezclar la solución, pero no se debe agitar enérgicamente. La solución debe inspeccionarse visualmente para detectar partículas y decoloración antes de la administración. Todo el volumen dentro de la bolsa debe administrarse como una infusión intravenosa continua. El volumen contenido en el tubo de administración debe lavarse completamente mediante una inyección de cloruro de sodio al 0,9 %.

- 60 La solución de PERJETA® para perfusión, diluido en bolsas de policloruro de vinilo (PVC) o de poliolefina sin PVC que contengan una inyección de cloruro de sodio al 0,9 %, se puede almacenar a 2 °C-8 °C (36 °F-46 °F) hasta 24 horas antes de su uso. Se ha demostrado que PERJETA® diluida es estable hasta durante 24 horas a temperatura ambiente (2 °C-25 °C). Sin embargo, dado que PERJETA® diluida no contiene conservantes, la solución diluida asépticamente debe almacenarse refrigerada (a 2 °C-8 °C) durante no más de 24 horas.

- 65 Se puede utilizar un dispositivo regulador de velocidad para todas las infusiones de fármacos del estudio. Cuando la bolsa intravenosa del fármaco del estudio esté vacía, se pueden añadir 50 ml de inyección de cloruro de sodio al 0,9 % a la bolsa intravenosa o se puede colgar una bolsa adicional y se puede continuar la infusión hasta un volumen igual al del tubo para garantizar la administración completa del fármaco del estudio.

Si se produce una extravasación de la infusión del fármaco del estudio, se deben tomar las siguientes etapas:
Suspender la infusión.

- 5 Tratar la extravasación de acuerdo con las pautas institucionales para la extravasación de un agente no cáustico.

Si queda un volumen significativo de la infusión del fármaco del estudio, reiniciar la infusión en un sitio más proximal en la misma extremidad o en el otro lado.

10 Formulación de HERCEPTIN®

HERCEPTIN® (formulación liofilizada) para su uso en este estudio será suministrada por el promotor, como preparación liofilizada. Todo HERCEPTIN® se suministra para administración intravenosa parenteral; HERCEPTIN® subcutáneo no está permitido en este estudio. HERCEPTIN® está formulado en histidina, trehalosa y polisorbato 20.
15 HERCEPTIN® para su uso en este estudio será suministrado por el Patrocinador en viales que contienen una preparación liofilizada para administración parenteral. Para administración IV, cada vial de HERCEPTIN® se reconstituye con agua estéril para inyección (SWFI) dependiendo del tamaño del vial, de la siguiente manera:

- 20 Se mezcla un vial de HERCEPTIN® 440 mg con 20,0 ml de SWFI (no suministrado)
El vial de HERCEPTIN® de 150 mg se mezcla con 7,2 ml de SWFI (no suministrado)

No se permite el uso de otros disolventes de reconstitución. La solución reconstituida contiene 21 mg/ml de trastuzumab y se añadirá a 250 ml de solución inyectable de cloruro sódico al 0,9 % para su administración al paciente. Ninguna de las formulaciones de HERCEPTIN® contiene un conservante. El producto no debe almacenarse después
25 de su reconstitución y dilución a menos que haya tenido lugar en condiciones asépticas. Por consiguiente, una vez preparada la infusión, es para un solo uso y debe administrarse lo antes posible. La dosis debe perfundirse dentro de las 8 horas posteriores a la reconstitución, a menos que se prepare asépticamente y se almacene a 2 °C-8 °C (el tiempo máximo de almacenamiento refrigerado es de 24 horas). Cada vial de HERCEPTIN® proporcionado para este estudio debe usarse SOLAMENTE como VIAL DE DOSIS ÚNICA. Cada vial no debe usarse para más de una
30 administración de *Herceptin* y no para más de 1 paciente a la vez. NO CONGELE HERCEPTIN QUE HA SIDO RECONSTITUIDO.

Etiquetado de HERCEPTIN®

35 HERCEPTIN® será etiquetado según los requisitos reglamentarios de cada país, así como de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas de la ICH. El promotor del estudio proporcionará HERCEPTIN® a todos los sitios de estudio etiquetados solo para uso en investigación.

Almacenamiento de HERCEPTIN®

40 Viales de HERCEPTIN® se envían con paquetes fríos a una temperatura que oscila entre 2 °C y 8 °C (36 °F a 46 °F) y deben colocarse en un refrigerador (mismo rango de temperatura) inmediatamente después de recibirlos para garantizar una retención óptima de la integridad física y bioquímica. Se deben mantener registros de temperatura (de acuerdo con la práctica farmacéutica local) en el refrigerador para garantizar condiciones de almacenamiento
45 adecuadas. No lo use más allá de la fecha de caducidad estampada en el vial. NO CONGELAR.

HERCEPTIN® puede ser sensible al estrés inducido por cizallamiento (por ejemplo, agitación o expulsión rápida de una jeringa). NO AGITAR. La manipulación enérgica de soluciones de HERCEPTIN® produce agregación de la proteína y puede crear soluciones turbias. HERCEPTIN® debe manipularse con cuidado durante la reconstitución.
50 Provocar una formación excesiva de espuma durante la reconstitución o agitar el HERCEPTIN® reconstituido puede provocar problemas con la cantidad de HERCEPTIN® que se puede extraer del vial.

Preparación de HERCEPTIN®

55 Se debe utilizar una técnica aséptica adecuada al preparar el fármaco del estudio. Cada vial de HERCEPTIN® se reconstituye con SWFI como se describe anteriormente. HERCEPTIN® debe manipularse con cuidado durante la reconstitución. Provocar una formación excesiva de espuma durante la reconstitución o agitar el HERCEPTIN® reconstituido puede provocar problemas con la cantidad de HERCEPTIN® que se puede extraer del vial.

60 Se deben seguir las siguientes instrucciones:

1. Usando una jeringa esterilizada, inyectar lentamente el agua estéril para inyección en el vial que contiene HERCEPTIN® liofilizado, dirigiendo la corriente hacia la torta liofilizada.
2. Agitar el vial suavemente para ayudar a la reconstitución. ¡NO SACUDIR!

65 No es inusual una ligera formación de espuma en el producto tras la reconstitución. Dejar que el vial repose sin

interrupciones durante 5 minutos. El HERCEPTIN® reconstituido da como resultado una solución transparente de incolora a amarillo pálido y debe estar esencialmente libre de partículas visibles.

No refrigerar ni congelar HERCEPTIN® que ha sido reconstituido.

Preparación de fármacos: Dilución

La solución reconstituida se añadirá a una bolsa de perfusión que contiene 250 ml de inyección de cloruro de sodio al 0,9 %, Farmacopea de Estados Unidos. Una vez preparada la infusión, debe administrarse inmediatamente. Si se diluye asépticamente, puede conservarse durante un máximo de 24 horas desde su reconstitución (no conservar a temperatura superior a 30 °C).

Resultados

El estudio cumplió su criterio de valoración principal y demostró que el tratamiento adyuvante (después de la cirugía) con la combinación de PERJETA®-HERCEPTIN® redujo significativamente el riesgo de recurrencia de la enfermedad invasiva o de muerte (supervivencia sin enfermedades invasivas; SSEI) en personas con CMt positivo para HER2 en comparación con HERCEPTIN® y quimioterapia sola. Los resultados presentados en 7 A y B, 8 A-C, 9 A-C que se analizan a continuación representan los resultados del análisis principal del estudio de SSEI (basado en los datos recopilados en el cuaderno de recogida de datos en soporte electrónico "CRDe").

Criterios de valoración principales:

- Como se muestra en la FIG. 7A, el cociente de riesgos instantáneos (HR) para SSEI fue 0,81; [IC del 95 %: 0,66-1,00; p = 0,0446], lo que representa una reducción del 19 % en el riesgo de recurrencia del cáncer de mama invasivo o de muerte para las pacientes del brazo de PERJETA®-HERCEPTIN® en comparación con el brazo de control con HERCEPTIN®. Véase también el gráfico de Kaplan-Meier que se muestra en la FIG. 7B.

Las estimaciones correspondientes de las tasas SSEI a tres años fueron:

- brazo de PERJETA®, HERCEPTIN® y quimioterapia = 94,06 %
- brazo de placebo, HERCEPTIN® y quimioterapia (control) = 93,24 %

Eficacia

El estudio alcanzó su criterio de valoración principal con una mejora estadísticamente significativa de la supervivencia libre de enfermedad invasiva (SSEI) con un cociente de riesgos instantáneos de 0,81 (IC del 95 %: 0,66 a 1,00; P = 0,0446) a favor del grupo de pertuzumab. Después de una mediana de seguimiento de 45,4 meses, se informaron 171 (7,1 %) acontecimientos de SSEI en pacientes asignados al azar al grupo de pertuzumab y 210 (8,7 %) acontecimientos en pacientes asignados al azar al grupo de control. La estimación de SSEI a los 3 años fue del 94,1 % en el grupo de pertuzumab y del 93,2 % en el grupo de placebo. Se produjo recurrencia a distancia como primera SSEI incluso en 112 (4,7 %) pacientes y 139 (5,8 %) pacientes, en el grupo de pertuzumab y control, respectivamente, mientras que el número de pacientes con recurrencias locales fue 16 (1,1 %) y 34 (1,4 %), respectivamente. Las metástasis en el sistema nervioso central (SNC) ocurrieron como el primer acontecimiento de SSEI en el 1,9 % y el 1,8 % de los pacientes en el grupo de pertuzumab y control, respectivamente. Un sitio visceral o del SNC de la primera recurrencia a distancia fue más común que el hueso.

En un análisis secundario, los segundos acontecimientos primarios distintos del cáncer de mama también se consideraron acontecimientos SSEI. El número de acontecimientos aumentó a 189 y 230 en el grupo de pertuzumab y control, respectivamente, lo que da como resultado un cociente de riesgos instantáneos estadísticamente significativo de 0,82 (IC del 95 %: 0,68 a 0,99; P=0,043).

El perfil cardíaco y de seguridad general de la combinación de PERJETA®-HERCEPTIN® fue consistente con estudios previos de PERJETA® y no se identificaron nuevas señales de seguridad.

Aunque los efectos positivos de la inclusión de pertuzumab en el régimen de tratamiento se observaron de manera homogénea en varios subgrupos de pacientes, los análisis de subgrupos para SSEI revelaron que el efecto del tratamiento fue más pronunciado en los ganglios linfáticos positivos (Figuras 8A y 8B) y pacientes negativos para receptores hormonales (HR) (Figuras 9A y 9B). Como se muestra en la FIG. 8A, en pacientes con enfermedad con ganglios positivos, hubo 139 (9,2 %) acontecimientos de SSEI en el grupo de pertuzumab y 181 (12,1 %) acontecimientos de SSEI en el grupo de placebo. Los porcentajes de SSEI a 3 años fueron del 92,0 % en el grupo de pertuzumab y del 90,2 % en el grupo de placebo. El cociente de riesgos instantáneos fue de 0,77 (IC del 95 %: 0,62-0,96; P=0,0188). Las curvas del gráfico de Kaplan-Meier comenzaron a separarse 2 años después de la aleatorización (Figura 8B). Por el contrario, los pacientes con enfermedad con ganglios negativos mostraron un número muy bajo de acontecimientos de SSEI (32 [3,6 %] con pertuzumab y 29 [3,2 %] con placebo) y no se detectó ningún efecto del tratamiento (cociente de riesgos instantáneos 1,13 (IC del 95 %: 0,68-1,86); P = 0,6436) (figura 8C).

- En pacientes con tumores con receptores hormonales negativos, hubo 71 (8,2 %) acontecimientos de SSEI en el grupo de pertuzumab, 91 (10,6 %) en el grupo de placebo, lo que lleva a un cociente de riesgos instantáneos de 0,76 (0,56-1,04; P=0,0847). Los porcentajes de SSEI a 3 años fueron del 92,8 % en el grupo de pertuzumab y del 91,2 % en el grupo de placebo (Figuras 9A y 9B). El número de acontecimientos fue muy bajo en pacientes con tumores con receptores hormonales positivos (100 [6,5 %] en el grupo de pertuzumab y 119 [7,7 %] en el grupo de placebo), lo que da como resultado un cociente de riesgos instantáneos de 0,86 (0,66-1,13) (P = 0,2771). Los porcentajes de SSEI a 3 años fueron del 94,8 % en el grupo de pertuzumab y del 94,4 % en el grupo de placebo (Figura 9C).
- 10 En el momento de este análisis de criterio de valoración principal, se realizó un primer análisis intermedio de supervivencia global, con 80 muertes en el grupo de pertuzumab y 89 muertes en el grupo de placebo. No hubo ningún efecto significativo del tratamiento en este momento inicial (cociente de riesgos instantáneos 0,89; IC del 95 %: 0,66-1,21; P=0,4673).
- 15 La figura 10 y las Tablas 3 y 4 a continuación presentan los resultados del análisis de sensibilidad preespecificado del estudio APHINITY del criterio de valoración principal de SSEI, basado en los datos de factores de estratificación recopilados por el Sistema Interactivo de Respuesta de Voz/Web "IxRS".

Tabla 3 Resultados de eficacia del estudio clínico APHINITY

| | PERJETA + trastuzumab + quimioterapia N=2400 | Placebo + trastuzumab + quimioterapia N=2404 |
|---|---|---|
| Supervivencia sin enfermedad invasiva (SSEI) | | |
| Número (%) de pacientes con acontecimientos | 171 (7,1 %) | 210 (8,7 %) |
| HR [IC del 95 %] ¹ | 0,82 [0,67, 1,00] | |
| valor p (prueba de rangos logarítmicos, estratificados ¹) | 0,047 | |
| Tasa sin acontecimientos a 3 años ² , % [IC del 95 %] | 94,1 [93,1, 95,0] | 93,2 [92,2, 94,3] |
| SSEI incluyendo un segundo cáncer primario no de mama | | |
| Número (%) de pacientes con acontecimientos | 189 (7,9 %) | 230 (9,6 %) |
| HR [IC del 95 %] ¹ | 0,83 [0,68, 1,00] | |
| Tasa sin acontecimientos a 3 años ² , % [IC del 95 %] | 93,5 [92,5, 94,5] | 92,5 [91,4, 93,6] |
| Supervivencia sin enfermedades (SSE) | | |
| Número (%) de pacientes con acontecimientos | 192 (8,0 %) | 236 (9,8 %) |
| HR [IC del 95 %] ¹ | 0,82 [0,68, 0,99] | |
| Tasa sin acontecimientos a 3 años ² , % [IC del 95 %] | 93,4 [92,4, 94,4] | 92,3 [91,2, 93,4] |
| Supervivencia global (SG)³ | | |
| Número (%) de pacientes con acontecimientos | 80 (3,3 %) | 89 (3,7 %) |
| HR [IC del 95 %] ¹ | 0,89 [0,66, 1,21] | |
| Tasa sin acontecimientos a 3 años ² , % [IC del 95 %] | 97,7 [97,0, 98,3] | 97,7 [97,1, 98,3] |
| HR = cociente de riesgos instantáneos, IC = intervalo de confianza | | |
| ¹ Todos los análisis estratificados por estado ganglionar, versión del protocolo, estado del receptor hormonal central y régimen de quimioterapia adyuvante. Los factores de estratificación se definen según los datos de aleatorización de SSEI. | | |
| ² Tasa sin acontecimientos a 3 años derivada de estimaciones de Kaplan-Meier | | |
| ³ Datos del primer análisis intermedio | | |

Tabla 4 Resultados de eficacia según las características iniciales de la enfermedad y la quimioterapia adyuvante del estudio clínico APHINITY¹

| Población | Número de acontecimientos/Total N (%) | SSEI a los 3 años | | Sin estratificar | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | | | | (%, IC del 95 %) | HR (IC del 95 %) |
| | | PERJETA + trastuzumab + quimioterapia | Placebo + trastuzumab + quimioterapia | PERJETA + trastuzumab + quimioterapia | Placebo + trastuzumab + quimioterapia |
| Estado de receptor hormonal | | | | | |
| Negativo | 71/864 (8,2 %) | | 91/858 (10,6 %) | 92,8 (90,8, 94,3) | 91,2 (89,0, 92,9) |
| Positivo | 100/1536 (6,5 %) | | 119/1546 (7,7 %) | 94,8 (93,5, 95,8) | 94,4 (93,1, 95,4) |
| Estado nodal | | | | | |
| Negativo | 32/897 (3,6 %) | | 29/902 (3,2 %) | 97,5 (96,3, 98,4) | 98,4 (97,3, 99,0) |
| Positivo | 139/1503 (9,2 %) | | 181/1502 (12,1 %) | 92,0 (90,5, 93,3) | 90,2 (88,5, 91,6) |
| Régimen de quimioterapia adyuvante | | | | | |
| Antraciclina | 139/1865 (7,4 %) | | 171/1877 (91 %) | 93,8 (92,6, 94,8) | 93,0 (91,8, 94,1) |
| Sin antraciclina | 32/535 (6,0 %) | | 39/527 (7,4 %) | 94,9 (92,6, 96,6) | 94,0 (91,5, 95,8) |
| ¹ Análisis exploratorios sin ajustar comparaciones múltiples, por consiguiente, los resultados se consideran descriptivos. | | | | | |

Seguridad

En pacientes con tumores con receptores hormonales negativos, hubo 71 (8,2 %) acontecimientos de SSEI en el brazo de pertuzumab, 91 (10,6 %) en el grupo de placebo, lo que lleva a un cociente de riesgos instantáneos de 0,76 (0,56-1,04; P=0,0847). Los porcentajes de SSEI a 3 años fueron del 92,8 % en el brazo de pertuzumab y del 91,2 % en el brazo de placebo. El número de acontecimientos fue muy bajo en pacientes con tumores con receptores hormonales positivos (100 [6,5 %] en el brazo de pertuzumab y 119 [7,7 %] en el brazo de placebo), lo que da como resultado un cociente de riesgos instantáneos de 0,86 (0,66-1,13) (P = 0,2771). Los porcentajes de SSEI a 3 años fueron del 94,8 % en el brazo de pertuzumab y del 94,4 % en el brazo de placebo.

En el momento de este análisis de criterio de valoración principal, se realizó un primer análisis intermedio de supervivencia global, con 80 muertes en el grupo de pertuzumab y 89 muertes en el grupo de placebo. No hubo ningún efecto significativo del tratamiento en este momento inicial (cociente de riesgos instantáneos 0,89; IC del 95 %: 0,66-1,21; P=0,4673).

Seguridad cardíaca

Los pacientes que recibieron al menos una dosis del tratamiento del estudio (quimioterapia o terapia dirigida) se incluyeron en los análisis de seguridad según el tratamiento que los pacientes realmente recibieron. Los pacientes que recibieron pertuzumab como tratamiento adyuvante están en el grupo de población del análisis de seguridad de pertuzumab. Los pacientes que recibieron la medicación del estudio pero no pertuzumab están en el grupo de población del análisis de seguridad de control.

El criterio de valoración cardíaco principal fue la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) grave, definida como: insuficiencia cardíaca NYHA Clase III o IV y una caída en la FEVI de al menos 10 puntos de FE desde el inicio y por debajo del 50 % o muerte cardíaca. La muerte cardíaca fue definida de forma prospectiva por el Consejo Asesor Cardíaco (CAB) de APHINITY.

Un criterio de valoración cardíaco secundario se definió como una caída significativa asintomática o levemente sintomática (NYHA Clase II) en la FEVI mediante exploración MUGA o ECHO, confirmado por una segunda evaluación de la FEVI dentro de aproximadamente 3 semanas que muestra también una caída significativa O según lo confirmado por APHINITY CAB.

Análisis

El estudio APHINITY es un estudio clínico de fase III, de tamaño grande, adecuadamente potenciado, controlado con placebo. El efecto del tratamiento fue homogéneo en todos los subgrupos; no obstante, en este punto temprano del análisis parecía mejor detectable en pacientes con mayor riesgo de recaída debido a la afectación de los ganglios linfáticos o al estado negativo de los receptores hormonales. El perfil de seguridad de pertuzumab administrado durante un año en esta combinación fue favorable y no se observaron nuevas señales de seguridad en comparación con la seguridad informada en entornos metastásicos o neoadyuvantes.

La evaluación del beneficio para el paciente siempre tiene que relacionar el tamaño del efecto con los riesgos potenciales de los efectos secundarios. Se produjo diarrea de grado ≥ 3 en un exceso del 6,2 % con la adición de pertuzumab y podría no ser suficientemente tratable con medicación antidiarreica y, por lo tanto, dar lugar a la interrupción del tratamiento. Sin embargo, la tasa general de interrupción del tratamiento fue solo un 2,9 % mayor con pertuzumab que con placebo. Lo más importante es que no se pudo detectar ninguna diferencia estadística con respecto a la toxicidad cardíaca a pesar del gran número de pacientes. Suponiendo que el tipo de toxicidad cardíaca del pertuzumab sea comparable al tipo inducido por trastuzumab, la mayoría de los acontecimientos cardíacos ya se observarán en el momento actual del análisis y los acontecimientos cardíacos tardíos serán poco frecuentes. La seguridad cardíaca de pertuzumab ya quedó demostrada en ensayos previos en entornos metastásicos (Swain *et al.*, *Oncologist*. 2013; 18(3):257-64) e incluso para la aplicación simultánea con trastuzumab y epirrubina en el contexto neoadyuvante (Schneeweiss *et al.*, *Ann. Oncol.* 2013 24(9):278-84).

La importancia del hallazgo del estudio APHINITY va más allá de la aplicación de pertuzumab como tratamiento adyuvante. Este estudio adyuvante también se consideró como una prueba de concepto para la sustitución de la respuesta patológica completa (pCR) observada en estudios neoadyuvantes para resultados a largo plazo. El estudio NeoSphere informó un aumento en la tasa de pCR del 29,0 % después de un tratamiento de 12 semanas con docetaxel y trastuzumab al 45,8 % después del mismo tratamiento pero con la adición de pertuzumab (Gianni *et al.*, *Lancet Oncol.* 2012 13(1):25-32). Las tasas de supervivencia sin progresión a 5 años correspondientes fueron del 81 % (IC del 95 %: 71 %-87 %) sin y del 86 % (IC del 95 %: 77 %-91 %) con pertuzumab; pero el ensayo no tuvo la potencia estadística suficiente para mostrar diferencias estadísticamente significativas. Teniendo en cuenta la quimioterapia más potente que incluye un taxano y una antraciclina (o carboplatino), el tamaño del efecto observado en el estudio APHINITY se corresponde bien con el efecto neoadyuvante informado para alcanzar una pCR.

En conclusión, el ensayo APHINITY demuestra que pertuzumab mejora significativamente la SSEI en pacientes con

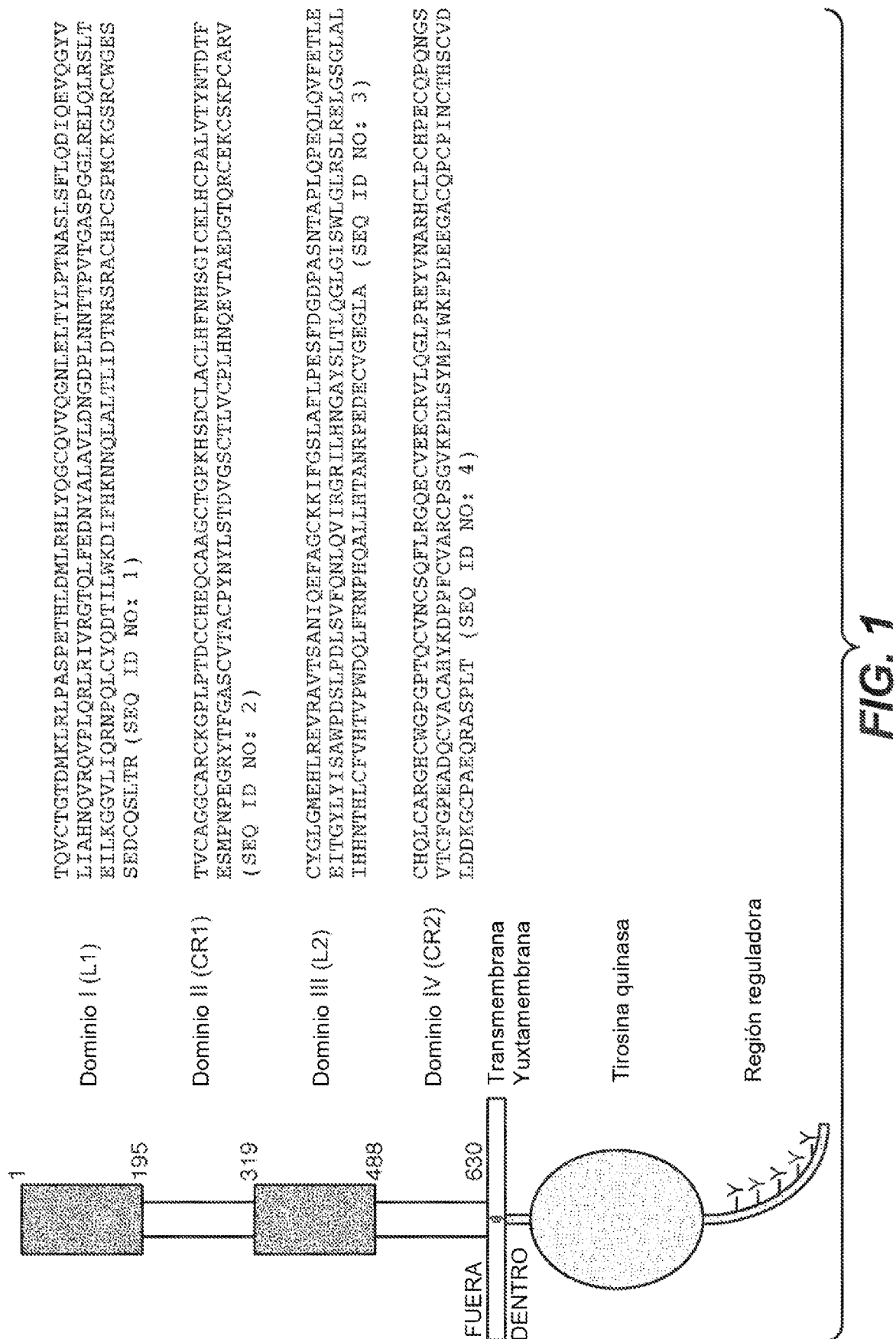
cáncer de mama positivo para HER2 operable cuando se agrega a la quimioterapia y al trastuzumab y no se identificaron nuevas señales de seguridad. Aunque otros aspectos, tales como la eficacia o la duración más larga o más corta del tratamiento, tienen que explorarse más a fondo, este ensayo representa un hito para el tratamiento de pacientes con CMt positivo para HER2.

REIVINDICACIONES

1. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método para reducir el riesgo de recurrencia del cáncer de mama invasivo o muerte en pacientes diagnosticadas con cáncer de mama temprano (CMT) positivo para HER2 en comparación con la administración de trastuzumab y quimioterapia, sin pertuzumab, que comprende administrar a dichos pacientes, después de una cirugía de cáncer de mama, pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia, en donde los pacientes tienen cáncer de mama temprano con ganglios linfáticos positivos, en donde la quimioterapia se selecciona de cualquiera de
 - a) 5-fluorouracilo + epirrubicina + ciclofosfamida o 5-fluorouracilo + doxorrubicina + ciclofosfamida, en donde la quimioterapia comprende además la administración de docetaxel o paclitaxel; o
 - b) doxorrubicina + ciclofosfamida o epirrubicina + ciclofosfamida, en donde la quimioterapia comprende además la administración de docetaxel o paclitaxel; o
 - c) docetaxel + carboplatino.
2. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de la reivindicación 1, en donde los pacientes permanecen vivos sin recurrencia del cáncer de mama invasivo durante al menos un año, al menos 2 años o durante al menos 3 años después de dicha administración.
3. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el cáncer de mama de los pacientes es negativo para el receptor hormonal (HR).
4. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el riesgo de recurrencia del cáncer de mama invasivo o de muerte se reduce en al menos aproximadamente un 5 % o al menos aproximadamente un 10 % o al menos aproximadamente un 15 % o al menos aproximadamente un 20 % o al menos aproximadamente un 25 % en comparación con la administración de trastuzumab y quimioterapia, sin pertuzumab.
5. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el cáncer positivo para HER2 se **caracteriza por** un nivel de expresión de HER2 de IHC 2+ o 3+.
6. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el cáncer está amplificado por HER2, opcionalmente en donde la amplificación de HER2 se determina mediante hibridación in situ fluorescente (FISH).
7. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde pertuzumab y trastuzumab se administran por vía intravenosa.
8. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde pertuzumab y trastuzumab se administran cada tres semanas.
9. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de la reivindicación 8, en donde pertuzumab se administra como una dosis de carga intravenosa de 840 mg, seguido de 420 mg, administrados por vía intravenosa cada 3 semanas.
10. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de la reivindicación 8 o 9, en donde trastuzumab se administra como una dosis de carga intravenosa (IV) de 8 mg/kg, seguido de 6 mg/kg, administrados mediante infusión intravenosa cada 3 semanas.
11. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde al menos uno de pertuzumab y trastuzumab se administra por vía subcutánea.
12. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de la reivindicación 11, en donde pertuzumab se administra por vía subcutánea con una dosis de carga de 1200 mg seguida de 600 mg cada 3 semanas.
13. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de las reivindicaciones 11 o 12, en donde pertuzumab y trastuzumab se administran conjuntamente por vía subcutánea como dos inyecciones subcutáneas separadas.
14. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de la reivindicación 11 o 12, en donde pertuzumab y trastuzumab se administran como una única inyección subcutánea, opcionalmente en donde pertuzumab y trastuzumab se administran como una coformulación única para administración subcutánea.
15. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 14, en donde pertuzumab y trastuzumab se administran durante al menos 52 semanas.

16. Pertuzumab en combinación con trastuzumab y quimioterapia para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde la administración de pertuzumab y trastuzumab sigue a la quimioterapia.



Ligera variable

| | 10 | 20 | 30 | 40 |
|--------|-------------------------|----------------|--------|----|
| 2C4 | DTVMTQSHKIMSTSVGDRVSITC | [KASQDV SIGVA] | WYQORP | |
| | ** ***** * | * | | * |
| 574 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTC | [KASQDV SIGVA] | WYQQKP | |
| | | * ** *** | | |
| hum κI | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTC | [RASQSI SNYLA] | WYQQKP | |

| | 50 | 60 | 70 | 80 |
|--------|---------------------------|-------------------|---------|----|
| 2C4 | GQSPKLLIY [SASYRYT] | GVPDRFTGSGSGTDFTF | TISSVQA | |
| | ** * | * | * | * |
| 574 | GKAPKLLIY [SASYRYT] | GVPSRFSGSGSGTDFTL | TISSLQP | |
| | * ***** | | | |
| hum κI | GKAPKLLIY [AASLES] | GVPSRFSGSGSGTDFTL | TISSLQP | |

| | 90 | 100 |
|--------|----------------------|--------------------------|
| 2C4 | EDLAVYYC [QQYIYPYT] | FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:5) |
| | * * | * * |
| 574 | EDFATYYC [QQYIYPYT] | FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:7) |
| | *** * | |
| hum κI | EDFATYYC [QQYNSLPWT] | FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:9) |

FIG. 2A**Pesada variable**

| | 10 | 20 | 30 | 40 |
|---------|----------------------------|---------------|-------|----|
| 2C4 | EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKAS | [GFTFTOY TMO] | WVKQS | |
| | ** ** * * **** * | | | ** |
| 574 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAAS | [GFTFTDY TMD] | WVRQA | |
| | | ** * * | | |
| hum III | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAAS | [GFTFS SYAMS] | WVRQA | |

| | 50 a | 60 | 70 | 80 |
|---------|-------------------------------|------------------|---------|----|
| 2C4 | HGKSLEWIG [DVNPNSGGSIYNQRFKG] | KASLTVD RSSRIVYM | | |
| | * * ** | *** * | ***** * | |
| 574 | PGKGLEWVA [DVNPNSGGSIYNQRFKG] | RFTLSVD RSKNTLYL | | |
| | ***** *** **** | * * * | | |
| hum III | PGKGLEWVA [VISGDGGSTYYADSVKG] | RFTISRDN SKNTLYL | | |

| | abc | 90 | 100ab | 110 |
|---------|-------------------|--------------|-------------|----------------|
| 2C4 | ELRSLTFEDTAVYYCAR | [NLGPSFYFDY] | WGQGTTLTVSS | (SEQ ID NO:6) |
| | *** ** | | ** | |
| 574 | QMNSLRAEDTAVYYCAR | [NLGPSFYFDY] | WGQGTTLTVSS | (SEQ ID NO:8) |
| | | ***** | | |
| hum III | QMNSLRAEDTAVYYCAR | [GRVGYSLYDY] | WGQGTTLTVSS | (SEQ ID NO:10) |

FIG. 2B

Secuencia de aminoácidos para la cadena ligera de pertuzumab

```

1      10      20      30      40      50      60
|      |      |      |      |      |      |
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVP
70      80      90      100     110     120
|      |      |      |      |      |
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
130     140     150     160     170     180
|     |     |     |     |     |
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTYLSSTLT
190     200     210
|     |     |
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 11)

```

FIG. 3A**Secuencia de aminoácidos para la cadena pesada de pertuzumab**

```

1      10      20      30      40      50      60
|      |      |      |      |      |
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMQWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIY
70      80      90      100     110     120
|      |      |      |      |      |
NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSSA
130     140     150     160     170     180
|     |     |     |     |     |
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
190     200     210     220     230     240
|     |     |     |     |     |
LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPRSCDKHTCPPCPAPELLGGP
250     260     270     280     290     300
|     |     |     |     |     |
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
310     320     330     340     350     360
|     |     |     |     |     |
TYRVVSVLTVQLHQLDNLNGKBYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
370     380     390     400     410     420
|     |     |     |     |     |
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
430     440     448
|     |     |
QGNVFPSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 12)

```

FIG. 3B

Cadena ligera de trastuzumab

```

1          15          30          45
└─ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK
    ↓
46          60          75          90
LLIYSASFLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCQQ

91          105         120         135
HYTTPPTFGQGTKVEIK└─ RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
    ↓
136         150         165         180
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT

181         195         210  214
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

```

FIG. 4A

Cadena pesada de trastuzumab

```

1          15          30          45
└─ EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIDKYIHWRQAPGKGL
    ↓
46          60          75          90
EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED

91          105         120         135
TAVYYCSRWGGDGFYANDYWQGTTLVTVSS└─ ASTKGPSVFPLAPSS
    ↓
136         150         165         180
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

181         195         210         225
GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK

226         240         255         270
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS

271         285         300         315
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD

316         330         345         360
WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE

361         375         390         405
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG

406         420         435         449
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVNHHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO: 14)

```

FIG. 4B

Cadena ligera variante de pertuzumab

1 15 30 45
 VHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIQVAVYQQKPGK
 46 60 75 90
 APKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY
 91 105 120 135
 CQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
 136 150 165 180
 VCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSS
 181 195 210 217
 TLTLKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 15)

FIG. 5A**Cadena pesada variante de pertuzumab**

1 15 30 45
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGL
 46 60 75 90
 EWVADVNPNSGGSIYNQRFEKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAED
 91 105 120 135
 TAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
 136 150 165 180
 STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 181 195 210 225
 LYSLSSTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
 226 240 255 270
 HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
 271 285 300 315
 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
 316 330 345 360
 LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
 361 375 390 405
 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPFVLDSGGS
 406 420 435 449
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVNHHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 16)

FIG. 5B

Esquema del ensayo clínico APHINITY

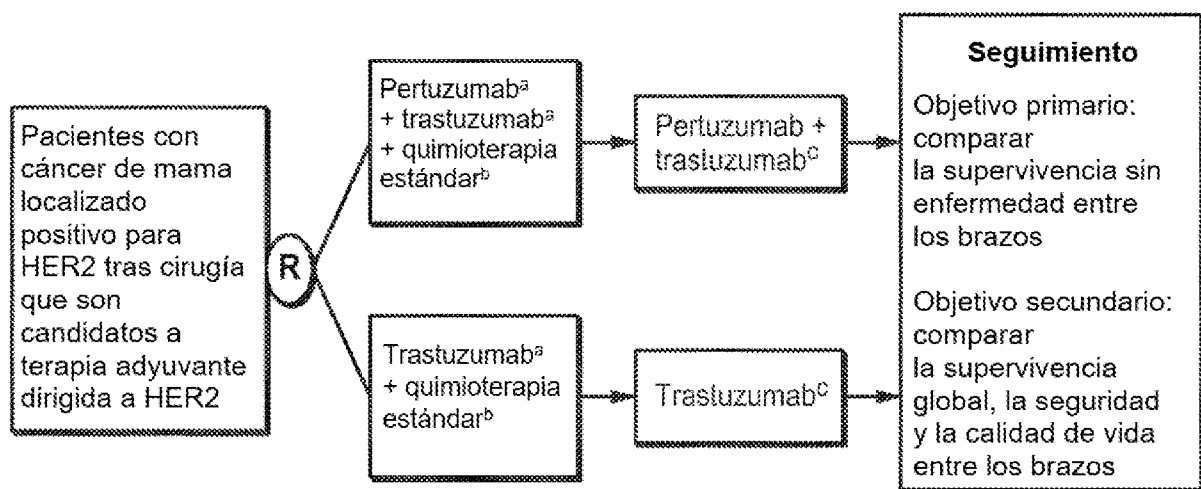


FIG. 6A

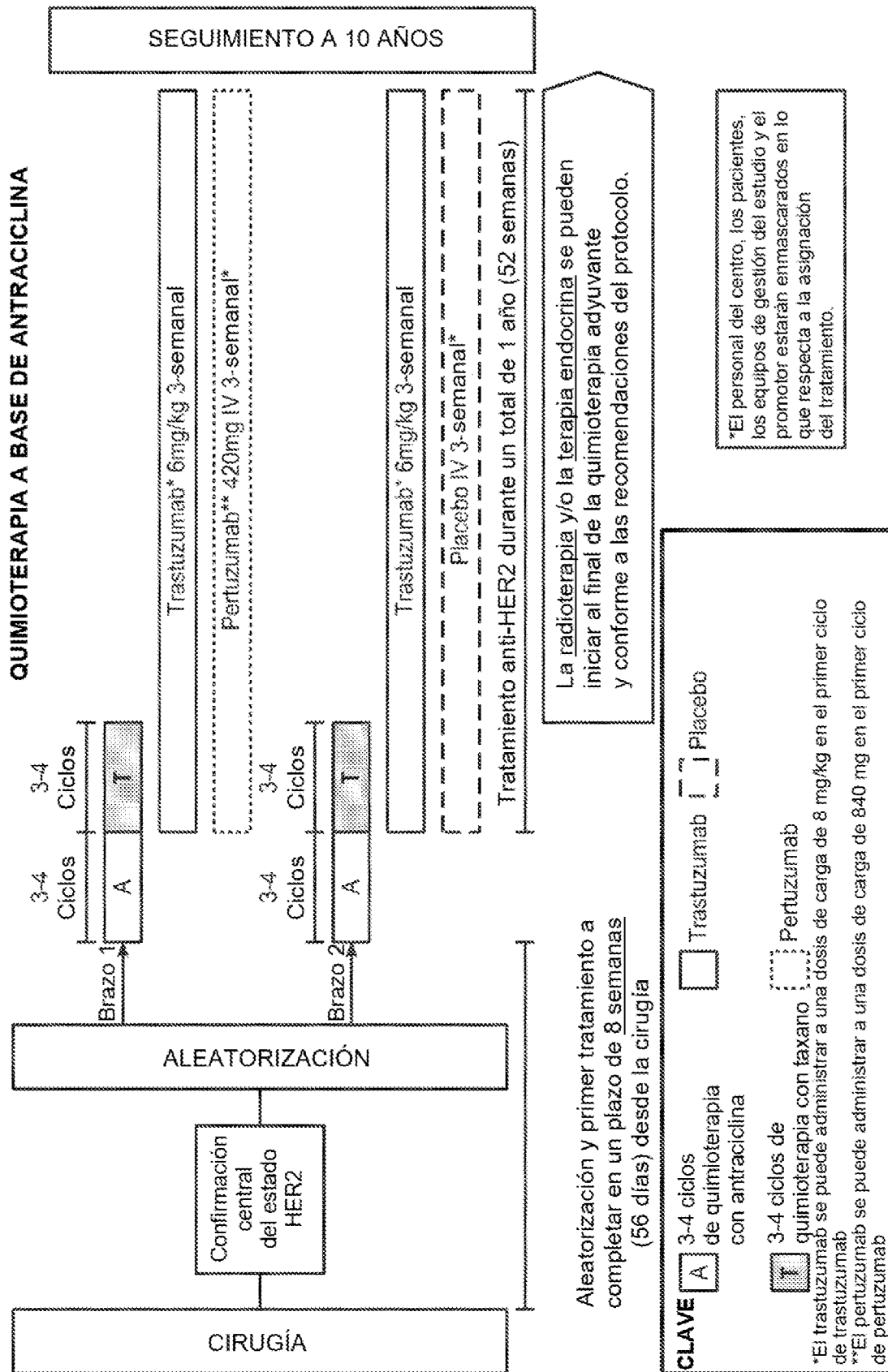


FIG. 6B

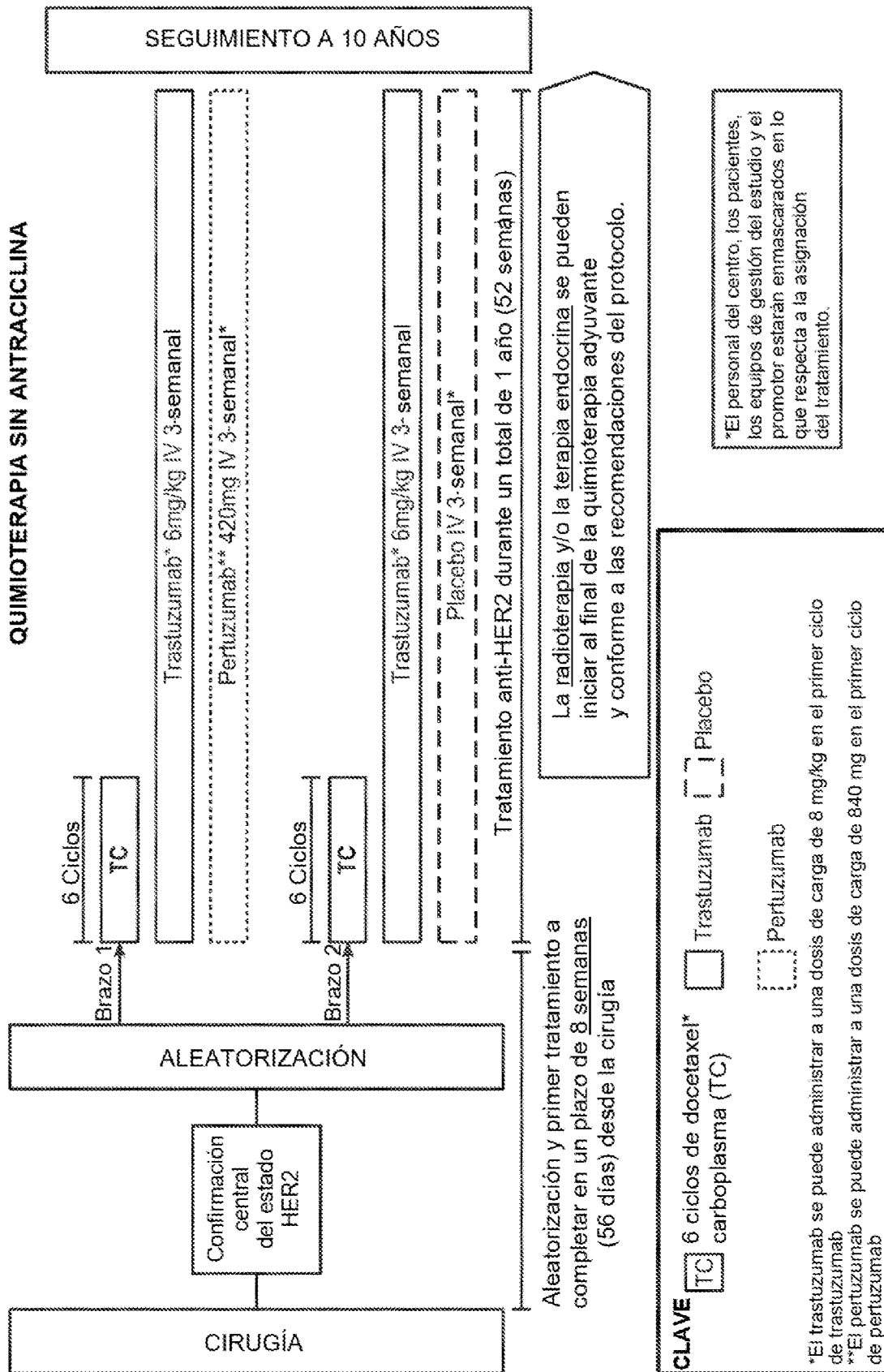


FIG. 6C

SSEI de eficacia (ITT)

| | | | SSEI a 3 años | | |
|--|--------------------------|---------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | HR | Valor P | Ptz+Tras n=2400 | Pla+Tras n=2404 | Δ SSEI a 3 años |
| SSEI del criterio de valoración principal | 0,81 (IC: 0,66, 1,00) | 0,0446* | 94,06% (IC: 93,01, 95,03) | 93,24% (IC: 92,21, 94,26) | 0,82% |
| Pcs con algún acontecimiento | | | 171 Acontecimientos | 210 Acontecimientos | |

*El valor p mostrado en esta tabla se basa en los datos del factor de estratificación tomados del FICe. En un análisis de sensibilidad basado en los datos del factor de estratificación del sistema IxRX (análisis de la FDA), el valor p de la prueba de rangos logarítmicos estratificados fue 0,0471

FIG. 7A

Gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento SSEI (meses) por régimen de tratamiento, población ITT
Protocolo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G

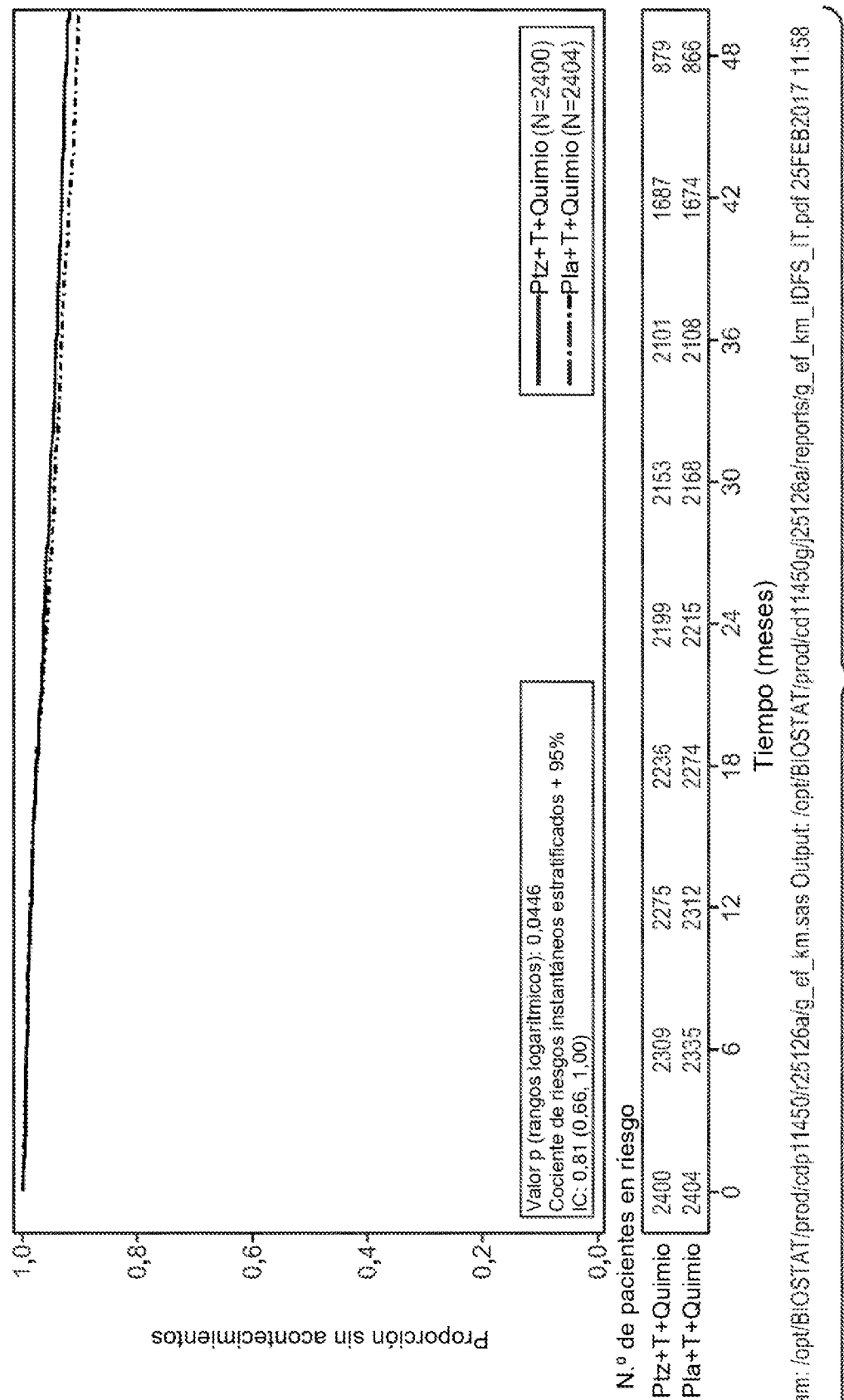


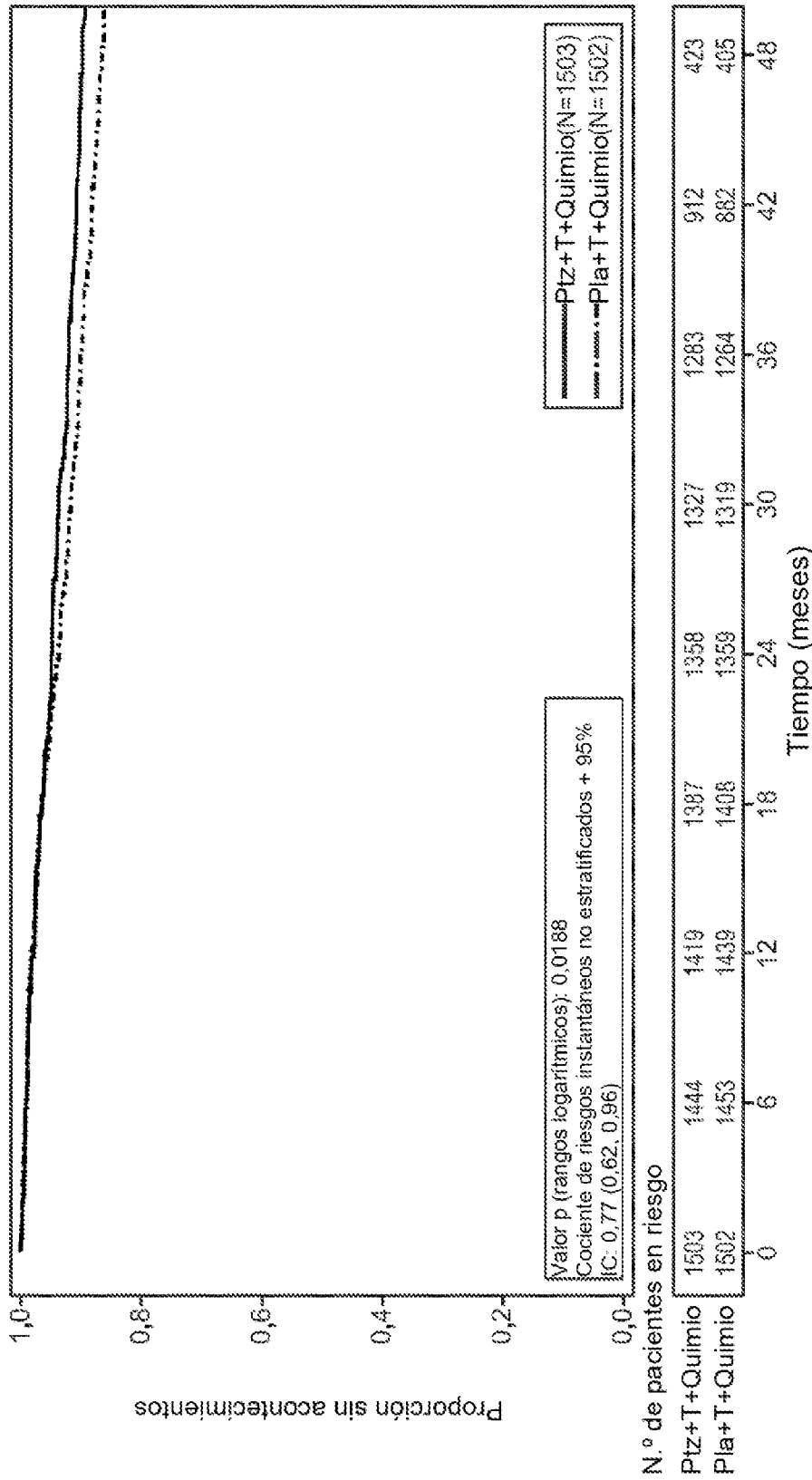
FIG. 7B

SSEI de la eficacia (Estado de los ganglios)

| | | | SSEI a 3 años | | |
|---------------------------------|--------------------------|---------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | HR | Valor P | Ptz+Tras n=1503 | Pla+Tras n=1502 | Δ SSEI a 3 años |
| Ganglio positivo | 0,77 (IC: 0,62, 0,96) | 0,0188 | 91,99% (IC: 90,05, 93,29) | 90,15% (IC: 89,62, 91,69) | 1,84% |
| Pcs con algún acontecimiento | | | 139 Acontecimientos | 181 Acontecimientos | |

FIG. 8A

Gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento SSEI (meses) por régimen de tratamiento, cohorte de ganglios positivos, población ITT
Protocolo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



Program: /opt/BIOSTAT/prod/cdp1450/r25126a/g_ef_km.sas Output: /opt/BIOSTAT/prod/cd1450/gj25126a/reports/g_ef_km_IDFS_NPOS_IT.pdf 21MAR2017 18:10

FIG. 8B

Gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento SSEI (meses) por régimen de tratamiento, cohorte negativa para los ganglios, población ITT
Protocolo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G

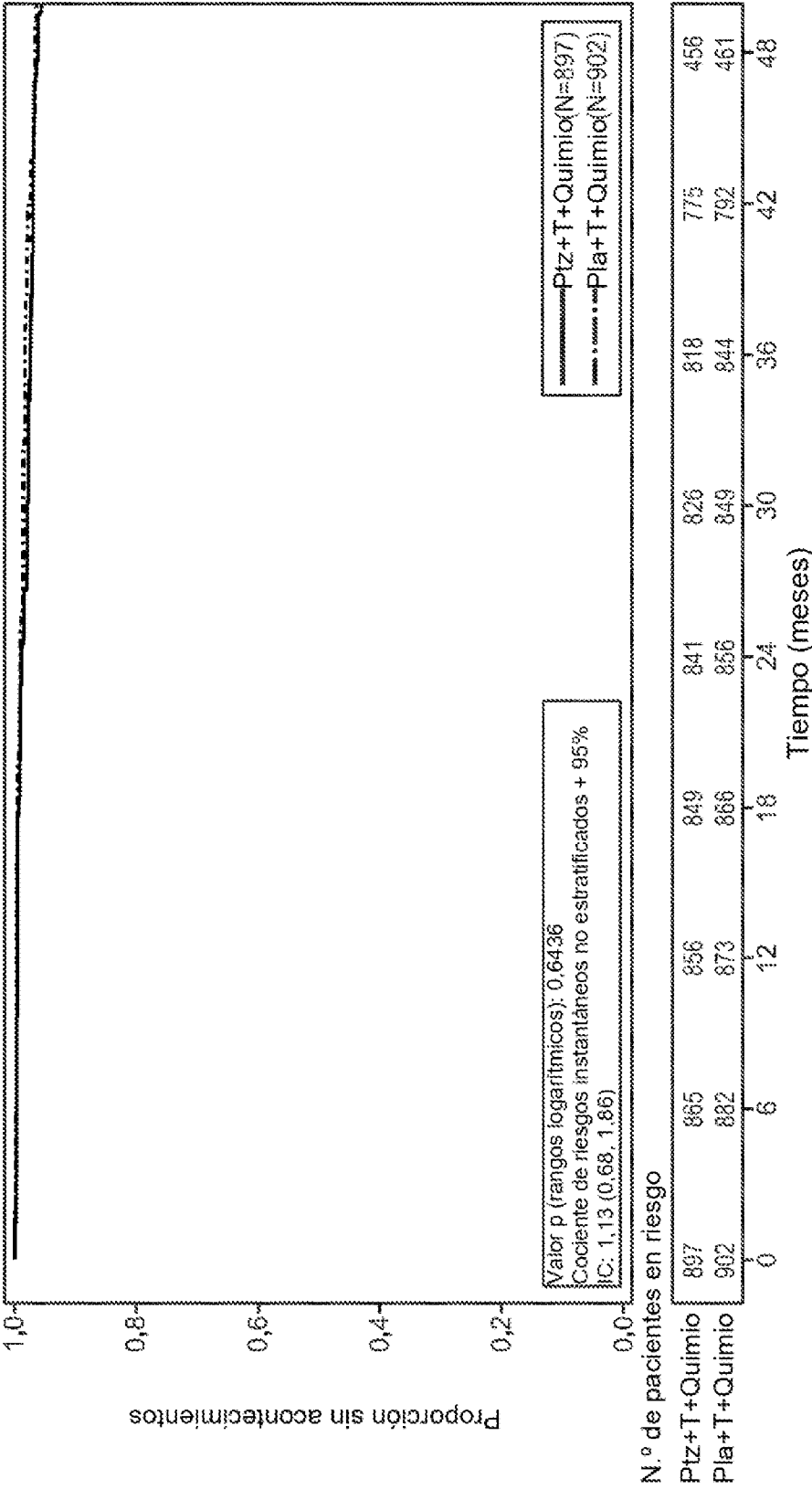


FIG. 8C

SSEI de la eficacia (Estado HR)

| | | | SSEI a 3 años | | |
|---------------------------------|--------------------------|---------|------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | HR | Valor P | Ptz+Tras n=864 | Pla+Tras n=858 | Δ SSEI a 3 años |
| HR negativo | 0,76 (IC: 0,56, 1,04) | 0,0847 | 92,71% (IC: 91,01, 94,53) | 91,2% (IC: 89,24, 93,12) | 1,51% |
| Pcs con algún acontecimiento | | | 71 Acontecimientos | 91 Acontecimientos | |

FIG. 9A

Gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento SSEI (meses) por régimen de tratamiento, pacientes negativos para el receptor hormonal central, población ITT
Protocolo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G

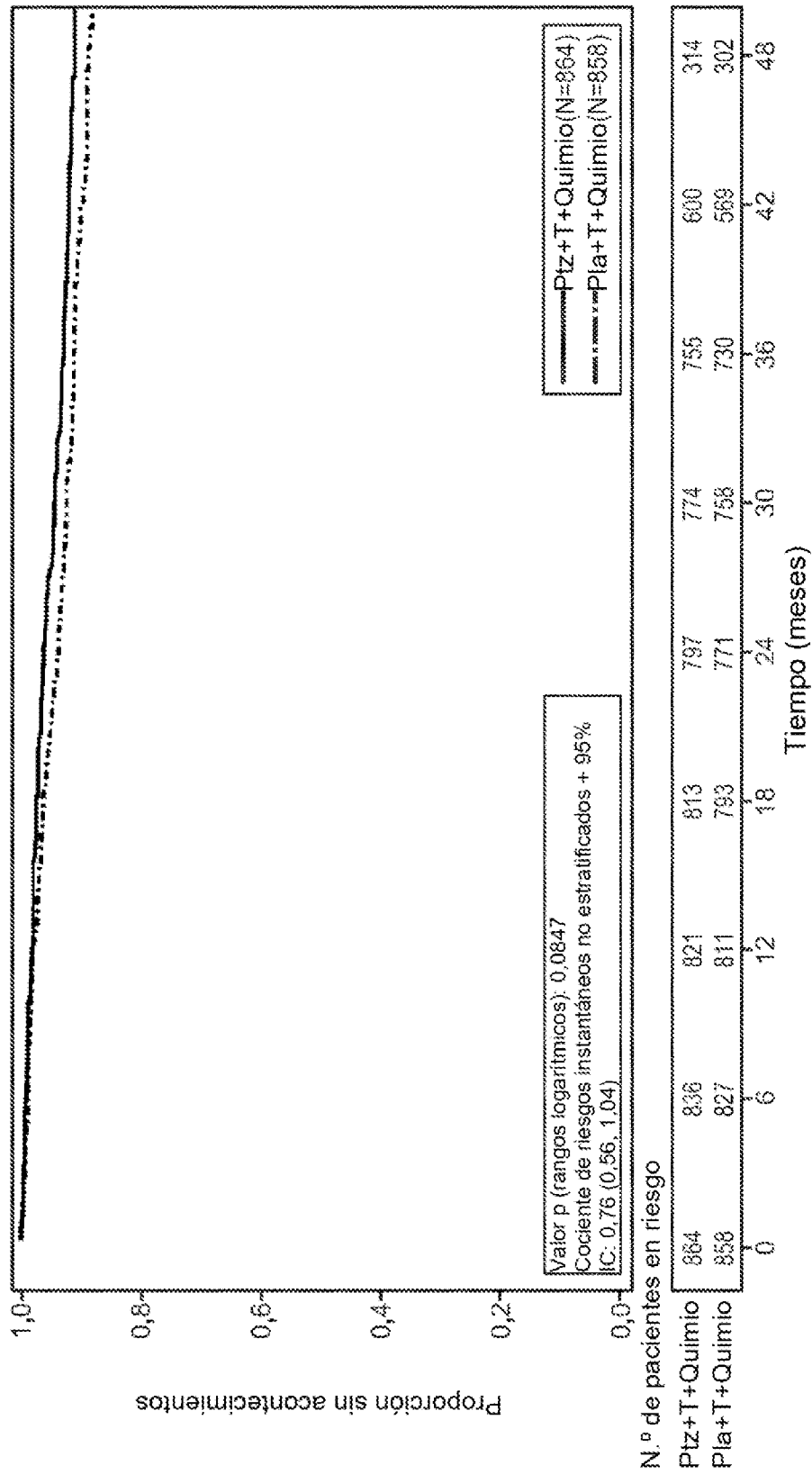
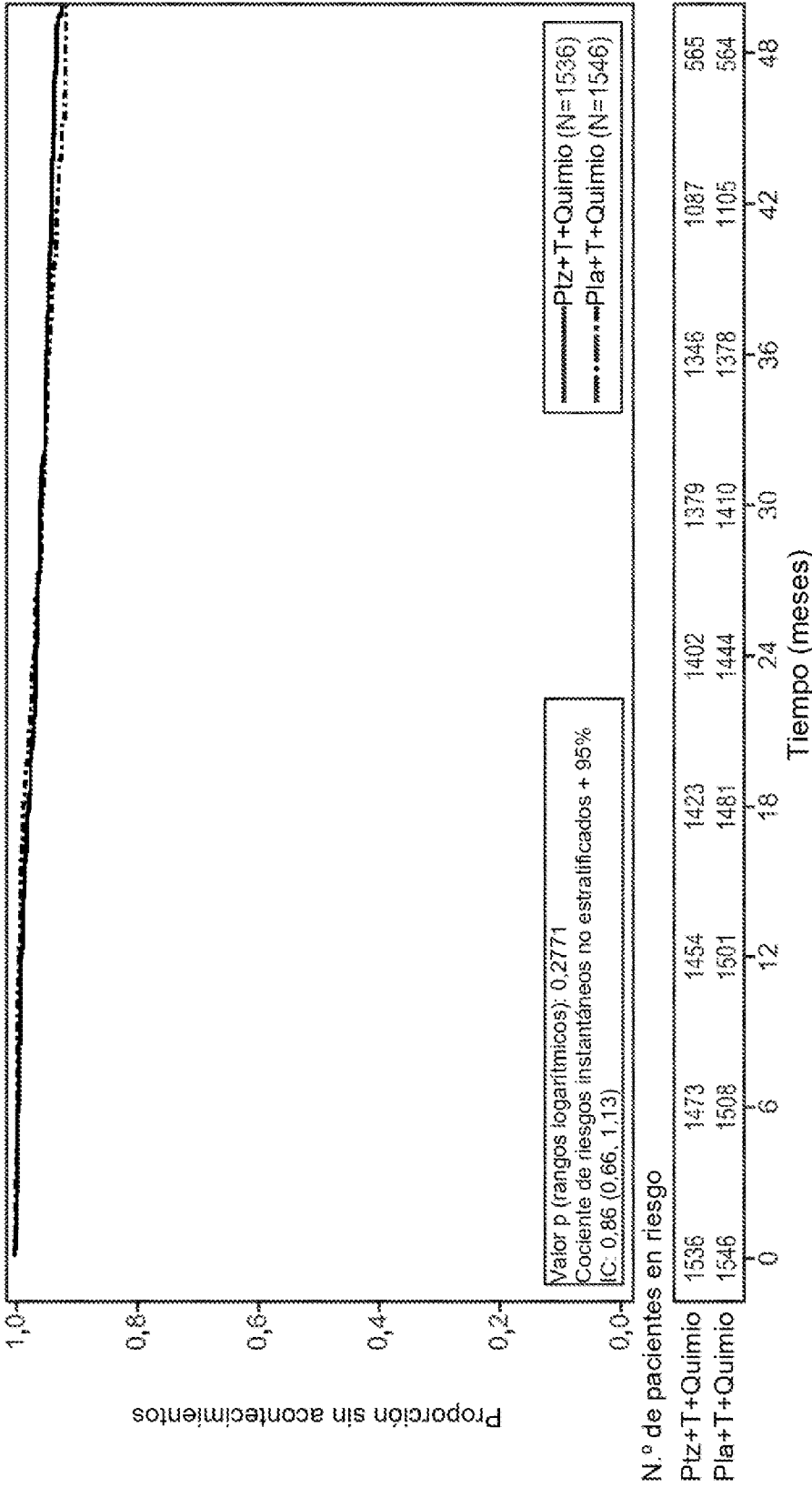


FIG. 9B

Program: /opt/BIOSTAT/prod/cdp11450/r25126a/g_ef_km.sas Output: /opt/BIOSTAT/prod/cd11450/gj25126a/reports/g_ef_km_IDFS_CHRN_IT.pdf 25FEB2017 12:03

Gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento SSEI (meses) por régimen de tratamiento, cohorte positiva para el receptor hormonal central, población ITT
Protocolo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



Program: /opt/BIOSTAT/prod/cdp11450/r25126a/g_ef_km.sas Output: /opt/BIOSTAT/prod/cd11450/gj25126a/reports/g_ef_km_IDFS_CHRP_IT.pdf 25FEB2017 12:00

FIG. 9C

Fecha de corte: 19DIC2016
 Gráfico de Kaplan-Meier del tiempo hasta el primer acontecimiento SSeI (meses)
 que muestra pacientes censurados, por régimen de tratamiento, población ITT
 Protocolo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G

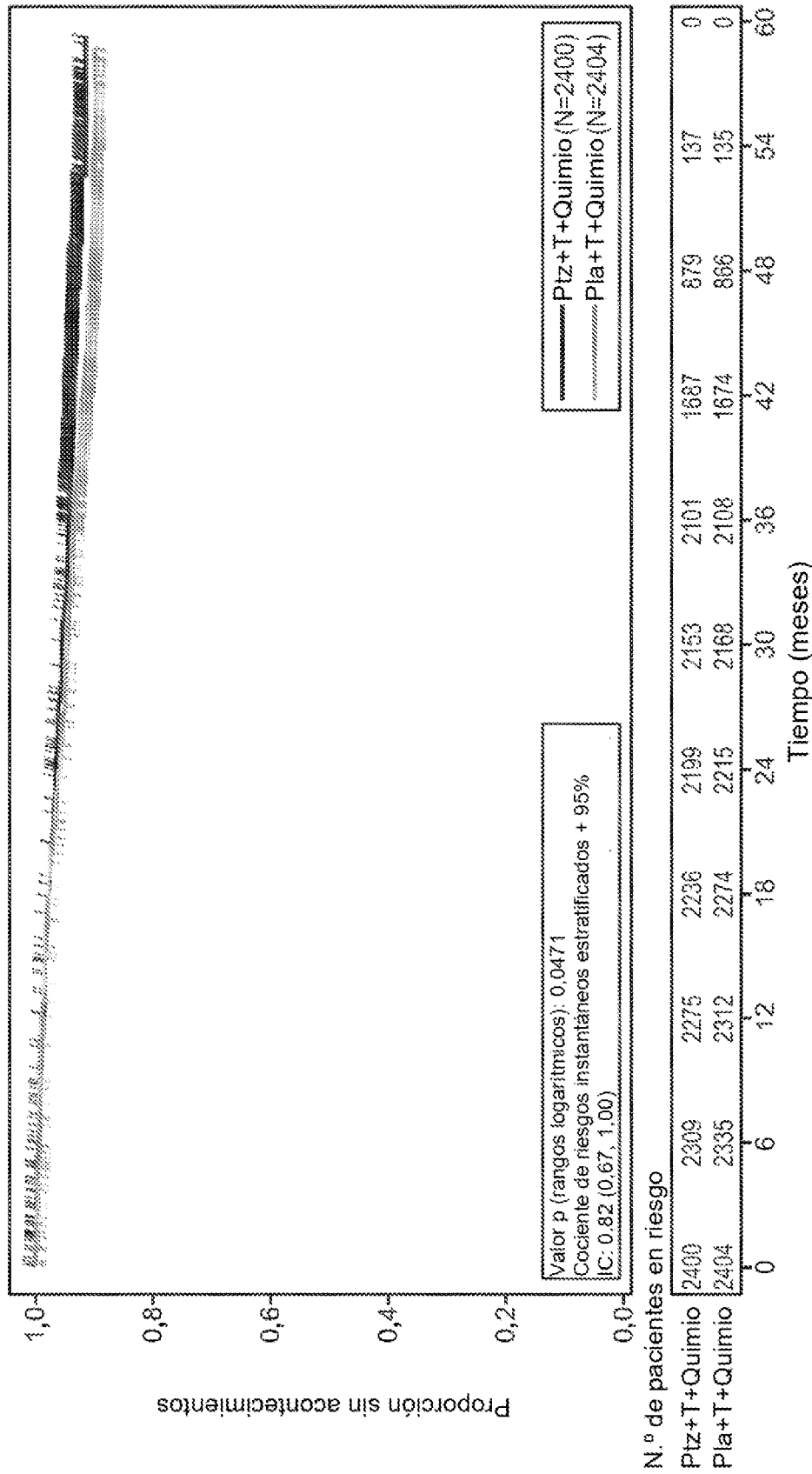


FIG. 10