

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 725 569**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/574** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.02.2013 PCT/US2013/025392**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.08.2013 WO13119990**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.02.2013 E 13746038 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2019 EP 2812702**

54 Título: **Diagnóstico y tratamiento de cánceres que expresan CD30**

30 Prioridad:

**10.02.2012 US 201261597547 P**

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

**24.09.2019**

73 Titular/es:

**SEATTLE GENETICS, INC. (100.0%)**

**21823 30th Drive, S.E**

**Bothell, WA 98021, US**

72 Inventor/es:

**ALBERTSON, TINA y**

**SMITH, MARIA, L**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**Observaciones:**

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

ES 2 725 569 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**

Diagnóstico y tratamiento de cánceres que expresan CD30

**Antecedentes**

5 CD30 es una glicoproteína de membrana de 120 kilodalton (Froese et al., 1987, J. Immunol. 139: 2081-87) y un miembro de la superfamilia de receptores de TNF. CD30 es un marcador comprobado de células malignas en el linfoma de Hodgkin y en el linfoma anaplásico de células grandes (ALCL). CD30 se identificó originalmente en células Hodgkin-Reed Steinberg (H-RS) cultivadas utilizando el anticuerpo monoclonal Ki-1 (Schwab et al., 1982, Nature 299: 65-67).

10 CD30 tiene una expresión limitada en los tejidos normales en humanos. Esto hace que CD30 sea un objetivo atractivo para las terapias contra el cáncer. La expresión de CD30 se ha identificado, sin embargo, solo en un pequeño número de cánceres. Además, para algunos cánceres, la notificación de la expresión de CD30 ha sido con anticuerpos que tienen reactividad cruzada no relacionada con CD30, como, por ejemplo, el anticuerpo NCL-L-CD30 de Novocastra, y no es fiable. Sería útil identificar los cánceres que expresan CD30 y que se pueden tratar con terapias dirigidas hacia CD30. La presente invención aborda esta y otras necesidades.

**Breve resumen**

15 La descripción proporciona, entre otros, métodos de diagnóstico, pronóstico, profilaxis y tratamiento y monitorización del tratamiento del cáncer ovárico (p. ej., carcinoma seroso ovárico), cáncer de piel (p. ej., melanoma y carcinoma de células escamosas de la piel), cáncer de mama (p. ej., cáncer de mama triple negativo), carcinoma de tiroides (p. ej., carcinoma anaplásico de tiroides), carcinoma pancreático (p. ej., carcinoma pancreático indiferenciado), cáncer de pulmón (p. ej., microcítico y de células escamosas), cáncer anal (p. ej., carcinoma anal de células escamosas), carcinoma de timo, carcinoma endometrial y carcinoma de origen primario desconocido. También se proporcionan métodos de diagnóstico, pronóstico, profilaxis y tratamiento y monitoreo de carcinomas genitourinarios de células escamosas, carcinosarcomas ginecológicos, carcinoma uretral de células escamosas, carcinosarcoma uterino, tumor de células de Sertoli, tumor de células de Leydig y adenocarcinoma pancreático.

25 En un aspecto, se proporciona un método para detectar la expresión de CD30 en una muestra de un paciente. La muestra puede ser, por ejemplo, de ovario, piel, endometrio, pulmón, mama, tiroides, páncreas, ano, timo u otro sitio tumoral (p. ej., sitio de tumor de cáncer ginecológico o sitio de tumor de cáncer genitourinario del paciente). La muestra puede ser una muestra de tejido. En un aspecto, el tejido se fija. En un aspecto, la muestra fijada de tejido se pone en contacto con un anticuerpo que se une específicamente a CD30, y se detecta la unión del anticuerpo a la muestra fijada de tejido para determinar si se expresa CD30 en la muestra. La expresión de CD30 en la muestra fijada de tejido indica que el paciente tiene un cáncer que expresa CD30. La muestra se puede fijar con formalina e incrustarse en parafina.

35 En otro aspecto, se proporciona un método para diagnosticar, pronosticar, determinar un protocolo de tratamiento o monitorear el tratamiento de un paciente que tiene cáncer. En un aspecto, el paciente tiene cáncer ovárico primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma seroso ovárico primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de piel primario o metastásico (p. ej., melanoma primario o metastásico y / o carcinoma de células escamosas de la piel). En otro aspecto, la paciente tiene cáncer de mama primario o metastásico (p. ej., cáncer de mama triple negativo primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de tiroides primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma anaplásico de tiroides primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer pancreático primario o metastásico (p. ej., carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de pulmón primario o metastásico (por ejemplo, cáncer de pulmón microcítico o de células escamosas primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer anal primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma escamoso anal primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de timo primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma de timo primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene carcinoma endometrial primario o metastásico. En otro aspecto, el paciente tiene carcinoma de origen primario desconocido. En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de uretra primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma uretral de células escamosas). En otro aspecto, el paciente tiene carcinosarcoma uterino primario o metastásico. El método incluye determinar la expresión de CD30 en células en una muestra de tumor tomada del paciente, en donde la presencia de expresión detectable de CD30 se usa en el diagnóstico, pronóstico, determinación de un protocolo de tratamiento o monitoreo del tratamiento del paciente. La muestra puede ser una muestra incrustada en parafina fijada con formalina. El método puede incluir además la administración de un régimen eficaz de una terapia dirigida hacia CD30 (p. ej., anticuerpo anti-CD30 o conjugado anticuerpo anti-CD30-fármaco) al paciente si la etapa de determinación indica un nivel detectable de CD30. En algunos aspectos, la presencia de expresión de CD30 a cierto nivel se utilizará como nivel de corte para determinar si un paciente puede beneficiarse del tratamiento con una terapia dirigida hacia CD30. Por ejemplo, en un aspecto, se utiliza un límite del 10% para clasificar a un paciente como un paciente que tiene una probabilidad de beneficiarse de la terapia dirigida hacia CD30. En consecuencia, en tales casos, si una muestra de tumor tomada del paciente tiene al menos un 10% de células tumorales positivas para CD30 (es decir, al menos el 10% de las células malignas y / o atípicas en la muestra son positivas para CD30), el paciente se clasifica como un paciente que tiene posibilidad de beneficiarse del tratamiento con la terapia dirigida hacia CD30. En algunos

casos, una muestra de tumor tomada del paciente tendrá al menos 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80% o 85% de células tumorales positivas para CD30 (es decir, al menos 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80% o 85% de las células malignas y / o atípicas en la muestra son positivas para CD30). Preferiblemente, al menos el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80% o 85% de las células tumorales de la muestra expresa CD30 cuando se usa un anticuerpo que se une específicamente al dominio extracelular de CD30 (por ejemplo, anticuerpo BerH2) como anticuerpo de detección.

En otro aspecto, se proporciona un método para identificar a un paciente que responderá al tratamiento con una terapia dirigida hacia CD30; se proporciona un método para identificar a un paciente que puede beneficiarse del tratamiento con una terapia dirigida hacia CD30; y / o se proporciona un método para predecir la respuesta del paciente a la terapia dirigida hacia CD30 en la que el paciente tiene cáncer de ovario, piel, mama, tiroides, páncreas, pulmón, ano, timo, endometrio o cáncer de origen primario desconocido. El cáncer puede ser un cáncer primario o un cáncer metastásico. Todos estos métodos incluyen un paso para determinar la expresión de CD30 en células en una muestra tumoral del paciente, en donde la presencia de la expresión detectable de CD30 se usa para identificar al paciente como un paciente que puede responder a la terapia dirigida hacia CD30. En algunos aspectos, los pacientes que tienen niveles más altos de expresión de CD30 se identifican como aquellos que tienen una mayor probabilidad de responder a la terapia dirigida hacia CD30. Por ejemplo, si una muestra de tumor tomada de un paciente tiene al menos 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, o 85% de células tumorales CD30+ positivas (es decir, al menos 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%), 80%, o 85% de las células malignas y / o atípicas en la muestra son CD30 positivas), se indica que el paciente tiene una mayor probabilidad de responder a la terapia dirigida hacia CD30. Preferiblemente, al menos el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80% o 85% de las células tumorales en la muestra expresa CD30 cuando se usa el anticuerpo BerH2 u otro anticuerpo que se une específicamente al dominio extracelular de CD30 como anticuerpo de detección. En un aspecto, se proporciona un método para detectar la expresión de CD30 en una muestra de tejido de un paciente. Según el tipo de cáncer, la muestra de tejido puede ser, por ejemplo, de ovario, piel, pulmón, mama, tiroides, páncreas, endometrio, ano, timo u otro sitio tumoral del paciente. En algunos casos, el tejido se fija. La muestra fijada de tejido se pone en contacto con un anticuerpo que se une específicamente a CD30, y se detecta la unión del anticuerpo a la muestra fijada de tejido para determinar si se expresa CD30 en la muestra. La expresión de CD30 en la muestra fijada de tejido indica que el paciente tiene un cáncer que expresa CD30. En algunos casos, la muestra se fija con formalina y se incrusta en parafina.

En otro aspecto, se proporciona un método para identificar a un paciente como elegible para la terapia dirigida hacia CD30. El método comprende determinar el nivel de expresión de CD30 en una muestra de tumor tomada del paciente. En un aspecto, la presencia de CD30 en la muestra de tumor es suficiente para indicar que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En un aspecto, cuando al menos el 10% de las células malignas o atípicas de la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En un aspecto, cuando al menos el 15% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 20% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 25% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 30% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 35% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 45% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 40% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica al paciente como elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 50% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 60% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica al paciente como elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 70% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica al paciente como elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 75% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 80% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. En otro aspecto, cuando al menos el 85% de las células malignas o atípicas en la muestra expresan CD30, se indica que el paciente es elegible para la terapia dirigida hacia CD30. El paciente puede tener cualquiera de cáncer ovárico primario o metastásico, cáncer de piel, cáncer de mama, cáncer de tiroides, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer anal, cáncer de timo, cáncer endometrial y carcinoma de origen primario desconocido. En algunos aspectos, el paciente puede tener cualquiera de un carcinoma genitourinario de células escamosas primario o metastásico o carcinosarcoma ginecológico. En un aspecto, el paciente tendrá un carcinoma uretral de células escamosas, carcinosarcoma uterino, tumor de células de Sertoli, tumor de células de Leydig o adenocarcinoma pancreático. Por ejemplo, en un aspecto, el paciente tiene cáncer ovárico primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma seroso ovárico primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de piel primario o metastásico (p. ej., melanoma primario o metastásico y carcinoma de células escamosas de la piel). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de mama primario o metastásico (p. ej., cáncer de mama triple negativo primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de tiroides primario o metastásico (por

- ejemplo, carcinoma anaplásico de tiroides primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer pancreático primario o metastásico (p. ej., carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de pulmón primario o metastásico (por ejemplo, cáncer de pulmón microcítico primario o metastásico o carcinoma de células escamosas primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer anal primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma escamoso anal primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de timo primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma de timo primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer endometrial primario o metastásico. En otro aspecto, el paciente tiene un carcinoma de origen primario desconocido. El método puede comprender además la etapa de tratar al paciente con una terapia dirigida hacia CD30.
- En otro aspecto, se proporciona un método para tratar un cáncer positivo para CD30. El método incluye administrar un régimen eficaz de una terapia dirigida hacia CD30 a un paciente con cáncer y que tiene una expresión detectable de CD30. En algunas realizaciones, la terapia dirigida hacia CD30 es un anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco. El anticuerpo puede tener función efectora. El paciente puede haberse sometido previamente a tratamiento mediante cirugía, radiación y / o quimioterapia con un agente que no se dirige a CD30 sin haber inducido la remisión del cáncer. El paciente puede haberse sometido previamente a un tratamiento mediante cirugía, radiación y / o quimioterapia, pero haber recaído desde entonces. El paciente puede haber sido diagnosticado recientemente de cáncer. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, humanizado o humano. En un aspecto, el paciente tiene cáncer ovárico primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma seroso ovárico primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de piel primario o metastásico (p. ej., melanoma primario o metastásico o carcinoma de células escamosas de la piel). En otro aspecto, la paciente tiene cáncer de mama primario o metastásico (p. ej., cáncer de mama triple negativo primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de tiroides primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma anaplásico de tiroides primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer pancreático primario o metastásico (p. ej., carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de pulmón primario o metastásico (por ejemplo, cáncer de pulmón microcítico o de células escamosas primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer anal primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma escamoso anal primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer de timo primario o metastásico (por ejemplo, carcinoma de timo primario o metastásico). En otro aspecto, el paciente tiene cáncer endometrial primario o metastásico. En otro aspecto, el paciente tiene un carcinoma de origen primario desconocido.
- El ensayo para determinar el nivel de expresión se puede realizar en un corte de tejido, y el nivel de expresión es el porcentaje de células malignas y / o atípicas en la sección de tejido que son positivas para CD30.

Los aspectos de la invención tal como se definen en las reivindicaciones adjuntas se entenderán mejor mediante referencia a la siguiente descripción detallada, junto con los dibujos, figuras y tablas adjuntas.

#### DEFINICIONES

- A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos y frases como se usan en este documento pretenden tener los siguientes significados.
- El término "anticuerpo" se refiere a (a) polipéptidos de inmunoglobulinas y porciones inmunológicamente activas de polipéptidos de inmunoglobulinas, es decir, polipéptidos de la familia de inmunoglobulinas, o fragmentos de los mismos, que contienen un sitio de unión al antígeno que se une inmuno-específicamente a un antígeno específico (por ejemplo, CD30), o (b) derivados sustituidos de manera conservativa de tales polipéptidos de inmunoglobulinas o fragmentos que se unen inmuno-específicamente al antígeno (por ejemplo, CD30). Los anticuerpos se describen generalmente, por ejemplo, en Harlow & Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988). A menos que sea evidente a partir del contexto, la referencia a un anticuerpo también incluye derivados de anticuerpos o conjugados con fármacos como se describe con más detalle a continuación.
- Un "derivado de anticuerpo" significa un anticuerpo, como se definió anteriormente, que se modifica por la unión covalente de una molécula heteróloga como, por ejemplo, mediante la unión de un polipéptido heterólogo, o mediante glicosilación, desglicosilación, acetilación o fosforilación normalmente no asociada al anticuerpo, y similares.
- El término "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo que deriva de un solo clon celular, que incluye cualquier clon de células eucariotas o procariotas, o un clon de fagos, y no el método por el cual se produce. Por lo tanto, el término "anticuerpo monoclonal" no se limita a los anticuerpos producidos a través de la tecnología de hibridomas.
- Un "antígeno" es una entidad a la que se une específicamente un anticuerpo.
- El término "inhibir" o "inhibición de" significa reducir en una cantidad medible, o prevenir por completo.
- El término "agente" significa un elemento, compuesto o entidad molecular, que incluye, por ejemplo, un compuesto farmacológico, terapéutico o farmacológico. Los agentes pueden ser naturales o sintéticos o una combinación de ellos. Un "agente terapéutico" es un agente que ejerce un efecto terapéutico (por ejemplo, beneficioso) sobre las células cancerosas, ya sea solo o en combinación con otro agente (por ejemplo, una enzima de conversión de profármaco en combinación con un profármaco). Típicamente, los agentes terapéuticos útiles de acuerdo con los métodos y

composiciones descritos en la presente memoria son aquellos que ejercen un efecto citotóxico.

Un "agente citotóxico" significa un agente que tiene un efecto citotóxico en una célula, agotando o inhibiendo así el crecimiento, respectivamente, de las células en una población celular.

5 El término "agotar", en el contexto del efecto de un anticuerpo CD30 en células que expresan CD30, se refiere a una reducción en el número, o la eliminación, de las células que expresan CD30.

10 Los términos "tratamiento" o "tratar" se refieren a ralentizar, detener o revertir la progresión de un cáncer que expresa CD30 en un paciente, como lo demuestra la disminución o eliminación de un síntoma clínico o diagnóstico de la enfermedad, mediante la administración de una terapia dirigida hacia CD30 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD30 o un conjugado de fármaco con anticuerpo) al sujeto después del inicio del síntoma clínico o de diagnóstico del cáncer que expresa CD30 en cualquier estadio clínico. El tratamiento puede incluir, por ejemplo, una disminución en la gravedad de un síntoma, la cantidad de síntomas o la frecuencia de la recaída.

El término "cáncer de mama triple negativo" se refiere al cáncer de mama que clínicamente da negativo para los receptores de estrógeno, los receptores de progesterona y la proteína HER2/neu.

15 El término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o listado en la Farmacopea de los EE. UU., u otra farmacopea generalmente reconocida para el uso en animales, y más particularmente en humanos. El término "ingrediente farmacéuticamente compatible" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable con el que se administra un anticuerpo hacia CD30.

20 El término "cantidad eficaz", en el contexto de la administración de un agente farmacéutico, se refiere a la cantidad del agente que es suficiente para inhibir la aparición o mejorar uno o más síntomas clínicos o diagnósticos de un cáncer que expresa CD30 en un paciente. Se administra una cantidad eficaz de un agente de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria en un "régimen eficaz". El término "régimen eficaz" se refiere a una combinación de la cantidad del agente y la frecuencia de dosificación adecuada para llevar a cabo el tratamiento de un cáncer que expresa CD30.

25 El término "paciente" incluye humanos y otros mamíferos que reciben tratamiento de diagnóstico, profiláctico o terapéutico.

30 Los agentes terapéuticos en general están sustancialmente puros de contaminantes no deseados. Esto significa que un agente tiene típicamente al menos aproximadamente un 50% p / p (peso / peso) de pureza, además de estar sustancialmente libre de proteínas y contaminantes que interfieren. A veces, los agentes tienen al menos aproximadamente un 80% p / p, y más preferiblemente al menos 90 o aproximadamente 95% p / p de pureza. Sin embargo, utilizando técnicas convencionales de purificación de proteínas, se pueden obtener péptidos homogéneos de al menos 99% p / p de pureza.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

### I. General

35 La invención proporciona un método para identificar a un paciente como elegible para la terapia dirigida hacia CD30, en el que el paciente tiene carcinoma seroso ovárico, melanoma o carcinoma de células escamosas de la piel, cáncer de mama triple negativo, carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón de células escamosas, carcinoma endometrial, carcinoma anal de células escamosas, carcinoma anaplásico de tiroides, carcinoma tímico, carcinoma de origen primario desconocido, carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcoma ginecológico, tumor de células de Leydig o tumor de células de Sertoli, que comprende determinar el nivel de expresión de CD30 en una muestra tomada del paciente e identificar al paciente como elegible para la terapia dirigida hacia CD30 basándose en la expresión de CD30 en la muestra.

45 La invención también proporciona un método para diagnosticar, pronosticar, determinar un protocolo de tratamiento o monitorear el tratamiento de un paciente con cáncer, en el que el cáncer es un carcinoma seroso ovárico, un melanoma o un carcinoma de células escamosas, un cáncer de mama triple negativo, un carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón de células escamosas, carcinoma endometrial, carcinoma anal de células escamosas, carcinoma anaplásico de tiroides, carcinoma tímico, carcinoma de origen primario desconocido, carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcoma ginecológico, tumor de células de Leydig o tumor de células de Sertoli, que comprende determinar la expresión de CD30 en las células de una muestra tumoral del paciente, en donde la presencia de expresión detectable de CD30 se usa en el diagnóstico, pronóstico, determinación de un protocolo de tratamiento o tratamiento de monitorización del paciente.

55 La invención proporciona además un anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra CD30 para su uso en el tratamiento del cáncer de un paciente identificado como elegible para la terapia con el anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco basándose en la expresión de CD30 por el cáncer, en el que el cáncer es un carcinoma seroso ovárico, melanoma o carcinoma de células escamosas de la piel, cáncer de mama triple negativo, carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón de células escamosas,

carcinoma endometrial, carcinoma anal de células escamosas, carcinoma anaplásico de tiroides, carcinoma tímico, carcinoma de origen primario desconocido, carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcoma ginecológico, tumor de células de Leydig o tumor de células de Sertoli.

5 Los métodos se basan en parte en los resultados presentados en los Ejemplos que muestran que CD30 se expresa en ciertos tipos de cáncer. La expresión se detectó en muestras incrustadas en parafina fijadas con formalina (FFPE) de tejidos cancerosos utilizando anticuerpos que se unen a CD30.

## II. Anticuerpos hacia CD30

10 Los anticuerpos hacia CD30 se pueden usar para la detección de CD30 en el cáncer (por ejemplo, cáncer ovárico, cáncer de piel, cáncer de mama, carcinoma de tiroides, carcinoma pancreático, cáncer de pulmón, cáncer anal, carcinoma de timo, carcinoma endometrial y carcinoma de origen primario desconocido) y para tratamiento de los mismos. Dependiendo de las propiedades del anticuerpo, se prefieren ciertos anticuerpos para la detección, mientras que se pueden preferir otros para el tratamiento.

### A. Anticuerpos hacia CD30 en General

15 Los anticuerpos anti-CD30 incluyen anticuerpos monoclonales, quiméricos (por ejemplo, que tienen una región constante humana y una región variable de ratón), anticuerpos humanizados, modificados superficialmente o humanos; anticuerpos de cadena simple, o similares. Las moléculas de inmunoglobulinas pueden ser de cualquier tipo o clase (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY) o subclase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2).

20 Los anticuerpos anti-CD30 pueden ser un fragmento de anticuerpo de unión al antígeno tal como un Fab, un F(ab'), un F(ab')<sub>2</sub>, una cadena Fd, un Fv de una sola cadena (scFv), un anticuerpo de una cadena, un Fv unido por enlaces disulfuro (sdFv), un fragmento que comprende o un dominio V<sub>L</sub> o V<sub>H</sub>, que incluyen nanocuerpos o fragmentos de camellos, llamas o similares, o fragmentos producidos mediante una biblioteca de expresión de Fab, o fragmentos de unión a CD30 de cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente. Los fragmentos de anticuerpos de unión al antígeno, incluidos los anticuerpos de cadena única, pueden comprender la región o regiones variables solas o en combinación con la totalidad o una porción de lo siguiente: región bisagra, dominios CH1, CH2, CH3 y CL. Además, los fragmentos de unión al antígeno pueden comprender cualquier combinación de región(es) variable(s) con una región bisagra, dominios CH1, CH2, CH3 y CL.

30 Los anticuerpos pueden ser monoespecíficos, biespecíficos, triespecíficos o de especificidad múltiple mayor. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítomos de CD30, o pueden ser específicos tanto para CD30 como para una proteína heteróloga. (Véanse, por ejemplo, los documentos WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147: 60-69; las patentes de EE.UU. N°s 4.474.893; 4.714.681; 4.925.648; 5.573.920; 5.601.819 y US2010 / 0322920; Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148: 1547-1553.) Los anticuerpos multiespecíficos, incluidos los anticuerpos biespecíficos y triespecíficos, útiles para poner en práctica los métodos descritos en este documento, son anticuerpos que se unen inmunoespecíficamente tanto a CD30 como a un segundo receptor de la superficie celular o complejo de receptores, como un miembro de la superfamilia de genes de inmunoglobulinas, un miembro de la superfamilia de receptores de TNF, una integrina, un receptor de citocinas, un receptor de quimiocinas, una proteína soluble, una proteína del complejo principal de histocompatibilidad, una lectina (tipo C, tipo S o tipo I), o una proteína de control del complemento.

40 Los anticuerpos anti-CD30 también se pueden describir con respecto a su afinidad de unión a CD30, de 10<sup>-7</sup> M, 5 x 10<sup>-8</sup> M, 10<sup>-8</sup> M, 5 x 10<sup>-9</sup> M, 10<sup>-9</sup> M, 5 x 10<sup>-10</sup> M, 10<sup>-10</sup> M, 5 x 10<sup>-11</sup> M, 10<sup>-11</sup> M, 5 x 10<sup>-12</sup> M, 10<sup>-12</sup> M, 5 x 10<sup>-13</sup> M, 10<sup>-13</sup> M, 5 x 10<sup>-14</sup> M, 10<sup>-14</sup> M, 5 x 10<sup>-15</sup> M, o 10<sup>-15</sup> M.

45 Un anticuerpo anti-CD30 puede ser un anticuerpo quimérico. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes porciones del anticuerpo derivan de diferentes especies animales, como anticuerpos que tienen una región variable derivada de un anticuerpo monoclonal murino y una región constante de una inmunoglobulina humana. Los métodos para producir anticuerpos quiméricos son conocidos en la técnica. (Véase, por ejemplo, Morrison, Science, 1985, 229: 1202; Oi et al., 1986, BioTechniques 4: 214; Gillies et al., 1989, J. Immunol. Methods 125: 191-202; Patentes de EE.UU. N°s 5.807.715; 4.816.567; y 4.816.397.)

50 Un anticuerpo anti-CD30 también puede ser un anticuerpo humanizado, que incluye un anticuerpo modificado superficialmente. Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpos que se unen al antígeno deseado y tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de una especie no humana, y regiones estructurales y constantes de una molécula de inmunoglobulina humana. A menudo, los residuos estructurales de las regiones estructurales humanas se sustituirán con el resto correspondiente del anticuerpo donante de CDR para alterar, o preferiblemente mejorar, la unión al antígeno. Estas sustituciones estructurales se identifican mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante el modelado de las interacciones de la CDR y los residuos estructurales para identificar los residuos estructurales importantes para la unión al antígeno y la comparación de secuencias para identificar residuos estructurales inusuales en posiciones particulares. (Véase, por ejemplo, Queen et al., Patente de Estados Unidos N° 5.585.089; Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323). Los anticuerpos pueden humanizarse utilizando una variedad de técnicas conocidas en la técnica, como el injerto de CDRs (documentos EP 0 239 400; WO 91/09967; Patentes de Estados Unidos N°s 5.225.539; 5.530.101; y 5.585.089), modificación superficial

(documentos EP 0 592 106; EP 0 519 596; Padlan, *Molecular Immunology*, 1991, 28 (4/5): 489-498; Studnicka et al., 1994, *Protein Engineering* 7 (6): 805-814; Roguska et al., 1994, *PNAS* 91: 969-973), y reordenamiento aleatorio de cadenas (patente de EE.UU. n° 5.565.332),

5 Un anticuerpo anti-CD30 también puede ser un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos se pueden producir mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, tales como los métodos de expresión en fagos (véase anteriormente) utilizando bibliotecas de anticuerpos derivadas de secuencias de inmunoglobulinas humanas. Véase también, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N°s 4.444.887 y 4.716.111; los documentos WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, y WO 91/10741. Además, un anticuerpo humano que reconoce un epítipo seleccionado puede generarse utilizando una técnica denominada "selección guiada", en la que se utiliza un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, por ejemplo, un anticuerpo de ratón, para guiar la selección de un anticuerpo humano que reconoce el mismo epítipo (véase, por ejemplo, Jespers et al., 1994, *Biotechnology* 12: 899-903). Los anticuerpos humanos también pueden producirse utilizando ratones transgénicos que expresan genes de inmunoglobulinas humanas. Se pueden obtener anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno de ratones transgénicos inmunizados usando la tecnología de hibridomas. Para una descripción general de la tecnología para producir anticuerpos humanos, véase Lonberg y Huszar, 1995, *Int. Rev. Immunol.* 13: 65-93. Para una discusión detallada de esta tecnología para producir anticuerpos humanos y anticuerpos monoclonales humanos y protocolos para producir dichos anticuerpos, véanse, por ejemplo, las publicaciones PCT WO 98/24893; WO 92/01047; WO 96/34096; WO 96/33735; la patente Europea N° 0 598, 877; y las patentes de EE.UU. N°s 5.413.923; 5,625,126; 5,633,425; 5.569.825; 5,661,016; 5.545.806; 5,814,318; 5,885,793; 5,916,771; y 5.939.598.

10 Los anticuerpos pueden analizarse para determinar la unión específica a CD30 mediante métodos conocidos, como por ejemplo, sistemas de inmunoensayos competitivos y no competitivos que utilizan técnicas tales como transferencias de Western, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de tipo "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones con precipitina, reacciones con precipitina de difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunoensayos con proteína A. (Véase, por ejemplo, Ausubel et al., Eds., *Short Protocols in Molecular Biology* (John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 4ª ed. 1999); Harlow & Lane, *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1999).)

15 Además, la afinidad de unión de un anticuerpo a CD30 y la velocidad de disociación de la interacción de un anticuerpo CD30 se pueden determinar mediante ensayos de unión competitiva. Un ejemplo de un ensayo de unión competitiva es un radioinmunoensayo que comprende la incubación de CD30 marcado (por ejemplo, <sup>3</sup>H o <sup>125</sup>I) con el anticuerpo de interés en presencia de cantidades crecientes de CD30 sin marcar, y la detección del anticuerpo unido al CD30 marcado. La afinidad del anticuerpo por CD30 y las velocidades de disociación de la unión pueden determinarse a partir de los datos mediante análisis de la representación gráfica de Scatchard. La competición con un segundo anticuerpo también puede determinarse usando radioinmunoensayos. En este caso, el CD30 se incuba con el anticuerpo de interés conjugado a un compuesto marcado (por ejemplo, <sup>3</sup>H o <sup>125</sup>I) en presencia de cantidades crecientes de un segundo anticuerpo no marcado. Alternativamente, la afinidad de unión de un anticuerpo a CD30 y las velocidades de asociación y disociación de una interacción anticuerpo-CD30 se pueden determinar mediante resonancia de plasmones superficiales.

20 Los anticuerpos pueden prepararse utilizando fragmentos de la proteína CD30 que contienen antígenos mediante procedimientos habituales según el tipo de anticuerpo (véase, por ejemplo, Kohler, et al., *Nature*, 256: 495, (1975); Harlow & Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (CSHP, NY, 1988); Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 10029-10033 (1989) y el documento WO 90/07861; Dower et al., documento WO 91/17271 y McCafferty et al., documento WO 92/01047. Como ejemplo, los anticuerpos monoclonales se pueden preparar utilizando una amplia variedad de técnicas que incluyen, por ejemplo, el uso de tecnologías de hibridomas, recombinante y expresión en fagos, o una combinación de ellas. Las técnicas de hibridomas se discuten generalmente, por ejemplo, en Harlow et al., anteriormente mencionado, y Hammerling, et al., en *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas*, páginas 563-681 (Elsevier, NY, 1981). Los ejemplos de métodos de expresión en fagos que se pueden usar para hacer los anticuerpos anti-CD30 incluyen, por ejemplo, los descritos en Briinnan et al., 1995, *J. Immunol. Methods* 182: 41-50; Ames et al., 1995, *J. Immunol. Methods* 184: 177-186; Kettleborough et al., 1994, *Eur. J. Immunol.* 24: 952-958; Persic et al., 1997, *Gene* 187: 9-18; Burton et al., 1994, *Advances in Immunology* 57: 191-280; Solicitud PCT N° PCT / GB91 / 01 134; Publicaciones PCT WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; y las patentes de EE.UU. N°s 5.698.426; 5,223,409; 5.403.484; 5.580.717; 5,427,908; 5,750,753; 5,821,047; 5.571.698; 5,427,908; 5.516.637; 5,780,225; 5.658.727; 5.733.743 y 5.969.108.

25 Las técnicas para generar fragmentos de anticuerpos que reconocen epítopos específicos también se conocen en general en la técnica. Por ejemplo, los fragmentos Fab y F(ab')<sub>2</sub> pueden producirse por escisión proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, utilizando enzimas como la papaína (para producir fragmentos Fab) o pepsina (para producir fragmentos F(ab')<sub>2</sub>). Los fragmentos F(ab')<sub>2</sub> contienen la región variable, la región constante de la cadena ligera y el dominio C<sub>H</sub>1 de la cadena pesada. También se pueden emplear técnicas para producir recombinantemente fragmentos Fab, Fab' y F(ab')<sub>2</sub> usando, por ejemplo, los métodos descritos en el documento WO 92/22324; Mullinax et al., 1992, *BioTechniques* 12 (6): 864-869; y Sawai et al., 1995, *AJRI* 34: 26-34; y Better et al., 1988, *Science* 240:

1041-1043.

Los ejemplos de técnicas que se pueden usar para producir Fv y anticuerpos de cadena simple incluyen los descritos en las patentes de EE.UU. N°s 4.946.778 y 5.258.498; Huston et al., 1991, *Methods in Enzymology* 203: 46-88; Shu et al., 1993, *Proc. Natl Acad Sci. USA* 90: 7995-7999; y Skerra et al., 1988, *Science* 240: 1038-1040.

5 Los anticuerpos anti-CD30 que son útiles en los presentes métodos también pueden producirse mediante técnicas de expresión recombinante. La expresión recombinante de un anticuerpo que se une a CD30 y / o agota o inhibe la proliferación de células que expresan CD30 requiere la construcción de un vector de expresión que contenga un ácido nucleico que codifique el anticuerpo. Una vez que se ha obtenido un ácido nucleico que codifica dicha proteína, el vector para la producción de la molécula de proteína puede producirse mediante tecnología de ADN recombinante  
10 usando técnicas bien conocidas en la técnica. Se pueden usar técnicas habituales, como las descritas en Sambrook y Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 3ª ed., 2001); Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2ª ed., 1989); Ausubel et al., *Short Protocols in Molecular Biology* (John Wiley & Sons, New York, 4ª ed., 1999); y Glick y Pasternak, *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA* (ASM Press, Washington, DC, 2ª ed., 1998) para los métodos de ácidos nucleicos recombinantes, síntesis de ácidos nucleicos, cultivo celular, incorporación de transgenes y expresión de proteínas recombinantes.

Por ejemplo, para la expresión recombinante de un anticuerpo anti-CD30, un vector de expresión puede codificar una cadena pesada o ligera del mismo, o un dominio variable de la cadena pesada o ligera, unido de forma operable a un promotor. Un vector de expresión puede incluir, por ejemplo, la secuencia de nucleótidos que codifica la región constante de la molécula de anticuerpo (ver, por ejemplo, los documentos WO 86/05807; WO 89/01036; y la Patente de Estados Unidos N° 5.122.464), y el dominio variable del anticuerpo puede clonarse en dicho vector para la expresión de toda la cadena pesada o ligera. El vector de expresión se transfiere a una célula huésped mediante técnicas conocidas, y las células transfectadas se cultivan para producir el anticuerpo anti-CD30. Típicamente, para la expresión de anticuerpos de doble cadena, los vectores que codifican tanto las cadenas pesadas como las ligeras  
20 pueden expresarse conjuntamente en la célula huésped para la expresión de la molécula completa de inmunoglobulina.

Se puede utilizar una variedad de sistemas de vectores de expresión en huéspedes procariontes y eucariotes para expresar un anticuerpo anti-CD30. Típicamente, las células eucariotas, particularmente para moléculas recombinantes completas de anticuerpo anti-CD30, se usan para la expresión de la proteína recombinante. Por ejemplo, las células de mamífero, como las células de ovario de hámster chino (CHO) (p. ej., DG44 o CHO-S) junto con un vector como el elemento promotor génico temprano intermedio principal del citomegalovirus humano o el promotor de EF-1 $\alpha$  de ovario de hámster chino, son un sistema de expresión efectivo para la producción de anticuerpos anti-CD30 (véase, por ejemplo, Foecking et al., 1986, *Gene* 45: 101; Cockett et al., 1990, *Bio / Technology* 8: 2; Allison, Patente de EE. UU. N° 5.888.809).

35 Otros sistemas de expresión en huésped incluyen los sistemas de expresión basados en plásmidos en células bacterianas (véase, por ejemplo, Ruther et al., 1983, *EMBO* 1,2: 1791; Inouye e Inouye, 1985, *Nucleic Acids Res.* 13: 3101-3109; Van Heeke y Schuster, 1989, *J. Biol. Chem.* 24: 5503-5509); sistemas de insectos tales como el uso del vector de expresión del virus de la polihedrosis nuclear de *Autographa californica* (AcNPV) en células de *Spodoptera frugiperda*; y sistemas de expresión basados en virus en células de mamíferos, tales como los sistemas basados en adenovirus (véase, por ejemplo, Logan & Shenk, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 355-359; Bittner et al., 1987, *Methods in Enzymol.* 153: 51-544).

#### B. Anticuerpos para la detección de CD30

Los anticuerpos para la detección de CD30 en los cánceres descritos en la presente memoria son aquellos que se unen específicamente a CD30. La unión específica de un anticuerpo monoclonal a su antígeno diana significa una  
45 afinidad de al menos  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  o  $10^{10}$  M<sup>-1</sup> y tiene una magnitud detectable mayor y se distingue de la unión inespecífica que se da en al menos un objetivo no relacionado. La unión específica puede ser el resultado de la formación de enlaces entre grupos funcionales particulares o una disposición espacial particular (por ejemplo, tipo de cerradura y llave), mientras que la unión inespecífica suele ser el resultado de las fuerzas de van der Waals. La selección de anticuerpos contra CD30 para su uso en métodos de detección depende de si el CD30 se detecta mediante una técnica que requiere la detección de CD30 desnaturalizado o CD30 nativo (tal como se expresa en las células). Los anticuerpos preferidos para la identificación de pacientes que podrían beneficiarse de la terapia dirigida hacia CD30 son aquellos que se unen específicamente a un dominio extracelular de CD30. En algunos aspectos, el anticuerpo se unirá a CD30 en muestras de cáncer que se fijan con formalina y se incorporan en parafina (FFPE), por ejemplo, Ber-H2.

#### 55 C. Terapias dirigidas hacia CD30

En el sitio web <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00048880> se describe un estudio de fase I de HeFi-1, un anticuerpo anti-CD30 para tratar los cánceres positivos para CD30 (linfoma de células T / leucemia). Se describen los criterios de elegibilidad e inclusión para el ensayo.

Las terapias dirigidas hacia CD30 incluyen terapias con cualquier agente citotóxico que esté dirigido hacia CD30. Las terapias dirigidas hacia CD30 incluyen anticuerpos anti-CD30 y conjugados anticuerpo anti-CD30-fármaco, así como otros agentes de unión anti-CD30 y sus conjugados.

5 Los anticuerpos utilizados para aplicaciones terapéuticas se unen específicamente a un dominio extracelular de CD30 nativo que se expresa en células cancerosas. Aunque la práctica de la invención no depende de la comprensión del mecanismo, se cree que los anticuerpos pueden ejercer un efecto citotóxico o citostático como resultado de la unión a CD30 y de ser introducidos en una célula, o por unirse a CD30 y acumularse en el exterior de las células. En cualquier caso, el efecto citotóxico puede favorecerse conjugando el anticuerpo con un agente citotóxico. El efecto citotóxico ejercido desde el exterior de la célula por un anticuerpo unido a CD30 puede favorecerse adicional o alternativamente por una función constante (efectora) del anticuerpo. Los dominios constantes de los anticuerpos median en diversas funciones efectoras de Ig, como la participación del anticuerpo en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y / o la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP). Opcionalmente, la función efectora de un agente de unión a CD30 puede aumentarse mediante varios enfoques como se describe en el documento US2012 / 0014943.

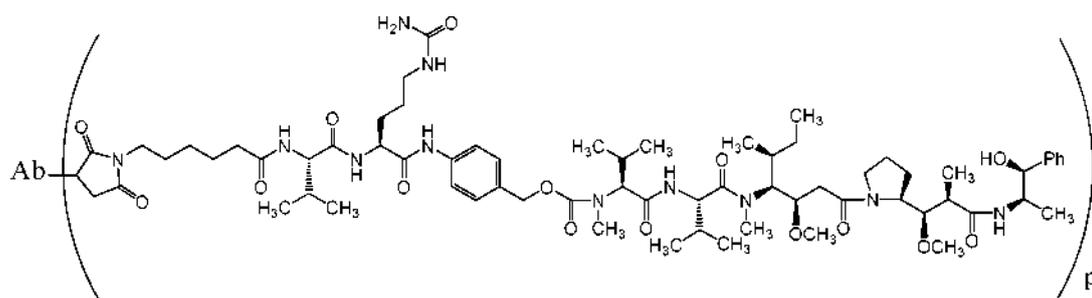
15 Los anticuerpos anti-CD30 adecuados para su uso de acuerdo con los presentes métodos incluyen cualquier anticuerpo que se una específicamente al antígeno CD30. Los anticuerpos anti-CD30 de la presente invención son preferiblemente monoclonales y pueden incluir, por ejemplo, anticuerpos quiméricos (por ejemplo, que tienen una región constante humana y una región variable de ratón), humanizados o humanos. La molécula de inmunoglobulina es del tipo IgG y puede ser cualquier subclase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) de la molécula de inmunoglobulina y sus variantes. La molécula de inmunoglobulina es preferiblemente una IgG1. Los anticuerpos multiespecíficos también son adecuados para su uso de acuerdo con los presentes métodos. Los anticuerpos de la presente invención pueden generarse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Los ejemplos de anticuerpos anti-CD30 incluyen, pero no se limitan a, los anticuerpos AC10 humanizados o quiméricos. El AC10 murino se ha depositado con el Número de Acceso de la ATCC PTA-6679. En una realización ejemplar, el anticuerpo anti-CD30 es el anticuerpo cAC10. Como se usa en este documento, el anticuerpo cAC10 es un anticuerpo que tiene las regiones variables de cadena pesada y ligera del AC10 murino, una región constante gamma I humana y una región constante kappa humana.

30 Los anticuerpos contra CD30 pueden conjugarse con un resto citotóxico o citostático para formar un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC). Los restos particularmente adecuados para la conjugación con anticuerpos son agentes quimioterapéuticos, enzimas convertidoras de profármacos, isótopos o compuestos radiactivos, o toxinas. Por ejemplo, un anticuerpo anti-CD30 se puede conjugar con un agente citotóxico como agente quimioterapéutico o una toxina (por ejemplo, un agente citostático o citocida como, por ejemplo, abrina, ricina A, exotoxina de pseudomonas o toxina diftérica). Los ejemplos de clases útiles de agentes citotóxicos incluyen, por ejemplo, auristatinas, camptotecinas, duocarmicinas, etopósidos, maitansinoides, benzodiazepinas (p. ej., pirrolo[1,4]benzodiazepinas, indolinobenzodiazepinas y oxazolidinobenzodiazepinas) y alcaloides de la vinca. Se conocen bien las técnicas para conjugar agentes terapéuticos a proteínas, y en particular a anticuerpos. (véase, por ejemplo, Alley et al., Current Opinion in Chemical Biology 2010 14: 1-9; Senter, Cancer J., 2008, 14 (3): 154-169).

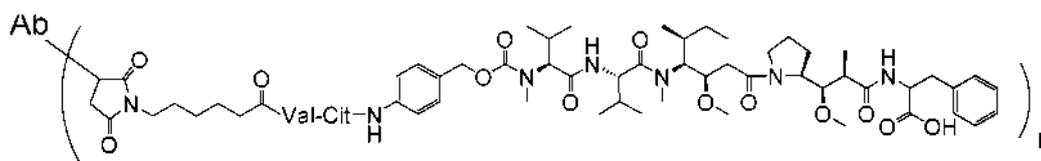
40 Los agentes citotóxicos adecuados incluyen, por ejemplo, auristatinas (p. ej., auristatina E, AFP, MMAF, MMAE), moléculas de unión al surco del ADN (p. ej., enediinas y lexitropsinas), duocarmicinas, taxanos (p. ej., paclitaxel y docetaxel), alcaloides de la vinca, doxorubicina, morfolino-doxorubicina y cianomorfolino-doxorubicina.

45 Los conjugados anticuerpo-fármaco adecuados incluyen conjugados anticuerpo-fármaco basados en auristatina, lo que significa que el componente del fármaco es un fármaco de auristatina. Las auristatinas se unen a la tubulina, se ha demostrado que interfieren con la dinámica de los microtúbulos y la división nuclear y celular, y tienen actividad anticancerígena. La auristatina puede ser auristatina E o un derivado de la misma. La auristatina puede ser, por ejemplo, un éster formado entre la auristatina E y un cetoácido. Por ejemplo, la auristatina E se puede hacer reaccionar con ácido paraacetilbenzoico o ácido benzoilvalérico para producir AEB y AEVB, respectivamente. Otras auristatinas típicas incluyen MMAF y MMAE. La síntesis y la estructura de auristatinas ejemplares se describen en las publicaciones de EE. UU. N°s 7.659.241, 7.498.298, 2009-0111756, 2009-0018086 y 7.968, 687.

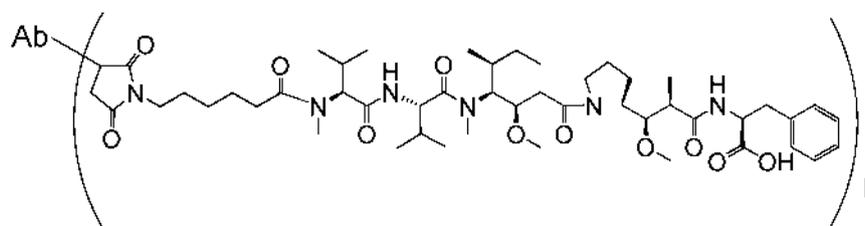
50 Los conjugados anticuerpo-fármaco basados en auristatina incluyen conjugados anticuerpo-fármaco vcMMAE, vcMMAF y mcMMAF como se muestra a continuación, donde Ab es un anticuerpo anti-CD30 y val-cit representa el dipéptido valina-citrulina:



vcMMAE



vcMMAF



mcMMAE

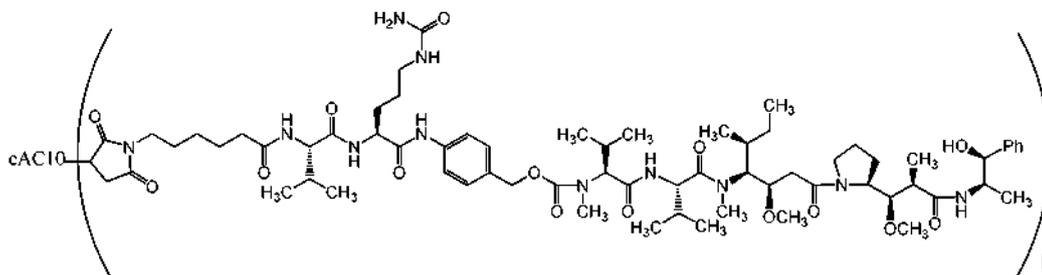
5

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. La carga del fármaco está representada por p, el número de moléculas de unión del fármaco por anticuerpo. Dependiendo del contexto, p puede representar el número medio de moléculas de unión del fármaco por anticuerpo, también conocido como la carga media de fármaco. P varía de 1 a 20 y es preferiblemente de 1 a 8. En algunas realizaciones preferidas, cuando p representa la carga media de fármaco, p varía de aproximadamente 2 a aproximadamente 5. En algunos casos, p es aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4 o aproximadamente 5. El número medio de fármacos por anticuerpo en una preparación puede caracterizarse por medios convencionales, como la espectroscopia de masas, HIC, ELISA y HPLC.

10

En particular, el conjugado anticuerpo-fármaco basado en auristatina y anti-CD30 puede ser brentuximab vedotin, un conjugado anticuerpo-fármaco que tiene la estructura:

15



Brentuximab vedotin es un conjugado anticuerpo-fármaco dirigido hacia CD30 que consta de tres componentes: (i) el anticuerpo IgG1 quimérico cAC10, específico para CD30 humano, (ii) el agente de ruptura de microtúbulos MMAE, y (iii) una molécula de unión escindible por proteasas que une de manera covalente MMAE a cAC10. La proporción de fármaco respecto del anticuerpo o la carga de fármaco se representa con "p" en la estructura de Brentuximab Vedotin y varía en valores enteros de 1 a aproximadamente 8. La carga media de fármaco en una preparación farmacéutica es de 3 a aproximadamente 5.

20

### III. Detección de CD30

Las muestras de tejido que se analizarán para aplicaciones de diagnóstico pueden obtenerse mediante procedimientos quirúrgicos, por ejemplo, biopsia. El CD30 se detecta típicamente mediante un inmunoensayo en el que una muestra que contiene células que se sabe o se sospecha que es de un cáncer (p. ej., ovárico (p. ej., carcinoma seroso ovárico),

25

de piel (p. ej., melanoma y carcinoma de células escamosas de la piel), mama (p. ej., cáncer de mama triple negativo), tiroides (p. ej., carcinoma anaplásico de tiroides), pancreático (p. ej., adenocarcinoma o carcinoma pancreático indiferenciado), pulmón (p. ej., microcítico y de células escamosas), anal (p. ej., carcinoma anal de células escamosas), tímico, endometrial) se pone en contacto con un anticuerpo anti-CD30. Después del contacto, se determina la presencia o ausencia de un evento de unión del anticuerpo a las células de la muestra. La unión está relacionada con la presencia o ausencia del antígeno expresado en las células cancerosas de esta muestra. En algunos aspectos, después de la incubación con el anticuerpo anti-CD30, la muestra se pone en contacto con una molécula de unión específica marcada del anticuerpo anti-CD30 capaz de producir una señal detectable. En otros aspectos, el propio anticuerpo anti-CD30 puede estar marcado. Los ejemplos de tipos de etiquetas incluyen etiquetas de enzimas, etiquetas de polímeros, etiquetas radioisotópicas, etiquetas no radiactivas, etiquetas fluorescentes, etiquetas de toxinas y etiquetas quimioluminiscentes. La detección de una señal de la etiqueta indica la presencia del anticuerpo específicamente unido a CD30 en la muestra.

La muestra de tejido del paciente puede estar congelada, fresca, fijada, centrifugada y / o incrustada, por ejemplo, incrustada en parafina. Preferiblemente, la muestra en la que se realiza el ensayo se fija o se congela para permitir el corte histológico. Preferiblemente, las muestras de tejido extirpado se fijan en fijadores de aldehído tales como formaldehído, paraformaldehído, glutaraldehído; o fijadores de metales pesados como el cloruro mercurico. Más preferiblemente, las muestras de tejido extirpado se fijan en formalina y se incrustan en cera de parafina antes de la incubación con el anticuerpo. Una ventaja que brindan los especímenes incrustados en parafina (FFPE) fijados con formalina es la preservación del detalle morfológico celular y arquitectónico en los cortes de tejido (véase, por ejemplo, Fox et al., 1985, J. Histochem. Cytochem. 33: 845-853). Opcionalmente, las muestras de FFPE se pueden tratar con Tris-EDTA o citrato de pH elevado y calor para aumentar la accesibilidad de los epítomos (véase, por ejemplo, Shi et al., 1991, J Histochem Cytochem. 39: 741-748).

En algunos casos, se utilizan técnicas de inmunohistoquímica para detectar CD30. La inmunohistoquímica se refiere al proceso de detección de antígenos en células de un corte de tejido basada en el principio de las interacciones específicas de anticuerpos y antígenos. Los anticuerpos unidos pueden detectarse de varias formas, incluidos, por ejemplo, los métodos de detección fluorescentes, los métodos de detección enzimática y los sistemas de detección basados en polímeros.

Alternativamente, puede aislarse una fracción de proteínas de células que se sabe o se sospecha que son de cáncer y analizarse mediante ELISA, transferencia de Western, inmunoprecipitación o similares. En otra variación, las células pueden analizarse para determinar la expresión de CD30 mediante análisis de citometría de flujo, preferiblemente en combinación con otros marcadores de células cancerosas.

La detección de CD30 puede ser mediante métodos distintos a los que utilizan anticuerpos. Por ejemplo, el ARNm se puede extraer de células que se sabe o se sospecha que son de cáncer. El ARNm o un ácido nucleico derivado del mismo, tal como un cADN, puede analizarse luego mediante hibridación a una sonda nucleica que se une al ADN que codifica CD30. Alternativamente, se puede realizar una RT-PCR.

En otra variación, un cáncer (por ejemplo, cáncer ovárico, páncreas, piel, mama, tiroides, páncreas, pulmón microcítico, anal, tímico o endometrial o carcinoma de origen primario desconocido) puede detectarse *in vivo* administrando un anticuerpo anti-CD30 marcado a un paciente y detectando el anticuerpo mediante imagenología *in vivo*.

La detección de CD30 en muestras de tejido puede ser cualitativa, cuantitativa o ambas. La detección cualitativa significa detectar la presencia o ausencia de expresión de CD30. La expresión cuantitativa significa determinar un nivel de expresión de la expresión de CD30. La presencia y / o el nivel de CD30 en la muestra de tejido canceroso en cuestión puede (pero no necesariamente) determinarse con respecto a uno o más patrones. Los patrones pueden determinarse históricamente o contemporáneamente. El patrón puede ser, por ejemplo, una muestra que se sabe que no es cancerosa de un sujeto diferente, un tejido del paciente u otro sujeto que se sabe que no expresa CD30, o una línea celular correspondiente. El estándar también puede ser la muestra del paciente en análisis en contacto con un anticuerpo de control que no se une a CD30. Debido a que CD30 no se expresa de manera significativa en el tejido no canceroso de ovario, páncreas, piel, mama, endometrio, tiroides, páncreas, pulmón microcítico, anal o tímico, dicho tejido no canceroso se puede usar como un patrón de expresión cero (fondo) cuando se analiza con un método de detección de CD30 específico.

La presencia de una señal detectable de la unión de un anticuerpo anti-CD30 a CD30 en relación con un patrón (si se usa) indica la presencia de CD30 en la muestra de tejido, y el nivel de unión detectable proporciona una indicación del nivel de expresión de CD30. El nivel de expresión se puede expresar como un porcentaje de células malignas o atípicas en una muestra que tiene expresión detectable de CD30. Por ejemplo, en ensayos realizados en cortes de tejido, el nivel de expresión se puede expresar como un porcentaje de células malignas o atípicas en el corte de tejido que tiene expresión detectable de CD30. Alternativamente, o adicionalmente, el nivel (intensidad) de expresión se puede usar como una medida de la expresión total en la muestra o de las células que expresan CD30 en la muestra.

En algunos aspectos, la presencia de una señal detectable de la unión de un anticuerpo anti-CD30 es suficiente para identificar a un paciente para el tratamiento con una terapia dirigida hacia CD30. En algunos aspectos, se usa un nivel

de expresión de al menos el 10% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30 (por ejemplo, terapia con un anticuerpo anti-CD30 o conjugado anti-CD30-fármaco) en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, un corte de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se usa un nivel de expresión de al menos el 15% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, corte de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se utiliza un nivel de expresión de al menos el 20% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en el que el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se usa un nivel de expresión de al menos el 25% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se usa un nivel de expresión de al menos el 30% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se utiliza un nivel de expresión de al menos el 35% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se usa un nivel de expresión de al menos el 40% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se utiliza un nivel de expresión de al menos el 45% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se utiliza un nivel de expresión de al menos el 50% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se usa un nivel de expresión de al menos el 75% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se utiliza un nivel de expresión de al menos el 80% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30 en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido). ) que muestra una expresión detectable de CD30. En algunos aspectos, se usa un nivel de expresión de al menos el 85% para identificar a un paciente para el tratamiento con terapia dirigida hacia CD30, en donde el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas de una muestra (por ejemplo, sección de tejido) que muestra una expresión detectable de CD30. En cualquiera de estas realizaciones, la intensidad de la expresión también puede determinarse y usarse para obtener una medida de la expresión total en la muestra o de las células que expresan CD30 en la muestra.

En algunos aspectos, la expresión de CD30 se detecta en la membrana celular, aparato de Golgi y / o el citoplasma.

#### 40 IV. Diagnóstico, pronóstico, diseño y monitorización del tratamiento.

La detección de la expresión de CD30 en una muestra tumoral de un paciente con cáncer (p. ej., cáncer ovárico, pancreático, de piel, mama, tiroides, genitourinario, ginecológico, pulmonar, anal, uretral, uterino, tímico, endometrial, o carcinoma de origen desconocido) puede ser una indicación de que la muestra es cancerosa. La indicación de cáncer proporcionada por la presencia y / o el nivel de CD30 se puede combinar con medios de diagnóstico, como el examen interno o externo de un paciente por parte de un médico, rayos X, escaneo TC (tomografía computarizada), escaneo PET (emisión de positrones), escaneo PET / TAC, ecografía, IMR (imagenología mediante resonancia magnética), endoscopia, CPRE (colangiopancreatografía retrógrada endoscópica), examen histológico, citogenética y cultivo de tejidos para llegar a un diagnóstico general.

Quizás de mayor relevancia para el médico, la presencia y el nivel de CD30 proporcionan información útil para diseñar un protocolo de tratamiento para el paciente y, en particular, para administrar una terapia dirigida hacia CD30. Debido a la ausencia esencial de la expresión detectable de CD30 en el tejido normal, la presencia de este receptor en un cáncer proporciona un objetivo para el tratamiento terapéutico. El análisis continuo de CD30 después del tratamiento proporciona un medio para monitorear si el tratamiento es efectivo, una reducción en el nivel de señal positiva para CD30 (es decir, como representación de la presencia de células de cáncer positivas para CD30) indica que el tratamiento es efectivo.

#### 55 V. Pacientes susceptibles al tratamiento

Los pacientes susceptibles al tratamiento mediante los métodos generalmente tienen niveles detectables de CD30 en su tejido canceroso acompañados de otros signos o síntomas de cáncer como se describió anteriormente. En algunos casos, los pacientes susceptibles al tratamiento mediante los métodos actuales solo necesitan tener niveles detectables de CD30 en su tejido canceroso. En otros casos, los pacientes susceptibles al tratamiento mediante el presente método tienen un nivel de expresión de CD30 de al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos

25%, al menos 30%, al menos 35%, a al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80% o al menos el 85%, en el que el nivel de expresión es un porcentaje de las células malignas y / o atípicas en una muestra que tiene una expresión detectable de CD30. En realizaciones preferidas, al menos 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, u 85% de las células de la muestra expresan CD30 cuando se usa un anticuerpo anti-CD30 específico hacia CD30 (por ejemplo, el anticuerpo BerH2) como anticuerpo de detección. La muestra es típicamente una muestra de tumor tomada del paciente.

Algunas veces, los pacientes tratados con los métodos actuales han sido sometidos a otros tipos de tratamiento previamente (p. ej., cirugía, quimioterapia y / o radiación) sin inducir la remisión o incluso retrasar el crecimiento del cáncer. En algunos de estos pacientes, el cáncer es resistente al tratamiento con una o más de tales terapias.

Algunas veces, los pacientes tratados con los métodos actuales han sido sometidos a otros tipos de tratamiento previamente (p. ej., cirugía, quimioterapia y / o radiación) pero han recaído.

A veces, los pacientes tratados con los métodos actuales no se han sometido a un tratamiento previo (por ejemplo, no se han sometido a cirugía, quimioterapia o radiación para su cáncer). A veces, los pacientes tratados con los métodos actuales se han diagnosticado recientemente.

Algunos pacientes con riesgo de cáncer también pueden recibir tratamiento profiláctico antes de que aparezcan los signos y síntomas de la enfermedad. Tales individuos incluyen aquellos que tienen parientes que han experimentado estas enfermedades, y aquellos cuyo riesgo está determinado por el análisis de marcadores genéticos o bioquímicos.

#### VI. Métodos de tratamiento

La presente descripción proporciona métodos de tratamiento o profilaxis de un cáncer que expresa CD30 (p. ej., cáncer ovárico, cáncer de piel, cáncer de mama, carcinoma de tiroides, carcinoma pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células escamosas, cáncer anal, cáncer de útero, cáncer de uretra, cáncer endometrial, carcinoma de origen desconocido, carcinoma tímico, carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcomas ginecológicos, tumores de células de Sertoli, tumores de células de Leydig y adenocarcinoma pancreático) mediante terapia dirigida hacia CD30 (p. ej., los anticuerpos y ADC, y otros agentes de unión anti-CD30 (colectivamente agentes) descritos en la presente memoria). Las composiciones pueden administrarse a un paciente. En algunos aspectos, el cáncer ovárico es un carcinoma seroso ovárico; el cáncer de piel es melanoma o carcinoma de células escamosas de la piel; el cáncer de mama es cáncer de mama triple negativo; el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón microcítico o cáncer de pulmón de células escamosas, el carcinoma de tiroides es un carcinoma anaplásico de tiroides; el carcinoma pancreático es adenocarcinoma o carcinoma pancreático indiferenciado; y el cáncer anal es el carcinoma anal de células escamosas.

Se pueden usar diversos sistemas de administración para administrar los agentes, incluidas las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. Los agentes pueden administrarse, por ejemplo, por infusión o inyección rápida, por absorción a través de tapices epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, y similares) y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos, tales como agentes quimioterapéuticos. La administración puede ser sistémica o local.

Los agentes pueden administrarse mediante inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio, o por medio de un implante, y el implante es un material poroso, no poroso o gelatinoso, que incluye una membrana, tal como una membrana sialástica, o una fibra.

Alternativamente, los agentes pueden administrarse en un sistema de liberación controlada. Por ejemplo, se puede usar una bomba (véase Langer, 1990, *Science* 249: 1527-1533; Sefton, 1989, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201; Buchwald et al., 1980, *Surgery* 88:507; Saudek et al., 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574). Alternativamente, se pueden usar materiales poliméricos (véase *Medical Applications of Controlled Release* (Langer & Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Florida, 1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance* (Smolen & Ball eds., Wiley, Nueva York, 1984); Ranger & Peppas, 1983, *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61. Véase también Levy et al., 1985, *Science* 228: 190; During et al., 1989, *Ann. Neurol.* 25: 351; Howard et al., 1989, *J. Neurosurg.* 71: 105). Otros sistemas de liberación controlada se discuten, por ejemplo, en Langer, anteriormente mencionado.

Los agentes pueden administrarse como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz del agente y uno o más ingredientes farmacéuticamente compatibles. Por ejemplo, la composición farmacéutica incluye típicamente uno o más vehículos farmacéuticos (por ejemplo, líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluidos los derivados del petróleo, de origen animal, vegetal o sintético, como el aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, y similares). El agua es un vehículo más típico cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también pueden emplearse como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen, por ejemplo, almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche descremada, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol, y similares. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, agentes de tamponamiento del pH (por

ejemplo, aminoácidos) y / o agentes solubilizantes o estabilizantes (por ejemplo, tensioactivos no iónicos tales como Tween o azúcares tales como sacarosa, trehalosa o similares). Estas composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida y similares. La composición se puede formular como un supositorio, con aglutinantes y vehículos tradicionales, como los triglicéridos. La formulación oral puede incluir vehículos estándar tales como grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio, etc. Los ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de EW Martin. Dichas composiciones contendrán una cantidad terapéuticamente eficaz del ácido nucleico o proteína, típicamente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo para proporcionar la forma para la administración apropiada al paciente. Las formulaciones corresponden al modo de administración.

Típicamente, las composiciones para administración intravenosa son soluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, el producto farmacéutico también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local como la lidocaína para aliviar el dolor en el lugar de la inyección. En general, los ingredientes se suministran por separado o mezclados en forma de dosis unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o un concentrado en un recipiente herméticamente sellado, como una ampolla o sobre que indica la cantidad de agente activo. Cuando el producto farmacéutico se administra mediante infusión, se puede dispensar con una botella de infusión que contiene agua o solución salina de grado farmacéutico estéril. Cuando el producto farmacéutico se administra mediante inyección, se puede proporcionar una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina para que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración.

La cantidad de agente que es eficaz en el tratamiento o la profilaxis del cáncer se puede determinar mediante técnicas clínicas habituales. Además, los ensayos *in vitro* pueden emplearse opcionalmente para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que se debe emplear en la formulación también depende de la vía de administración y el estadio del cáncer, y debe decidirse de acuerdo con el criterio del médico y las circunstancias de cada paciente. Las dosis efectivas pueden extrapolarse a partir de curvas dosis-respuesta derivadas de sistemas de ensayo *in vitro* o de modelos animales. Se puede formular una dosis en modelos animales para lograr un rango de concentración plasmática circulante que incluya la  $CI_{50}$  (es decir, la concentración del compuesto de prueba que logra una inhibición semimáxima de los síntomas) determinada en el cultivo celular.

Por ejemplo, la toxicidad y la eficacia terapéutica de los agentes pueden determinarse en cultivos celulares o animales experimentales mediante procedimientos farmacéuticos estándar para determinar la  $DL_{50}$  (la dosis letal para el 50% de la población) y la  $DE_{50}$  (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como la relación  $DL_{50} / DE_{50}$ . Se prefieren los agentes que muestran grandes índices terapéuticos. Cuando un agente presenta efectos secundarios tóxicos, se puede usar un sistema de administración que dirige el agente al sitio del tejido afectado para minimizar el daño potencial en las células que no expresan CD30 y, por lo tanto, reducir los efectos secundarios.

En general, la dosis de un anticuerpo o ADC administrado a un paciente con un cáncer que expresa CD30 es de 0,01 mg / kg a 25 mg / kg de peso corporal del sujeto o de 0,1 mg / kg a 25 mg / kg de peso corporal del sujeto. Más típicamente, la dosis administrada a un sujeto es de 0,1 mg / kg a 10 mg / kg de peso corporal del sujeto, incluso más típicamente de 0,1 mg / kg a 5 mg / kg, 0,1 mg / kg a 3 mg / kg de peso corporal. En general, los anticuerpos humanos tienen una vida media más larga dentro del cuerpo humano que los anticuerpos de otras especies debido a la respuesta inmune a las proteínas exógenas. Por lo tanto, son a menudo posibles las dosis más bajas de ADC que comprenden anticuerpos humanizados, quiméricos o humanos y una administración menos frecuente.

La dosis recomendada de brentuximab vedotin para el tratamiento del linfoma de Hodgkin o el linfoma anaplásico macrotítico es de 1,8 mg / kg administrada cada tres semanas hasta un máximo de 16 ciclos. Aunque la dosis recomendada actual es de 1,8 mg / kg para el linfoma de Hodgkin, se contemplan otras dosis más altas o más bajas para otros cánceres, incluidas, por ejemplo, 2,4 mg / kg. La administración es por perfusión intravenosa durante 30 minutos. En una realización ejemplar, se proporcionará brentuximab vedotin a los pacientes descritos en la presente memoria a una dosis de 1,8 mg / kg o 2,4 mg / kg administrada cada tres semanas. Sin embargo, la presente invención contempla y abarca otros regímenes de dosificación y vías de administración. Un régimen de dosificación alternativo ejemplar es la dosificación semanal 3 de cada 4 semanas a aproximadamente 0,8 mg / kg a aproximadamente 1,2 mg / kg. La frecuencia de administración y la cantidad de dosificación dependen de muchos factores, incluido el estado del paciente y la gravedad de la enfermedad.

La terapia dirigida hacia CD30 también se puede administrar en combinación (incluso de manera secuencial) con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer, en particular, la terapia dirigida hacia CD30 se puede administrar con otras terapias que son tratamientos de referencia (por ejemplo, tratamiento de referencia de primera línea, o tratamiento de segunda o tercera línea o incluso terapia de último recurso) para la enfermedad particular a tratar. En algunos aspectos, la terapia de combinación puede incluir un segundo agente citostático o citotóxico (por ejemplo, un agente citostático o citotóxico no conjugado, como los utilizados convencionalmente para el tratamiento de cánceres). La terapia de combinación también puede incluir, por ejemplo, la administración de un agente que se dirige a un receptor o complejo receptor distinto de CD30 en la superficie de las células cancerosas que expresan CD30. Típicamente, tal anticuerpo o ligando se une a un receptor de la superficie celular en las células cancerosas que expresan CD30 u otras células dentro del tumor, y aumenta el efecto citotóxico del anticuerpo anti-CD30

administrando una señal citotóxica a las células cancerosas que expresan CD30 o reduciendo los mecanismos anti-apoptosis.

5 Otros medicamentos que pueden administrarse con el agente incluyen los inhibidores de factores de crecimiento o factores antiangiogénicos. Los presentes métodos se pueden combinar con otros medios de tratamiento, tales como cirugía, radiación, terapia dirigida, inmunoterapia, uso de inhibidores de factores de crecimiento o factores antiangiogénicos.

10 La cirugía es un tratamiento preferido, y con frecuencia es necesaria para obtener una muestra de tejido para el diagnóstico diferencial a través de su histología. La supervivencia mejorada se atribuye a una estadificación más precisa de la enfermedad y a una mayor tasa de extirpación quirúrgica agresiva del tumor. El tipo de cirugía depende de lo extendido que esté el cáncer cuando se diagnostica (el estadio del cáncer), así como del supuesto tipo y grado del cáncer.

15 La terapia dirigida hacia CD30 se puede administrar de forma concurrente a un paciente sometido a tratamientos de cirugía, quimioterapia o radioterapia. En algunas otras realizaciones, un paciente puede someterse a cirugía, quimioterapia o radioterapia antes o después de la administración de una terapia dirigida hacia CD30 durante al menos una hora y hasta varios meses, por ejemplo, al menos una hora, cinco horas, 12 horas, un día, una semana, un mes o tres meses, antes o después de la administración del ADC.

La invención, tal como se define en las reivindicaciones adjuntas, se describe con más detalle en los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar su alcance.

**Ejemplos**

20 Expresión de CD30 en tejido canceroso tumoral y no tumoral usando el anticuerpo Ber-H2

25 Los tejidos tumorales se obtuvieron de pacientes con cáncer ovárico (p. ej., carcinoma seroso ovárico), cáncer de piel (p. ej., melanoma y carcinoma de células escamosas de la piel), cáncer de mama (p. ej., cáncer de mama triple negativo), carcinoma de tiroides (p. ej., carcinoma anaplásico de tiroides), carcinoma pancreático (p. ej., carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado), cáncer de pulmón (p. ej., microcítico y de células escamosas), cáncer anal (p. ej., carcinoma anal de células escamosas), cáncer endometrial, carcinoma de origen primario desconocido, carcinoma tímico, carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcoma ginecológico, tumor de células de Leydig y tumor de células de Sertoli. Las muestras de tejido se fijaron y se incrustaron en parafina de acuerdo con los procedimientos rutinarios. Se prepararon cortes de tejido (4-6 micras) a partir de bloques de parafina.

30 Se usó un ensayo de técnica de IHC indirecto para detectar CD30 usando un anticuerpo anti-CD30 (clon Ber-H2 disponible comercialmente). En este método, se utilizó un anticuerpo primario no conjugado (Ber-H2 a 2 µg / ml) como anticuerpo primario. La actividad de peroxidasa endógena se neutralizó utilizando una etapa de bloqueo de peroxidasa. Se utilizó el sistema basado en el polímero EnVision™ FLEX + (Dako, Glostrup, Dinamarca) para la detección de CD30. La tecnología de polímeros utiliza una molécula marcada con enzima de dextrano a la que se unen un promedio de 70 moléculas de enzima y 10 moléculas de anticuerpos secundarios. Se añadió cromógeno como sustrato (3,3-diaminobencidina (DAB) o un sistema de detección de color rojo) y un precipitado marrón o rojo (respectivamente) unido al polímero marcado. Los portaobjetos se tiñeron luego con hematoxilina para completar el procedimiento de tinción. Posteriormente un patólogo evaluó los portaobjetos. La señal de CD30 se detectó como de membrana, citoplásmica, de aparato de Golgi o combinaciones de las tres localizaciones subcelulares. Se utilizaron controles negativos y controles positivos apropiados para cada serie de tinciones. La expresión inmunohistoquímica (IHC) de CD30 se evaluó según el porcentaje de tumor involucrado.

Los resultados de todos los tejidos tumorales se muestran en la Tabla 1.

Tipo de tumor	Número de casos CD30 <sup>+</sup>	Porcentaje de células tumorales que expresan CD30 en los casos CD30 <sup>+</sup>
Carcinoma ovárico	19/293	10% a 80%
Melanoma	7/121	10% a 50%
Cáncer de mama triple negativo	4/106	15% a 80%
Carcinoma anaplásico de tiroides	1/1	12%
Carcinoma pancreático	2/105	45% a 60%
Cáncer de pulmón microcítico	1/105	50%

ES 2 725 569 T3

Carcinoma de pulmón de células escamosas	1/63	30%
Carcinoma de células escamosas de la piel	1/9	15%
Carcinoma anal de células escamosas	1/12	80%
Carcinoma endometrial	1/61	15%
Carcinoma de origen primario desconocido	1/37	30%
Carcinoma genitourinario de células escamosas	1/2	10%
Carcinosarcoma ginecológico	1/10	15%
Tumor de células de Leydig	1/2	100%
Tumor de células de Sertoli	1/1	98%
Tratamiento de pacientes CD30 <sup>+</sup>		

5 Los pacientes con cáncer ovárico CD30<sup>+</sup>, cáncer de mama, cáncer pancreático y melanoma se trataron con Brentuximab vedotin administrado IV cada 3 semanas a 1,8 mg / kg. Doce pacientes con cáncer ovárico fueron tratados y cinco lograron una enfermedad estable. Se trataron dos pacientes con cáncer de mama, y un paciente alcanzó una enfermedad estable. Se trató un paciente con melanoma, y alcanzó una enfermedad estable. Se trató un paciente con cáncer pancreático y alcanzó una respuesta parcial en el ciclo 12.

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para identificar a un paciente como elegible para la terapia dirigida hacia CD30, en el que el paciente tiene carcinoma seroso ovárico, melanoma o carcinoma de células escamosas de la piel, cáncer de mama triple negativo, carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón de células escamosas, carcinoma endometrial, carcinoma anal de células escamosas, carcinoma anaplásico de tiroides, carcinoma tímico, carcinoma de origen primario desconocido, carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcoma ginecológico, tumor de células de Leydig o tumor de células de Sertoli, que comprende determinar el nivel de expresión de CD30 en una muestra tomada del paciente e identificar al paciente como elegible para la terapia dirigida hacia CD30 basándose en la expresión de CD30 en la muestra.
2. El método de la reivindicación 1, en el que la muestra es una muestra de tejido, y el método comprende los pasos de fijar la muestra de tejido, poner en contacto la muestra de tejido fijada con un anticuerpo anti-CD30 y detectar la unión del anticuerpo a la muestra de tejido fijada para determinar si se expresa CD30 en la muestra.
3. El método de la reivindicación 2, en el que la muestra se fija en formalina y se incrusta en parafina.
4. El método de la reivindicación 1, en el que la muestra es una muestra de tejido.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la muestra es una muestra de tejido, en el que la muestra de tejido expresa CD30 y la expresión de CD30 se determina como un porcentaje de células tumorales de la muestra que expresan CD30 detectable.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además determinar un protocolo de tratamiento para el paciente, en el que la expresión detectable de CD30 es una indicación de que el protocolo de tratamiento incluye el tratamiento con una terapia dirigida hacia CD30.
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la terapia dirigida hacia CD30 comprende la administración de un régimen eficaz de un anticuerpo anti-CD30 o un conjugado anticuerpo anti-CD30-fármaco al paciente.
8. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que al menos el 10% o el 50% de las células malignas o atípicas de la muestra expresan CD30 cuando se usa el anticuerpo BerH2 como anticuerpo de detección.
9. Un método para diagnosticar, pronosticar, determinar un protocolo de tratamiento o monitorear el tratamiento de un paciente con cáncer, en el que el cáncer es un carcinoma seroso ovárico, un melanoma o un carcinoma de células escamosas de la piel, un cáncer de mama triple negativo, un carcinoma pancreático indiferenciado o un adenocarcinoma, un cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón de células escamosas, carcinoma endometrial, carcinoma anal de células escamosas, carcinoma anaplásico de tiroides, carcinoma tímico, carcinoma de origen primario desconocido, carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcoma ginecológico, tumor de células de Leydig o tumor de células de Sertoli, que comprende determinar la expresión de CD30 en las células de una muestra de tumor del paciente, en donde la presencia de una expresión detectable de CD30 se usa en el diagnóstico, pronóstico, determinación de un protocolo de tratamiento o monitorización del tratamiento del paciente.
10. Un anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra CD30 para su uso en el tratamiento del cáncer de un paciente identificado como elegible para la terapia con el anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco basándose en la expresión de CD30 en el cáncer, en donde el cáncer es un carcinoma seroso ovárico, melanoma o carcinoma de células escamosas de la piel, cáncer de mama triple negativo, carcinoma o adenocarcinoma pancreático indiferenciado, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón de células escamosas, carcinoma endometrial, carcinoma anal de células escamosas, carcinoma anaplásico de tiroides, carcinoma tímico, carcinoma de origen primario desconocido, carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcoma ginecológico, tumor de células de Leydig o tumor de células de Sertoli.
11. El anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra CD30 para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, que es un anticuerpo que tiene una función efectora.
12. El anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra CD30 para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, que es un conjugado anticuerpo-fármaco.
13. El anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra CD30 para su uso según la reivindicación 10, en el que el conjugado anticuerpo-fármaco es brentuximab vedotina.
14. El anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra CD30 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en el que la expresión de CD30 se determina como un porcentaje de las células tumorales de la muestra que expresan CD30 detectable, opcionalmente en donde al menos el 10% o el 50% de las células malignas o atípicas de la muestra expresan CD30 cuando se usa el anticuerpo BerH2 como anticuerpo de detección.
15. El anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra CD30 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, en el que el cáncer es un carcinoma genitourinario de células escamosas, carcinosarcoma ginecológico, tumor de células de Leydig o tumor de células de Sertoli que tiene una expresión detectable de CD30.