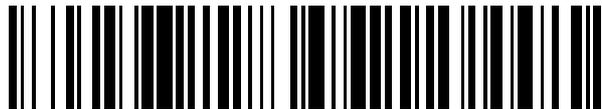


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 766 836**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2013 PCT/US2013/031208**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2013 WO13172951**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2013 E 13790637 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2019 EP 2849786**

54 Título: **Métodos para el tratamiento de cáncer gástrico**

30 Prioridad:

15.05.2012 US 201261647384 P

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

15.06.2020

73 Titular/es:

**EISAI INC. (100.0%)
100 Tice Boulevard
Woodcliff Lake, NJ 07677, US**

72 Inventor/es:

SASAKI, YASUTSUNA

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 766 836 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

Métodos para el tratamiento de cáncer gástrico

5 CAMPO TÉCNICO

[0001] El tema descrito en este documento se refiere a métodos de detección, diagnóstico, pronóstico, profilaxis y tratamiento del cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato utilizando proteínas de unión a antígeno (p. ej., anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos) que se unen específicamente para folato receptor alfa.

10

ANTECEDENTES

[0002] El folato (ácido fólico o vitamina B9) es esencial para la biosíntesis de bases de nucleótidos y para muchas otras reacciones de metilación. El ácido fólico se requiere en cantidades mayores dividiendo rápidamente las células, como las células cancerosas. Los receptores de folato pueden mediar el transporte unidireccional de los folatos a las células. Entre las cuatro isoformas de los receptores de folato identificados (α , β , γ y δ), las isoformas α y β del receptor de folato son proteínas ancladas con glucosilfosfatidilinositol (GPI) con dos sitios de N-glucosilación, y ambos tienen una alta afinidad (K_D de aproximadamente 1 nM) por el folato. Elnakat y col., Adv Drug Deliv Rev 2004, 56: 1067-1084.

15

[0003] El receptor alfa de folato (también denominado FR α , FR-alfa, FRA, FOLR-1 o FOLR1) se expresa en una variedad de tejidos epiteliales, incluidos los del plexo coróico, pulmón, tiroides, riñón, útero, mama, trompa de falopio, epidídimo, y glándulas salivales. Weitman, SD y col. Cancer Res 52: 3396-3401 (1992); Weitman SD y col., Cancer Res 52: 6708-6711.

20

[0004] El cáncer gástrico o de estómago es un cáncer que se forma en los tejidos que recubren el estómago. Según el Instituto Nacional del Cáncer, se estima que se diagnosticarán 21.320 casos nuevos (más de 13.000 hombres y 8.000 mujeres) de cáncer de estómago en los Estados Unidos en 2012. La mayoría de las personas diagnosticadas tendrán más de 70 años. Además, se estima que se producirán 10.540 muertes por cáncer de estómago en los Estados Unidos en 2012.

25

30

[0005] Según la Organización Mundial de la Salud, se estima que se produjeron unos 988.000 nuevos casos de cáncer de estómago en 2008, lo que lo convierte en la cuarta malignidad más común en el mundo. Más del 70% de los casos (713.000 casos) ocurrieron en países en desarrollo (467.000 en hombres, 246.000 en mujeres). Las tasas de incidencia de cáncer de estómago fueron más altas en Asia oriental (China, Japón y Corea). El cáncer de estómago fue la segunda causa principal de muerte por cáncer en ambos sexos en todo el mundo (alrededor de 736.000 muertes). Las tasas de mortalidad más altas se estiman en Asia oriental (28,1 por 100.000 en hombres, 13,0 por 100.000 en mujeres).

35

[0006] Detección y tratamiento del cáncer gástrico precoz mejora las tasas de supervivencia y calidad de vida. Para mejorar la probabilidad de detección y tratamiento tempranos, existe una necesidad apremiante de métodos no invasivos para diagnosticar el cáncer gástrico, para determinar el nivel de riesgo de desarrollar cáncer gástrico, para predecir la progresión del cáncer gástrico y para tratar el cáncer gástrico. La presente invención satisface estas necesidades de cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato.

40

[0007] El documento WO 2008/145136 A1 describe "un método para la supresión específica de Stat3 mediante la inhibición de al menos un componente de la ruta del receptor de folato α ". El documento WO 2008/145136 A1 también describe "un método para tratar, mejorar o prevenir un trastorno relacionado con Stat3 mediante la administración de un inhibidor α del receptor de folato".

45

50 SUMARIO

[0008] Las realizaciones de la presente invención se exponen en las reivindicaciones adjuntas. En una realización, la invención se dirige a un anticuerpo que se une específicamente al receptor alfa de folato, en donde dicho anticuerpo es farletuzumab, para su uso en el tratamiento del cáncer gástrico que expresa el receptor alfa de folato.

55

[0009] En el presente documento se describen métodos para tratar el cáncer gástrico que expresa el receptor de folato alfa en un sujeto que lo necesita. Los métodos implican la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo receptor anti-folato o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Se describe que, el anticuerpo comprende una CDR1 de cadena pesada (CDRH1) que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; CDR2 (CDRH2) que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; y CDR3 (CDRH3) las secuencias de aminoácidos que comprenden la SEQ ID NO: 3, y CDR1 de cadena ligera (CDRL1) que comprende las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4; CDR2 de cadena ligera (CDRL2) que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; y CDR3 (CDRL3) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6. En realizaciones de la invención, el anticuerpo para uso en métodos para tratar el cáncer gástrico que expresa el receptor de folato alfa en un sujeto que lo necesita es farletuzumab. En realizaciones preferidas, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se administra mediante administración intravenosa. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se puede

60

65

administrar semanalmente. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento se administra a una dosis de 50 a 400 mg/m².

[0010] También se describen en este documento métodos de detección de cáncer gástrico-alfa que expresa receptor de folato en una muestra biológica. Se describe que los métodos implican la exposición de la muestra a i) un anticuerpo que se une específicamente al receptor alfa de folato que comprende una cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una cadena ligera que comprende un CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, un CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, o un fragmento de unión a antígeno de la misma, o ii) un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, capaz de unirse al epítipo del receptor alfa de folato que está unido a un anticuerpo que se une específicamente al receptor alfa de folato que comprende una cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una cadena ligera que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; seguido de la detección del receptor alfa de folato. Se describe que el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, está fijado a un soporte sólido.

[0011] Se proporciona además es farletuzumab para uso en métodos para tratar el cáncer gástrico que expresan receptor alfa de folato en un sujeto en necesidad del mismo mediante la detección de cáncer gástrico-alfa que expresa receptor de folato en una muestra biológica por exponer la muestra a un primer anticuerpo que se une específicamente al receptor de folato alfa o un fragmento de unión al antígeno del mismo, detectando el receptor de folato alfa y administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un segundo anticuerpo que se une específicamente al receptor de folato alfa o un fragmento de unión al antígeno del mismo, en donde el segundo anticuerpo es farletuzumab. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo que se une específicamente al receptor alfa de folato comprende una cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una cadena ligera que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO: 11. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo que se une específicamente al receptor alfa de folato es un anticuerpo capaz de unirse al epítipo del receptor alfa de folato que está unido a un anticuerpo que se une específicamente al receptor alfa de folato que comprende una cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una cadena ligera que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11. El primer fragmento de anticuerpo o antígeno opcionalmente se fija a un soporte sólido. Se describe que, el segundo anticuerpo que se une específicamente al receptor alfa de folato comprende una CDR1 de cadena pesada (CDRH1) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; CDR2 (CDRH2) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; y CDR3 (CDRH3) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, y CDR1 de cadena ligera (CDRL1) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; CDR2 de cadena ligera (CDRL2) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; y CDR3 (CDRL3) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

La etapa de administración puede implicar la inyección intravenosa de dicho segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. La etapa de administración puede comprender la administración semanal del segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra a una dosis de 50 mg/m² a 400 mg/m², preferiblemente una dosis de 400 mg/m².

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0012] La Figura 1 muestra el cambio en la suma del diámetro más largo del tumor y el nivel del antígeno carcinoembrionario marcador de tumor (CEA) en el paciente con cáncer gástrico n° 16.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES ILUSTRATIVAS

[0013] Varios términos relativos a los aspectos de la descripción se utilizan en toda la memoria y las reivindicaciones. Dichos términos deben tener su significado ordinario en la técnica a menos que se indique lo contrario. Otros términos específicamente definidos se deben interpretar de manera consistente con las definiciones proporcionadas en este documento.

[0014] Como se usa en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "ella" incluyen plurales referentes a menos que el contenido dicte claramente lo contrario. Así, p. ej., la referencia a "una célula" incluye una combinación de dos o más células, y similares.

[0015] El término "anticuerpo" se refiere a (a) polipéptidos de inmunoglobulina, es decir, polipéptidos de la familia de las inmunoglobulinas que contienen un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a un antígeno específico (p. ej., ácido fólico receptor alfa), incluyendo todos los isotipos de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgE, IgM, IgD e IgY), clases (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2), subclases y diversas formas monoméricas y poliméricas de cada isotipo, a menos que se especifique lo contrario, y (b) variantes sustituidas de forma conservadora de tales polipéptidos de inmunoglobulina que se unen inespecíficamente al antígeno (p. ej., receptor de folato alfa). Los anticuerpos se describen generalmente en, p. ej., Harlow & Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988). A menos que sea evidente por el contexto, la referencia a un anticuerpo también incluye derivados de anticuerpos como se describe con más detalle a continuación.

[0016] Los "fragmentos de anticuerpos" comprenden una porción de un anticuerpo de longitud completa, generalmente la de unión al antígeno o región variable del mismo, tales como Fab, Fab', F(ab')₂, y fragmentos Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpos de cadena sencilla; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. Se han desarrollado diversas técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpos, incluida la digestión proteolítica de anticuerpos y la producción recombinante en células huésped; sin embargo, otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpos serán evidentes para el profesional experto. En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo de elección es un fragmento Fv de cadena sencilla (scFv). Los fragmentos de anticuerpo "Fv de cadena sencilla" o "scFv" comprenden los dominios V_H y V_L del anticuerpo, en donde estos dominios están presentes en una cadena polipeptídica única. En general, el polipéptido Fv comprende además un conector de polipéptido entre los dominios V_H y V_L que permite que scFv forme la estructura deseada para la unión al antígeno. Para una revisión de scFv y otros fragmentos de anticuerpos, ver James D. Marks, *Antibody Engineering*, Capítulo 2, Oxford University Press (1995) (Carl K. Borrebaeck, Ed.).

[0017] Un "derivado de anticuerpo" significa un anticuerpo, como se define anteriormente, que se modifica por unión covalente de una molécula heteróloga tal como, p. ej., mediante la unión de un polipéptido heterólogo, o mediante glicosilación, desglicosilación, acetilación o fosforilación que no están asociadas normalmente con el anticuerpo y similares.

[0018] El término "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo que se deriva de un único clon de células, incluyendo cualquier clon eucariota o procariota celular, o un clon de fago, 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 hibridoma.

[0019] Un "antígeno" es una entidad a la que un anticuerpo se une específicamente. El receptor alfa de folato es el antígeno al que se une específicamente un anticuerpo alfa receptor de folato.

[0020] Los términos "cáncer" y "tumor" son bien conocidos en la técnica y se refieren a la presencia, p. ej., en un sujeto, de células que poseen características típicas de células causantes de cáncer, tales como la proliferación incontrolada, inmortalidad, metastásico potencial, rápido crecimiento y tasa de proliferación, y ciertos rasgos morfológicos característicos. Las células cancerosas a menudo tienen la forma de un tumor, pero tales células pueden existir solas dentro de un sujeto, o pueden ser células cancerosas no tumorigénicas, como las células de leucemia. Como se usa en el presente documento, el término "cáncer" incluye cánceres premalignos y malignos.

[0021] Como se usa en este documento, un "cáncer gástrico de expresión alfa de receptor fólico" incluye cualquier tipo de cáncer gástrico caracterizado porque las células cancerosas expresan o presente de su superficie receptora de folato alfa. Los cánceres gástricos que expresan el receptor alfa de folato incluyen, pero no se limitan a, adenocarcinomas gástricos (p. ej., tipo intestinal; tipo difuso; papilar; tubular; pobremente diferenciado; células de anillo de sello y adenocarcinoma mucinoso), sarcomas de tejidos blandos (p. ej., leiomiomas y tumores del estroma gastrointestinal), linfomas (p. ej., linfomas de tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT)), tumores carcinoides y carcinoma neuroendocrino de células pequeñas.

[0022] Como se usa en este documento, un sujeto que está "aflicto con cáncer gástrico de expresión alfa de receptor de folato" es uno que está clínicamente diagnosticado con un cáncer tal por un médico cualificado (p. ej., por los métodos descritos en el presente documento), o uno que exhibe uno o más signos o síntomas de dicho cáncer y posteriormente es diagnosticado clínicamente con dicho cáncer por un médico calificado (p. ej., por los métodos descritos aquí). Un sujeto no humano que sirve como modelo animal de cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato también puede caer dentro del alcance de un sujeto "afectado por cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato".

[0023] El término "inhibir" o "inhibición de" significa reducido en una cantidad medible, o para prevenir por completo.

[0024] El término "agotan", en el contexto del efecto de un anticuerpo receptor de folato alfa en células de expresión alfa de receptor de folato, se refiere a una reducción en el número de, o eliminación de, células de expresión alfa de receptor de folato.

[0025] El término "funcional", en el contexto de un anticuerpo anti-folato receptor alfa que se utiliza de acuerdo con

los métodos descritos en este documento, indica que el anticuerpo es (1) capaz de unirse a folato receptor alfa y/o (2) destruye o inhibe la proliferación de células-alfa que expresan el receptor de folato.

[0026] El término "profilaxis" se refiere a la administración de un anticuerpo alfa receptor de folato o fragmento de unión a antígeno del mismo a un sujeto antes del inicio de un síntoma clínico o de diagnóstico de un cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato (p. ej., administración a un individuo con predisposición o con alto riesgo de cáncer gástrico) para (a) bloquear la aparición o aparición del cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato, o uno o más de los síntomas clínicos o diagnósticos del mismo, (b) inhibir la gravedad de la aparición del receptor gástrico que expresa alfa alfa cáncer, o (c) para disminuir la probabilidad de aparición del cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato.

[0027] Los términos "tratamiento" o "tratar" se refieren a ralentizar, detener o invertir la progresión de un receptor de folato cáncer gástrico de expresión alfa en un paciente, como se evidencia por una disminución o eliminación de un síntoma clínico o diagnóstico de la enfermedad, mediante la administración de un anticuerpo anti receptor de folato alfa o un fragmento de unión a antígeno del mismo al sujeto después del inicio de un síntoma clínico o diagnóstico del cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato en cualquier etapa clínica. El tratamiento puede incluir, p. ej., una disminución en la gravedad de un síntoma, el número de síntomas o la frecuencia de la recaída.

[0028] El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas propiedades y/o sustancias que son aceptables para el paciente desde un punto de vista farmacológico/toxicológico y para el químico farmacéutico fabricante desde un punto físico/químico de vista respecto a la composición, formulación, estabilidad, aceptación del paciente y biodisponibilidad e incluye propiedades y/o sustancias aprobadas por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o que Figuran en la farmacopea de EE.UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en humanos. El término "ingrediente farmacéuticamente compatible" se refiere a un diluyente farmacéuticamente aceptable, adyuvante, excipiente, o vehículo con el que se administra un anticuerpo alfa receptor anti-folato. "Vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un medio que no interfiere con la efectividad de la actividad biológica del ingrediente o ingredientes activos y no es tóxico para el huésped al que se administra.

[0029] Los términos "cantidad eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se usan indistintamente en este documento y, en el contexto de la administración de un agente farmacéutico, se refieren a la cantidad del agente que es suficiente para inhibir la aparición o mejorar uno o más síntomas clínicos o diagnósticos de un cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato en un paciente. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente puede variar según factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para provocar una respuesta deseada en el individuo. Tales resultados pueden incluir, pero no se limitan al tratamiento de un cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato, según se determine por cualquier medio adecuado en la técnica. Se administra una cantidad efectiva de un agente de acuerdo con los métodos descritos en este documento en un "régimen efectivo". El término "régimen efectivo" se refiere a una combinación de la cantidad del agente y la frecuencia de dosificación adecuada para lograr el tratamiento de un cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato.

[0030] Los términos "paciente" y "sujeto" se utilizan indistintamente para referirse a humanos y otros animales no humanos, incluyendo sujetos veterinarios, que reciben tratamiento diagnóstico, profiláctico o terapéutico. El término "animal no humano" incluye todos los vertebrados, p. ej., mamíferos y no mamíferos, como primates no humanos, ratones, conejos, ovejas, perros, gatos, caballos, vacas, pollos, anfibios y reptiles. En una realización preferida, el sujeto es un humano. En algunas realizaciones, el sujeto es de ascendencia japonesa.

[0031] Los agentes terapéuticos son típicamente sustancialmente puros a partir de contaminantes no deseados. Esto significa que un agente tiene típicamente una pureza de al menos aproximadamente 50% p/p (peso/peso), además de estar sustancialmente libre de proteínas y contaminantes que interfieren. Algunas veces los agentes tienen al menos aproximadamente 80% p/p y, más preferiblemente, al menos 90 o aproximadamente 95% p/p de pureza. Sin embargo, usando técnicas de purificación de proteínas convencionales, se pueden obtener péptidos homogéneos de al menos 99% de pureza p/p.

I. General

[0032] La descripción proporciona métodos de detección, diagnóstico, pronóstico, profilaxis y el tratamiento y el seguimiento de tratamiento de receptor de folato cáncer gástrico de expresión alfa utilizando anticuerpos al folato receptor alfa, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Los métodos se basan en parte en los resultados presentados en los Ejemplos que muestran que el receptor alfa de folato se expresa en ciertos cánceres gástricos y que la estabilización a largo plazo de la enfermedad del cáncer gástrico que expresa el receptor alfa de folato se puede lograr mediante la administración de un anticuerpo alfa receptor de folato.

II Anticuerpos a folato receptor alfa

[0033] La descripción que sigue primero considera propiedades de anticuerpos a folato receptor alfa aplicable a la detección de ácido fólico receptor alfa en el cáncer gástrico y el tratamiento del mismo, y luego se centra en las

propiedades preferidas de los anticuerpos para esa aplicación.

A. Anticuerpos para folato receptor alfa, en general

- 5 **[0034]** Los anticuerpos del receptor alfa anti-folato incluyen monoclonales, quiméricos (p. ej., que tienen una región constante humana y la región variable de ratón), humanizados o anticuerpos humanos; anticuerpos de cadena sencilla, o similares. Las moléculas de inmunoglobulina pueden ser de cualquier tipo o clase (p. ej., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY) o subclase (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2).
- 10 **[0035]** Los anticuerpos alfa anti-receptor de folato pueden ser un fragmento de anticuerpo de unión a antígeno tal como un Fab, un F(ab'), un F(ab')₂, una cadena Fd, un Fv de cadena única (scFv), un anticuerpo de cadena sencilla, un Fv unido por disulfuro (sdFv), un fragmento que comprende un dominio V_L o V_H, que incluye nanocuerpos o fragmentos de camellos, llamas o similares, o fragmentos producidos por una biblioteca de expresión Fab, o un fragmento de unión al receptor de folato alfa de cualquiera de los anticuerpos anteriores descrito anteriormente. Los
- 15 fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno, incluidos los anticuerpos de cadena sencilla, pueden comprender la(s) región(es) variable(s) sola(s) o en combinación con la totalidad o una parte de lo siguiente: región de bisagra, dominios CH1, CH2, CH3 y CL. Además, los fragmentos de unión a antígeno pueden comprender cualquier combinación de región(es) variable(s) con una región bisagra, dominios CH1, CH2, CH3 y CL. Típicamente, los anticuerpos son humanos, roedores (p. ej., ratones y ratas), burros, ovejas, conejos, cabras, cobayas, camélidos, caballos o pollos.
- 20 **[0036]** Los anticuerpos pueden ser mono-específicos, bi-específicos, tri-específicos, o de mayor multi-especificidad. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítopos del receptor alfa de folato o pueden ser específicos tanto para el receptor alfa de folato como para una proteína heteróloga. (Véanse, p. ej., Publ. Internacional N^{os} WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147: 60-69; Patente de EE.UU. N^{os} 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; y 5,601,819; Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148: 1547-1553.)
- 25 **[0037]** Los anticuerpos alfa anti-receptor de folato también se pueden describir en términos de su afinidad de unión al receptor alfa de folato, de 10⁻⁷ M, 5 x 10⁻⁸ M, 10⁻⁸ M, 5 X 10⁻⁹ M, 10⁻⁹ M, 5 X 10⁻¹⁰ M, 10⁻¹⁰ M, 5 X 10⁻¹¹ M, 10⁻¹¹ M, 5 X 10⁻¹² M, 10⁻¹² M, 5 x 10⁻¹³ M, 10⁻¹³ M, 5 X 10⁻¹⁴ M, 10⁻¹⁴ M, 5 X 10⁻¹⁵ M, o 10⁻¹⁵ M.
- 30 **[0038]** Un anticuerpo alfa receptor anti-folato puede ser un anticuerpo quimérico. Un anticuerpo quimérico es una molécula en donde diferentes porciones del anticuerpo se derivan de diferentes especies animales, como los anticuerpos que tienen una región variable derivada de un anticuerpo monoclonal murino y una región constante de inmunoglobulina humana. Los métodos para producir anticuerpos quiméricos son conocidos en la técnica. (Véase, p. ej., Morrison, Science, 1985, 229: 1202; Oi et al., 1986, BioTechniques 4: 214; Gillies et al., 1989, J. Immunol. Methods 125: 191-202; Pat. de EE.UU. N^{os} 5,807,715; 4,816,567; y 4,816,397.)
- 35 **[0039]** un anticuerpo anti-receptor de folato alfa también puede ser un anticuerpo humanizado incluye un anticuerpo chapeado. Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpos que se unen al antígeno deseado y tienen una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una especie no humana, y regiones marco y constantes de una molécula de inmunoglobulina humana. A menudo, los residuos marco en las regiones marco humanas se sustituirán con el residuo correspondiente del anticuerpo donador de CDR para alterar, o preferiblemente mejorar, la unión al antígeno. Estas sustituciones marco se identifican por métodos bien conocidos en la técnica, p. ej., modelando las interacciones de la CDR y los residuos marco para identificar los residuos marco importantes para la unión al antígeno y la comparación de secuencias para identificar residuos marco inusuales en posiciones particulares. (Véase, p. ej., Queen et al., Patente de los Estados Unidos N^o 5,585,089; Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323.) Los anticuerpos pueden humanizarse usando una variedad de técnicas conocidas en la técnica, tales como el injerto de CDR (EP 0 239 400; WO 91/09967; Patentes de los Estados Unidos N^{os} 5,225,539; 5,530,101; y 5,585,089), enchapado o revestimiento (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 barajado de cadenas (Patente de los EE.UU. N^o 5,565,332).
- 40 **[0040]** Un anticuerpo anti-folato receptor alfa también puede ser un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos pueden prepararse mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, tales como métodos de presentación en fagos que usan bibliotecas de anticuerpos derivadas de secuencias de inmunoglobulina humana. Véase también, p. ej., la patente de EE.UU. N^{os} 4,444,887 y 4,716,111; WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 y WO 91/10741. Además, se puede generar un anticuerpo humano que reconoce un epítipo seleccionado usando una técnica denominada "selección guiada", en donde se usa un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, p. ej., un anticuerpo de ratón, para guiar la selección de un ser completamente humano.
- 55 anticuerpo que reconoce el mismo epítipo (véase, p. ej., Jaspers et al., 1994, Biotechnology 12: 899-903). Los anticuerpos humanos también se pueden producir usando ratones transgénicos que expresan genes de inmunoglobulina humana. Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno pueden obtenerse de ratones humanizados y transgénicos usando tecnología de hibridoma. Para una visión general de la tecnología para producir anticuerpos humanos, ver 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 tales
- 60 anticuerpos humanos, ver 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 tales
- 65 anticuerpos humanos, ver 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 tales

anticuerpos, véase, p. ej., Intl. Publ. N^{os} WO 98/24893; WO 92/01047; WO 96/34096; WO 96/33735; Patente Europea No. 0598877; y la patente de EE.UU. N^{os} 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.

5 **[0041]** Los anticuerpos pueden ensayarse para la unión a folato receptor alfa por métodos conocidos, tales como, por ejemplo específico, sistemas de inmunoensayo competitivos y no competitivos usando técnicas tales como transferencias Western, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo inmunoenzimático), inmunoensayos "sandwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitación, reacciones de precipitación por difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación de complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunoensayos de proteína A. (Ver, p. ej., Ausubel et al., Eds., Short Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 4^a ed. 1999); Harlow & Lane, Using Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1999.)

15 **[0042]** Además, la afinidad de unión de un anticuerpo a folato receptor alfa y fuera de la tasa de un receptor de anticuerpo-folato interacción alfa se puede determinar mediante ensayos de unión competitiva. Un ejemplo de un ensayo de unión competitiva es un radioinmunoensayo que comprende la incubación del receptor alfa de folato marcado (p. ej., ³H o ¹²⁵I) con el anticuerpo de interés en presencia de cantidades crecientes de receptor alfa de folato no marcado, y la detección del anticuerpo unido al receptor alfa de folato marcado. La afinidad del anticuerpo por el receptor alfa de folato y las tasas de unión se pueden determinar a partir de los datos mediante análisis de parcela de Scatchard. La competencia con un segundo anticuerpo también se puede determinar usando radioinmunoensayos. En este caso, el receptor de folato alfa se incuba con el anticuerpo de interés conjugado con un compuesto marcado (p. ej., ³H o ¹²⁵I) en presencia de cantidades crecientes de un segundo anticuerpo no marcado. Alternativamente, la afinidad de unión de un anticuerpo al receptor alfa de folato y las tasas de activación y desactivación de una interacción alfa de receptor de folato de anticuerpo se pueden determinar mediante resonancia de plasmón superficial.

25 **[0043]** Los anticuerpos se pueden hacer a partir de fragmentos que contienen antígeno de la proteína receptor de folato alfa por procedimientos estándar de acuerdo con el tipo de anticuerpo (véase, p. ej., Kohler, et al, Nature, 256: 495, (1975); Harlow y. Lane, Antibodies, A Laboratory Manual (CSHP, NY, 1988); Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 86: 10029-10033 (1989) y WO 90/07861; Dower et al., WO 91/17271 y McCafferty et al., Documento WO 30 92/01047. Como ejemplo, los anticuerpos monoclonales pueden prepararse usando una amplia variedad de técnicas que incluyen, p. ej., el uso de hibridoma, recombinante y tecnologías de presentación de fagos, o una combinación de los mismos. las técnicas se discuten generalmente en, p. ej., Harlow et al., supra, y Hammerling, et al., In Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, pp. 563-681 (Elsevier, NY, 1981). Los ejemplos de métodos de presentación en fagos que pueden usarse para preparar los anticuerpos alfa del receptor anti-folato incluyen, p. ej., los descritos en 35 Brinnan et al., 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50; Ames y col., 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^o 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 la patente de EE.UU. N^{os} 40 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.

[0044] Las técnicas para generar fragmentos de anticuerpos que reconocen epítomos específicos también se conocen generalmente en la técnica. Por ejemplo, los fragmentos Fab y F(ab')₂ se pueden producir mediante la escisión proteolítica de las moléculas de inmunoglobulina, utilizando enzimas como la papaína (para producir fragmentos Fab) 45 o la pepsina (para producir fragmentos F(ab')₂). Los fragmentos F(ab')₂ contienen la región variable, la región constante de la cadena ligera y el dominio CH1 de la cadena pesada. Las técnicas para producir recombinantemente fragmentos Fab, Fab' y F(ab')₂ también se pueden emplear usando, p. ej., 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.

50 **[0045]** Los ejemplos de técnicas que se pueden usar para producir Fvs de cadena sencilla y anticuerpos incluyen los descritos en la patente de EE.UU. N^{os} 4,946,778 y 5,258,498; Huston et al., 1991, Methods in Enzymology 203: 46-88; Shu y col., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos 90: 7995-7999; y Skerra et al., 1988, Science 240: 1038-1040.

55 **[0046]** Los anticuerpos alfa del receptor anti-folato y sus derivados que son útiles en los presentes métodos también se pueden producir mediante técnicas de expresión recombinante. La expresión recombinante de un anticuerpo o derivado del mismo que se une al receptor alfa de folato y/o agota o inhibe la proliferación de células que expresan alfa receptor de folato requiere la construcción de un vector de expresión que contenga un ácido nucleico que codifique el anticuerpo o derivado del mismo. Una vez se ha obtenido el ácido nucleico que codifica dicha proteína, el vector para la producción de la molécula de proteína se puede producir mediante tecnología de ADN recombinante usando técnicas bien conocidas en la técnica. Técnicas estándar como las descritas en Sambrook y Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 3^a ed., 2001); Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2^a ed., 1989); Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, Nueva York, 4^a ed., 1999); y Glick & Pasternak, Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA (ASM Press, Washington, DC, 60 65

2ª Ed., 1998) pueden usarse para métodos de ácido nucleico recombinante, síntesis de ácido nucleico, cultivo celular, incorporación de transgenes y expresión de proteína recombinante.

[0047] P. ej., para la expresión recombinante de un anticuerpo receptor alfa anti-folato, un vector de expresión puede codificar una cadena pesada y/o ligera del mismo, o una cadena pesada y/o un dominio variable de cadena ligera, unido operativamente a un promotor. Un vector de expresión puede incluir, p. ej., la secuencia de nucleótidos que codifica la región constante de la molécula de anticuerpo (ver, p. ej., WO 86/05807; WO 89/01036; y la Patente de los EE.UU. Nº 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 alfa receptor anti-folato. Típicamente, para la expresión de anticuerpos de doble cadena, los vectores que codifican las cadenas pesada y ligera pueden coexpresarse en la célula huésped para la expresión de la molécula de inmunoglobulina completa.

[0048] Una variedad de sistemas de vectores de expresión en huésped procariotas y eucariotas se puede utilizar para expresar un folato anti-receptor alfa de anticuerpo o derivado del mismo. Típicamente, las células eucariotas, particularmente para las moléculas de anticuerpo alfa del receptor anti-folato recombinante completo, se usan para la expresión de la proteína recombinante. Por ejemplo, las células de mamíferos como las células NS0 o las células de ovario de hámster chino (CHO) (p. ej., DG44 o CHO-S) junto con un elemento promotor, como el elemento promotor genético intermedio temprano principal del citomegalovirus humano o el promotor EF-1 alfa de ovario de hámster chino, es un sistema de expresión eficaz para la producción de anticuerpos alfa anti-receptor de folato y sus derivados (ver, p. ej., Foecking et al., 1986, Gene 45: 101; Cockett et al., 1990, Bio/Technology 8: 2; Allison, Patente de los EE.UU. Nº 5,888,809).

[0049] Otros sistemas de expresión en huésped incluyen, sistemas de expresión basados en plásmidos en células bacterianas (véase, p. ej., Ruther et al, 1983, EMBO 1, 2:1791; Inouye y 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 poliedrosis nuclear de Autographa californica (AcNPV) en células de Spodoptera frugiperda; y sistemas de expresión basados en virus en células de mamífero, tales como sistemas basados en adenovirus (véase, p. ej., Logan y Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 81: 355-359; Bittner et al., 1987, Methods in Enzymol. 153: 51-544).

B. Los anticuerpos para la detección de cáncer gástrico de expresión alfa de receptor de folato

[0050] Un anticuerpo preferido para la detección de folato receptor alfa en los cánceres gástricos es el anticuerpo monoclonal 26B3. Otros anticuerpos preferidos para la detección del receptor alfa de folato en los cánceres gástricos compiten con 26B3 por la unión específica al receptor alfa de folato. Otros anticuerpos preferidos para la detección del receptor alfa de folato en cánceres gástricos comprenden una cadena pesada que comprende las tres CDR de la cadena pesada de 26B3 y una cadena ligera que comprende las tres CDR de la cadena ligera de 26B3 como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Anticuerpo monoclonal 26B3 (región constante de IgG1 murina)

Segmento de anticuerpos	SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos
CDRL1	9	RTSENIFSYLA
CDRL2	10	NAKTLAE
CDRL3	11	QHHYAFPWT
Segmento de dominio variable LC	12	PASLSASVGETVTITCRTSENIFSYLAWYQQKQ GISPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLK INSLQPEDFGSYQCQHHYAFPWTFGGGSKLEIK RADAAP
CDRH1	13	GYFMN
CDRH2	14	RIFPYNGDTFYNQKFKG
CDRH3	15	GTHYFDY
Segmento de dominio variable HC	16	GPVLKPGASVKISCKASDYSFTGYFMNWVMQ SHGKSLEWIGRIFPYNGDTFYNQKFKGRATLTV DKSSSTAHEMLRSLASEDSA VYFCARGTHYFD YWGQGTTLVSSAKTTPPSVYPLAPGSA AQT

[0051] Otros anticuerpos preferidos para la detección de folato receptor alfa en los cánceres gástricos comprenden un maduro pesada de la región variable de cadena que tiene al menos 90% de identidad de secuencia con la maduro de la cadena pesada de la región variable de 26B3 y una región variable de cadena ligera madura que tiene al menos un 90% de identidad de secuencia con la región variable de cadena ligera madura de 26B3.

C. Los anticuerpos para el receptor alfa de folato para aplicaciones terapéuticas

[0052] Los anticuerpos utilizados para aplicaciones terapéuticas unirán específicamente a folato receptor alfa en células de cáncer gástrico. Por ejemplo, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en:

- (a) un anticuerpo que comprende SEQ ID NO: 1 (GFTFSGYGLS) como CDRH1, SEQ ID NO: 2 (MISSGGSYTYADSVKG) como CDRH2, SEQ ID NO: 3 (HGDDPAWFAY) como CDRH3, SEQ ID NO: 4 (SVSSSISSNNLH) como CDRL1, SEQ ID NO: 5 (GTSNLAS) como CDRL2 y SEQ ID NO: 6 (QQWSSYPMYT) como CDRL3; o
 (b) un anticuerpo que se une al mismo epítipo que el anticuerpo MORAb-003.

[0053] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende un maduro región variable de cadena ligera que comprende la amino ácido secuencia de SEQ ID NO: 7:

```

1   DIQLTQSPSS LSASVGDRVIT ITCVSSSSIS SNNLHWYQOK PGKAPKPWIY
51  GTSNLASGVP SRFSGSGSGT DYTFTISSLQ PEDIATYYCQ QWSSYPMYT
101 FGQGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVCLLN NFYPREAKVQ
151 WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT
201 HQGLSSPVTK SFNRGEC
    
```

(CDR subrayados).

[0054] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada madura que comprende la amino SEC ácido ID NO: 8:

```

1   EVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCSASGFTFS GYGLSWVRQA PGKGLEWVAM
30  ISSGGSYTY ADSVKGRFAI SRDNAKNTLF LQMDSLRPED TGVYFCARHG
101 DDPAWFAYWG QGTPVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
151 YFPEPVTWSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGTQTY
35  201 ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCP CPAPPELLGGP SVFLFPPKPK
251 DTLMISRTPV VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
301 TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
40  351 YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL
401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK
    
```

(CDR subrayados).

[0055] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera madura que comprende la secuencia de amino ácido de SEQ ID NO: 7 y una región variable de cadena pesada madura que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. Un ejemplo de tal un anticuerpo es MORAb-003. Las células CHO que producen MORAb-003 (USAN: farletuzumab) se depositaron en el ATCC (10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110) el 24 de abril de 2006 y se les asignó el número de acceso. PTA-7552.

[0056] Otros anticuerpos útiles comprenden regiones variables de cadena ligera y pesada maduras que tienen al menos 90% y preferiblemente al menos 95% o 99% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8, respectivamente. Otros anticuerpos alfa del receptor antifolato útiles o sus derivados pueden inhibir competitivamente la unión de MORAb-003 al receptor alfa del folato, como se determina, p. ej., por inmunoensayo. La inhibición competitiva significa que un anticuerpo cuando está presente en un exceso de al menos dos veces y preferiblemente cinco veces inhibe la unión de MORAb-003 al receptor alfa de folato en al menos 50%, más típicamente al menos 60%, pero más típicamente al menos 70%, y más típicamente al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95%.

[0057] Un derivado de un anticuerpo receptor alfa anti-folato también se puede usar en la práctica de los métodos actuales. Las modificaciones típicas incluyen, p. ej., glicosilación, desglicosilación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivación por grupos protectores/bloqueadores conocidos, escisión proteolítica, unión a un ligando celular u otra proteína, y similares. Además, el derivado puede contener uno o más aminoácidos no clásicos.

[0058] Los anticuerpos anti-FRA descritos y fragmentos de unión a antígeno se pueden marcar de forma detectable.

En algunas realizaciones, los anticuerpos marcados y los fragmentos de unión a antígeno pueden facilitar la detección de FRA mediante los métodos descritos en este documento. Muchas de estas etiquetas son fácilmente conocidas por los expertos en la materia. Por ejemplo, las etiquetas adecuadas incluyen, entre otras, radiomarcadores, etiquetas fluorescentes (como DyLight® 649), etiquetas de epítipo, biotina, etiquetas de cromóforo, etiquetas de ECL o enzimas. Más específicamente, las etiquetas descritas incluyen rutenio, ¹¹¹In-DOTA, ácido ¹¹¹In-dietilentriaminopentaacético (DTPA), peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina y beta-galactosidasa, poli-histidina (etiqueta HIS), tintes de acridina, tintes de cianina, tintes de fluorona, tintes de oxazina, tintes de fenantridina, tintes de rodamina, tintes de Alexafluor® y similares.

10 III. Detección de folato receptor alfa

[0059] Las muestras a ser ensayadas para aplicaciones de diagnóstico se pueden obtener por procedimientos quirúrgicos, p. ej., biopsia. El receptor alfa de folato se detecta típicamente mediante un inmunoensayo en donde una muestra que contiene células que se sabe o se sospecha que provienen de un cáncer (p. ej., cáncer gástrico) se pone en contacto con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. Después del contacto, se determina la presencia o ausencia de un evento de unión del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno a las células en la muestra. La unión está relacionada con la presencia o ausencia del antígeno expresado en las células cancerosas en este espécimen. Generalmente, la muestra se pone en contacto con un par de unión específico marcado del anticuerpo alfa receptor de antifolato o fragmento de unión a antígeno capaz de producir una señal detectable. Alternativamente, el anticuerpo alfa receptor de folato o el fragmento en sí mismo pueden marcarse. Ejemplos de tipos de marcadores incluyen marcadores enzimáticos, marcadores radioisotópicos, marcadores no radiactivos, marcadores fluorescentes, marcadores de toxinas y marcadores quimioluminiscentes. La detección de una señal de la etiqueta indica la presencia del anticuerpo o fragmento específicamente unido al receptor alfa de folato en la muestra.

[0060] Los anticuerpos anti-FRA y los fragmentos de unión a antígeno descritos y los fragmentos de unión a antígeno pueden usarse en una variedad de ensayos para detectar FRA en una muestra. Algunos ensayos adecuados incluyen, entre otros, análisis de transferencia Western, radioinmunoensayo, inmunofluorimetría, inmunoprecipitación, diálisis de equilibrio, inmunodifusión, electroquimioluminiscencia (ECL), inmunohistoquímica, clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) o ensayo ELISA.

[0061] En algunas formas de realización descritas en este documento la detección de expresión de FRA de células de cáncer gástrico en un sujeto puede ser utilizado para determinar que el sujeto puede ser tratado con un agente terapéutico dirigido contra FRA. El agente terapéutico dirigido contra FRA es farletuzumab.

[0062] En algunas realizaciones, la detección de FRA en una muestra, tal como una muestra histológica, una muestra de aspirado de aguja fina, tejido tumoral resecado, células circulantes, las células tumorales circulantes, y similares, proporciona la capacidad de diagnosticar expresión FRA de cáncer gástrico en el sujeto de quien se obtuvo la muestra. En algunas realizaciones, puede que ya se sepa que el sujeto del que se obtuvo la muestra tiene cáncer, pero el tipo de cáncer que afecta al sujeto aún puede no haber sido diagnosticado o un diagnóstico preliminar puede no estar claro, por lo tanto, detectar FRA en una muestra obtenida del sujeto puede permitir o aclarar el diagnóstico del cáncer.

[0063] La muestra sobre la que se lleva a cabo el ensayo puede ser fijo o congelado para permitir el seccionamiento 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 mercuríco. 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. Opcionalmente, las muestras de FFPE se pueden tratar con citrato, EDTA, digestión enzimática o calor para aumentar la accesibilidad de los epítipos.

[0064] Alternativamente, una fracción de proteína se puede aislar a partir de células de sabe o se sospecha cáncer gástrico y se analizó por ELISA, transferencia de Western, inmunoprecipitación o similares. En otra variación, las células pueden analizarse para la expresión del receptor alfa de folato mediante análisis FACS, preferiblemente en combinación con otro marcador de células de cáncer gástrico.

[0065] En una variación adicional, el ARNm se puede extraer de las células de cáncer gástrico conocido o sospechado. El ARNm o un ácido nucleico derivado del mismo, como un ADNc, se puede analizar por hibridación con una sonda nucleica que se une al ADN que codifica el receptor alfa de folato.

[0066] En otra variación, un cáncer gástrico se puede detectar *in vivo* mediante la administración de un anticuerpo anti-folato receptor alfa o fragmento de unión a antígeno del mismo a un paciente y detectar el anticuerpo o fragmento de formación de imágenes *in vivo*.

[0067] La detección del receptor alfa de folato en muestras de tejido puede ser cualitativa o cuantitativa o ambas. Detección cualitativa significa detectar la presencia o ausencia de expresión alfa del receptor de folato. La expresión cuantitativa significa determinar un nivel de expresión del receptor alfa de folato. La presencia y/o nivel de receptor alfa de folato en una muestra de tejido gástrico en cuestión puede (pero no necesariamente) determinarse con respecto a uno o más estándares. Los estándares pueden determinarse histórica o contemporáneamente. El estándar puede

ser, p. ej., una muestra de tejido gástrico que se sabe que no es cancerosa de un sujeto diferente, un tejido del paciente u otro sujeto que se sabe que no expresa el receptor alfa de folato, o una línea celular gástrica. El estándar también puede ser la muestra del paciente bajo análisis en contacto con un anticuerpo irrelevante (p. ej., un anticuerpo elevado a un antígeno bacteriano).

5
10
[0068] La presencia de la señal detectable de la unión de un anticuerpo anti-folato receptor alfa o fragmento de ácido fólico receptor alfa con relación a un estándar (si se utiliza) indica la presencia de folato receptor alfa en la muestra de tejido, y el nivel de unión detectable proporciona una indicación del nivel de expresión del receptor alfa de folato. En los ensayos realizados en secciones de tejido, el nivel de expresión puede expresarse como un porcentaje del área superficial de la muestra que muestra la expresión detectable del receptor alfa de folato. 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 el receptor alfa de folato en la muestra.

15 IV. Diagnóstico, pronóstico, diseño y monitorización del tratamiento

[0069] La detección de la expresión del receptor alfa de folato en una muestra de tejido gástrico es una indicación de que la muestra es cancerosa. La indicación de cáncer proporcionada por la presencia y/o el nivel de receptor alfa de folato se puede combinar con medios de diagnóstico, como un examen interno o externo de un paciente por parte de un médico, una prueba de heces para verificar si hay sangre en las heces, un conteo sanguíneo completo para comprobar si hay anemia, esofagogastroduodenoscopia con biopsia, rayos X, tomografía computarizada (TC), tomografía PET (tomografía por emisión de positrones), tomografía PET/CT, ultrasonido, resonancia magnética, análisis de gonadotropina coriónica beta humana, CA125 y/o antígeno carcinoembrionario en sangre, endoscopia, laparoscopia, examen histológico y cultivo de tejidos para llegar a un diagnóstico general.

20
25
30
[0070] Quizás de mayor relevancia para el médico, la presencia y el nivel de receptor alfa de folato proporciona información útil para diseñar un protocolo de tratamiento para el paciente y, en particular, administrar un anticuerpo contra el receptor alfa de folato o un fragmento de unión a antígeno del mismo a un paciente. Cuanto mayor sea el nivel de expresión del receptor de folato alfa y/o el mayor porcentaje de un tumor que exprese el receptor de folato alfa, es probable que el tratamiento sea más efectivo. El análisis continuo del receptor alfa de folato después del tratamiento proporciona un medio para monitorear si el tratamiento es efectivo, en donde la estabilización o reducción en el nivel de señal alfa positiva del receptor de folato (es decir, como un proxy de la presencia de células cancerosas alfa positivas de receptor de folato) es indicativo de que el tratamiento es efectivo.

35 V. Los pacientes susceptibles de tratamiento

[0071] Los pacientes susceptibles de tratamiento por los métodos por lo general tienen niveles detectables de folato receptor alfa en su tejido gástrico acompañados de otros signos o síntomas de cáncer como se describió anteriormente. Existe una variedad de subtipos y etapas de cáncer gástrico como se describe con más detalle a continuación.

40
45
[0072] A veces, los pacientes tratados por los presentes métodos han sido sometidos a otros tipos de tratamiento previamente (p. ej., cirugía, quimioterapia y/o radiación). En algunos casos, el tratamiento previo puede no haber inducido la remisión o incluso haber frenado el crecimiento del cáncer. En algunos de estos pacientes, el cáncer es refractario al tratamiento con una de estas terapias.

50
[0073] Algunos pacientes con riesgo de cáncer gástrico también pueden tratarse profilácticamente antes de que aparezcan los signos y síntomas de la enfermedad. Tales individuos incluyen aquellos que tienen familiares que han experimentado la enfermedad, aquellos cuyo riesgo se determina mediante el análisis de marcadores genéticos o bioquímicos, aquellos que tienen una infección del estómago por *Helicobacter pylori*, aquellos que han tenido un pólipo del estómago mayor de 2 centímetros, aquellos quienes han tenido inflamación e hinchazón del estómago por un tiempo prolongado (gastritis atrófica crónica), quienes tienen una ingesta habitual de sal, quienes usan productos de tabaco, quienes consumen alcohol y quienes tienen anemia perniciosa.

55
60
[0074] Los individuos que padecen cáncer gástrico pueden reconocerse según la histología del tumor, obtenida en un informe de patología. La histología dicta muchos aspectos del tratamiento clínico, el manejo y el pronóstico. La mayoría de los tumores gástricos son adenocarcinomas (p. ej., tipo intestinal; tipo difuso; papilar; tubular; poco diferenciado; células señalizadoras; y adenocarcinoma mucinoso). Otros tumores gástricos incluyen sarcomas de tejidos blandos (p. ej., leiomiomas y tumores del estroma gastrointestinal), linfomas (p. ej., linfomas de tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT)), tumores carcinoides, carcinoma neuroendocrino de células pequeñas.

65
[0075] La estadificación del cáncer gástrico se puede realizar de acuerdo con el sistema TNM. En el estadio 0 (carcinoma in situ), se encuentran células anormales en el revestimiento interno de la mucosa (capa más interna) de la pared del estómago. Estas células anormales pueden convertirse en cáncer y diseminarse al tejido normal cercano. En el estadio I, el cáncer se formó en el revestimiento interno de la mucosa (capa más interna) de la pared del estómago. El estadio I se divide en estadio IA y estadio IB, según el lugar donde se diseminó el cáncer. En el estadio IA, el cáncer puede haberse diseminado a la submucosa (capa de tejido al lado de la mucosa) de la pared del

estómago, mientras que en el estadio IB, cáncer: puede haberse diseminado a la submucosa de la pared del estómago y se encuentra en 1 o 2 ganglios linfáticos cerca del tumor; o el cáncer se ha diseminado a la capa muscular de la pared del estómago. El cáncer gástrico en estadio II se divide en estadio IIA y estadio IIB, según dónde se haya diseminado el cáncer. En el estadio IIA, el cáncer se diseminó hasta la subserosa de la pared del estómago; a la capa muscular de la pared del estómago y se encuentra en 1 o 2 ganglios linfáticos cerca del tumor; o hacia la submucosa de la pared del estómago y se encuentra en 3 a 6 ganglios linfáticos cerca del tumor. En el estadio IIB, el cáncer se diseminó hasta la serosa de la pared del estómago; a la subserosa de la pared del estómago y se encuentra en 1 o 2 ganglios linfáticos cerca del tumor; a la capa muscular de la pared del estómago y se encuentra en 3 a 6 ganglios linfáticos cerca del tumor; o hacia la submucosa de la pared del estómago y se encuentra en 7 o más ganglios linfáticos cerca del tumor. El cáncer gástrico en estadio III se divide en estadio IIIA, estadio IIIB y estadio IIIC, según dónde se haya diseminado el cáncer. En el estadio IIIA, el cáncer se diseminó hasta la capa de serosa de la pared del estómago y se encuentra en 1 o 2 ganglios linfáticos cerca del tumor; la subserosa de la pared del estómago y se encuentra en 3 a 6 ganglios linfáticos cerca del tumor; o la capa muscular de la pared del estómago y se encuentra en 7 o más ganglios linfáticos cerca del tumor. En el estadio IIIB, el cáncer se diseminó hasta los órganos cercanos, como el bazo, el colon transversal, el hígado, el diafragma, el páncreas, el riñón, la glándula suprarrenal o el intestino delgado, y puede encontrarse en 1 o 2 ganglios linfáticos cerca del tumor; la serosa de la pared del estómago y se encuentra en 3 a 6 ganglios linfáticos cerca del tumor; o la subserosa de la pared del estómago y se encuentra en 7 o más ganglios linfáticos cerca del tumor. En el estadio IIIC, el cáncer se diseminó hasta los órganos cercanos, como el bazo, el colon transversal, el hígado, el diafragma, el páncreas, el riñón, la glándula suprarrenal o el intestino delgado, y puede encontrarse en 3 o más ganglios linfáticos cerca del tumor; la serosa de la pared del estómago y se encuentra en 7 o más ganglios linfáticos cerca del tumor. En el estadio IV, el cáncer se diseminó a partes distantes del cuerpo. Una alternativa al sistema de estadificación TNM es la clasificación en tres etapas (potencialmente resecables, localmente avanzadas y metastásicas), que se basa en hallazgos radiológicos. También se consideran otros factores de pronóstico. La clasificación del cáncer gástrico también proporciona una indicación de cuán anormales se ven las células bajo el microscopio. El grado proporciona una indicación de qué tan rápido se pueden desarrollar las células cancerosas, con el grado 1 indicando un crecimiento lento (es decir, las células están bien diferenciadas) y es menos probable que se propaguen que los grados más altos; grado 2 indicativo de una apariencia más anormal y un crecimiento ligeramente más rápido; y grado 3, en donde las células cancerosas tienden a crecer más rápidamente, se ven muy anormales (están "poco diferenciadas") y tienen más probabilidades de diseminarse. Para los pacientes que se someten a cirugía (es decir, gastrectomía), la extensión de la resección, es decir, si se extirpa o no todo el tumor, también es importante con respecto al pronóstico. Esto a veces se enumera en una escala de R0 a R2 con R0 que indica que todo el tumor que se puede ver se ha eliminado y R2 que se puede ver que no se puede eliminar algún tumor que se puede ver.

[0076] Los primeros síntomas de cáncer gástrico no son específicos. Los síntomas comunes incluyen plenitud abdominal o dolor, que puede ocurrir después de una comida pequeña; heces oscuras; dificultad para tragar, que empeora con el tiempo; eructos excesivos; disminución general de la salud; pérdida de apetito; náusea; vómitos, que pueden contener sangre; debilidad o fatiga y/o pérdida de peso.

VI. Métodos de tratamiento y composiciones farmacéuticas

[0077] La presente descripción proporciona métodos de tratamiento o profilaxis de cáncer gástrico por los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno (que se hace referencia colectivamente como los "agentes" en este documento) dan a conocer en el presente documento, incluyendo pero no limitados a los descritos en la Parte II.C anteriormente.

[0078] Varios sistemas de entrega se pueden usar para administrar los agentes que incluyen las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, y oral. Los agentes pueden administrarse, p. ej., mediante infusión o inyección en bolo, mediante absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (p. ej., mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, y similares). La administración puede ser sistémica o local.

[0079] Los agentes pueden administrarse por inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio, o por medio de un implante, el ser implante de un material poroso, no poroso, o gelatinoso, incluyendo una membrana, tal como una membrana sialastic, o una fibra.

[0080] Alternativamente, los agentes pueden administrarse en un sistema de liberación controlada. Por ejemplo, se puede usar una bomba (ver 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 (consulte Aplicaciones médicas de liberación controlada (Langer & Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Florida, 1974); Biodisponibilidad controlada de medicamentos, diseño y rendimiento de productos farmacéuticos (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; Doring et al., 1989, Ann. Neurol. 25: 351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105.) Otros sistemas de liberación controlada se discuten, p. ej., en Langer, supra.

[0081] Los agentes pueden administrarse como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz del agente y uno o más vehículos farmacéuticamente ingredientes

compatibles. Por ejemplo, la composición farmacéutica incluye típicamente uno o más vehículos farmacéuticos (p. ej., Líquidos estériles, como agua y aceites, incluidos los de petróleo, origen animal, vegetal o sintético, como aceite de maní, 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 (p. ej., solución salina tamponada con fosfato) y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también pueden emplearse como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen, p. ej., almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche descremada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH (p. ej., aminoácidos) y/o agentes solubilizantes o estabilizantes (p. ej., tensioactivos no iónicos como interpolaciones o azúcares como sacarosa, trehalosa o similares). Estas composiciones pueden adoptar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, tabletas, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida y similares. También se incluyen preparaciones en forma sólida que están destinadas a convertirse, poco antes de su uso, en preparaciones líquidas. La composición puede formularse 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. EW Martin describe ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados en "Remington's Pharmaceutical Sciences". Dichas composiciones contendrán una cantidad terapéuticamente efectiva del ácido nucleico o proteína, típicamente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo para proporcionar la forma para la administración adecuada al paciente. Las formulaciones corresponden al modo de administración.

[0082] 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 lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, los ingredientes se suministran por separado o se mezclan en forma de dosificación unitaria, p. ej., como un polvo liofilizado seco o un concentrado en un recipiente herméticamente cerrado, como una ampolla o una bolsita que indica la cantidad de agente activo. Cuando la composición farmacéutica se va a administrar por infusión, se puede dispensar con una botella de infusión que contiene agua o solución salina estéril de grado farmacéutico. Cuando la composición farmacéutica se administra por inyección, se puede proporcionar una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina para que los ingredientes se puedan mezclar antes de la administración.

[0083] Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno y composiciones farmacéuticas para su uso como se describe en el presente documento se pueden administrar por vía oral en cualquier forma de dosificación aceptable, tal como cápsulas, comprimidos, suspensiones acuosas, soluciones o similares. Los anticuerpos y los fragmentos de unión al antígeno y las composiciones farmacéuticas también se pueden administrar por vía parenteral, incluidas, entre otras: inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intra-sinovial, intraesternal, intranasal, tópica, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. o técnicas de infusión. Generalmente, los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno y las composiciones farmacéuticas se administrarán por vía intravenosa o intraperitoneal, p. ej., por inyección.

[0084] La cantidad del agente que es eficaz en el tratamiento o profilaxis de cáncer gástrico se puede determinar mediante técnicas clínicas estándar. Además, los ensayos *in vitro* pueden emplearse opcionalmente para ayudar a identificar rangos de dosificación óptimos. La dosis precisa a emplear en la formulación también depende de la vía de administración y la etapa del cáncer, y debe decidirse de acuerdo con el criterio del profesional y las circunstancias de cada paciente. Las dosis efectivas se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o de modelos animales. Se puede formular una dosis en modelos animales para lograr un rango de concentración en plasma circulante que incluya la Cl_{50} (es decir, la concentración del compuesto de prueba que logra una inhibición de síntomas medios máximos) como se determina en el cultivo celular.

[0085] P. ej., la toxicidad y la eficacia terapéutica de los agentes puede determinarse en cultivos celulares o animales experimentales por procedimientos farmacéuticos estándar para determinar la LD_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED_{50} (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación LD_{50}/ED_{50} . Se prefieren los agentes que exhiben 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 a las células que expresan alfa del receptor no folato y, por lo tanto, reducir los efectos secundarios.

[0086] En algunas realizaciones, el sujeto puede ser administrado farletuzumab en un intervalo de dosis diaria de alrededor de 0,01 μ g a aproximadamente 500 mg por kg del peso del sujeto. Típicamente, la dosis de farletuzumab administrada a un paciente con un cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato es de 0,1 mg/kg a 100 mg/kg del peso corporal del sujeto. Más típicamente, la dosis administrada a un sujeto es de 0,1 mg/kg a 10 mg/kg del peso corporal del sujeto, aún más típicamente 0,1 mg/kg a 5 mg/kg, o 0,1 mg/kg a 3 mg/kg del peso corporal del sujeto. En algunas realizaciones, la dosificación de farletuzumab administrada a un sujeto que tiene cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato es de aproximadamente 2,5 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del sujeto. 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 extrañas. Por lo tanto, a menudo son posibles dosis

más bajas de composición farmacéutica que comprenden anticuerpos humanizados, quiméricos o humanos y una administración menos frecuente.

5 **[0087]** La dosis administrada al sujeto también se puede medir en términos de cantidad total de farletuzumab administrado por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran aproximadamente 5 a aproximadamente 5000 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 10 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, un sujeto se administra hasta aproximadamente 100 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 250 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 500 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 750 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 1000 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 1500 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, un sujeto se administra hasta aproximadamente 2000 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 2500 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 3000 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 3500 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 4000 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 4500 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, a un sujeto se le administran hasta aproximadamente 5000 miligramos de farletuzumab por día. En algunas realizaciones, el farletuzumab se administra a un sujeto semanalmente o quincenalmente.

25 **[0088]** Para el tratamiento eficaz, un experto en la técnica puede recomendar un programa de dosificación y cantidad de dosificación adecuada para el sujeto a tratar. Se puede preferir que la dosificación ocurra de una a cuatro o más veces al día durante el tiempo que sea necesario. La dosificación puede ocurrir con menos frecuencia si las composiciones se formulan en vehículos de suministro sostenido. El programa de dosificación también puede variar según la concentración activa del fármaco, que puede depender de las necesidades del sujeto.

30 **[0089]** Los presentes métodos se pueden combinar con otros medios de tratamiento, tales como cirugía, radiación, terapia dirigida, quimioterapia, inmunoterapia, el uso de inhibidores del factor de crecimiento, o factores anti-angiogénesis. Un anticuerpo alfa receptor anti-folato o un fragmento de unión a antígeno del mismo puede administrarse simultáneamente a un paciente sometido a tratamientos de cirugía, quimioterapia o radioterapia. Alternativamente, un paciente puede someterse a cirugía, quimioterapia o radioterapia antes o después de la administración de un anticuerpo alfa receptor de folato o un fragmento de unión al antígeno del mismo por 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 anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

40 VII. Kits

[0090] La descripción proporciona kits de diagnóstico para su uso con los métodos anteriores para la detección de cáncer gástrico de expresión a receptor alfa folato. Los kits típicamente contienen un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente al receptor alfa de folato (p. ej., 26B3) útil para la detección como se describió anteriormente. Uno o más recipientes adicionales pueden incluir elementos, como reactivos o tampones, para ser utilizados en el ensayo. Dichos kits también pueden contener, o alternativamente, un reactivo de detección que contiene un grupo indicador adecuado para la detección directa o indirecta de la unión de anticuerpos.

50 **[0091]** La descripción proporciona además kits farmacéuticos para el tratamiento de cáncer gástrico de expresión alfa de receptor de folato. Típicamente, tales kits contienen reactivos (p. ej., MORAb-003) formulados como una composición terapéutica como se describe aquí, y pueden estar en cualquiera de una variedad de formas adecuadas para su distribución en un kit. Dichas formas pueden incluir un líquido, polvo, tableta, suspensión y una formulación similar para proporcionar el anticuerpo alfa receptor de folato o un fragmento de unión a antígeno. Los kits también pueden incluir un diluyente farmacéuticamente aceptable (p. ej., agua estéril) para inyección, reconstitución o dilución del anticuerpo o fragmento liofilizado.

55 **[0092]** La descripción proporciona además kits combinados para diagnóstico y terapia. Tales kits incluyen típicamente al menos un anticuerpo que se une al receptor alfa de folato (p. ej., 26B3) para su uso en la detección en secciones de tejido fijas y un anticuerpo diferente que se une al receptor alfa de folato para su uso en el tratamiento (p. ej., MORAb-003).

60 **[0093]** Los kits también contienen típicamente una etiqueta o instrucciones para su uso en los métodos de detección y/o tratamiento descrito en el presente documento. La etiqueta o instrucción se refiere a cualquier material escrito o grabado que se adjunta o acompaña a un kit en cualquier momento durante su fabricación, transporte, venta o uso. Puede ser una notificación en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos, notificación que refleja la aprobación de la agencia de fabricación, uso o venta para la administración humana. La etiqueta o instrucción también puede incluir folletos y folletos publicitarios,

materiales de empaque, instrucciones, casetes de audio o video, discos de computadora, así como también escritos impresos directamente en los kits farmacéuticos.

[0094] Los siguientes ejemplos se proporcionan para describir con más detalle algunas de las realizaciones dadas a conocer en el presente documento. Los ejemplos pretenden ilustrar, no limitar, las realizaciones descritas.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Detección de cáncer gástrico de expresión de FRA usando anticuerpo 26B3

[0095] Se llevaron a cabo estudios de inmunohistoquímica (IHC) para determinar la unión a muestras de tejido embebidas en formalina fija en parafina (FFPE). La Tabla 2 identifica las muestras de tejido incluidas en el análisis. En particular, se incluyen muestras de cáncer gástrico con metástasis ("mets gástricos") a otros tejidos específicos. Por ejemplo, el espécimen n.º 4 es una muestra de cáncer gástrico con metástasis a la vejiga urinaria. Se usó tejido de carcinoma de ovario seroso FFPE como control positivo. Las pruebas indirectas de IHC se realizaron para FRalfa usando un kit de detección de polímero universal HRP MACH4™ (Biocare Medical). Las muestras embebidas en parafina fijadas con formalina se seccionaron a 5 micras en portaobjetos de vidrio cargados positivamente y se calentaron durante aproximadamente 60 minutos a 60°C. Los portaobjetos se desparafinaron en 3 baños secuenciales de xileno durante 3 minutos cada uno, se transfirieron a tres baños secuenciales de alcohol al 100% durante 3 minutos cada uno, seguidos de tres baños secuenciales de alcohol al 95% durante 3 minutos cada uno y luego se enjuagaron durante 5 minutos en agua desionizada (DI). Las muestras preparadas se pretrataron luego con solución de recuperación de epítomos inducida por calor Diva (Biocare Medical) diluida a 1:10 en agua DI y se colocaron dentro de una cámara de desbloqueo presurizada ya llena con 500 ml de agua DI. Las muestras se incubaron durante 15 minutos dentro de la cámara de desacoplamiento, donde la incubación presurizada alcanzó un máximo de 125°C a 16 PSI durante 30 segundos y luego se enfrió durante 15 minutos hasta 95°C. Los portaobjetos se enfriaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después de enfriar, los portaobjetos se lavaron en 3 baños secuenciales de solución salina tamponada con Tris/tampón de lavado Tween-20® al 0,1% (TBST) durante 3 minutos cada uno. Todos los lavados de tampón posteriores también se realizaron de esta manera. Luego, los portaobjetos se bloquearon en solución de bloqueo de Peroxidasa-1 (Biocare Medical) durante 5 minutos a temperatura ambiente, se lavaron con TBST, y luego se aplicó el reactivo de bloqueo universal sin suero Background Sniper (Biocare Medical) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de que se bloquearon las muestras, los portaobjetos se incubaron con 2,5 µg/ml de anticuerpo 26B3 diluido en diluyente de anticuerpos (Dako) o control negativo universal: anticuerpo de control negativo listo para usar (Dako, para tejido de isotipo negativo) durante 60 minutos a temperatura ambiente. Luego, los portaobjetos se lavaron con TBST y se incubaron con el potenciador de anticuerpos primarios MACH4™ Mouse Probe (proporcionado en el kit Biocare Medical MACH4™) durante 15 minutos a temperatura ambiente. Los portaobjetos se lavaron nuevamente con TBST y se incubaron con un reactivo Polimer-HRP (proporcionado en el kit Biocare Medical MACH4) durante 20 minutos a temperatura ambiente. Después de la incubación, los portaobjetos se lavaron con TBST y se incubaron con una solución de tetrahidrocloruro de 3,3'-diaminobencidina (DAB) (Dako) durante 5 minutos a temperatura ambiente. Luego, los portaobjetos se enjuagaron completamente con agua desionizada 3 veces durante 30-60 segundos cada uno y se contratiñeron con hematoxilina (Dako) durante 2 minutos, se lavaron con TBST, se deshidrataron en 3 baños secuenciales cada uno de 95% y 100% de alcohol durante 30 segundos cada uno, y aclarado en 3 baños secuenciales de xileno durante 30 segundos cada uno. Finalmente, se aplicaron cubreobjetos a los portaobjetos antes del análisis. La expresión de FRA se analizó mediante una puntuación semicuantitativa de tinción inmunohistoquímica. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

[0096] Como se demuestra por este ejemplo, el anticuerpo 26B3 puede usarse para detectar cáncer gástrico de expresión de FRA.

Ejemplo 2 - Tratamiento del cáncer gástrico usando MORAb-003

[0097] Farletuzumab es un anticuerpo humanizado monoclonal dirigido contra el receptor de folato α (FRA). Se ha demostrado que media la citotoxicidad tumoral a través de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) de una línea celular de cáncer de ovario humano que expresa FRA in vitro y reduce el crecimiento tumoral en células de cáncer de ovario humano que expresan FRA in vivo en un modelo de xenoinjerto (Ebel et al. (2007) Cancer Immun 7: 6). Se informa que la expresión de FRA es del 40% en el cáncer gástrico.

[0098] Una fase I, de etiqueta abierta, se llevó a cabo el estudio de escalada de dosis de tratamiento de la FRA-expresión de tumor sólido después de obtener el consentimiento informado por escrito de la Universidad Médica de Saitama Centro Médico Internacional y Nacional del Cáncer Hospital Center en Japón al monitor de la toxicidad limitante de la dosis (DLT) y estimar la dosis máxima tolerada (MTD) como los objetivos principales. Los principales criterios de inclusión para el estudio incluyeron 20 años δ a <80 años; pacientes con tumor sólido que no responden o son resistentes a la terapia estándar y no tienen otro tratamiento apropiado; Tumor FRA positivo confirmado por IHC; pacientes con función normal de los órganos principales; sin efecto de arrastre de tratamiento(s) previo(s) y reacción al fármaco adverso; estado de rendimiento (PS) de 0 a 1 por el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG). Los principales criterios de exclusión para el estudio incluyeron: metástasis cerebrales que presentan síntomas clínicos o

requieren tratamiento médico; VIH, anticuerpos contra el VHC o antígeno HBs positivo; infección grave que requiere tratamiento médico; antecedentes de hipersensibilidad a anticuerpos monoclonales o formulación de proteínas; otra síncrona malignidad activa; o derrame pleural o ascitis que requieren drenaje.

5 **[0099]** Dos pacientes con cáncer gástrico con tumor sólido de expresión de FRA que son resistentes a los tratamientos estándar participaron en el estudio. Después de una única administración de farletuzumab para evaluación farmacocinética, se administró farletuzumab mediante inyección intravenosa que se repite todas las semanas hasta la progresión de la enfermedad. Específicamente, farletuzumab se administró por infusión intravenosa por goteo a una dosis de 400 mg/m² en el ciclo 0 (una dosis única) y se administró desde el ciclo 1 (dosis repetidas) una vez por semana durante 4 semanas (los días 1, 8, 15 y 22) como un ciclo. La administración de farletuzumab continuó hasta que los sujetos cumplieron con los criterios de interrupción, incluida la evidencia de progresión de la enfermedad o la aparición de nuevas lesiones. Las concentraciones séricas de farletuzumab se determinaron mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Los parámetros farmacocinéticos se analizaron usando WinNonlin™ (Versión 6,2,1). Los niveles séricos de anticuerpos humanos anti-humanos (HAHA) se analizaron mediante ELISA. La expresión de FRA fue evaluada por IHC. La intensidad inmunorreactiva se clasificó como sin reacción (-), débil (+: marrón claro con borde delgado a lo largo de la membrana celular), moderada (++: marrón oscuro con borde delgado a lo largo de la membrana celular) o fuerte (+++: marrón oscuro o mayor intensidad con borde grueso a lo largo de la membrana celular).

20 **[0100]** Resultados: Dos pacientes con cáncer gástrico (paciente n° 10: hombre, edad 71, intensidad de tinción FRA, +; paciente n° 16: hombre, edad 63, intensidad de tinción FRA, +) recibieron infusión de farletuzumab. El tumor sólido que expresa FRA del paciente n.º 16 fue resistente a los tratamientos estándar, incluida la terapia de primera línea S-1 (Taiho Pharmaceutical CO Ltd., Japón) y la terapia de segunda línea docetaxel. Se observó estabilización de la enfermedad a largo plazo durante 20 meses en un paciente (paciente n° 16) con cáncer gástrico. No se observó toxicidad acumulativa en este paciente. La Figura 1 muestra el cambio en la suma del diámetro más largo del tumor y el nivel del marcador tumoral CEA en el paciente con cáncer gástrico n° 16.

30 **[0101] Conclusión:** Aunque no se observó contracción tumoral, se identificó una estabilización tumoral significativa en un paciente con cáncer gástrico que expresa FRA. Se observó estabilización de la enfermedad a largo plazo en una subpoblación de cáncer gástrico.

35

40

45

50

55

60

65

Especímen ID Nº		Tabla 2. ESPÉCIMEN GENERAL INFORMACIÓN						ARTÍCULO DE PRUEBA – TINCIÓN DE MEMBRANA DE CÉLULAS NEOPLÁSTICAS				ARTÍCULO DE PRUEBA – OTRA TINCIÓN SUBCELULAR DE CÉLULAS NEOPLÁSTICAS				TINCIÓN DE ARTÍCULO DE PRUEBA DE OTROS TIPOS DE CÉLULAS Y TUMOR INFORMACIÓN					
		Tejido	Revisión histológica	Control de isloipo negativo	Rechazar	Repetir	% células que tienen en cada intensidad			% células que tienen en cada intensidad			Normal	Endotelio	Estroma	Músculo liso	Células inflamatorias	Nervio			
							3+	2+	1+	0	3+	2+	1+	0							
1		CA ovárico	CA seroso	0			90	10	0	0	50	40	10	0	0	0	0	0	0	NS	
2		Región sacral, mets gástricos	CA sólido	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	0	NS	NS	0	0	NS	
3		Ganglio supraclavicular izquierdo, mets gástricos	CA sólido	NA			20	20	10	50	20	40	20	20	NS	0	0	0	0	NS	
4		Vejiga urinaria, mets gástricos	Anillo de sello CA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	1+	0	0	0	0	NS	
5		Ascites, mets gástricos	AdenoCA	NA			10	10	10	70	0	0	10	90	NS	NS	NS	0	0	NS	
6		Peritoneo, mets gástricos	Anillo de sello CA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	0	NS	NS	0	0	NS	
7		Fluido ascítico, mets gástricos	AdenoCA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	0	NS	NS	0	0	NS	
8		Hígado, mets gástricos	AdenoCA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	0	0	NS	
9		Fluido peritoneal, mets gástricos	AdenoCA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	NS	NS	NS	0	0	NS	
10		Cuello izquierdo, mets gástricos	AdenoCA sólido	NA			10	10	10	70	0	10	30	60	NS	0	0	0	0	NS	

Especímen ID Nº	Tabla 2. ESPÉCIMEN GENERAL INFORMACIÓN						ARTÍCULO DE PRUEBA – TINCIÓN DE MEMBRANA DE CÉLULAS NEOPLÁSTICAS				ARTÍCULO DE PRUEBA – OTRA TINCIÓN SUBCELULAR DE CÉLULAS NEOPLÁSTICAS				TINCIÓN DE ARTÍCULO DE PRUEBA DE OTROS TIPOS DE CÉLULAS Y TUMOR				
	Tejido	Revisión histológica	Control de isotipo negativo	Rechazar	Repetir	% células que tiñen en cada intensidad				% células que tiñen en cada intensidad				Normal	Endotelio	Estróma	Músculo liso	Células inflamatorias	Nervio
						3+	2+	1+	0	3+	2+	1+	0						
11	Estómago, mets gástricos	AdenoCA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	1+	0	0	NS	0	NS
12	Cerebelo, mets gástricos	AdenoCA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	NS	0	0	NS	0	NS
13	Epilón, mets gástricos	Anillo de sello CA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	NS	0	0	0	0	NS
14	Hígado, mets gástricos	AdenoCA	NA			0	0	0	100	0	0	2	98	NS	0	0	NS	NS	NS
15	Ovario derecho y epilón, mets gástricos	Anillo de sello CA	NA			0	0	0	100	0	5	5	90	2+	0	0	0	NS	NS
16	Tracto gastrointestinal, mets gástricos	AdenoCA	NA			60	10	10	20	40	30	30	0	NS	0	0	0	0	NS
17	Hígado, mets gástricos	AdenoCA	NA			0	10	10	80	0	10	20	70	NS	NS	NS	NS	0	NS
18	Ganglio mesentérico, mets gástricos	Anillo de sello CA	NA			10	10	10	70	10	20	20	50	NS	0	0	0	0	NS
19	Lóbulo superior derecho, mets gástricos	AdenoCA	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	3+	0	0	0	0	NS
20	Peritoneo, mets gástricos	Ascites	NA	X		Sin presencia de células malignas													

Especímen ID N°	Tejido	ARTÍCULO DE PRUEBA - TINCIÓN DE MEMBRANA DE CÉLULAS NEOPLÁSTICAS						ARTÍCULO DE PRUEBA - OTRA TINCIÓN SUBCELULAR DE CÉLULAS NEOPLÁSTICAS						TINCIÓN DE ARTÍCULO DE PRUEBA DE OTROS TIPOS DE CÉLULAS Y TUMOR								
		3+		2+		1+		3+		2+		1+		Normal	Endotelio	Estróma	Músculo liso	Células Inflamatorias	Nervio			
		%	0	%	0	%	0	%	0	%	0	%	0									
21	Peritoneo, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	100	0	0	0	100	NS	0	0	0	NS		
22	Fluido ascítico, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	100	0	0	0	100	NS	NS	NS	0	NS		
23	Lóbulo superior derecho de pulmón, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	100	0	0	0	100	2+	0	0	0	NS		
24	Hueso, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	100	0	0	0	100	NS	0	0	0	NS		
25	Ganglio cervical, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	100	0	0	0	100	NS	0	0	0	NS		
26	Pleura izquierda, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	100	0	0	0	100	NS	0	0	0	NS		
27	Ascites, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	100	0	0	0	100	NS	NS	NS	3+	NS		
28	Epilón, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	100	5	5	20	90	NS	0	0	0	NS		
29	Hueso iliaco derecho, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Sin presencia de células tumorales												NS		
30	Pulmón izquierdo, mets gástricos	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Sin presencia de células tumorales														

Tabla 2. ESPÉCIMEN GENERAL INFORMACIÓN		ARTÍCULO DE PRUEBA – TINCIÓN DE MEMBRANA DE CELULAS NEOPLÁSTICAS				ARTÍCULO DE PRUEBA – OTRA TINCIÓN SUBCELULAR DE CELULAS NEOPLÁSTICAS				TINCIÓN DE ARTÍCULO DE PRUEBA DE OTROS TIPOS DE CELULAS Y TUMOR INFORMACIÓN										
Espécimen ID N°	Tejido	Revisión histológica	Control de isotipo negativo	Rechazar	Repetir	3+	2+	1+	0	3+	2+	1+	0	Normal	Endotelio	Estroma	Músculo liso	Células inflamatorias	Nervio	
31	Retroperitoneo, mets gástricos	CA sólido	NA			0	0	0	100	0	0	0	100	NS	0	0	0	0	0	NS
± = Resultados equivocales NA = No aplicables NS = No vistos Ap = Tinción apical B = Tinción de capa basal C = Tinción citoplasmática F = Focalmente positivo La = Acentuación luminal H = Tinción heterogénea I = Células inflamatorias M = Tinción de membrana N = Tinción nuclear P = Tinción perineural S = Estroma Sc = Diseminado c/w = Consistente con																				

LISTA DE SECUENCIAS

[0102]

<110 > MORPHOTEK, INC.

<120 > MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER GÁSTRICO

<130 > MOR-0850

<140 >

<141 >

<150 > 61/647,384

ES 2 766 836 T3

<210 > 5
<211 > 7
<212 > PRT
<213 > Secuencia artificial

5
<220 >
<221 > fuente
<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

10 <400 > 5

Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

15 <210 > 6
<211 > 11
<212 > PRT
<213 > Secuencia artificial

20 <220 >
<221 > fuente
<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400 > 6

25

Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr
1 5 10

30 <210 > 7
<211 > 217
<212 > PRT
<213 > Secuencia artificial

35 <220 >
<221 > fuente
<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400 > 7

40

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

45

50

55

60

65

ES 2 766 836 T3

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
 20 25 30
 5
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp
 35 40 45
 10
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 50 55 60
 15
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80
 20
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
 85 90 95
 25
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110
 30
 Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 115 120 125
 35
 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 130 135 140
 40
 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 145 150 155 160
 45
 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
 165 170 175
 50
 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
 180 185 190
 55
 Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 195 200 205
 60
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210 > 8

<211 > 449

60 <212 > PRT

<213 > Secuencia artificial

<220 >

<221 > fuente

65 <223>/nota = "Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

ES 2 766 836 T3

<400 > 8

5 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

10 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

15 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

20 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

25 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

30 Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
25 85 90 95

35 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

40 Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

45 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

50 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

55 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
45 165 170 175

60 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

65 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

70 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

75 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

80 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

ES 2 766 836 T3

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 5
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 10
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 15
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 20
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 25
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 30
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 35
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 40
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 45
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 50
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 55
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

60 <210 > 9
 <211 > 11
 <212 > PRT
 <213 > Secuencia artificial
 65 <220 >
 <221 > fuente

ES 2 766 836 T3

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400 > 9

5 **Arg Thr Ser Glu Asn Ile Phe Ser Tyr Leu Ala**
 1 5 10

<210 > 10

<211 > 7

10 <212 > PRT

<213 > Secuencia artificial

<220 >

<221 > fuente

15 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético"

<400 > 10

20 **Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu**
 1 5

<210 > 11

<211 > 9

25 <212 > PRT

<213 > Secuencia artificial

<220 >

<221 > fuente

30 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400 > 11

35 **Gln His His Tyr Ala Phe Pro Trp Thr**
 1 5

<210 > 12

<211 > 106

<212 > PRT

40 <213 > Secuencia artificial

<220 >

<221 > fuente

45 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400 > 12

50 **Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys**
 1 5 10 15

55 **Arg Thr Ser Glu Asn Ile Phe Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys**
 20 25 30

60 **Gln Gly Ile Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala**
 35 40 45

65 **Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe**
 50 55 60

ES 2 766 836 T3

Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr
 65 70 75 80

5

Cys Gln His His Tyr Ala Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Ser Lys
 85 90 95

10

Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
 100 105

<210 > 13
 <211 > 5
 <212 > PRT
 <213 > Secuencia artificial

15

<220 >
 <221 > fuente
 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

20

<400 > 13

25

Gly Tyr Phe Met Asn
 1 5

<210 > 14
 <211 > 17
 <212 > PRT
 <213 > Secuencia artificial

30

<220 >
 <221 > fuente
 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

35

<400 > 14

40

Arg Ile Phe Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

45

<210 > 15
 <211 > 7
 <212 > PRT
 <213 > Secuencia artificial

50

<220 >
 <221 > fuente
 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

55

<400 > 15

60

Gly Thr His Tyr Phe Asp Tyr
 1 5

65

<210 > 16
 <211 > 128
 <212 > PRT
 <213 > Secuencia artificial

<220 >
 <221 > fuente

ES 2 766 836 T3

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: sintética polipéptido"

<400 > 16

5 Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys
1 5 10 15

10 Ala Ser Asp Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Phe Met Asn Trp Val Met Gln
20 25 30

15 Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Phe Pro Tyr Asn
35 40 45

20 Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr
50 55 60

25 Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala His Met Glu Leu Arg Ser Leu Ala
65 70 75 80

30 Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Thr His Tyr Phe
85 90 95

35 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr
100 105 110

40 Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr
115 120 125

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un anticuerpo que se une específicamente al receptor alfa de folato, en donde dicho anticuerpo es farletuzumab, para su uso en el tratamiento del cáncer gástrico que expresa alfa receptor de folato.
- 2.** El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en donde dicho anticuerpo se administra por inyección intravenosa.
- 10 **3.** El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en donde dicho anticuerpo se administra semanalmente a dicho sujeto.
- 4.** El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo se administra a una dosis de 50 mg/m² a 400 mg/m².
- 15 **5.** El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo se administra a una dosis de 400 mg/m².

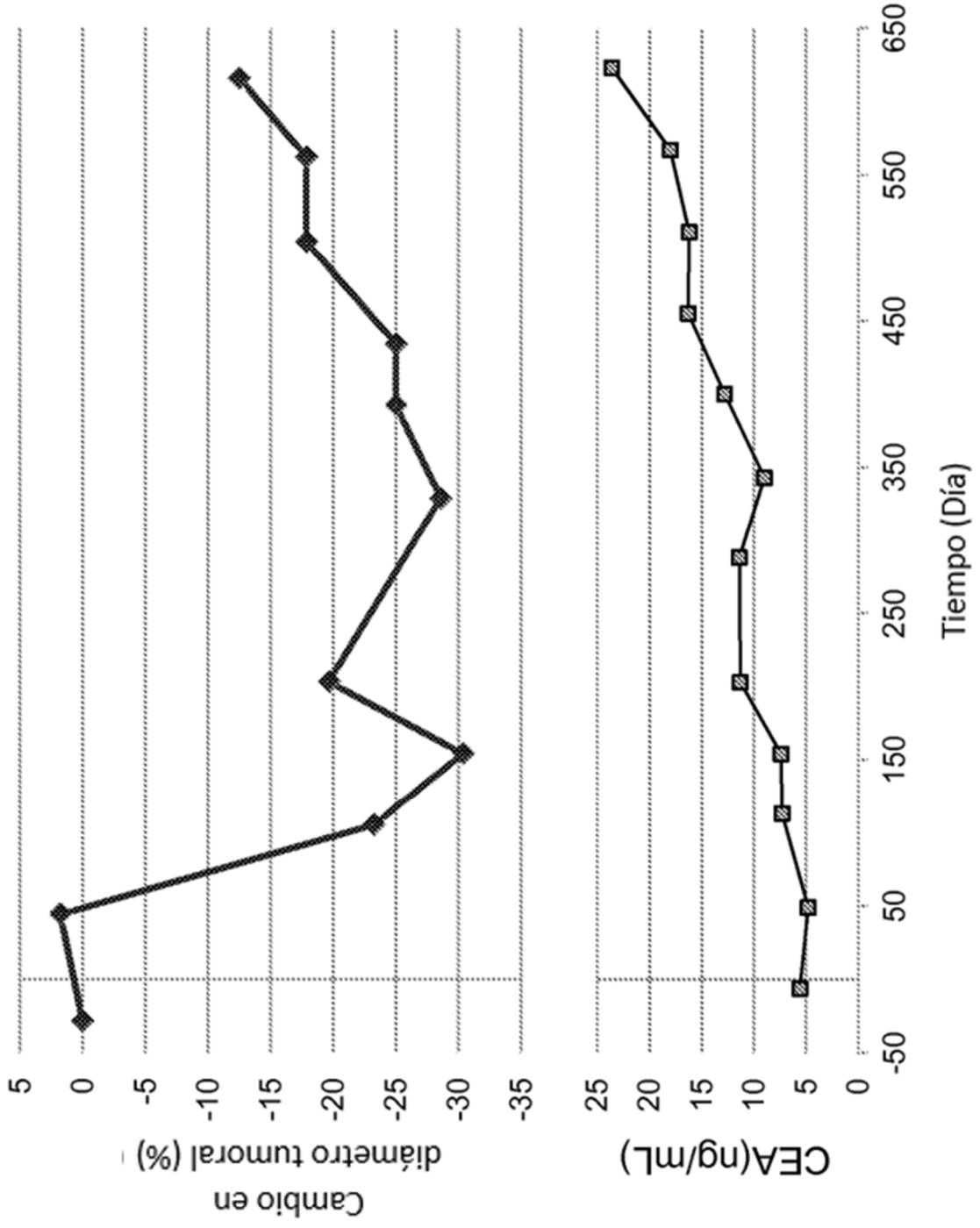


FIGURA 1