



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0715829-7 A2



* B R P I 0 7 1 5 8 2 9 A 2 *

(22) Data de Depósito: 17/08/2007
(43) Data da Publicação: 23/07/2013
(RPI 2220)

(51) Int.Cl.:
A61K 39/395
C07K 16/00

(54) Título: TERAPIA DE TUMOR COM UM ANTICORPO ANTI-VEGF

(30) Prioridade Unionista: 21/08/2006 EP 06 017330.9

(73) Titular(es): F.Hoffmann-La Roche AG

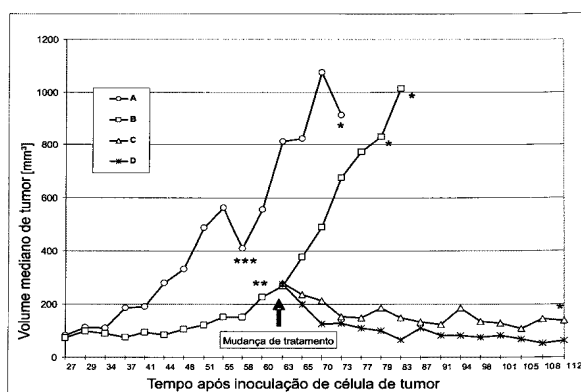
(72) Inventor(es): Max Hasmann, Thomas Friess, Werner Scheuer

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007007276 de 17/08/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/022746de 28/02/2008

(57) Resumo: TERAPIA DE TUMOR COM UM ANTICORPO ANTI-VEGF. A presente invenção provê um processo de tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente com um anticorpo anti-VEGF durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2. A invenção também refere-se a correspondentes artigos de fabricação.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"TERAPIA DE TUMOR COM UM ANTICORPO ANTI-VEGF"**.

A presente invenção refere-se ao tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente com um anticorpo anti-VEGF durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.

Antecedentes da Invenção

Angiogênese está implicada na patogênese de uma variedade de distúrbios que incluem tumores sólidos, síndromes neovasculares intraoculares como retinopatias proliferativas ou degeneração macular relacionada com idade (AMD), artrite reumatóide, e psoríase (Folkman et al., J. Biol. Chem. 267(1992) 10931-10934; Klagsbrun et al., Annu. Vide. Physiol. 53 (1991) 217-239; e Garner, A., Vascular diseases, In: Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach, Garner, A., and Klintworth, G.K. (eds.), 2nd edition, Marcel Dekker, New York (1994), pp 1625-1710). No caso de tumores sólidos, a neovascularização permite que as células de tumor adquiram uma vantagem de crescimento e autonomia proliferativa comparadas às células normais. Da mesma maneira, foi observada uma correlação entre densidade de micro – vasos em seções de tumores e paciente sobrevivente em câncer de mama assim como em vários outros tumores (Weidner et al., N. Engl. J. Méd. 3324 (1991) 1-8; Horak et al., Lancet 340 (1992) 1120-1124; e Macchiarini et al., Lancet 340 (1992) 145-146).

Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) está envolvido na regulação de angiogênese normal e anormal e neovascularização associada com tumores e distúrbios intraoculares (Ferrara et al., Endocr. Vide. 18(1997) 4-25; Berkman et al., J. Clin. Invest. 91 (1993) 153-159; Brown et al., Human Pathol. 26(1995) 86-91; Brown et al., Cancer Res. 53 (1993) 7427-4735; Mattern et al., Brit. J. Cancer. 73 (1996) 931-934; e Dvorak et al., Am. J. Pathol. 146 (1995) 1029-1039). Anticorpos neutralizantes anti-VEGF suprimem o crescimento de uma variedade de linhas de células de tumor humanas em camundongos (Kim et al., Nature 362 (1993) 841-844; Warren et al., J. Clin. Invest. 95(1995) 1789-1797; Borgstrom et al., Câncer Res. 56 (4032-4039; e Melnyk et al., Câncer Res. 56 (1996) 921-924). WO 94/10202,

WO 98/45332, WO 2005/00900 e WO 00/35956 referem-se a anticorpos contra VEGF. Anticorpo monoclonal humanizado bevacizumab (vendido o nome comercial Avastin®) é um anticorpo anti-VEGF usado em terapia de tumor e é o único agente anti – angiogênico aprovado para tratamento de

5 câncer (WO 98/45331).

HER2 é um membro da família de receptor de fator de crescimento epidérmico humano e possui atividade de proteína cinase em seu domínio citoplásmico. HER2 é superexpressa em células de tumor e está correlacionada com prognóstico e sobrevivência pobres. HER2 é por isso um

10 alvo valioso de terapia de câncer de mama. Anticorpos contra HER2 são conhecidos de Takai N. et al., Câncer 104 (2005) 2701-2708; Yeon, C. H., et al., Invest New Drugs. 23 (2005) 391-409; Wong, W. M., et al., Cancer Parct. 7 (1999) 48-50; Albanello, J., et al., Drugs Today (Barc). 35 (1999) 931-46.

Trastuzumabe (comercializado sob o nome comercial Herceptin®) é um anticorpo monoclonal anti-HER2 usado para o tratamento de

15 câncer de mama metastático de gene HER2 amplificado/HER2 superexpresso. Estudos pré-clínicos demonstraram que o anticorpo tem atividade antitumor *in vivo* e *in vitro*. Além disso, aperfeiçoamento aditivo ou sinérgico de atividade antitumor de trastuzumabe foi observado em combinação com

20 vários agentes tumor em modelos de camundongos. Em estudos clínicos, extensão de sobrevivência foi observada em pacientes de câncer de mama metastático superexpressando HER2.

WO 2005/012531 descreve anticorpos que podem ser combinados com anticorpos anti-ErbB (por exemplo, Herceptina também conhecida

25 como trastuzumabe) e/ou um anticorpo anti-VEGF (por exemplo, Avastina também conhecida como bevacizumab) no tratamento de câncer colorretal, câncer de mama metastático e câncer de rim. De acordo com WO 2005/063816, anticorpos anti-VEGF podem ser combinados com anticorpos anti-ErbB em um tratamento de câncer de mama metastático. De acordo

30 com WO 98/45331, a eficácia de um anticorpo anti-VEGF em prevenção ou tratamento de doença pode ser aperfeiçoada através de administração de anticorpo em série ou em combinação com um outro agente que seja eficaz

para aqueles propósitos, tal como um anticorpo capaz de se ligar ao receptor de HER2. WO 2005/00090 e WO 2003/077841 também mostram a combinação de anticorpos anti-VEGF com anticorpos anti-ErbB2 para terapia de tumor. Pegram, M.D., et al., *Seminars in Oncology* 29 (2002) 29-37, refere-se à combinação de anticorpos anti-ErbB2 com anticorpos anti-VEGF na
5 terapia de câncer de mama.

Oncologistas clínicos estão de acordo que a falha de tratamento de câncer não é necessariamente causada pelo crescimento do tumor primário, que é geralmente tratado com uso de cirurgia, mas antes pela disse-
10 minação metastática em diferentes órgãos. A regressão de tumores primários por diferentes fármacos citotóxicos não é sempre indicativa para atividade anti-metastática per se. Ao contrário, a metástase aperfeiçoada foi observada em resposta a vários fármacos anticâncer (Geldof et al., *Anticancer Res* 8 (1988) 1335-40, Murphy, J., *Clin. Oncol.* 11 (1993) 199-201, e De Larco et
15 al., *Cancer Res.* 61 (2001) 2857-61). Claramente existe uma necessidade de desenvolvimento de terapias de tratamento que alvejem não somente o tumor primário, mas também suprimam a metástase. Estas atividades antime-
tastáticas podem, por exemplo, ser avaliadas através do processo de acordo com Schneider, T. et al., *Clin. Exp. Metas.* 19 (2002) 571-582.

20 Sumário da Invenção

A invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para o tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente, durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.

25 Uma modalidade adicional é o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para prevenção ou redução de metástase em um paciente, sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente, durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.

A invenção ainda compreende anticorpo anti-VEGF para tratar
30 um paciente que sofre de câncer positivo HER2 recorrente, durante ou depois do tratamento com um anticorpo anti-HER2.

Uma modalidade adicional é um anticorpo anti-VEGF para pre-

venir iu reduzir a mestátase em um paciente que sofre de câncer positivo HER2, durante ou depois do tratamento com anticorpo anti-HER2.

Preferivelmente o dito tratamento com um anticorpo anti-HER2 é uma monoterapia de primeira – linha com o dito anticorpo anti-HER2.

5 Preferivelmente o dito anticorpo anti-VEGF se liga ao mesmo epitopo como bevacizumab.

Preferivelmente, o dito anticorpo anti-VEGF é bevacizumab.

Preferivelmente, o dito anticorpo anti-HER2 é trastuzumabe.

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende coadmi-
10 nistração do dito anticorpo anti-VEGF e o dito anticorpo anti-HER2 ao paci-
ente.

A presente invenção ainda provê um artigo de fabricação com-
preendendo um recipiente, uma composição dentro do recipiente compreen-
dendo um anticorpo anti-VEGF e uma inserção de embalagem instruindo o
15 usuário da composição a administrar o dito anticorpo anti-VEGF a um paci-
ente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente durante ou após trata-
mento com um anticorpo anti-HER2.

Descrição Detalhada da Invenção

O termo "VEGF" de acordo com a invenção refere-se ao fator de
20 crescimento de célula endotelial vascular (Swiss-Prot N° P 15692), formação
de ligação alternativas (vide, por exemplo, Leung et al., Science, 246 (1980)
1306-1309, e Houck et al., Mol. Endocrin., 5 (1991) 1806-14 e fragmentos
ativos, preferivelmente seus fragmentos N-terminais.

O termo "anticorpo anti-VEGF" de acordo com a invenção é um
25 anticorpo que liga-se especificamente a VEGF e exibe uma atividade antian-
giogénica. O anticorpo anti-VEGF humanizado preferido ou variante de um
anticorpo anti-VEGF aqui se liga a VEGF humano com um valor Kd de não
mais que cerca de $1 \times 10^{-8} \text{M}$ e preferivelmente não mais que cerca de $5 \times 10^{-9} \text{M}$. Preferivelmente o anticorpo anti-VEGF é um anticorpo monoclonal que
30 se liga ao mesmo epitopo como anticorpo monoclonal anti-VEGF humaniza-
do recombinante (bevacizumab) gerado de acordo com Presta et al., Cancer
Res. 57 (1997)4593-4599. Um anticorpo preferido é bevacizumab. Anticor-

pos anti-VEGF e processos para sua fabricação são, por exemplo, descritos em US 6 054 297, US 2003/0190317, US 6 632 926, US 6 884 879 e US 2005/0112126.

Bevacizumab compreende regiões de estrutura de IgG1 humana que sofreram mutação e regiões determinantes de complementaridade de ligação de antígeno de um anticorpo monoclonal anti-hVEGF murino que bloqueia ligação de VEGF humano a seus receptores. Aproximadamente 93% das sequências de aminoácidos de bevacizumab, incluindo a maioria das regiões de estrutura, são derivadas de IgG1 humana, e cerca de 7% das sequências são derivadas do anticorpo murino A4.6.1. Bevacizumab tem uma massa molecular de cerca de 149 000 daltons e é glicosilado. Bevacizumab e seu processo de preparação são descritos em EP 1325932.

O termo "HER2" de acordo com a invenção refere-se a receptor de fator de crescimento de 185 kDa também referido como neu e c-erbB-2 (Slamon et al., Science 235 (1987) 177-182; Swiss-Pat P04626) cuja função é relacionada à transformação neoplástica em células de câncer de mama humano. Superexpressão desta proteína foi identificada em 20-30% de pacientes de câncer de mama onde ela relaciona-se com doença regionalmente avançada, aumentada probabilidade de recorrência de tumor, e reduzida sobrevivência de paciente. Tanto quanto 30-40% de pacientes tendo cânceres gástrico, endometrial, de glândula salivar, de pulmão de célula não-pequena, pancreático, de ovário, peritoneal, próstata, ou colorretal também podem exibir superexpressão desta proteína.

O termo "anticorpo anti-HER2" de acordo com a invenção é um anticorpo que liga-se especificamente ao mesmo epítipo de HER2 como o anticorpo anti-HER2 murino 4D5 descrito em Hudziak et al., Mol. Cell. Biol. 9 (1989) 1165-1172. Anticorpos anti-HER2 que se ligam ao "epítipo 4D5 de HER2", incluindo o próprio anticorpo 4D5 anti-HER, e processo para sua fabricação são, por exemplo, descritos em US 6 054 297, WO 89/06692, US 6 399 063, US 6 165 464, US 6 054 297, US 5 772 997, WO 2003/087131, WO 01/00245, WO 01/00238, WO 00/69460, WO 99/31140 e WO 98/17797. Em uma modalidade preferida da invenção, o anticorpo anti-HER2 é trastu-

zumabe, um anticorpo monoclonal anti-HER2 humanizado recombinante (uma versão humanizada do anticorpo anti-HER2 murino 4D5, referido como rhuMAb HER2 ou trastuzumabe) que foi clinicamente ativo em pacientes com cânceres de mama metastáticos superexpressando HER2 que receberam terapia extensiva anticâncer anterior. (Baselga et al., J Clin. Oncol. 14 (1996) 737-744). Trastuzumabe e seu processo de preparação são descritos em EP 590058.

O "epitopo 4D5" é a região no domínio extracelular de ErbB2 ao qual o anticorpo 4D5 (ATCC CRL 10463) se liga. Este epitopo está próximo da região transmembrana de ErbB2. Para selecionar anticorpos que se ligam ao epitopo 4D5, um ensaio de bloqueio cruzado rotineiro tal como aquele descrito em Antibodies, A Laboratory Manual, Cold spring Harbor Laboratory, Ed. Harlow and David Lane (1988), pode ser realizado. Alternativamente, o mapeamento de epitopo pode ser realizado para avaliar se o anticorpo se liga ao epitopo 4D5 de ErbB2.

O termo "epitopo" como usado neste pedido de patente representa uma determinante proteína capaz de específica ligação a um anticorpo. Epitopos usualmente consistem em grupamentos de superfície quimicamente ativos de moléculas tais como aminoácidos ou cadeias laterais açúcar e usualmente têm específicas características estruturais tridimensionais, assim como específicas características de carga. Epitopos conformacionais e não-conformacionais são distinguidos em que a ligação aos anteriores mas não aos últimos é perdida na presença de solventes desnaturantes. Dependendo do tamanho do antígeno ao qual o epitopo pertença, mais de um epitopo por antígeno podem ser disponíveis resultando da mesma maneira na possibilidade de mais de um sítio de ligação de anticorpo (=epitopo) por antígeno.

Anticorpos podem ser gerados contra, por exemplo, polipeptídeos humanos, de camundongo ou rato. Anticorpos, tanto policlonais ou monoclonais, reconhecendo especificamente o antígeno-alvo são abrangidos pela invenção. Tais anticorpos são elevados usando técnicas imunológicas padrão conhecidas por aqueles versados na técnica. Anticorpos podem

ser policlonais ou monoclonais ou podem ser produzidos recombinantemente tal como para um anticorpo humanizado. A determinação de se um anticorpo não está ligando-se ao mesmo epitopo como um conhecido anticorpo terapêutico pode ser facilmente determinada em um sistema de teste competitivo.

Possível sobreposição de epitopos de dois anticorpos ligando-se ao mesmo antígeno-alvo pode ser detectada com o auxílio de um sistema de teste competitivo. Para este propósito, por exemplo, com o auxílio de um ensaio imuno de enzima, é testada a extensão na qual o novo anticorpo compete com o anticorpo conhecido pela ligação a um antígeno-alvo imobilizado. Para este propósito, um antígeno-alvo apropriadamente imobilizado é incubado com o anticorpo conhecido em forma marcada e um excesso do anticorpo em questão. Através da detecção do marcador ligado ali pode ser facilmente determinada a extensão na qual o anticorpo em questão pode deslocar o anticorpo conhecido do sítio de ligação (= epitopo). Se há um deslocamento de mais que 10%, preferivelmente de mais que 20%, na mesma concentração ou em maiores concentrações, preferivelmente no caso de excesso de 10^5 vezes do anticorpo em questão, com referência ao anticorpo conhecido, então uma sobreposição de epitopos está presente. Isto significa que o anticorpo em questão liga-se ao mesmo epitopo como o anticorpo conhecido.

O termo "antígeno-alvo" refere-se a uma biomolécula que é ligada por seu correspondente anticorpo terapêutico. A título de exemplo, o antígeno-alvo de um anticorpo terapêutico a HER2 (=ErbB2 ou p 185^{neu}), como Herceptina ou Omnitarg, é HER2, de um anticorpo terapêutico para EGFr, como Erbitux, é EGFr, de um anticorpo terapêutico para VEGF, como Avastina, é VEGF. O antígeno-alvo pode ser um antígeno solúvel, isto é, secretado ou emitido ou um antígeno-alvo ligado a membrana (-célula).

Imunoensaios são bem-conhecidos por aqueles versados na técnica. Processos para modalidades de tais ensaios assim como aplicações práticas e procedimentos são resumidos em livros textos relacionados. Exemplos de livros textos relacionados são Tijssen, P., Preparation of enzy-

me-antibody or other enzyme-macromolecule conjugates, In: Practice and theory of enzyme immunoassays, Burdon, R.H. and v. Knippenberg, P.H. (eds.), Elsevier, Amsterdam (1990), pp. 221-278; e vários volumes de Colowick, S.P. and Caplan, N.O. (eds.), Methods in Enzymology, Academic Press, lidando com processos de detecção imunológica, especialmente volumes 70, 73, 74, 84, 92 e 121.

O termo "superexpressão" da proteína receptora de HER2 é pretendido indicar um nível anormal de expressão da proteína receptora de HER2 em uma célula a partir de um tumor dentro de um específico tecido ou órgão do paciente em relação ao nível de expressão em uma célula normal daquele tecido ou órgão. Pacientes tendo um câncer caracterizado por superexpressão do receptor de HER2 podem ser determinados através de ensaios-padrão conhecidos na técnica. Preferivelmente superexpressão é medida em células fixadas de seções de tecido embutidas em parafina ou congeladas usando detecção imuno histoquímica (IHC). Quando acoplada com mancha histológico, a localização da proteína direcionada pode ser determinada e extensão de sua expressão dentro de um tumor pode ser medida qualitativamente e semi – quantitativamente. Tais ensaios de detecção IHC são conhecidos na técnica e incluem o Ensaio de Experimento Clínico (CTA), o teste LabCorp 4D5 comercialmente disponível, e o comercialmente disponível DAKO HercepTest (DAKO, Carpinteria, Calif.). O último ensaio usa uma específica faixa de mancha de célula de 0 a 3+ (0 sendo expressão normal, 3+ indicando a expressão positiva mais forte) para identificar cânceres tendo superexpressão da proteína HER2 (vide a informação prescrevendo inteiramente Herceptina (trastuzumabe); setembro de 1998; Genentech, Inc., San Francisco, Calif.). Assim, pacientes tendo um câncer caracterizado por superexpressão da proteína HER2 na faixa de 1+, 2+, ou 3+, preferivelmente 2+ ou 3+, mais preferivelmente 3+ podem se beneficiar dos processos de terapia da presente invenção.

O termo "câncer positivo HER2" refere-se a uma doença de câncer tal como câncer de mama, câncer gástrico, câncer endometrial, câncer de glândula salivar, câncer de pulmão de célula não-pequena, câncer pan-

creático, câncer de ovário, câncer peritoneal, câncer de próstata, ou câncer colo – retal, que é caracterizado por superexpressão de proteína HER2.

O câncer positivo HER2 pode ser, por exemplo, câncer de pulmão, câncer de pulmão de célula não-pequena (NSCL), câncer de pulmão de célula broncoalveolar, câncer de osso, câncer pancreático, câncer de pele, câncer de cabeça ou pescoço, melanoma cutâneo ou intraocular, câncer de útero, câncer de ovário, câncer de reto, câncer de região anal, câncer de estômago, câncer gástrico, câncer de cólon, câncer de mama, câncer de útero, carcinoma dos tubos de falópio, carcinoma do endométrio, carcinoma de cérvix, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, doença de Hodgkin, câncer do esôfago, câncer do intestino delgado, câncer do sistema endócrino, câncer da glândula tireóide, câncer da glândula paratireóide, câncer da glândula adrenal, sarcoma de tecido macio, câncer da uretra, câncer do pênis, câncer de próstata, câncer da bexiga, câncer do rim ou uretra, carcinoma de célula renal, carcinoma de pélvis renal, mesotelioma, câncer hepatocelular, câncer biliar, leucemia crônica ou aguda, linfomas linfocíticos, neoplasmas do sistema nervoso central (CNS), tumores de eixo espinhal, glioma de tronco cerebral, glioblastoma multiforme, astrocitomas, schwannomas, ependimomas, meduloblastomas, meningiomas, carcinomas de células escamosas, adenomas de pituitária, incluindo versões refratárias de quaisquer dos cânceres acima, ou uma combinação de um ou mais dos cânceres acima. A condição ou lesão pré-cancerosa inclui, por exemplo, o grupo consistindo em leucoplasia oral, ceratose actínica (ceratose solar), pólipos pré-cancerosos do cólon ou reto, displasia epitelial gástrica, displasia adenomatosa, síndrome de câncer de cólon não-polipose hereditária (HNPCC), esôfago de Barrett, displasia de bexiga, e condições cervicais pré-cancerosas. Em uma modalidade preferida, o câncer é um câncer de mama positivo HER2 recorrente, que é tratado preferivelmente durante ou após uma monoterapia de primeira – linha com um anticorpo anti-HER2, onde o dito anticorpo anti-HER2 é preferivelmente trastuzumabe.

O termo "câncer de mama" refere-se ao crescimento descontrolado de células de mama anormais. Ele inclui carcinoma ductal *in situ*, carci-

noma dutal invasivo, carcinoma lobular *in situ*, carcinoma lobular invasivo, carcinoma medular, doença de Paget do mamilo, e câncer de mama metastático.

O termo "câncer recorrente" refere-se ao crescimento descontrolado de células normais em tumores de pacientes que inicialmente responderam a prévia terapia, mas nos quais a resposta terapêutica não foi mantida. O termo "câncer positivo HER2 recorrente" refere-se ao crescimento descontrolado de células anormais caracterizadas por superexpressão de proteína HER2 em pacientes de tumor que inicialmente responderam a prévia terapia com um anticorpo anti-HER2, preferivelmente trastuzumabe, mas nos quais a resposta terapêutica não foi mantida durante tratamento com o dito anticorpo anti-HER2. Pacientes de tumores que inicialmente responderam a prévia terapia com um anticorpo anti-HER2, preferivelmente trastuzumabe, mas nos quais a resposta terapêutica não foi mantida são referidos como "recorrentes".

Resposta terapêutica (RE) é estabelecida baseada no julgamento médico de um profissional verificado pelos resultados a partir de dados clínicos e de laboratório que são geralmente conhecidos na técnica para avaliar tratamento de paciente. Tais dados podem ser obtidos, por exemplo, a partir de exame clínico, técnicas citológicas e histológicas, endoscopia e laparoscopia, ultrassom, explorações CT e MRI, raios x de tórax e mamografia, e medição de concentração de marcadores de tumor. Como CEA, Cyfra, CA15-3, interleucina 8 e HER2 solúvel. Preferivelmente critérios RECIST podem ser usados para determinar resposta de tumor (RE). (Therasse et al., J. Nat. Cancer Institute. 92 (2000) 205-216).

De acordo com estes critérios RECIST resposta de tumor para tumores sólidos (Therasse, et al., J. Nat. Cancer Institute. 92 (2000) 205-216) é colocada em categorias dependendo da progressão ou regressão de volume dos tumores (por exemplo, medido via CT) em quatro níveis: resposta completa (CR) ou resposta parcial (PR), doença estável (SD) e doença progressiva (PD) (vide Tabela 1). Além disso a European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) propôs uma categorização em

- quatro níveis em dependência do metabolismo dos tumores medidos via tomografia de emissão de positron 2-[¹⁸F]-flúor-2-desoxiglicose (FDG-PET) (Young H., et al., Eur J Canc 35 (1999) 1773-1782 e Kellof, G. J., et al., Clin Canc Res 11 (2005) 2785-2808); resposta metabólica completa (CMR) ou
- 5 resposta metabólica parcial (PMR), doença metabólica estável (SMD) e doença metabólica progressiva (PMD) (vide Tabela 2).

Tabela 1:critérios-CT (acc. RECIST) critérios

H., et al., 1773-1782)

Medição-CT: mudança em somas de diâmetros mais longos	RECIST
Desaparecimento: conformato em 4 semanas (após início de tratamento)	CR
30% diminuição: confirmado em 4 semanas	PR
Nem critérios PR nem PD satisfeitos	SD
20% aumento, nenhum CR, PR, SD documentado antes de doença aumentada	PD

Tabela 2: FDG-PET proposta (acc. Para EORTC, vide Young Eur J Canc 35 (1999))

Medição-PET	Crítérios FDG-PET propostos
Resolução completa de tomada de tumor de 2-[¹⁸ F]-flúor-2-desoxiglicose (FDG)	CMR
Redução de um mínimo de 15-25% de valor de tomada padronizado (SUV) após um ciclo de tratamento, e de >25% após mais de um ciclo de tratamento	PMR
Aumento de valor de tomada padronizado (SUV) <25% ou diminuição de SUV <15%. Nenhum aumento visível de extensão de tomada de tumor FDG (>20% de dimensão mais longa)	SMD
Aumento de SUV>25%. Aumento visível de tomada de tumor FDG (>20% de dimensão mais longa). Aparecimento de nova tomada FDG em lesões metastáticas	PMD

- Assim, "Resposta (RE)" e "Não-Resposta (NR)" de acordo com esta invenção são mais preferivelmente estabelecidas baseadas em dados adquiridos pela combinação de tomografia computadorizada (CT) e tomografia de emissão de positron 2-[¹⁸F]-flúor-2-desoxiglicose (FDG-PET) (Kellof, G.J., et al., Clin Canc Res 11 (2005) 1785-2808 e Young H., et al., Eur J Canc 35 (1999) 1773-82) usando ambos critérios RECIST e FDG-PET descritos acima. Da mesma maneira, Resposta (RE) e Não-Resposta (NR) de acordo com esta invenção são determinadas como se segue:
- 5 resposta (RE): CR ou PR é estabelecida via critérios CT-RECIST (Tabela 1) e ao mesmo tempo CMR ou PMR é estabelecida via FDG-PET (Tabela 2). Assim Resposta (RE) significa um dos seguintes quatro casos para medição de CT e PET combinada: CR e CMR, PR e PMR, CR e PMR, e PR e
- 10

CMR.

Não-Resposta (NR): SD ou PD é estabelecida via critérios CT-RECIST (Tabela 1) e ao mesmo tempo SMD ou PMD é estabelecida via FDG-PET (Tabela 2). Assim os seguintes quatro casos para medição de CT e PET combinadas significam não-resposta (NR): SD e SMD, SD e PMD, PD e SMD, e PD e PMD.

Usualmente a resposta é determinada ao redor de 3 a 8 semanas, preferivelmente ao redor de 6 semanas, após início de tratamento. Esta determinação de resposta é usualmente repetida em intervalos de 4 a 8 semanas, preferivelmente de 6 a 8 semanas. Quando na primeira determinação uma resposta (RE) significativa foi identificada, então uma recorrência (que significa uma não-resposta (NR) após a primeira determinação) pode ser determinada mais cedo na segunda determinação de resposta. O tratamento com o anticorpo anti-VEGF é iniciado mais cedo após a determinação de uma recorrência do câncer positivo HER2. Preferivelmente o tratamento com o anticorpo anti-VEGF de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente é iniciado mais cedo após 12 semanas, mais preferivelmente 15 semanas, e ainda mais preferivelmente após 18 semanas, a partir do ponto de tempo quando o tratamento com o dito anticorpo anti-HER2 foi iniciado. Em uma modalidade preferida, o câncer a ser tratado é um câncer positivo HER2 recorrente, preferivelmente câncer de mama positivo HER2 recorrente.

O termo "paciente, sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente" refere-se a um paciente, no qual Resposta (RE) é estabelecida após a primeira determinação de resposta, e no qual na segunda ou uma subsequente determinação de resposta **Não-Resposta (NR) é estabelecida.**

Como aqui usado, o termo "paciente" preferivelmente refere-se a um humano em necessidade de tratamento para câncer, ou uma condição ou lesão pré-cancerosa. Entretanto, o termo "paciente" também pode referir-se a animais não-humanos, preferivelmente mamíferos tais como cães, gatos, cavalos, vacas, porcos, cabra e primatas não-humanos, entre outros, que estejam em necessidade de tratamento.

O termo "grupo" refere-se a um grupo de pacientes assim como um subgrupo de pacientes.

A invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.

A invenção ainda compreende um anticorpo anti-VEGF para o tratamento de um paciente que sofre de câncer positivo HER2 recorrente, durante ou depois do tratamento com um anticorpo anti-HER2. O anticorpo anti-VEGF é, preferivelmente, bevasizumab, o qual é preferivelmente administrado depois de uma monoterapia de primeira linha com transtuzumab.

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente durante tratamento com um anticorpo anti-HER2. Isto refere-se ao uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente compreendendo coadministração do dito anticorpo anti-VEGF e o dito anticorpo anti-HER2 ao paciente após a recorrência do câncer positivo para HER2. Assim, preferivelmente o dito medicamento é administrado ao paciente durante tratamento com o dito anticorpo anti-HER2. Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para tratamento de um paciente, sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente, durante uma monoterapia de primeira linha com um anticorpo anti-HER2. Assim, preferivelmente o dito medicamento é administrado ao paciente durante uma monoterapia de primeira linha com o dito anticorpo anti-HER2.

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente após tratamento com um anticorpo anti-HER2. Isto refere-se ao uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para tratamento de

um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente compreendendo administração do dito anticorpo anti-VEGF sozinho para o paciente após a recorrência do câncer positivo para HER2. Assim, preferivelmente o dito medicamento é administrado ao paciente após tratamento com o dito anticorpo anti-HER2. Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para tratamento de um paciente, sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente, após uma monoterapia de primeira linha com um anticorpo anti-HER2. Assim, preferivelmente o dito medicamento é administrado ao paciente após uma monoterapia de primeira linha com o dito anticorpo anti-HER2.

Preferivelmente o dito anticorpo anti-VEGF se liga ao mesmo epitopo como bevacizumab.

Preferivelmente o dito anticorpo anti-VEGF é bevacizumab.

Preferivelmente o dito anticorpo anti-HER2 é trastuzumabe.

O termo "terapia de primeira linha" como aqui usado refere-se ao primeiro tipo de terapia de fármaco dada para o tratamento de câncer ou metástase. Esta pode ser uma quimioterapia ou imunoterapia adjuvante ou neoadjuvante oferecida inicialmente seguindo diagnóstico e/ou cirurgia. O termo "quimioterapia ou imunoterapia adjuvante" como aqui usado refere-se a um tratamento após cirurgia com a intenção de prevenir a recorrência de câncer, o termo "quimioterapia ou imunoterapia neoadjuvante" como aqui usado refere-se a um tratamento dado antes de cirurgia com a idéia de diminuir o tamanho de tumor. O termo "quimioterapia" como aqui usado refere-se a quimioterapia de câncer que é o uso de substâncias químicas ou bioquímicas, como fármacos citotóxicos como 5-flúor uracila, ou terapias direcionadas com anticorpos monoclonais como trastuzumabe, ou com inibidores de cinase como erlotinibe, para tratar câncer.

O termo "monoterapia de primeira linha" como aqui usado refere-se à terapia de primeira linha como definida acima com um composto químico simples ou substância bioquímica (em contraste ao termo "terapia de combinação de primeira linha" que refere-se a uma terapia de primeira linha com duas ou mais substâncias químicas ou bioquímicas).

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende coadministração do dito anticorpo anti-VEGF e o dito anticorpo anti-HER2 ao paciente.

5 O termo "processo para fabricação de um medicamento" refere-se à fabricação de um medicamento para uso na indicação como aqui especificada e em particular para uso no tratamento de tumores, metástases de tumores, ou câncer em geral.

10 A invenção ainda compreende um processo de tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2 compreendendo administração ao paciente de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-VEGF.

15 Em uma modalidade preferida, a invenção compreende um processo de tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente durante tratamento com um anticorpo anti-HER2 compreendendo coadministração ao paciente de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-VEGF e o dito anticorpo anti-HER2 após a recorrência do câncer positivo HER2.

20 Em uma modalidade preferida, a invenção compreende um processo de tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo HER2 recorrente após tratamento com um anticorpo anti-HER2 compreendendo administração ao paciente de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-VEGF sozinho após a recorrência do câncer positivo HER2.

25 O termo "tratando" como aqui usado, a menos que de outro modo indicado, significa revertendo, aliviando, inibindo o progresso de, ou prevenindo, tanto parcialmente como completamente, o crescimento de tumores, metástases de tumores, ou outras células causando câncer ou neoplásicas em um paciente. O termo "tratamento" como aqui usado, a menos que de outro modo indicado, refere-se ao ato de tratamento.

30 A frase "um processo de tratamento" ou seu equivalente, quando aplicado a, por exemplo, câncer refere-se a um procedimento de curso de ação que é desenhado para reduzir ou eliminar o número de células de cân-

cer em um paciente, ou para aliviar os sintomas de um câncer. "Um processo de tratamento" de câncer ou um outro distúrbio proliferativo não significa necessariamente que as células de câncer ou outro distúrbio, de fato, serão eliminadas, que o número de células ou distúrbio será, de fato, reduzido, ou
5 que os sintomas de um câncer ou outro distúrbio serão, de fato, aliviados. Frequentemente, um processo de tratamento de câncer será realizado mesmo com uma baixa probabilidade de sucesso, mas que, dada a história médica e expectativa de sobrevivência estimada de um paciente, é não obstante julgado um curso de ação benéfico total.

10 É auto-evidente que os anticorpos são administrados ao paciente em quantidade terapeuticamente eficaz que é a quantidade do composto objeto ou combinação que elicitará a resposta biológica ou médica de um tecido, sistema, animal ou humano que está sendo buscada pelo pesquisador, veterinário ou médico ou outro clínico.

15 A quantidade de administração de anticorpo anti-VEGF ou de coadministração de anticorpo anti-VEEGF e anti-HER2 e a cronometragem de administração dependerão do tipo (espécie, gênero, idade, peso, etc.) e condição do paciente sendo tratado e a severidade da doença ou condição sendo tratada. Usualmente dosagens típicas de anticorpo anti-VEGF e anti-
20 HER2 como bevacizumab e trastuzumabe são usadas. Por exemplo, as dosagens para administração dos anticorpos de acordo com a invenção podem ser de cerca de 1 µg/kg a 50 mg/kg (por exemplo, 0,1-20 mg/kg) de anticorpo por uma ou mais administrações separadas, ou através de infusão contínua. Uma dosagem diária típica pode variar de cerca de 1µg/kg a cerca de
25 100 mg/kg. Em um aspecto preferido, os anticorpos são administrados cada duas a três semanas, em uma dose variando de cerca de 1 mg/kg a cerca de 15 mg/kg. Uma dose preferidapara trastuzumabe é uma dose de carga de 4 mg/kg administrada como infusão contínua e subseqüentes infusões de 3 semanas de 2 mg/kg a 6 mg/kg, preferivelmente 2 mg/kg, administradas co-
30 mo infusão contínua até progressão de doença ser detectada. Uma dose preferida para bevacizumab é de 5 mg/kg a 15 mg/kg, preferivelmente 5 mg/kg a 10 mg/kg, e mais preferido 5 mg/kg, uma vez cada 14 dias como

uma infusão IV.

O termo "durante tratamento com um anticorpo anti-HER2" refere-se à coadministração ou "Coadministrando" o anticorpo anti-VEGF que é administrado adicionalmente ao anticorpo anti-HER2. A "coadministração" significa que o anticorpo anti-VEGF é administrado adicionalmente ao anticorpo anti-HER2 tanto simultaneamente como sequencialmente. A coadministração pode ser simultânea ou sequencial em qualquer ordem, onde preferivelmente existe um período de tempo enquanto ambos (ou todos) agentes ativos exercem simultaneamente suas atividades biológicas. Quando ambos anticorpos são administrados simultaneamente a dose é administrada no mesmo dia em uma administração, por exemplo, durante uma infusão contínua. Quando ambos anticorpos são administrados sequencialmente a dose é administrada tanto no mesmo dia em duas administrações separadas, por exemplo, duas infusões contínuas separadas, ou um dos anticorpos é administrado no dia 1 e o segundo anticorpo é administrado no dia 2 a dia 7, preferivelmente no dia 2 a 4. Os termos "coadministração" ou "coadministrando" com relação às doses de manutenção do anticorpo anti-VEGF e o anticorpo anti-HER2 significam que as doses de manutenção podem ser tanto administradas simultaneamente, por exemplo, durante uma infusão contínua, se o ciclo de tratamento é apropriado para ambos anticorpos, ou as doses de manutenção são administradas sequencialmente, tanto dentro de um ou vários dias, por exemplo, a dose de manutenção do anticorpo anti-HER2 é administrada cada 3 semanas, e a dose de manutenção do anticorpo anti-VEGF é administrada cada 2 semanas. Também outros ciclos de tratamento/usualmente de 1 a 4 semanas, preferivelmente de 2 a 3 semanas, também podem ser usados para ambos anticorpos.

O termo "após tratamento com um anticorpo anti-HER2" refere-se à administração do anticorpo anti-VEGF que é administrado após interrupção de tratamento com o anticorpo anti-HER2.

Uma modalidade adicional é um anticorpo anti-VEGF para prevenção ou redução de metástase HER2 recorrente, durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2. O anticorpo anti-VEGF é preferivelmen-

te bevacizumab que é preferivelmente administrado após uma monoterapia de primeira linha com trastuzumab.

Em uma modalidade preferida, o medicamento é útil para reduzir metástase em um tal paciente, aumento de duração de sobrevivência de um tal paciente, aumento de progressão de sobrevivência livre de um tal paciente, aumento de duração de resposta, resultando em um aperfeiçoamento estatística e clinicamente *significante* do paciente tratado como medido pela duração de sobrevivência, progressão de sobrevivência livre, taxa de resposta ou duração de resposta. Em uma modalidade preferida, o medicamento é útil para aumento de taxa de resposta em um grupo de pacientes.

Em uma modalidade preferida, o medicamento é útil para redução de metástase em um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente durante tratamento com um anticorpo anti-HER2 através de co-administração do dito anticorpo anti-VEGF, preferivelmente bevacizumab, e o dito anticorpo anti-HER2, preferivelmente trastuzumabe, ao paciente.

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para prevenção ou redução de metástase em um paciente, sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente, durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para prevenção ou redução de metástase em um paciente, sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente, durante tratamento com um anticorpo anti-HER2.

Assim, preferivelmente o dito medicamento é administrado durante tratamento com o dito anticorpo anti-HER2.

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para prevenção ou redução de metástase em um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente, durante uma monoterapia de primeira linha com um anticorpo anti-HER2.

Assim, preferivelmente o dito medicamento é administrado du-

rante uma monoterapia de primeira linha com o dito anticorpo anti-HER2.

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para prevenção ou redução de metástase em um paciente, sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente, após tratamento com um anticorpo anti-HER2.

Assim, preferivelmente o dito medicamento é administrado após tratamento com o dito anticorpo anti-HER2.

Em uma modalidade preferida, a invenção compreende o uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para prevenção ou redução de metástase em um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente, após uma monoterapia de primeira linha com um anticorpo anti-HER2.

Assim, preferivelmente o dito medicamento é administrado após uma monoterapia de primeira linha com o dito anticorpo anti-HER2.

O termo "metástase" de acordo com a invenção refere-se à transmissão de células cancerosas do tumor primário para um ou mais sítios em qualquer lugar em um paciente. Meios para determinar se um câncer sofreu metástase são conhecidos na técnica e incluem exploração de osso, raios x de tórax, exploração CAT, exploração MRI, e testes de marcadores de tumor.

Os termos "medicamento para prevenção de metástase" ou "medicamento para redução de metástase" como aqui usados referem-se ao uso do medicamento como um agente profilático contra metástase em paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente desta maneira inibindo ou reduzindo ainda uma transmissão de células cancerosas do tumor primário para um ou mais sítios em qualquer lugar em um paciente. Isto significa que a metástase do tumor ou câncer primário, metastático, é prevenida, retardada, ou inibida. Preferivelmente a metástase do fígado é prevenida ou reduzida, o que significa que transmissão metastática de células cancerosas de tumor primário para o fígado é prevenida ou reduzida.

No contexto desta invenção, outros agentes ou compostos citotóxicos, quimioterapêuticos ou anticâncer, adicionais, que aperfeiçoam os

efeitos de tais agentes podem ser usados no tratamento em combinação de anticorpo anti-VEGF mais anticorpo anti-HER2 ou no tratamento com anticorpo anti-VEGF após falha de terapia anterior, preferivelmente uma anterior monoterapia de primeira linha, com um anticorpo anti-HER2 (isto é, em um

5 paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente após tratamento com monoterapia de primeira linha com trastuzumabe). Preferivelmente, o tratamento de combinação com anticorpo anti-VEGF mais anticorpo anti-HER2 ou o tratamento com anticorpo anti-VEGF é usado sem tais agentes ou compostos citotóxicos, quimioterapêuticos ou anticâncer adicionais que

10 aperfeiçoam os efeitos de tais agentes.

Tais agentes incluem, por exemplo: agentes alquilantes ou agentes com uma ação alquilante, como ciclofosfamida (CTX; por exemplo, cytoxan®), clorambucil (CHL; por exemplo, leukeran®), cisplatina (CisP; por exemplo, platinol®), busulfan (por exemplo, myleran®), melfalan, carmustina

15 (BCNU), streptozotocina, trietilenomelamina (TEM), mitomicina C, e similares; antimetabolitos, como metotrexato (MTX), etoposida (VP16; por exemplo, vepesid®), 6-mercaptopurina (6MP), 6-tioguanina (6TG), citarabina (Ara-C), 5-fluorouracila (5-FU), capecitabina (por exemplo, Xeloda®), dacarbazina (DTIC), e similares; antibióticos tais como actinomicina D, doxorubicina (DXR; por exemplo, adriamycin®), daunorrubicina (daunomicina), bleomicina, mitramicina e similares; alcalóides, como vinca alcalóides como vincristina (VCR), vinblastina, e similares; e outros agentes antitumor, como paclitaxel (por exemplo, taxol®) e derivados de paclitaxel, os agentes citostáticos, glicocorticóides como dexametasona (DEX; por exemplo, dca-

20 dron®) e corticosteróides como prednisona, inibidores de enzima nucleosídeo como hidroxiuréia, enzimas de esgotamento de aminoácido como asparaginase, leucovorina e outros derivados de ácido fólico, e agentes antitumor similares, diversos. Os agentes que se seguem também podem ser usados como agentes adicionais: arnifostina (por exemplo, ethylol®), dactinomicina,

30 mecloretamina (mostarda nitrogênio), estreptozocina, ciclofosfamida, lomustina (CCNU), doxorubicina lipo (por exemplo, doxil), gemcitabina (por exemplo, gemzar®), daunorrubicina lipo (por exemplo, daunoxome®), procarbazi-

na, mitomicina, docetaxel (por exemplo, taxotere®), aldesleucina, carboplatina, oxaliplatina, cladribina, camptotecina, CPT 11 (irinotecano), 10-hidroxi 7-etil-camptotecina (SN38), floxuridina, fludarabina, ifosfamida, idarubicina, mesna, interferon beta, interferon alfa, mitoxantrona, topotecano, leuprolida, megestrol, melfalan, mercapto purina, plicamicina, mitotano, pegaspargase, pentostatina, pipobromano, plicamicina, tamoxifeno, teniposido, testolactona, tioguanina, tiotepa, mostarda uracila, vinorelbina, clorambucil. Preferivelmente o tratamento em combinação com anticorpo anti-VEGF mais anticorpo HER2 ou o tratamento com anticorpo anti-VEGF é usado sem tais agentes adicionais.

No contexto desta invenção, um agente anti-hormonal pode ser usado no tratamento em combinação de anticorpo anti-VEGF mais anticorpo anti-HER2 ou no tratamento com anticorpo anti-VEGF após falha de uma terapia anterior, preferivelmente uma anterior monoterapia de primeira linha, com um anticorpo anti-HER2 (isto é, em um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente). Como aqui usado, o termo "agente anti-hormonal" inclui compostos peptídicos ou orgânicos naturais ou sintéticos que atuam para regular ou inibir ação de hormônio sobre tumores. Agentes anti-hormonais incluem, por exemplo, antagonistas de receptor de esteróide, antiestrogênios como tamoxifeno, raloxifeno, 4(5)-imidazóis inibindo aromatase, outros inibidores de aromatase, 42-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, ceoxifeno, LY 117018, onapristona e toremifeno (por exemplo, Fareston®); anti-androgênios como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, e goserelina; e sais, ácidos ou derivados farmaceuticamente aceitáveis de qualquer um dos acima; agonistas e/ou antagonistas de hormônios glicoproteína tal como hormônio de estimulação de folículo (FSH), hormônio de estimulação de tireóide (TSH), e hormônio luteinizante (LH) e LHRH (hormônio de liberação – hormônio luteinizante); o acetato de goserelina agonista de LHRH, comercialmente disponível como Zoladex® (AstraZeneca); o antagonista de LHRH N-acetil-3-(2-naftalenil)-D-alanil-4-cloro-D-fenilalanil-3-(3-piridinil)-D-alanil-L-seril-N6-(3-piridinilcarbonil)-L-lisil-N6-(3-piridinilcarbonil)-D-lisil-L-leucil-N6-(1-metiletil)-L-lisil-L-prolina D-alaninamida (por exemplo, Antide®,

Ares-Serono); o antagonista de LHRH acetato de ganirelix; os antiandrogênicos esteroidais acetato de ciproterona (CPA) e acetato de megestrol, comercialmente disponível como Megace® (Bristol-Myers Oncology); o antiandrogênio não-esteroidal flutamida (2-metil-N-[4,20-nitro-3-(trifluorometil) fenil propanamida), comercialmente disponível como Eulexin® (Schering Corp.); o anti-androgênio não-esteroidal nilutamida, (5,5-dimetil-3-[4-nitro-3-(trifluormetil-4'-nitro fenil)-4,4-dimetil-imidazolidina-diona); e antagonistas para outros receptores não-permissivos, tais como antagonistas para RAR (receptor de ácido retinóico), RXR (receptor de retinóide X), TR (receptor de tiróide), VDR (receptor de vitamina D), e similares. Preferivelmente, o tratamento em combinação de anticorpo anti-VEGF mais anticorpo anti-HER2 ou o tratamento com anticorpo anti-VEGF é usado sem al agente anti-hormonal adicional.

O uso dos agentes citotóxicos e outros anticâncer descrito acima em regimes de quimioterapia é geralmente bem caracterizado nas técnicas de terapia de câncer, e seu uso aqui cai sob as mesmas considerações para monitoração de tolerância e eficácia e para controle de vaís e dosagens de administração, com alguns ajustes. Por exemplo, as reais dosagens dos agentes citotóxicos podem variar dependendo da resposta de célula cultivada do paciente determinada através do uso de métodos de histocultura. Geralmente, a dosagem será reduzida comparada à quantidade usada na ausência de outros agentes adicionais.

Típicas dosagens de um agente citotóxico efetivo podem estar nas faixas recomendadas pelo fabricante, e onde indicado por respostas in vitro ou respostas em modelos animais, podem ser reduzidas por até cerca de uma ordem de magnitude de concentração ou quantidade. Assim, a real dosagem dependerá do julgamento do médico, a condição do paciente, e a eficácia do método terapêutico baseado na capacidade de resposta in vitro das células malignas cultivadas primárias ou amostra de tecido histocultivado, ou as respostas observadas nos apropriados modelos animais.

No contexto desta invenção, adicionais agentes antiproliferativos podem ser usados no tratamento em combinação com anticorpo anti-VEGF

mais anticorpo anti-HER2 ou no tratamento com anticorpo anti-VEGF após falha de uma terapia anterior, preferivelmente uma anterior monoterapia de primeira linha, com um anticorpo anti-HER2, incluindo, por exemplo: inibidores da enzima proteína farnesil transferase e inibidores do receptor de tirosina cinase PDGFR, incluindo os compostos mostrados e reivindicados em patentes U.S. nºs 6.080.769, 6.194.438, 6.258.824, 6.586.447, 6.071.935, 6.495.564, 6.150.377, 6.596.735 e 6.479.513. e Publicação de patente internacional WO 01/40217. Preferivelmente o tratamento em combinação com anticorpo anti-VEGF mais anticorpo anti-HER2 ou o tratamento com anticorpo anti-VEGF é usado sem tais agentes antiproliferativos adicionais.

No contexto desta invenção, uma quantidade eficaz de radiação ionizante pode ser realizada e/ou um radiofarmacêutico pode ser usado em adição ao tratamento de combinação com anticorpo anti-VEGF mais anticorpo anti-HER2 ou no tratamento com anticorpo anti-VEGF após falha de uma terapia anterior, preferivelmente uma anterior monoterapia de primeira linha, com um anticorpo anti-HER2 (isto é, em um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente). A fonte de radiação pode ser externa ou interna para o paciente sendo tratado. Quando a fonte é externa ao paciente, a terapia é conhecida como terapia de radiação de feixe externo (EBRT). Quando a fonte de radiação é interna para o paciente, o tratamento é chamado braquiterapia (BT). Átomos radioativos para uso no contexto desta invenção podem ser selecionados do grupo incluindo, mas não limitado a, rádio, cézio-137, irídio-192, amerício-241, ouro-198, cobalto-57, cobre-67, tecnécio-99, iodo-123, iodo-131, e índio-111. Onde o inibidor de EGFR cinase de acordo com esta invenção é um anticorpo, também é possível marcar o anticorpo com tais isótopos radioativos. Preferivelmente o tratamento em combinação com anticorpo anti-VEGF mais anticorpo anti-HER2 ou o tratamento com anticorpo anti-VEGF é usado sem tal radiação ionizante.

Terapia de radiação é um tratamento padrão para controle de tumores não-resssecáveis ou inoperáveis e/ou metástases de tumor. Resultados aperfeiçoados foram vistos quando terapia de radiação foi combinada com quimioterapia. Terapia de radiação é baseada no princípio de que alta

dose de radiação liberada para uma área-alvo resultará em morte de células reprodutivas em ambos os tecidos, de tumor e normais. O regime de dosagem de radiação é geralmente definido em termos de dose absorvida de radiação (Gy), tempo e fracionamento, e tem de ser cuidadosamente definido pelo oncologista. A quantidade de radiação que um paciente recebe dependerá de várias considerações, mas as duas mais importantes são a localização do tumor em relação a outras estruturas críticas ou órgãos do corpo, e a extensão na qual o tumor foi disseminado. Um típico curso de tratamento para um paciente sofrendo terapia de radiação será um esquema de tratamento sobre um período de 1 a 6 semanas, com uma dose total de entre 10 e 80 Gy administrada ao paciente em uma fração diária simples de cerca de 1,8 a 2,0 Gy, 5 dias por semana. Em uma modalidade preferida desta invenção há sinergia quando tumores em pacientes humanos são tratados com o tratamento em combinação da invenção e radiação. Em outras palavras, a inibição de crescimento de tumor por meio dos agentes compreendendo a combinação ou terapia simples da invenção é aperfeiçoada quando combinada com radiação, opcionalmente com adicionais agentes quimioterapêuticos ou anticâncer.

Parâmetros de terapias de radiação adjuvantes são, por exemplo, contidos na publicação de patente internacional WO 99/60023.

Os anticorpos são administrados a um paciente de acordo com métodos conhecidos, através de administração intravenosa como uma quantidade relativamente grande ou através de infusão contínua sobre um período de tempo, através de vias intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, subcutânea, intra-articular, intrasinovial, ou intratecal. Administração intravenosa ou subcutânea dos anticorpos é preferida.

A presente invenção ainda provê um artigo de fabricação compreendendo um recipiente, uma composição dentro do recipiente compreendendo um anticorpo anti-VEGF e uma inserção de embalagem instruindo o usuário da composição a administrar o dito anticorpo anti-VEGF a um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.

O termo "inserção de embalagem" refere-se a instruções usuais incluídas em embalagens comerciais de produtos terapêuticos, que podem incluir informação sobre as indicações, utilização, dosagem, administração, contraindicações e/ou avisos com relação ao uso de tais produtos terapêuticos.

Em uma modalidade preferida, os recipientes de artigo de fabricação ainda podem incluir um veículo farmacêuticamente aceitável. O artigo de fabricação ainda pode incluir um diluente estéril, que é preferivelmente estocado em um adicional recipiente separado.

Como aqui usado, um "veículo farmacêuticamente aceitável" é pretendido incluir qualquer e todo material compatível com administração farmacêutica incluindo solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacterianos e antifungos, agentes isotônicos e de retardo de absorção, e outros materiais e compostos compatíveis com administração farmacêutica. Exceto tanto quanto quaisquer meios ou agentes convencionais sejam incompatíveis com o composto ativo, seu uso nas composições da invenção é contemplado. Compostos ativos suplementares também podem ser incorporados nas composições.

Os seguintes exemplos e figuras são providos para auxiliarem o entendimento da presente invenção, o verdadeiro escopo da qual é mostrado nas reivindicações apostas. É entendido que modificações podem ser feitas nos procedimentos mostrados sem se fugir do espírito da invenção.

Descrição das Figuras

Figura 1 Atividade antitumor de a) tratamento combinado de trastuzumabe e bevacizumab e b) tratamento com bevacizumab sozinho sobre crescimento de tumor após falha de tratamento com trastuzumabe. Valores médios de volume de tumor (mm^3) plotados sobre o eixo-y; número de dias após injeção de células de tumor plotado sobre o eixo x. A) Veículo (círculos), B) trastuzumabe em dose de carga de 30 mg/kg e dose de manutenção de 15 mg/kg uma vez por semana (quadrados). No dia 60 os animais de grupo B foram divididos em ainda três grupos B'(quadrados após dia 60), C e D. O tratamento com trastuzumabe sozinho foi mantido somente para Grupo B'

com uma dose semanal de 15 mg/kg (dose de manutenção). C) a partir de dia 61 dose de manutenção de trastuzumabe de 15 mg/kg uma vez por semana em combinação com uma dose de tratamento de bevacizumab adicional em 5 mg/kg duas vezes por semana (triângulos) e D) a partir de dia 61 bevacizumab em 5 mg/kg duas vezes por semana quando tratamento com trastuzumabe é interrompido (cruzes). Pontos de tempo quando um camundongo (*) ou mais camundongos (***) foram sacrificados baseado em critérios de término são indicados por um ou mais asteriscos (*).

Figura 2 Efeito de (A) grupo veículo – nenhum tratamento, (B) tratamento com trastuzumabe sozinho (até dia 83), (C) (tratamento combinado com trastuzumabe e bevacizumab (dia 61 – dia 112) após tratamento com trastuzumabe sozinho (dia 27 – dia 60) e (D) tratamento com bevacizumab sozinho (dia 61 – dia 112) após tratamento com trastuzumabe sozinho (dia 27 – dia 60) sobre metástase de fígado. Valor médio de sequência DNA Alu humano (pg/mL) quantificado a partir de tecido de fígado usando PCR de tempo – real e plotado sobre o eixo-y.

Procedimentos Experimentais

Introdução

O corrente estudo examinou a atividade antitumor de a) a combinação de trastuzumabe e bevacizumab e b) o tratamento com bevacizumab sozinho, após a falha de tratamento com trastuzumabe sozinho em modelo de xenoenxerto de mama humano. Ainda alvos do estudo foram examinar os efeitos de tratamento sobre metástase.

Agentes de Testes

Trastuzumabe foi provido como uma solução estoque de 25 mg/mL em Histidina-HCl, alfa-alfa trealose a (60 mM), Polysorb 0,01%, pH 6,0 (Herceptin®). Bevacizumab foi provido como uma solução estoque de 25 mg/mL em fosfato de Na, alfa – alfa trealose a (60 mM), Polysorb a 0,01%, pH 6,0 (Avastin®). Ambas as soluções foram diluídas apropriadamente em PBS para injeções.

Linhagem células e condições de cultura

A linha de célula de câncer de mama humano KPL-4 foi estabe-

lecida a partir de efusão pleural maligna de um paciente de câncer de mama com uma metástase de pele inflamatória e superexpressa receptores de família ErbB. (Kurebayashi et al., Br. J. Cancer 79 (1999) 707-17). Células de tumor são rotineiramente cultivadas em meio DMEM (PAA Laboratories, 5 Áustria) suplementado com soro bovino fetal a 10% (PAA) e L-glutamina a 2 mM (Gibco) a 37°C em uma atmosfera saturada com água em 5% de CO₂. Passagem de cultura é realizada com tripsina/EDTA 1x (PAA) dividindo duas vezes/semana. Passagem de célula P6 foi usada para estudo in vivo.

Animais

10 Camundongos (C.B.-17) bege SCID; idade 10-12 semanas; peso de corpo 18-20g (Charles River, Sulzfeld, Germany) são mantidos sob condição específica isenta de patógeno com ciclos diários de 12 horas de luz/12 horas de escuridão de acordo com diretrizes internacionais (GV-Solas; Felasa; TierschG). Após chegada, animais são alojados na parte de 15 quarentena da instalação animal por uma semana para acostumarem-se ao novo ambiente e para observação. Monitoração contínua de saúde é realizada em base regular. Alimento de dieta (Alltromin) e água (acidulada pH 2,5-3) são providos ad libitum.

Estudos de inibição de crescimento de tumor in vivo

20 Células de tumor foram colhidas (tripsina-EDTA) de frascos de cultura (Greiner TriFlask) e transferidas em 50 mL de meio de cultura, lavadas uma vez e novamente suspensas em PBS. Após uma adicional etapa de lavagem com PBS e filtração (cell strainer; Falcon 100 µm) o título final de célula foi ajustado para $0,75 \times 10^8$ /mL. Suspensão de célula de tumor foi cuidadosamente misturada com pipeta de transferência para evitar agregação 25 de células. Anestesia foi realizada usando uma unidade de inalação Stephens para animais pequenos com câmara de pré-incubação (plexiglas), máscara de nariz de camundongo individual (silício) e Isoflurane (Pharmacia-Upjohn, Germany) em um sistema de circulação fechado. Dois dias antes de 30 injeção a pele dos animais foi raspada. Para injeção de almofada gorda intramamária (i.m.f.p.), células foram injetadas ortotopicamente em um volume de 20 µL na almofada gorda mamária inguinal penúltima direita de cada ca-

mundongo anestesiado. Para a implantação ortotópica, a suspensão de células foi injetada através da pele sob o mamilo. Injeção de células de tumor corresponde a dia 1 do experimento.

Monitoramento

5 Animais foram controlados diariamente para detecção de sintomas clínicos de efeitos adversos. Para monitoração por todo o experimento, o peso de corpo dos animais foi documentado duas vezes por semana e o volume de tumor foi medido através de calibre duas vezes por semana. Volume de tumor primário foi calculado de acordo com protocolo NCI ($TV = 1/2ab^2$, onde a e b são diâmetros longo e curto de tamanho de tumor em
10 mm, Teicher, B., Anticancer drug development guide, Humana Press, 5, (1997) 92). Valores de cálculos foram documentados como média e desvio padrão.

Tratamento de Animais

15 Camundongos portando tumor foram randomizados quando o volume de tumor foi grosseiramente 100 mm^3 ($n = 10$ para cada grupo). Cada grupo foi emparelhado proximamente antes de tratamento, que começou 27 dias após injeção de células de tumor. Grupo A: grupo Veículo – recebeu 10 mL/kg de tampão PBS intraperitonealmente (i.p.) uma vez por semana.
20 Grupo B: Trastuzumabe foi administrado i.p. em uma dose de carga de 30 mg/kg, seguido por doses uma vez por semana de 15 mg/kg (dose de manutenção). No dia 60 os animais de Grupo B foram divididos em ainda três grupos B', C e D. O tratamento com trastuzumabe sozinho foi mantido somente para o Grupo B' com doses uma vez por semana de 15 mg/kg (dose de ma-
25 nutenção). Grupo C: No dia 61, tratamento para o Grupo C foi comutado para um tratamento em combinação de trastuzumabe (15 mg/kg uma vez por semana i.p.) e bevacizumab (5 mg/kg duas vezes por semana i.p.). Grupo D: No dia 61, tratamento para grupo D foi comutado para uma monoterapia com bevacizumab (5 mg/kg duas vezes por semana i.p.) enquanto tratamento
30 com trastuzumabe foi interrompido.

Avaliação de Metástase

Disseminação de células de tumor no pulmão foi determinada

- em animais sacrificados. Metástase foi medida de acordo com Schneider, T., et al., Clin. Exp. Metas. 19(2002) 571-582. Resumidamente, tecido de pulmão foi colhido e sequências Alu humanas foram quantificadas por PCR de tempo real. Maiores níveis de DNA humano, quantificados por PCR de tempo real, correspondem a maiores níveis de metástase.

Resultados

- O efeito de tratamento sobre crescimento de tumor primário é mostrado na Figura 1 e tabela 1. Tumores no grupo veículo (Grupo A) cresceram rapidamente e camundongos foram sacrificados 73 dias após injeção de células de tumor devido à ulceração de tumores e o desenvolvimento de sintomas clínicos. Tratamento com trastuzumabe (Grupo B) suprimiu significativamente crescimento de tumor; entretanto, tumores começaram a crescer novamente ao redor de dia 50. A mudança para tratamento de combinação com trastuzumabe e bevacizumab (Grupo C) assim como a comutação para monoterapia com bevacizumab (Grupo D) iniciando no dia 61, ambas resultaram em completa inibição de crescimento de tumor durante a duração do experimento (dia 112) e tratamento foi bem tolerado.

Tabela 1

- Atividade antitumor de a) trastuzumabe e bevacizumab combinados e b) tratamento com bevacizumab sozinho sobre crescimento de tumor após falha de tratamento com trastuzumabe (dados para figura 1). Volume médio de tumor em mm^3 é reportado e o desvio padrão (SD).

Dia	Veículo (A)	SD	Trastuzumabe (B +B')	SD	Mudança de Trastuzumabe para Trastuzumabe + Bevacizumab (C)	SD	Mudança de Trastuzumabe para monoterapia com Bevacizumab(D)	SD
27	85	27	81	29				
29	115	42	106	36				
34	136	66	100	49				
37	193	108	97	70				
41	235	163	133	100				
44	335	220	139	128				
48	406	309	172	181				
51	591	463	201	203				
55	690	479	263	286				
58	565	333	315	383				
60	729	402	393	426				
63	911	391	493	531	407	263	427	365
65	898	313	585	582	350	210	306	220
70	1213	440	798	776	190	45	180	142
73	1015	330	961	841	149	44	154	112
77			861	418	146	45	129	78

Dia	Veículo (A)	SD	Trastuzumabe (B +B')	SD	Mudança de Trastuzumabe para Trastuzumabe + Bevacizumab (C)	SD	Mudança de Trastuzumabe para monoterapia com Bevacizumab(D)	SD
79			896	434	159	92	127	84
83			1034	485	158	148	97	80
87					193	228	95	57
91					159	166	100	82
94					225	292	120	106
98					242	340	112	95
101					154	160	120	108
105					119	109	92	85
108					175	157	104	105
112					122	68	110	103

O efeito de tratamento sobre metástase no fígado é mostrado na figura 2 e tabela 2. A combinação de trastuzumabe e bevacizumab após falha de tratamento com trastuzumabe resultou em uma aguda diminuição de metástase. Níveis de sequências Alu humanas (correlacionando a invasão de células de tumor em tecido secundário) são significativamente menores em animais tratados com uma terapia de combinação por 31 dias iniciando no dia 61 comparados a animais tratados com veículo que foram sacrificados no dia 73. Também metástase foi suprimida em animais tratados com monoterapia com trastuzumabe ou bevacizumab sacrificados no dia 83 ou 112, respectivamente. Este surpreendente efeito sobre metástase está em contraste com o efeito visto com fármacos citotóxico (Geldof et al., Anticancer Res. 8 (1988) 1335-40, Murphy, J., Clin. Oncol. 11 (1993) 199-201, e De Larco et al., Cancer Res. 61 (2001) 2857-61).

Tabela 2

Efeito de tratamento sobre metástase em fígado. ADN Alu foi quantificado por PCR de tempo real e é reportado para cada animal animal.

	Veículo (dia 73)	Trastuzumabe(B +B') (dia 83)	Bevacizumab (D) (dia 112)	Trastuzumabe + Beva- cizumab (C) (dia 112)
ADN huma- no [pg/ml]	41.750	21.000	12.250	7.155
	51.400	10.550	7.405	6.785
	54.500	26.600	45.600	15.500
	19.300	12.250	29.200	8.040
	6.545	37.900	7.640	8.305
	48.550	25.050	22.900	
			7.740	
Média	37.008	22.225	18.962	9.157

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para tratamento de um paciente, sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente, durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.
- 5 2. Uso de acordo com a reivindicação 1 caracterizado em que o dito medicamento é administrado ao paciente durante tratamento com um anticorpo anti-HER2.
3. Uso de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o dito medicamento é administrado durante uma monoterapia de primeira linha com um anticorpo anti-HER2.
- 10 4. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dito medicamento é administrado após tratamento com um anticorpo anti-HER2.
5. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dito medicamento é administrado após uma monoterapia de primeira linha com um anticorpo anti-HER2.
- 15 6. Uso de um anticorpo anti-VEGF para a fabricação de um medicamento para prevenção ou redução de metástase em um paciente, sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente, durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.
- 20 7. Uso de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o dito medicamento é administrado durante tratamento com um anticorpo anti-HER2.
8. Uso de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o dito medicamento é administrado durante uma monoterapia de primeira linha com um anticorpo anti-HER2.
- 25 9. Uso de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o dito medicamento é administrado após tratamento com um anticorpo anti-HER2.
10. Uso de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que o dito medicamento é administrado após uma monoterapia de primeira linha com um anticorpo anti-HER2.
- 30

11. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10,,
caracterizado pelo fato de que o dito anti-VEGF é bevacizumab.

12. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11,,
caracterizado pelo fato de que o dito anticorpo anti-HER2 é trastuzumabe.

5 13. Anticorpo anti-VEGF para tratamento de um paciente, so-
frendo de câncer positivo para HER2 recorrente, durante ou após tratamento
com um anticorpo anti-HER2.

10 14. Anticorpo anti-VEGF para prevenção ou redução de metás-
tase em um paciente, sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente,
durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2.

15 15. Anticorpo anti-VEGF de acordo com a reivindicação 13 ou
14, caracterizado pelo fato de que o referido anti-VEGF é bevacizumab o
qual é administrado após uma monoterapia de primeira linha com transtu-
zumab.

20 16. Artigo de fabricação caracterizado por compreender um reci-
piente, uma composição dentro do recipiente compreendendo um anticorpo
anti-VEGF e uma inserção de embalagem instruindo o usuário da composi-
ção a administrar o dito anticorpo anti-VEGF a um paciente sofrendo de cân-
cer positivo para HER2 recorrente durante ou após tratamento com um anti-
corpo anti-HER2.

FIG. 1

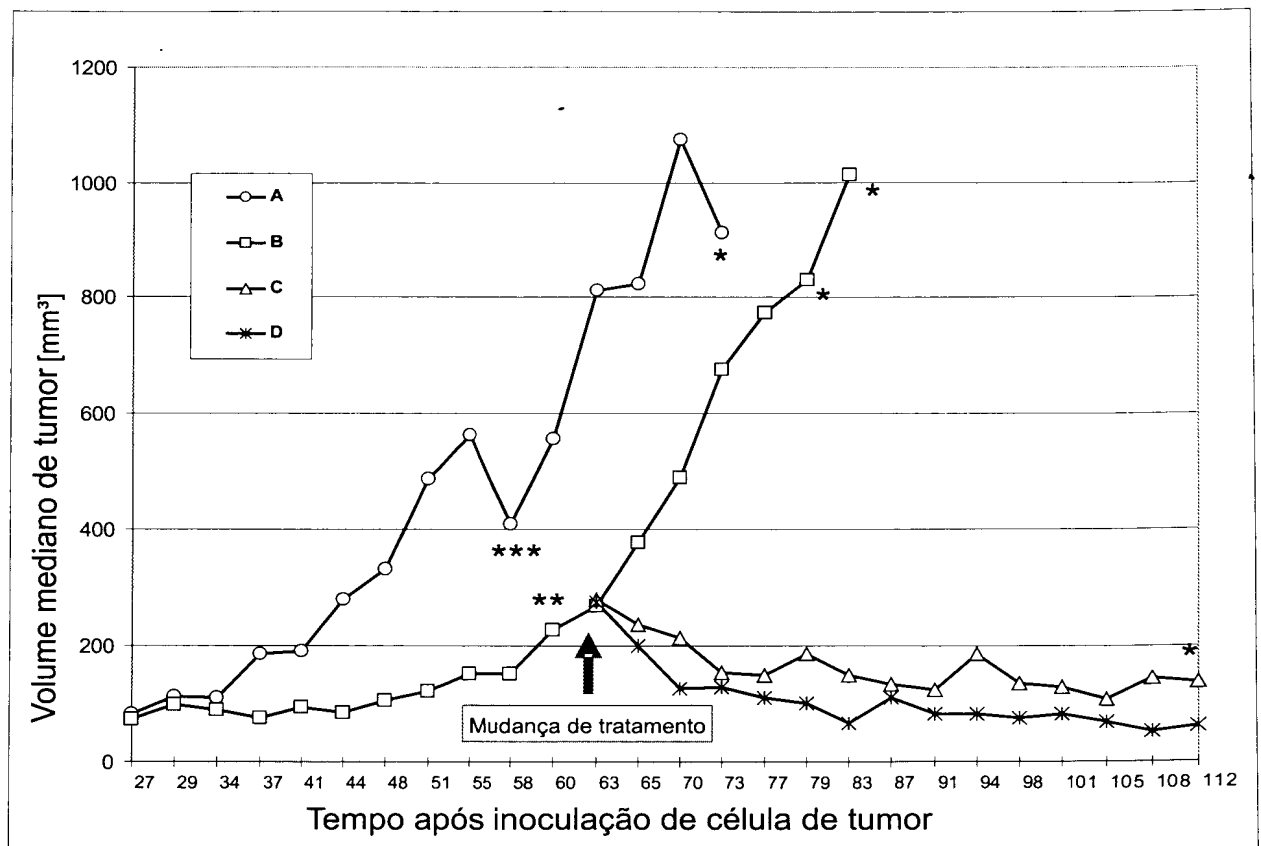
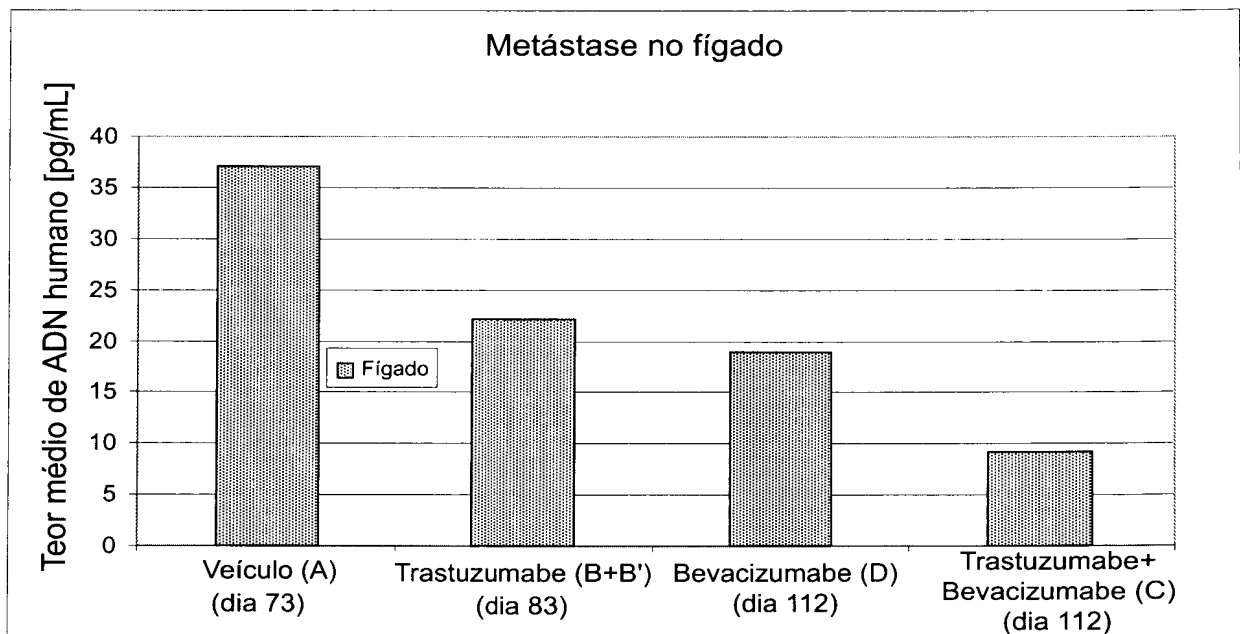


FIG. 2



RESUMO

Patente de Invenção: **"TERAPIA DE TUMOR COM UM ANTICORPO ANTI-VEGF"**.

5 A presente invenção provê um processo de tratamento de um paciente sofrendo de câncer positivo para HER2 recorrente com um anticorpo anti-VEGF durante ou após tratamento com um anticorpo anti-HER2. A invenção também refere-se a correspondentes artigos de fabricação.