

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 983 055**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/68** (2007.01)

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61K 39/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2014** **E 19199163 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2024** **EP 3653228**

54 Título: **Regímenes de dosificación de inmunoconjugado anti-FOLR1**

30 Prioridad:

**08.10.2013 US 201361888337 P**

**08.10.2013 US 201361888365 P**

**05.03.2014 US 201461948363 P**

**29.05.2014 US 201462004815 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la  
traducción de la patente:  
**21.10.2024**

73 Titular/es:

**IMMUNOGEN, INC. (100.0%)**

**830 Winter Street**

**Waltham, MA 02451, US**

72 Inventor/es:

**LUTZ, ROBERT J. y**

**PONTE, JOSE**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 983 055 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

Regímenes de dosificación de inmunoconjugado anti-FOLR1

## 5 Campo de la invención

El campo de la invención se refiere, en términos generales a inmunoconjugados anti-FOLR1 para su uso en el tratamiento de enfermedades, tales como un cáncer que expresa FOLR1. El tratamiento proporciona regímenes de dosificación que minimizan los efectos secundarios no deseados.

10

## Antecedentes de la invención

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo desarrollado, con más de un millón de personas con diagnóstico de cáncer y 500.000 muertes por año solamente en Estados Unidos. En general, se calcula que más de 1 de cada 3 personas desarrollará alguna forma de cáncer durante su vida. Existen más de 200 tipos diferentes de cáncer, cuatro de los cuales -de mama, de pulmón, colorrectal y de próstata- representan más de la mitad de todos los casos nuevos (Jemal *et al.*, 2003, Cancer J. Clin. 53:5-26).

15

El receptor 1 de folato (FOLR1), también conocido como receptor alfa de folato o proteína de unión a folato, es una proteína N-glucosilada expresada en la membrana plasmática de las células. El FOLR1 tiene una alta afinidad por el ácido fólico y por varios derivados reducidos de ácido fólico. El FOLR1 media el suministro del folato fisiológico, 5-metiltetrahidrofolato, al interior de las células.

20

El FOLR1 se encuentra sobreexpresado en una amplia mayoría de cánceres de ovario, así como en muchos cánceres de útero, de endometrio, pancreáticos, renales, de pulmón y de mama, mientras que la expresión del FOLR1 en tejidos normales se limita a la membrana apical de las células epiteliales en los túbulos proximales del riñón, los neumocitos alveolares del pulmón, la vejiga, los testículos, los plexos coroides y la tiroides (Weitman SD, *et al.*, Cancer Res 52: 3396-3401 (1992); Antony AC, Annu Rev Nutr 16: 501-521 (1996); Kalli KR, *et al.* Gynecol Oncol 108: 619-626 (2008)). Este patrón de expresión del FOLR1 lo convierte en un objetivo conveniente para la terapia contra el cáncer dirigida a FOLR1.

25

30

Debido a que el cáncer de ovario es normalmente asintomático hasta una etapa avanzada, a menudo se diagnostica en una etapa tardía y tiene mal pronóstico cuando se trata con procedimientos actualmente disponibles, normalmente fármacos quimioterapéuticos después de cirugía citoreductora (von Gruenigen V *et al.*, Cancer 112: 2221-2227 (2008); Ayhan A *et al.*, Am J Obstet Gynecol 196: 81 e81-86 (2007); Harry VN *et al.*, Obstet Gynecol Surv 64: 548-560 (2009)). Por lo tanto, existe una clara necesidad médica no satisfecha de contar con agentes terapéuticos más eficaces para los cánceres de ovario.

35

Los anticuerpos están surgiendo como un método prometedor para tratar estos cánceres. Además, los inmunoconjugados, que comprenden un anticuerpo conjugado con otro compuesto, por ejemplo, una citotoxina, también se están investigando como posibles agentes terapéuticos. En particular, se ha demostrado que los inmunoconjugados con maitansinoides, que son agentes antitumorales y antifúngicos obtenidos de plantas, presentan algunas actividades beneficiosas. El aislamiento de tres macrólidos ansa de extractos etanólicos de *Maytenus ovatus* y *Maytenus buchananii* fue informado en primer lugar por S. M. Kupchan *et al.* y es el objeto de la patente de Estados Unidos n.º 3.896.111, junto con la demostración de sus efectos antileucémicos en modelos murinos en un intervalo de dosis de microgramos/kg. Los maitansinoides, sin embargo, presentan toxicidad inaceptable, lo que provoca neuropatías periférica y central y efectos secundarios: particularmente náuseas, vómitos, diarrea, elevaciones de las pruebas de función hepática y, con menor frecuencia, debilidad y letargo. Esta toxicidad general se reduce en cierta medida mediante la conjugación de los maitansinoides con anticuerpos, debido a que un conjugado de anticuerpos tiene una toxicidad varios órdenes de magnitud inferior en las células negativas para antígeno, en comparación con las células positivas para antígeno. El documento US 2012/009181 A1 describe agentes que incluyen anticuerpos que se unen al FOLR1 humano e inmunoconjugados que comprenden estos agentes y una citotoxina para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, sigue existiendo la necesidad de identificar regímenes de dosificación particulares de inmunoconjugados anti-FOLR1 terapéuticamente eficaces en seres humanos, pero que eviten los efectos adversos.

40

45

50

55

## Breve resumen de la invención

La presente invención se define en las reivindicaciones. La presente invención está relacionada, en un aspecto, con un inmunoconjugado que se une al polipéptido FOLR1 para su uso en el tratamiento de un cáncer que expresa FOLR1, en el que el inmunoconjugado comprende un maitansinoide y una molécula de unión a FOLR1, en donde la molécula de unión a FOLR1 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias de las SEQ ID NO: 6 a 10 y la secuencia de SEQ ID NO: 12, y en donde el inmunoconjugado se administra a una dosis de 6 miligramos (mg) por kilogramo (kg) de peso corporal ideal ajustado (AIBW, por sus siglas del inglés: *adjusted ideal body weight*). En una realización

60

65

preferida, el inmunoconjugado comprende 1-10 moléculas de maitansinoide, más preferiblemente 2-5 moléculas de maitansinoide, y lo más preferiblemente 3-4 moléculas de maitansinoide. En una realización preferida, el maitansinoide es DM4. En otra realización preferida, el inmunoconjugado comprende el enlazador sulfo-SPDB. En un aspecto adicional, la presente invención está relacionada con una composición que comprende inmunoconjugados que se unen al polipéptido FOLR1 para el tratamiento de un cáncer de un paciente humano que expresa FOLR1, en el que el inmunoconjugado comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias de las SEQ ID NO: 6 a 9 y las secuencias de las SEQ ID NO: 11 a 12, y un maitansinoide, y en el que la composición está formulada para su administración a una dosis de 6 miligramos (mg) por kilogramo (kg) de peso corporal ideal ajustado (AIBW) del paciente, en el que la composición comprende una media de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 maitansinoides por anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. En una realización preferida, la composición se administra una vez cada tres semanas. En otra realización preferida, la composición se administra una vez por semana. En una realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la VH CDR-2 de la SEQ ID NO: 10. En una realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio de cadena pesada variable que comprende la SEQ ID NO: 3 y un dominio de cadena ligera variable que comprende la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 5 o comprende un dominio de cadena pesada variable que comprende la SEQ ID NO: 3 y un dominio de cadena ligera variable que comprende la SEQ ID NO: 5. En una realización preferida, el anticuerpo comprende (i) una cadena pesada que comprende la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada codificada por el plásmido depositado en la Colección americana de cultivos tipo (ATCC) como PTA-10772 y (ii) una cadena ligera que comprende la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera codificada por el plásmido depositado en la ATCC como PTA-10774. En una realización preferida, la composición comprende un promedio de aproximadamente 2-5 maitansinoides o un promedio de aproximadamente 3-4 maitansinoides. En una realización preferida, el maitansinoide es DM4. En una realización preferida, el inmunoconjugado comprende el enlazador sulfo-SPDB. En una realización preferida, el inmunoconjugado comprende DM4 y un anticuerpo que comprende (i) una cadena pesada que comprende la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada codificada por el plásmido depositado en la Colección americana de cultivos tipo (ATCC) como PTA-10772 y (ii) una cadena ligera que comprende la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera codificada por el plásmido depositado en la ATCC como PTA-10774, y en donde DM4 está unido al anticuerpo por sulfo-SPDB. En una realización preferida, la composición está formulada para administración i.v. En una realización preferida, dicho cáncer es cáncer de ovario, cáncer del peritoneo, cáncer endometrial o cáncer uterino, opcionalmente en el que el cáncer de ovario es resistente a platino, recidivante o refractario. En el presente documento se proporciona un tratamiento administrando un inmunoconjugado anti-FOLR1 en un régimen de dosificación terapéuticamente eficaz que minimiza los efectos secundarios no deseados, como se define en las reivindicaciones. Tal como se describe de forma más detallada a continuación, la administración de la misma dosis de un inmunoconjugado anti-FOLR1 a diferentes pacientes produce variaciones sustancialmente en la farmacocinética (por ejemplo,  $C_{\text{máx}}$  y ABC) del inmunoconjugado. Los presentes inventores descubrieron que la toxicidad ocular tiene correlación con unos valores de  $C_{\text{máx}}$  elevados y de ABC inicial elevados, y los experimentos que se proporcionan en el presente documento lo demuestran. No obstante, los valores elevados de  $C_{\text{máx}}$  y de ABC iniciales no son necesarios para la eficacia. Por consiguiente, en el presente documento se proporciona el tratamiento de un paciente con cáncer que comprende administrarle al paciente una dosis eficaz de un inmunoconjugado que se une a FOLR1, en el que el inmunoconjugado se administra a una dosis de 6 mg/kg de peso corporal ideal ajustado (ADJ o AIBW). Las abreviaturas "ADJ" y "AIBW" se pueden utilizar de forma indistinta para hacer referencia al peso corporal ideal ajustado. Además, en el presente documento, se proporciona el tratamiento de un paciente con cáncer que comprende administrarle al paciente una dosis eficaz de un inmunoconjugado, como se define en las reivindicaciones, que se une a FOLR1, en el que el inmunoconjugado se administra una vez a la semana durante tres semanas en una pauta de cuatro semanas (por ejemplo, en los días 1, 8 y 15 de una pauta de cuatro semanas). En el presente documento también se proporcionan el tratamiento de un paciente con cáncer que comprende administrarle al paciente una dosis eficaz de un inmunoconjugado, como se define en las reivindicaciones, que se une a FOLR1, en el que el inmunoconjugado se administra a una dosis de 6 mg/kg, en el que los kilogramos se ajustan al AIBW (ADJ) y en el que el inmunoconjugado se administra una vez a la semana durante tres semanas en una pauta de cuatro semanas (por ejemplo, en los días 1, 8 y 15 de una pauta de cuatro semanas). Los tratamientos descritos en el presente documento pueden producir una disminución en la toxicidad, por ejemplo, la toxicidad ocular.

Como referencia, en el tratamiento de un paciente con cáncer que comprende administrarle al paciente una dosis eficaz de un inmunoconjugado que se une a FOLR1, no se superan los valores de ABC iniciales y de  $C_{\text{máx}}$  que producen toxicidad. Por ejemplo, la administración puede producir una  $C_{\text{máx}}$  de aproximadamente 90-160  $\mu\text{g/ml}$  o la administración puede producir una  $C_{\text{máx}}$  de aproximadamente 110-160  $\mu\text{g/ml}$ . La administración puede producir un  $\text{ABC}_{0-24}$  de no más de 2785  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . La administración puede producir un  $\text{ABC}_{0-24}$  de no más de 2741  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . La administración puede producir un  $\text{ABC}_{0-24}$  de no más de 2700  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . La administración puede producir una  $C_{\text{máx}}$  de no más de 160  $\mu\text{g/ml}$ . La administración puede producir una  $C_{\text{máx}}$  de no más de 150  $\mu\text{g/ml}$ .

La administración puede producir un ABC<sub>0-24</sub> de aproximadamente 1000-3500 h•µg/ml de aproximadamente 1000-3000 h•µg/ml, de aproximadamente 1000-2785 h•µg/ml, de aproximadamente 1000-2741 h•µg/ml, de aproximadamente 1000-2700 h•µg/ml, de aproximadamente 1000-2500 h•µg/ml, de no más de 1500-3500 h•µg/ml, de no más de 1500-3000 h•µg/ml, de no más de 1500-2785 h•µg/ml, de no más de 1500-2741 h•µg/ml, de no más de 1500-2700 h•µg/ml o de aproximadamente 1500-2500 h•µg/ml.

La administración puede producir una C<sub>máx</sub> de 110-160 µg/ml, de 110-150 µg/ml, de 110-140 µg/ml, de 120-160 µg/ml, de aproximadamente 120-150 µg/ml, de aproximadamente 120-140 µg/ml, de 90-160 µg/ml, de aproximadamente 90-150 µg/ml, de aproximadamente 90-140 µg/ml, de 100-160 µg/ml, de aproximadamente 100-150 µg/ml o de aproximadamente 100-140 µg/ml.

El inmunoconjugado anti-FOLR1 puede comprender un enlazador con carga. En algunas realizaciones, el inmunoconjugado anti-FOLR1 comprende el anticuerpo huMov19, el enlazador sulfo-SPDB y el maitansinoide DM4.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento del mismo comprende las CDR de huMOV19 (es decir, las SEQ ID NO: 6-10 y 12 o las SEQ ID NO: 6-9, 11 y 12). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de región variable de huMOV19 (es decir, las SEQ ID NO: 3 y 4 o 5). Los anticuerpos o fragmentos no comprenden las seis CDR de Mov19 murino (es decir, las SEQ ID NO: 6-9, 16 y 12). En algunas realizaciones, el anticuerpo es huMov19. El inmunoconjugado comprende un maitansinoide. En algunas realizaciones, el maitansinoide es DM4. En algunas realizaciones, el inmunoconjugado comprende un enlazador que es sulfo-SPDB. En algunas realizaciones, el inmunoconjugado es IMG853 (huMov19-sulfo-SPDB-DM4).

En la presente invención, el inmunoconjugado que comprende el agente de unión anti-FOLR1 (por ejemplo, huMov19-sulfo-SPDB-DM4) se administra a una dosis de aproximadamente 6 mg/kg, en el que los kilogramos de peso corporal se ajustan al AIBW (ADJ).

De acuerdo con los métodos descritos en el presente documento, la composición que comprende el agente de unión anti-FOLR1 (por ejemplo, huMov19-sulfo-SPDB-DM4), puede administrarse aproximadamente una vez cada cuatro semanas. En algunas realizaciones, la composición que comprende el agente de unión anti-FOLR1 (por ejemplo, huMov19-sulfo-SPDB-DM4) se administra aproximadamente una vez cada 3 semanas. La composición que comprende el agente de unión anti-FOLR1 (por ejemplo, huMov19-sulfo-SPDB-DM4) puede administrarse aproximadamente una vez cada 2 semanas. En algunas realizaciones, la composición que comprende el agente de unión anti-FOLR1 (por ejemplo, huMov19-sulfo-SPDB-DM4) se administra aproximadamente una vez cada 1 semana.

En algunas realizaciones, el inmunoconjugado anti-FOLR1 se administra a una dosis de aproximadamente 6 mg/kg una vez por semana durante tres semanas en una pauta de cuatro semanas.

En la presente invención, el inmunoconjugado anti-FOLR1 (por ejemplo, huMov19-sulfo-SPDB-DM4) se administra a una dosis de aproximadamente 6 mg/kg, en la que los kilogramos se ajustan al AIBW (ADJ), y en la que el inmunoconjugado se administra una vez por semana durante tres semanas en un programa de cuatro semanas.

En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran para obtener el ABC obtenida en los ejemplos 1-6 y mostrada en las Figuras 1-2 y 7-12.

En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran para obtener la C<sub>máx</sub> obtenida en los ejemplos 1-6 y mostrada en las Figuras 1-6 y 9-12.

En algunas realizaciones, el agente de unión anti-FOLR1 (por ejemplo, huMov19-sulfo-SPDB-DM4) se administra por vía intravenosa.

El inmunoconjugado o la composición, como se define en las reivindicaciones, puede usarse para tratar un cáncer que expresa FOLR1. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de ovario, de cerebro, mama, útero, endometrio, pancreático, renal, (por ejemplo, carcinoma de células renales) y cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma de pulmón, o carcinoma broncoalveolar (BAC). En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario o cáncer de pulmón. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario epitelial.

El cáncer expresa polipéptido o ácido nucleico de FOLR1. En algunas realizaciones, el cáncer presenta un mayor nivel de expresión de polipéptido de FOLR1 según la medición mediante inmunohistoquímica (IHC, por su sigla en inglés *immunohistochemistry*). Por ejemplo, en algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer

que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 1 hetero o superior mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 1 homo o superior mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 2 hetero o superior mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 2 homo o superior mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 3 hetero o superior mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 3 homo o superior mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer de pulmón que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 2 hetero o superior mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer de pulmón que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 3 hetero o superior mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer de ovario epitelial (por ejemplo, resistente al platino, o recidivante o insensible) que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 2 hetero o superior. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer de ovario epitelial (por ejemplo, resistente al platino, o recidivante o resistente) que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 3 hetero o superior. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer endometrioide que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 1 hetero o superior. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer endometrioide que expresa polipéptido de FOLR1 a un nivel de 2 hetero o superior.

El tratamiento puede comprender además la administración de un esteroide al paciente. El esteroide se puede administrar como un tratamiento previo, es decir, antes de la administración del agente de unión anti-FOLR1. El esteroide puede ser dexametasona.

El tratamiento descrito en el presente documento puede producir una disminución en el tamaño del tumor. El tratamiento descrito en el presente documento puede producir una disminución en los niveles de CA125 en pacientes con cáncer de ovario. En un ejemplo, se miden los niveles de CA125 en una muestra de una paciente con cáncer de ovario antes del tratamiento y una o más veces después del tratamiento, y una disminución en el nivel de CA125 en el tiempo indica eficacia terapéutica. El tratamiento descrito en el presente documento puede dar como resultado un mayor tiempo entre los tratamientos contra el cáncer. El tratamiento descrito en el presente documento puede producir un aumento en la supervivencia sin evolución (PFS, por sus siglas en inglés *progression free survival*). El tratamiento descrito en el presente documento puede producir un aumento en la supervivencia sin enfermedad (DFS, por sus siglas en inglés *disease free survival*). El tratamiento descrito en el presente documento puede producir un aumento en la supervivencia global (OS, por sus siglas en inglés *overall survival*). El tratamiento descrito en el presente documento puede producir un aumento en la respuesta completa (CR, por sus siglas en inglés *complete response*). El tratamiento descrito en el presente documento puede producir un aumento en la respuesta parcial (PR, por su sigla en inglés *partial response*). El tratamiento descrito en el presente documento puede producir un aumento en la enfermedad estable (SD, por su sigla en inglés *stable disease*). El tratamiento descrito en el presente documento puede producir un aumento en la disminución de enfermedad progresiva (PD, por su sigla en inglés *progressive disease*). El tratamiento descrito en el presente documento puede producir un tiempo reducido para la evolución (TTP, por sus siglas en inglés *time to progression*).

En particular, los regímenes de dosificación que se proporcionan en el presente documento logran un equilibrio óptimo entre la eficacia (por ejemplo, PR) y una toxicidad reducida como se demuestra, por ejemplo, en los ejemplos 1-4 y en las Figuras 1-7.

#### Breve descripción de los dibujos/las figuras

Las Figuras 1A y B proporciona datos farmacocinéticos que surgen de la administración de IMGN853 (0,15 mg/kg a 7,0 mg/kg) como se describe en el Ejemplo 1. La Figura 1B proporciona un resumen posterior de datos farmacocinéticos que incluye los datos de la Figura 1A y datos adicionales obtenidos de pacientes adicionales.

Las Figuras 2A-C muestran las respuestas y la aparición de toxicidad ocular en pacientes con un intervalo de valores de  $C_{\max}$ , así como de  $ABC_{0-24}$  y  $ABC_{0-168}$ .

La Figura 3 muestra el intervalo de valores de  $C_{\max}$  medidos a diversas dosis.

La Figura 4 muestra la dependencia de la  $C_{\max}$  con respecto al peso corporal del paciente.

La Figura 5 muestra la varianza en la  $C_{\max}$  y el  $ABC_{0-24}$  asociados con estrategias de dosificación alternativas.

La Figura 6 muestra la dependencia proyectada de la  $C_{\max}$  con respecto al peso corporal usando estrategias de dosificación alternativas.

La Figura 7 muestra una gráfica de los valores de  $ABC_{0-24}$  observados en 24 pacientes que recibieron 3,3, 5 o 7 mg/kg de IMGN853, según el peso corporal total (real). Estos valores se comparan con los valores proyectados si todos los pacientes se hubieran tratado con 5 mg/kg según el peso corporal total (TBW 5 mg/kg) y los valores proyectados si todos los pacientes hubiesen recibido una dosis de 5, 5,4 o 6 mg/kg según el peso corporal ideal ajustado (ADJ 5, 5,4 o 6). También se muestran los datos reales de 7 pacientes tratados con 5 mg/kg según el peso corporal ideal ajustado (5 ADJ real). El porcentaje de pacientes tienen o que se proyecta que tengan valores de ABC por encima del umbral de toxicidad ocular se muestra en la tabla debajo de la gráfica.

La Figura 8 muestra valores de  $ABC_{0-24}$  para todos los pacientes en 3,3 - 7,0 mg/kg. Se utilizaron cohortes de TBW para calcular los valores de  $ABC_{0-24}$  predichos en los niveles de dosis indicados. También se grafican datos de  $ABC_{0-24}$  de pacientes reales para las dosis indicadas, que incluyen

5 pacientes con dosis en las cohortes de peso corporal ideal ajustado (AIBW) de 5,0 y 6,0 a la fecha. La Figura 9 muestra la actividad antitumoral, la concentración plasmática predicha y otros parámetros farmacocinéticos de IMGN853 en ratones tratados con dosis únicas de 2,8 mg/kg, 5,6 mg/kg u 8,5 mg/kg del inmunoconjugado.

La Figura 10 muestra la actividad antitumoral, la concentración plasmática predicha y otros parámetros farmacocinéticos de IMGN853 en ratones tratados con dosis únicas de 8,5 mg/kg, tres dosis diarias de 2,8 mg/kg o tres dosis de 2,8 mg/kg cada tres días.

La Figura 11 muestra la actividad antitumoral, la concentración plasmática predicha y otros parámetros farmacocinéticos de IMGN853 en ratones tratados con una dosis única de 5,6 mg/kg o 1,4 mg/kg por día durante tres días.

La Figura 12 muestra la actividad antitumoral, la concentración plasmática predicha y otros parámetros farmacocinéticos de IMGN853 en ratones tratados con una dosis única de 8,5 mg/kg o 2,8 mg/kg por semana durante tres semanas.

### Descripción detallada de la invención

20 La presente invención proporciona nuevos regímenes de dosificación para inmunoconjugados de unión a FOLR1, como se define en las reivindicaciones.

### I. Definiciones

25 Para facilitar la comprensión de la presente invención, a continuación, se definen varios términos y frases.

Las expresiones "receptor de folato humano 1", "FOLR1" o "receptor de folato alfa (FR- $\alpha$ )", como se usan en el presente documento, hacen referencia a cualquier FOLR1 humano natural, salvo que se indique lo contrario. Por lo tanto, todos estos términos pueden hacer referencia a una secuencia de ácido nucleico o proteína, como se indica en el presente documento. El término "FOLR1" abarca FOLR1 "de longitud completa" sin procesar, así como cualquier forma de FOLR1 que sea el resultado del procesamiento dentro de la célula. El término también comprende las variantes de origen natural de FOLR1, por ejemplo, variantes de corte y empalme, variantes alélicas e isoformas. Los polipéptidos de FOLR1 descritos en el presente documento pueden aislarse de una diversidad de fuentes, tales como tipos de tejidos humanos o de otra fuente, o prepararse con métodos recombinantes o sintéticos. Los ejemplos de secuencias de FOLR1 incluyen, pero sin limitación, los números de referencia del NCBI, P15328, NP\_001092242.1, AAX29268.1, AAX37119.1, NP\_057937.1 y NP\_057936.1

El término "anticuerpo" significa una molécula de inmunoglobulina que reconoce y se une de forma específica a un objetivo, tal como una proteína, un polipéptido, un péptido, un hidrato de carbono, un polinucleótido, un lípido o combinaciones de estos, a través de al menos un sitio de reconocimiento de antígeno dentro de la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" abarca anticuerpos policlonales intactos, anticuerpos monoclonales intactos, fragmentos de anticuerpo (tales como fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv), mutantes de Fv monocatenario (scFv), anticuerpos multiespecíficos tales como anticuerpos biespecíficos generados a partir de al menos dos anticuerpos intactos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, proteínas de fusión que comprenden una parte de determinación de antígeno de un anticuerpo y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprenda un sitio de reconocimiento del antígeno, siempre que los anticuerpos presenten la actividad biológica deseada. Un anticuerpo puede ser de cualquiera de las cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, o subclases (isotipos) de las mismas (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) según la identidad de sus dominios constantes de la cadena pesada denominados alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las diferentes clases de inmunoglobulinas tienen estructuras de subunidades y configuraciones tridimensionales diferentes y conocidas. Los anticuerpos pueden estar no marcados o estar conjugados con otras moléculas, tales como toxinas, radioisótopos, etc.

Un anticuerpo "bloqueante" o un anticuerpo "antagonista" es uno que inhibe o reduce la actividad biológica del antígeno al que se une, tal como FOLR1. En algunas realizaciones, los anticuerpos bloqueantes o anticuerpos antagonistas inhiben sustancial o completamente la actividad biológica del antígeno. La actividad biológica se puede reducir en un 10 %, 20 %, 30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o incluso un 100 %.

Las expresiones "anticuerpo anti-FOLR1" o "un anticuerpo que se une a FOLR1" hacen referencia a un anticuerpo que puede unirse a FOLR1 con suficiente afinidad, de modo que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico para el direccionamiento hacia FOLR1. El grado de unión de un anticuerpo anti-FOLR1 a una proteína no FOLR1 no relacionada puede ser menor que aproximadamente el 10 % de la unión del anticuerpo a FOLR1 según la medición, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo

(RIA, por sus siglas en inglés *radioimmunoassay*). En determinadas realizaciones, un anticuerpo que se une a FOLR1 tiene una constante de disociación ( $K_d$ ) de  $\leq 1 \mu\text{M}$ ,  $\leq 100 \text{ nM}$ ,  $\leq 10 \text{ nM}$ ,  $\leq 1 \text{ nM}$  o  $\leq 0,1 \text{ nM}$ .

5 La expresión "fragmento de anticuerpo" hace referencia a una parte de un anticuerpo intacto y hace referencia a las regiones variables determinantes antigénicas de un anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero sin limitación, fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv, anticuerpos lineales, anticuerpos monocatenarios y anticuerpos multispecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

10 La expresión "anticuerpo monoclonal" hace referencia a una población homogénea de anticuerpos implicada en el reconocimiento y la unión altamente específicos de un único determinante antigénico o epítipo. Esto es opuesto a los anticuerpos policlonales que normalmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes antigénicos. La expresión "anticuerpo monoclonal" comprende tanto anticuerpos monoclonales intactos como de longitud completa, además de fragmentos de anticuerpos (tales como Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv), mutantes monocatenarios (scFv), proteínas de fusión que comprenden una parte de anticuerpo y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprenda un sitio de reconocimiento de antígeno. Además, "anticuerpo monoclonal" hace referencia a tales anticuerpos fabricados de cualquier cantidad de formas que incluyen, pero sin limitación, mediante hibridomas, selección de fagos, expresión recombinante y animales transgénicos.

20 La expresión "anticuerpo humanizado" hace referencia a formas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) que son cadenas específicas de inmunoglobulina, inmunoglobulinas quiméricas o fragmentos de las mismas, que contienen secuencias no humanas mínimas (por ejemplo, murinas). Normalmente, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas en que los restos de la región determinante de complementariedad (CDR) se reemplazan por restos de la CDR de una especie no humana (por ejemplo, ratón, rata, conejo, hámster) con la especificidad, afinidad y capacidad deseadas (Jones *et al.*, 1986, Nature, 321:522-525; Riechmann *et al.*, 1988, Nature, 332:323-327; Verhoeven *et al.*, 1988, Science, 239:1534-1536). En algunos casos, los restos de la región marco conservada (FR) del Fv de una inmunoglobulina humana se reemplazan por los restos correspondientes en un anticuerpo de una especie no humana con la especificidad, afinidad y/o capacidad deseadas. El anticuerpo humanizado puede modificarse adicionalmente mediante la sustitución de restos adicionales, en la región marco conservada del Fv y/o dentro de los restos no humanos reemplazados, para perfeccionar y optimizar la especificidad, afinidad y/o capacidad del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos de al menos uno, y normalmente dos o tres, dominios variables que contienen todas, o sustancialmente todas, las regiones CDR que corresponden a la inmunoglobulina no humana, mientras que todas, o sustancialmente todas, las regiones FR son las de una secuencia consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado también puede comprender al menos una parte de un dominio o una región constante de inmunoglobulina (Fc), normalmente la de una inmunoglobulina humana. Los ejemplos de métodos utilizados para generar anticuerpos humanizados se describen en la patente de Estados Unidos 5.225.539. En algunas realizaciones, un "anticuerpo humanizado" es un anticuerpo rechapado.

Una "región variable" de un anticuerpo hace referencia a la región variable de la cadena ligera del anticuerpo o a la región variable de la cadena pesada del anticuerpo, ya sea sola o en combinación. Las regiones variables de la cadena pesada y ligera consisten cada una en cuatro regiones marco (FR) conectadas mediante tres regiones determinantes de complementariedad (CDR), también conocidas como regiones hipervariables. Las CDR en cada cadena se mantienen muy cerca mediante las FR y, con las CDR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos. Existen al menos dos técnicas para determinar CDR: (1) un enfoque basado en la variabilidad de secuencia entre especies (es decir, Kabat *et al.* Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5ª ed., 1991, Institutos nacionales de salud, Bethesda Md.)), y (2) un enfoque basado en estudios cristalográficos de complejos antígeno-anticuerpo (Al-lazikani *et al.* (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948)). Asimismo, algunas veces se usan combinaciones de estos dos enfoques en la técnica para determinar las CDR.

El sistema de numeración de Kabat se usa generalmente cuando se hace referencia a un resto en el dominio variable (aproximadamente los restos 1-107 de la cadena ligera y los restos 1-113 de la cadena pesada) (por ejemplo, Kabat *et al.*, Sequences of Immunological Interest. 5.ª Ed. Servicio de Salud Pública, Institutos nacionales de salud, Bethesda, Md. (1991)).

La numeración de la posición de los aminoácidos de Kabat hace referencia al sistema de numeración que se utiliza para los dominios variables de la cadena pesada o los dominios variables de la cadena ligera de la compilación de anticuerpos en Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.ª Ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Md. (1991). Al usar este sistema de numeración, la secuencia de aminoácido lineal real puede contener menos aminoácidos o aminoácidos adicionales que corresponden a un acortamiento o una inserción en una FR o una CDR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio de cadena pesada variable puede incluir una inserción de un único aminoácido (resto 52a, de acuerdo con Kabat) luego del resto 52 de H2 y los restos insertados (por ejemplo, restos 82a, 82b y 82c, etc.,

- de acuerdo con Kabat) luego del resto 82 de la FR de la cadena pesada. La numeración de restos de Kabat se puede determinar para un anticuerpo determinado mediante el alineamiento en regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada de Kabat "patrón". Chothia, en cambio, hace referencia a la ubicación de los bucles estructurales (Chothia y Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). El final del bucle CDR-H1 de Chothia, cuando se enumera utilizando la convención de numeración de Kabat, varía entre H32 y H34 dependiendo de la longitud del bucle (esto se debe a que el esquema de numeración de Kabat ubica las inserciones en H35A y H35B; si no está presente ni 35A ni 35B, el bucle termina en 32; si solo 35A está presente, el bucle termina en 33; si tanto 35A como 35B están presente, el bucle termina en 34). Las regiones hipervariables de AbM representan un punto intermedio entre las CDR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia y se usan en el programa informático de realización de modelos de anticuerpos AbM de Oxford Molecular.

Bucle	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34
(Numeración de Kabat)			



(continuación)

Bucle	Kabat	AbM	Chothia
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32
		(Numeración de Chothia)	
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

La expresión "anticuerpo humano" hace referencia a un anticuerpo producido por un humano o un anticuerpo que presenta una secuencia de aminoácidos que corresponde a un anticuerpo producido por un humano fabricada utilizando cualquier método conocido en la técnica. Esta definición de anticuerpo humano incluye anticuerpos intactos o de longitud completa, fragmentos de los mismos y/o anticuerpos que comprenden al menos un polipéptido de la cadena pesada y/o cadena ligera humano tal como, por ejemplo, un anticuerpo que comprende polipéptidos de la cadena ligera de murino y de la cadena pesada de humano.

La expresión "anticuerpos quiméricos" hace referencia a anticuerpos en que la secuencia de aminoácidos de la molécula de inmunoglobulina procede de dos o más especies. Normalmente, la región variable de las cadenas ligera y pesada corresponde a la región variable de anticuerpos procedentes de una especie de mamíferos (por ejemplo, ratón, rata, conejo, etc.) con la especificidad, afinidad y capacidad deseadas, mientras que las regiones constantes son homólogas a las secuencias en anticuerpos procedentes de otras (habitualmente de ser humano) para evitar suscitar una respuesta inmunitaria en esa especie.

Las expresiones "epítipo" o "determinante antigénico" se usan de manera indistinta en el presente documento y hacen referencia a la parte de un antígeno que puede ser reconocida por, y a la que se une de forma específica, un anticuerpo particular. Cuando el antígeno es un polipéptido, los epítipos pueden formarse tanto a partir de aminoácidos contiguos como de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos mediante el plegamiento terciario de una proteína. Normalmente, los epítipos formados a partir de aminoácidos contiguos se conservan tras el proceso de desnaturalización de la proteína, mientras que los epítipos formados mediante plegamiento terciario normalmente se pierden durante la desnaturalización de la proteína. Un epítipo normalmente incluye al menos 3 y, de forma más habitual, al menos 5 u 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única.

"Afinidad de unión" generalmente hace referencia a la fuerza de la suma total de las interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su compañero de unión (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, tal como se usa en el presente documento, "afinidad de unión" hace referencia a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X con respecto a su compañera Y puede estar representada generalmente por la constante de disociación (Kd). La afinidad puede medirse usando métodos comunes conocidos en la técnica, que incluyen los descritos en el presente documento. Los anticuerpos de baja afinidad por lo general se unen al antígeno lentamente y tienden a disociarse fácilmente, mientras que los anticuerpos de alta afinidad por lo general se unen al antígeno más rápidamente y tienden a permanecer unidos por más tiempo. Se conocen en la técnica una diversidad de métodos para medir la afinidad de unión y cualquiera de ellos puede utilizarse para los fines de la presente invención. A continuación, se describen realizaciones ilustrativas específicas.

"O mejor", cuando se utiliza en el presente documento para hacer referencia a la afinidad de unión, se refiere a una unión más fuerte entre una molécula y su compañero de unión. "O mejor", cuando se utiliza en el presente documento, hace referencia a una unión más fuerte, representada por un valor numérico menor de Kd. Por ejemplo, un anticuerpo con una afinidad por a un antígeno de "0,6 nM o mejor", indica que la afinidad del anticuerpo por el antígeno es <0,6 nM, es decir, 0,59 nM, 0,58 nM, 0,57 nM etc. o cualquier valor menor de 0,6 nM.

Por "se une de forma específica" generalmente significa que un anticuerpo se une a un epítipo a través de su dominio de unión a antígeno y que la unión implica cierta complementariedad entre el dominio de unión a antígeno y el epítipo. De acuerdo con esta definición, se dice que un anticuerpo se "une de forma específica" a un epítipo cuando se une a ese epítipo, a través de su dominio de unión a antígeno, más fácilmente de lo que se uniría a un epítipo aleatorio no relacionado. El término "especificidad" se usa en el presente documento para calificar la afinidad relativa mediante la que determinado anticuerpo se une a determinado epítipo. Se puede considerar, por ejemplo, que el anticuerpo "A" tiene una mayor especificidad por un epítipo dado que el anticuerpo "B", o se puede decir que el anticuerpo "A" se une al epítipo "C" con una mayor especificidad que la que tiene por el epítipo "D" relacionado.

"Se une preferentemente" significa que el anticuerpo se une de forma específica a un epítipo más fácilmente de lo que se uniría a un epítipo relacionado, similar, homólogo o análogo. Por lo tanto, un anticuerpo que "se une preferentemente" a un epítipo dado se uniría más probablemente a dicho epítipo que a un epítipo relacionado, incluso si dicho anticuerpo puede tener una reacción cruzada con el epítipo relacionado.

Se dice que un anticuerpo "inhibe de manera competitiva" la unión de un anticuerpo de referencia a un epítipo dado si se une preferentemente al epítipo al punto que bloquea, en cierto grado, la unión del anticuerpo de referencia al epítipo. La inhibición competitiva puede determinarse a través de cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, ensayos ELISA de competición. Se puede decir que un anticuerpo inhibe de forma competitiva la unión del anticuerpo de referencia a un epítipo específico en al menos un 90 %, al menos un 80 %, al menos un 70 %, al menos un 60 % o al menos un 50 %.

La frase "sustancialmente similar" o "sustancialmente igual", tal como se usa en el presente documento, indica un grado suficientemente alto de similitud entre dos valores numéricos (generalmente uno asociado con un anticuerpo de la invención y el otro asociado con un anticuerpo de referencia/comparación), de modo que un experto en la materia consideraría que la diferencia entre los dos valores es de poca o nula importancia biológica y/o significación estadística en el contexto de las características biológicas medidas por dichos valores (por ejemplo, los valores de K<sub>d</sub>). La diferencia entre estos dos valores puede ser menor que aproximadamente el 50 %, menor que aproximadamente el 40 %, menor que aproximadamente el 30 %, menor que aproximadamente el 20 % o menor que aproximadamente el 10 % en función del valor para el anticuerpo de referencia/comparación.

Un polipéptido, anticuerpo, polinucleótido, vector, célula o composición "aislado" es un polipéptido, anticuerpo, polinucleótido, vector, célula o composición que está en una forma que no se encuentra en la naturaleza. Los polipéptidos, anticuerpos, polinucleótidos, vectores, células o composiciones aislados incluyen los que se han purificado hasta un grado en el que ya no están en una forma en la que se encuentran en la naturaleza. Un anticuerpo, polinucleótido, vector, célula o composición aislados pueden ser sustancialmente puros.

Como se usa en el presente documento, "sustancialmente puro" hace referencia a material que está al menos el 50 % puro (es decir, sin contaminantes), al menos el 90 % puro, al menos el 95 % puro, al menos el 98 % o al menos el 99 % puro.

El término "inmunoconjugado" o "conjugado", como se usa en el presente documento, hace referencia a un compuesto o un derivado del mismo que está unido a un agente de unión a células (es decir, un anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo) y que se define mediante una fórmula genérica: C-L-A, en la que C = citotoxina, L = enlazador y A = anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento de anticuerpo. Los inmunoconjugados también se pueden definir mediante la fórmula genérica en orden inverso: A-L-C.

El término "IMGN853" hace referencia al inmunoconjugado descrito en el presente documento que contiene el anticuerpo huMov19, el enlazador sulfoSPDB y el maitansinoide DM4. El anticuerpo huMov19 contiene una cadena pesada variable con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una cadena ligera variable con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5.

Un "enlazador" es cualquier fracción química que pueda enlazar un compuesto, habitualmente un fármaco, tal como maitansinoide, a un agente de unión a células tal como un anticuerpo anti-FOLR1 o un fragmento del mismo, de forma estable y covalente. Los enlazadores pueden ser susceptibles o sustancialmente resistentes a la escisión inducida por ácido, la escisión inducida por luz, la escisión inducida por peptidasa, la escisión inducida por esterasa y la escisión de enlaces disulfuro, en condiciones en las que el compuesto o el anticuerpo permanece activo. Los enlazadores adecuados se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, grupos disulfuro, grupos tioéter, grupos lábiles al ácido, grupos fotolábiles, grupos lábiles a peptidasa y grupos lábiles a esterasa. Los enlazadores también incluyen enlazadores cargados y formas hidrófilas de estos, tal como se describe en el presente documento y se conoce en la técnica.

Los términos "cáncer" y "canceroso" hacen referencia o describen la afección fisiológica en mamíferos en la que una población de células se caracteriza por un crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Los ejemplos más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de células escamosas, cáncer microcítico de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma escamoso de pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático y diversos tipos de cáncer de cabeza y cuello. El cáncer es un cáncer que expresa FOLR1.

"Tumor" y "neoplasia" hacen referencia a cualquier masa de tejido que sea el resultado de un crecimiento celular o proliferación excesivos, ya sea benigna (no canceroso) o maligna (canceroso), incluidas lesiones precancerosas.

Las expresiones "célula cancerosa", "célula tumoral" y equivalentes gramaticales hacen referencia a la población total de células procedentes de un tumor o una lesión precancerosa, incluidas células no

tumorigénicas, que comprenden la mayor parte de la población de células tumorales, y células madre tumorigénicas (células madre cancerosas). Como se usa en el presente documento, la expresión "célula tumoral" se modificará mediante la expresión "no tumorigénico" cuando se refiera solamente a las células tumorales que carecen de la capacidad de renovarse y diferenciarse para distinguir las células tumorales de las células madre cancerosas.

El término "sujeto" hace referencia a cualquier animal (por ejemplo, un mamífero) que incluye, pero sin limitación, humanos, primates no humanos, roedores y similares, que será el receptor de un tratamiento particular. Normalmente, las expresiones "sujeto" y "paciente" se usan de manera indistinta en el presente documento para hacer referencia a un sujeto humano.

La expresión "peso corporal ideal" (IBW, por sus siglas en inglés *ideal body weight*) hace referencia a un elemento de descripción de tamaño no relacionado con el peso corporal total. El IBW es una estimación del peso corregido según el sexo y la altura y, opcionalmente, el tamaño de complexión. El IBW se puede calcular, por ejemplo, utilizando las fórmulas  $IBW = 0,9H-88$  (para hombres/machos) e  $IBW = 0,9H-92$  (para mujeres/hembras), en las que H = altura en cm.

La expresión "peso corporal magro" (LBW por sus siglas en inglés *lean body weight*) hace referencia a un elemento de descripción de tamaño que puede representar una masa grasa fraccionaria ( $FM_{frac}$ ). El LBW es igual al peso corporal total menos el producto de la  $FM_{frac}$  y el peso. El LBW se puede calcular, por ejemplo, usando las fórmulas  $LBW = 1,10 \times \text{peso en kg} - 128([\text{peso en kg}]^2/[100 \times \text{altura en metros}]^2)$  (para hombres) y  $LBW = 1,07 \times \text{peso en kg} - 148([\text{peso en kg}]^2/[100 \times \text{altura en metros}]^2)$  (para mujeres).

La expresión "peso corporal ideal ajustado" (AIBW) o "peso corporal ajustado" (ADJ) hace referencia a un elemento de descripción de tamaño que representa el sexo, el peso corporal total y la altura. AIBW y ADJ se utilizan de forma indistinta en toda la memoria descriptiva. El AIBW (ADJ) se puede calcular, por ejemplo, utilizando la fórmula  $ADJ = IBW + 0,4(\text{peso en kg} - IBW)$ .

IBW, LBW y AIBW (ADJ) se analizan con mayor detalle en Green y Duffull, British Journal of Clinical Pharmacology 58: 119-133 (2004).

La administración "en combinación con" uno o más agentes terapéuticos adicionales incluye administración simultánea (paralela) y consecutiva en cualquier orden.

La expresión "formulación farmacéutica" hace referencia a una preparación que está en forma tal que permite que la actividad biológica del principio activo sea eficaz y que no contiene ningún componente adicional inaceptablemente tóxico para un sujeto al cual se le administraría la formulación. La formulación puede ser estéril.

Una "cantidad eficaz" de un anticuerpo o inmunocóncugado, tal como se divulga en el presente documento, es una cantidad suficiente para llevar a cabo un fin específicamente establecido. Una "cantidad eficaz" puede determinarse de forma empírica y de manera rutinaria, en relación con el fin establecido.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" hace referencia a una cantidad de un anticuerpo u otro fármaco eficaz para "tratar" una enfermedad o un trastorno en un sujeto o mamífero. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir la cantidad de células cancerosas, reducir el tamaño del tumor, inhibir (es decir, enlentecer en cierta medida y, En una realización determinada, detener) la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos, inhibir (es decir, enlentecer en cierta medida y, En una realización determinada, detener) la metástasis tumoral, inhibir, en cierta medida, el crecimiento tumoral, aliviar en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con el cáncer y/o producir una respuesta favorable, tal como mayor supervivencia sin evolución (PFS), supervivencia sin enfermedad (DFS) o supervivencia general (OS), respuesta completa (CR), respuesta parcial (PR) o, en algunos casos, enfermedad estable (SD), una disminución en la enfermedad progresiva (PD, de sus siglas en inglés *progressive disease*), un menor tiempo para la evolución (TTP), una disminución en CA125 en el caso del cáncer de ovario, o cualquier combinación de estos.

Véase la definición de "tratar" en el presente documento. En la medida en que el fármaco pueda prevenir el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, este puede ser citostático y/o citotóxico. La identificación de mayores niveles de FOLR1 puede permitir administrar menores cantidades del agente terapéutico dirigido a FOLR1 para lograr el mismo efecto terapéutico que se observa con mayores dosificaciones. Una "cantidad profilácticamente eficaz" hace referencia a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para alcanzar el resultado profiláctico deseado. Normalmente, aunque no necesariamente, dado que se utiliza una dosis profiláctica en los sujetos antes o en una fase temprana de la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz.

La expresión "responder favorablemente" generalmente hace referencia a provocar un estado beneficioso en un sujeto. Con relación al tratamiento del cáncer, la expresión hace referencia a proporcionar un efecto terapéutico en el sujeto. Los efectos terapéuticos positivos en el cáncer se pueden medir de diversas formas (véase W.A. Weber, J. Nucl. Med. 50:1S-10S (2009)). Por ejemplo, se pueden usar técnicas de inhibición de crecimiento tumoral, expresión de marcador molecular, expresión de marcador sérico o moleculares de formación de imágenes para evaluar la eficacia terapéutica de un agente terapéutico contra el cáncer. Con respecto a la inhibición del crecimiento tumoral, de acuerdo con los criterios del NCI, un  $T/C \leq 42\%$  es el nivel mínimo de actividad antitumoral. Un  $T/C < 10\%$  se considera un nivel de actividad antitumoral alto, con  $T/C (\%) = \text{volumen tumoral mediano del tratado} / \text{volumen tumoral mediano del control} \times 100$ . Se puede evaluar una respuesta favorable, por ejemplo, mediante una mayor supervivencia sin evolución (PFS), supervivencia sin enfermedad (DFS) o supervivencia general (OS), respuesta completa (CR), respuesta parcial (PR) o, en algunos casos, enfermedad estable (SD), una disminución en enfermedad progresiva (PD), un menor tiempo para la evolución (TTP), una disminución en CA125 en el caso de cáncer de ovario, o cualquier combinación de estos.

PFS, DFS y OS se pueden medir mediante criterios establecidos por el Instituto Nacional del Cáncer y por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos para la aprobación de nuevos fármacos. Véase Johnson *et al*, (2003) J. Clin. Oncol. 21(7):1404-1411.

La "supervivencia sin evolución" (PFS) hace referencia al tiempo desde la inclusión en el estudio hasta la evolución de enfermedad o el fallecimiento. La PFS generalmente se mide utilizando el método Kaplan-Meier y las pautas de los Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST, por sus siglas en inglés *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*) 1.1. Generalmente, la supervivencia sin evolución se refiere a la situación en la que un paciente permanece vivo, sin que el cáncer empeore.

El "tiempo hasta la evolución del tumor" (TTP) se define como el tiempo desde la inclusión en el estudio hasta la evolución de la enfermedad. El TTP se mide generalmente utilizando los criterios RECIST 1.1.

Una "respuesta completa" o "remisión completa" o "CR" indica la desaparición de todos los signos de tumor o cáncer en respuesta al tratamiento. Esto no siempre significa que el cáncer se ha curado.

Una "respuesta parcial" o "PR" se refiere a una disminución en el tamaño o el volumen de uno o más tumores o lesiones, o en la extensión del cáncer en el cuerpo, en respuesta al tratamiento.

"Enfermedad estable" se refiere a la enfermedad sin evolución o recidiva. En la enfermedad estable no hay suficiente retracción del tumor para que califique para una respuesta parcial ni suficiente aumento del tumor para que califique como enfermedad progresiva.

"Enfermedad progresiva" se refiere a la aparición de una o más lesiones o tumores nuevos y/o la evolución inequívoca de lesiones no objetivo existentes. La enfermedad progresiva también se puede revertir a un crecimiento tumoral de más de 20 por ciento desde el inicio del tratamiento, ya sea debido a aumentos en la masa o a la diseminación del tumor.

"Supervivencia sin enfermedad" (DFS) se refiere al tiempo durante y posterior al tratamiento en el que el paciente permanece sin enfermedad.

"Supervivencia global" (OS) se refiere al tiempo desde la inclusión del paciente en el estudio hasta su fallecimiento o a que se censuró en la fecha que se le vio vivo por última vez. La OS incluye una prolongación de la esperanza de vida en comparación con individuos o pacientes no tratados. La supervivencia global se refiere a la situación en la que un paciente permanece vivo durante un período definido, tal como un año, cinco años, etc., por ejemplo, a partir del momento del diagnóstico o tratamiento.

Una "disminución en los niveles de CA125" se puede evaluar de acuerdo con las directrices del Gynecologic Cancer Intergroup (GCIg). Por ejemplo, los niveles de CA125 se pueden medir antes del tratamiento para establecer un nivel de referencia de CA125. Los niveles de CA125 se pueden medir una o más veces durante o luego del tratamiento, y una reducción en los niveles de CA125 en el tiempo en comparación con el nivel de referencia se considera una disminución en los niveles de CA125.

Términos tales como "que tratar", "tratamiento" o "tratar", o "que alivia" o "aliviar", se refieren a medidas terapéuticas que curan, enlentecen, reducen los síntomas y/o detienen la evolución de una afección o un trastorno patológico diagnosticado. Por lo tanto, quienes necesitan tratamiento incluyen quienes ya fueron diagnosticados o se sospecha que tienen el trastorno. En determinadas realizaciones, un sujeto se "trata" satisfactoriamente contra el cáncer de acuerdo con el tratamiento de la presente invención si el paciente muestra uno o más de los siguientes: una reducción en la cantidad o ausencia total de células cancerosas, una reducción en el tamaño tumoral, inhibición o una ausencia de infiltración de células cancerosas en órganos periféricos que incluyen, por ejemplo, la diseminación del cáncer en partes blandas y huesos,

inhibición o una ausencia de metástasis tumoral, inhibición o una ausencia de crecimiento tumoral, alivio de uno o más síntomas asociados con el cáncer específico, menor morbilidad y mortalidad, mejora en la calidad de vida, reducción de la tumorigenicidad, frecuencia tumorigénica o capacidad tumorigénica de un tumor, reducción en la cantidad o frecuencia de células madre cancerosas en un tumor, diferenciación de células

5

tumorigénicas a un estado no tumorigénico, aumento de la supervivencia sin evolución (PFS), supervivencia sin enfermedad (DFS) o supervivencia global (OS), respuesta completa (CR), respuesta parcial (PR), enfermedad estable (SD), una disminución en la enfermedad progresiva (PD), un menor tiempo hasta la evolución (TTP), una disminución de CA125 en el caso de cáncer de ovario, o cualquier combinación de estos.

10

Las medidas preventivas o profilácticas se refieren a medidas terapéuticas que previenen y/o enlentecen el desarrollo de una afección o un trastorno patológico objetivo. Por lo tanto, quienes necesitan medidas profilácticas o preventivas incluyen a quienes son propensos a tener el trastorno y aquellos en quienes se debe prevenir el trastorno.

15

Las expresiones "tratar previamente" y "tratamiento previo" se refieren a medidas terapéuticas que se producen antes de la administración de un agente terapéutico anti-FOLR1. Por ejemplo, como se describe más detalladamente en el presente documento, un profiláctico tal como un esteroide se puede administrar en un plazo de aproximadamente una semana, aproximadamente cinco días, aproximadamente tres días, aproximadamente dos días o aproximadamente un día o 24 horas antes de la administración del agente terapéutico anti-FOLR1. El profiláctico también se puede administrar antes que el agente terapéutico anti-FOLR1 el mismo día que el agente terapéutico anti-FOLR1.

20

La expresión "concentración máxima" ( $C_{\text{máx}}$ ) hace referencia a la mayor concentración de fármaco en la sangre medida luego de una dosis del fármaco.

25

La expresión "área bajo la curva" (ABC) hace referencia a la cantidad global de fármaco en el torrente sanguíneo luego de una dosis del fármaco. El ABC se puede definir en un período de tiempo particular. Por lo tanto, por ejemplo, el  $ABC_{0-\infty}$  se refiere a la cantidad global de fármaco en el torrente sanguíneo durante un período infinito luego de una dosis del fármaco. En otro ejemplo, el  $ABC_{0-24}$  se refiere a la cantidad global de fármaco en el torrente sanguíneo durante un período de 24 horas luego de una dosis del fármaco. En otro ejemplo, el  $ABC_{0-168}$  se refiere a la cantidad global de fármaco en el torrente sanguíneo durante un período de 168 horas (o 1 semana) luego de una dosis del fármaco.

30

El "volumen aparente de distribución en equilibrio" ( $V_{ss}$ ) hace referencia a la relación de la cantidad total de fármaco en el cuerpo con respecto a la concentración del fármaco en el plasma o el volumen "aparente" necesario para contener la cantidad total de un fármaco, si el fármaco en todo el cuerpo estuviera en la misma concentración que en el plasma.

35

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer, independientemente del mecanismo de acción. Los agentes quimioterapéuticos incluyen, por ejemplo, antagonistas de CD20, tales como Rituximab y ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, predinisona, fludarabina, etopósido, metotrexato, lenalidomida, clorambucilo, bentamustina y/o versiones modificadas de tales agentes quimioterapéuticos.

40

45

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan de manera indistinta en el presente documento para referirse a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados y puede estar interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácidos que se ha modificado de forma natural o mediante intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glucosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente de marcaje. También se incluyen en la definición, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (que incluyen, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Se entiende que, debido a que los polipéptidos de la presente invención se basan en anticuerpos, en determinadas realizaciones los polipéptidos pueden producirse como cadenas individuales o cadenas asociadas.

50

55

Una "sustitución conservativa de aminoácidos" es una en la que un resto de aminoácido se reemplaza por otro resto de aminoácido con una cadena lateral similar. En la técnica se han definido familias de restos de aminoácido con cadenas laterales similares que incluyen cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales ramificadas en beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por ejemplo, la sustitución de una fenilalanina por una tirosina es una sustitución conservativa. En algunas realizaciones, las sustituciones

60

65

conservativas en las secuencias de polipéptidos y anticuerpos de la invención no anulan la unión del polipéptido o anticuerpo que contiene la secuencia de aminoácidos a uno antígeno (o antígenos), es decir, el FOLR1 al que se une el polipéptido o anticuerpo. Se conocen en la técnica métodos para identificar sustituciones conservativas de nucleótidos y aminoácidos que no eliminan la unión al antígeno (véase, por ejemplo, a Brummell *et al.*, Biochem. 32: 1180-1 187 (1993); Kobayashi *et al.* Protein Eng. 12(10):879-884 (1999) y Burks *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 94:412-417 (1997)).

Tal como se usan en la presente divulgación y en las reivindicaciones, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen formas plurales, a menos que el contexto indique claramente otra cosa.

Se entiende que siempre que se describan las realizaciones en el presente documento con la expresión "que comprende", también se proporcionan realizaciones análogas descritas en términos de "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en".

La expresión "y/o", como se usa en una frase tal como "A y/o B" en el presente documento, pretende incluir tanto "A y B", "A o B" como "A" y "B". Asimismo, la expresión "y/o", como se usa en una frase tal como "A, B y/o C" pretende abarcar cada una de las siguientes realizaciones: A, B y C; A, B o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo) y C (solo).

## II. Agentes de unión a FOLR1

Los tratamientos descritos en el presente documento proporcionan métodos para administrar agentes (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos o inmunoconjugados, como se define en las reivindicaciones) que se unen de forma específica a FOLR1 ("agentes de unión a FOLR1"). Las secuencias de aminoácidos y nucleótidos para el FOLR1 humano son conocidas en la técnica y también se proporcionan en el presente documento como se representa mediante las SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2. Por lo tanto, los agentes de unión a FOLR1 se unen a un epítipo que se encuentra en la SEQ ID NO: 1.

Se pueden encontrar ejemplos de anticuerpos anti-FOLR1 terapéuticamente eficaces en la pub. de sol. de Estados Unidos n.º US 2012/0009181. Un ejemplo de anticuerpo anti-FOLR1 terapéuticamente eficaz es huMov19 (M9346A). Los polipéptidos de las SEQ ID NO: 3-5 comprenden el dominio de cadena pesada variable de huMov19 (M9346A), y el dominio de cadena ligera variable versión 1.00, el dominio de cadena ligera variable versión 1.60 de huMov19, respectivamente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-FOLR1 huMov19 está compuesto por una cadena pesada de dominio variable representada por la SEQ ID NO: 3 y una cadena ligera de dominio variable representada por la SEQ ID NO: 5 (versión 1.60 de huMov19). En determinadas realizaciones, el anticuerpo huMov19 (M9346A) está codificado por los plásmidos depositados en la Colección americana de cultivos tipo (ATCC), ubicada en 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110, el 7 de abril de 2010, de acuerdo con los términos del Tratado de Budapest y con los n.º de depósito de ATCC PTA-10772 y PTA-10773 o 10774. A continuación, se proporcionan ejemplos de inmunoconjugados de FOLR1 útiles en los métodos terapéuticos de la invención.

En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 son anticuerpos humanizados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos. En algunas realizaciones, el anticuerpo humanizado o fragmento es un anticuerpo rechapado o fragmento de unión al antígeno del mismo. En otras realizaciones, el agente de unión a FOLR1 es un anticuerpo completamente humano o fragmento de unión al antígeno del mismo.

En determinadas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 tienen uno o más de los siguientes efectos: inducen una enfermedad estable, inhiben la proliferación de células tumorales, reducen la tumorigenicidad de un tumor mediante la reducción de la frecuencia de las células madre cancerosas en el tumor, inhiben el crecimiento tumoral, aumentan la supervivencia, desencadenan la muerte celular de las células tumorales, diferencian las células tumorigénicas a un estado no tumorigénico o previenen la metástasis de las células tumorales.

En determinadas realizaciones, un agente de unión a FOLR1 es un anticuerpo con actividad de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 pueden reducir el volumen tumoral. La capacidad de un agente de unión a FOLR1 de reducir el volumen tumoral se puede evaluar, por ejemplo, midiendo un valor de % de T/C, que es el volumen tumoral mediano de sujetos tratados dividido por el volumen tumoral mediano de los sujetos de control. En determinadas realizaciones, los inmunoconjugados u otros agentes que se unen específicamente a FOLR1 humano desencadenan la muerte celular a través de un agente citotóxico. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, un anticuerpo para un anticuerpo FOLR1 humano se conjuga con un maitansinoide que se activa en células tumorales que expresan el FOLR1 mediante interiorización de proteínas. En determinadas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 pueden inhibir el crecimiento tumoral. En determinadas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 pueden inhibir el crecimiento tumoral *in vivo* (por ejemplo, en un modelo de ratón con xenoinjerto y/o en un ser humano con cáncer).

Las moléculas de unión a FOLR1 pueden ser anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno que se unen de forma específica a FOLR1, que comprenden las CDR de huMov19 (M9346A), por ejemplo, en las que los anticuerpos o fragmentos no comprenden las seis CDR de Mov19 de murino (es decir, las SEQ ID NO: 6-9, 16 y 12). Los anticuerpos comprenden una cadena ligera variable y una cadena pesada variable.

En algunas realizaciones, la molécula de unión a FOLR1 es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende las secuencias de las SEQ ID NO: 6-10 y la secuencia de la SEQ ID NO: 12. En algunas realizaciones, la molécula de unión a FOLR1 es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende las secuencias de las SEQ ID NO: 6-9 y las secuencias de las SEQ ID NO: 11 y 12.

En determinadas realizaciones, el polipéptido comprende (a) un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y (b) un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 5. El polipéptido es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a FOLR1. En determinadas realizaciones, el polipéptido es un anticuerpo murino, quimérico o humanizado que se une específicamente a FOLR1.

Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar utilizando métodos de hibridoma, tales como los descritos por Köhler y Milstein (1975) Nature 256:495. Usando el método de hibridoma, se inmuniza un ratón, hámster u otro animal hospedador adecuado tal como se describió anteriormente, para suscitar la producción mediante linfocitos de anticuerpos que se unirán de forma específica a un antígeno inmunizante. Los linfocitos también se pueden inmunizar *in vitro*. Después de la inmunización, los linfocitos se aíslan y fusionan con una línea celular de mieloma adecuada usando, por ejemplo, polietilenglicol, para formar células de hibridoma que luego se pueden seleccionar de las células de mieloma y linfocitos no fusionados. Los hibridomas que producen anticuerpos monoclonales dirigidos específicamente contra un antígeno seleccionado según se determina mediante inmunoprecipitación, inmunotransferencia o mediante un ensayo de unión *in vitro* (por ejemplo, radioinmunoensayo (RIA, por su sigla en inglés), ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)) se pueden propagar luego en cultivo *in vitro* usando métodos convencionales (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986) o *in vivo* como tumores con ascitis en un animal. Los anticuerpos monoclonales luego se pueden purificar a partir del medio de cultivo o del líquido ascítico, como se describió anteriormente para los anticuerpos policlonales.

De manera alternativa, los anticuerpos monoclonales también se pueden fabricar utilizando métodos de ADN recombinante tal como se describe en la patente de Estados Unidos 4.816.567. Los polinucleótidos que codifican un anticuerpo monoclonal se aíslan de linfocitos B maduros o células de hibridoma, tal como mediante RT-PCR usando cebadores de oligonucleótidos que amplifican específicamente los genes que codifican las cadenas ligera y pesada del anticuerpo, y su secuencia se determina usando procedimientos convencionales. Los polinucleótidos aislados que codifican las cadenas ligera y pesada se clonan luego en vectores de expresión adecuados que, al transfectarse en células hospedadoras, tales como células de *E. coli*, células COS de simio, células de ovario de hámster chino (CHO) o células de mieloma, que de otra forma no producen proteína de inmunoglobulina, generan anticuerpos monoclonales mediante las células hospedadoras. Además, los anticuerpos monoclonales recombinantes o fragmentos de los mismos de las especies deseadas se pueden aislar de bibliotecas de presentación en fagos que expresan las CDR de las especies deseadas como se ha descrito (McCafferty *et al.*, 1990, Nature, 348:552-554; Clackson *et al.*, 1991, Nature, 352:624-628; y Marks *et al.*, 1991, J. Mol. Biol., 222:581-597).

El polinucleótido (o polinucleótidos) que codifican un anticuerpo monoclonal se puede modificar adicionalmente de distintas maneras utilizando tecnología de ADN recombinante para generar anticuerpos alternativos. En algunas realizaciones, los dominios constantes de las cadenas ligera y pesada, por ejemplo, de un anticuerpo monoclonal de ratón, se pueden sustituir 1) por las regiones, por ejemplo, de un anticuerpo humano para generar un anticuerpo quimérico o 2) por un polipéptido no de inmunoglobulina para generar un anticuerpo de fusión. En algunas realizaciones, las regiones constantes se truncan o se eliminan para generar el fragmento de anticuerpo deseado de un anticuerpo monoclonal. Se puede usar mutagénesis dirigida o de alta densidad de la región variable para optimizar la especificidad, afinidad, etc. de un anticuerpo monoclonal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo monoclonal contra FOLR1 humano es un anticuerpo humanizado. En algunas realizaciones, el anticuerpo humanizado es un anticuerpo rechapado. En determinadas realizaciones, tales anticuerpos se utilizan de forma terapéutica para reducir la antigenicidad y las respuestas del HAMA (por su sigla del inglés *human anti-mouse antibody*: anticuerpo humano anti-ratón) cuando se administra a un sujeto humano. Los anticuerpos humanizados se pueden producir usando diversas técnicas conocidas en la técnica. En determinadas realizaciones alternativas, el anticuerpo para FOLR1 es un anticuerpo humano.

Los anticuerpos humanos se pueden preparar directamente usando diversas técnicas conocidas en la técnica. Se pueden generar linfocitos B humanos inmortalizados inmunizados *in vitro* o aislados de un

individuo inmunizado que produce un anticuerpo dirigido contra un antígeno objetivo (véase, por ejemplo, Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, pág. 77 (1985); Boemer *et al.*, 1991, J. Immunol., 147 (1):86-95 y la patente de Estados Unidos 5.750.373). Además, el anticuerpo humano se puede seleccionar de una biblioteca de fagos, en donde la biblioteca de fagos expresa anticuerpos humanos, como se describe, por ejemplo, en Vaughan *et al.*, 1996, Nat. Biotech., 14:309-314, Sheets *et al.*, 1998, Proc. Nat'l. Acad. Sci., 95:6157-6162, Hoogenboom y Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381 y Marks *et al.*, 1991, J. Mol. Biol., 222:581). Las técnicas para la generación y el uso de bibliotecas de fagos de anticuerpos también se describen en las patentes de Estados Unidos n.º 5.969.108, 6.172.197, 5.885.793, 6.521.404; 6.544.731; 6.555.313; 6.582.915; 6.593.081; 6.300.064; 6.653.068; 6.706.484 y 7.264.963; y Rothe *et al.*, 2007, J. Mol. Bio., doi:10.1016/j.jmb.2007.12.018. Las estrategias de maduración de la afinidad y las estrategias de redistribución (*shuffling*) de cadenas (Marks *et al.*, 1992, Bio/Technology, 10:779-783)), se conocen en la técnica y pueden emplearse para generar anticuerpos humanos de alta afinidad.

Los anticuerpos humanizados también se pueden fabricar en ratones transgénicos con locus de inmunoglobulina humana que, tras la inmunización, pueden producir el repertorio completo de anticuerpos humanos sin producción de inmunoglobulinas endógenas. Esta estrategia se describe en las patentes de Estados Unidos 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425 y 5.661.016.

La presente invención también abarca anticuerpos biespecíficos que reconocen específicamente un FOLR1. Los anticuerpos biespecíficos son anticuerpos que pueden reconocer y unirse de forma específica a al menos dos epítomos distintos. Los distintos epítomos pueden estar dentro de la misma molécula (por ejemplo, el mismo FOLR1) o en distintas moléculas de modo que, por ejemplo, ambos anticuerpos pueden reconocer y unirse específicamente a un FOLR1 así como, por ejemplo, 1) a una molécula efectora en un leucocito, tal como un receptor de linfocitos T (por ejemplo, CD3) o un receptor de Fc (por ejemplo, CD64, CD32 o CD16), o 2) un agente citotóxico, como se describe en detalle a continuación.

Los polipéptidos pueden ser polipéptidos recombinantes, polipéptidos naturales o polipéptidos sintéticos que comprenden un anticuerpo, o fragmento del mismo, contra un FOLR1 humano.

Los polipéptidos y análogos se pueden modificar adicionalmente para que contengan fracciones químicas adicionales que normalmente no son parte de la proteína. Las fracciones derivatizadas pueden mejorar la solubilidad, la semivida biológica o la absorción de la proteína. Las fracciones también pueden reducir o eliminar todo efecto secundario deseable de las proteínas y similares. Se puede encontrar una visión de conjunto de las fracciones en REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 20ª ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000).

Los métodos conocidos en la técnica para purificar anticuerpos y otras proteínas también incluyen, por ejemplo, los que se describen en la publicación de patente de Estados Unidos n.º 2008/0312425, 2008/0177048 y 2009/0187005.

### III. Inmunoconjugados

En el presente documento se describen métodos para administrar conjugados que comprenden los anticuerpos anti-FOLR1, fragmentos de anticuerpos y sus equivalentes funcionales, como se divulga en el presente documento, unidos o conjugados con un fármaco o profármaco (también denominados en el presente documento inmunoconjugados, como se define en las reivindicaciones). En la técnica se conocen fármacos y profármacos adecuados. Los fármacos o profármacos adecuados de la invención, son agentes citotóxicos. El agente citotóxico que se utiliza en el conjugado citotóxico de la presente invención es un maitansinoide.

Dichos conjugados se pueden preparar utilizando un grupo de enlace para unir un fármaco o profármaco al anticuerpo o equivalente funcional. Los grupos de unión adecuados son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, grupos disulfuro, grupos tioéter, grupos lábiles al ácido, grupos fotilábiles, grupos lábiles a peptidasa y grupos lábiles a esterasa.

El fármaco o profármaco puede, por ejemplo, estar unido al anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo a través de un enlace disulfuro. La molécula de unión o agente de reticulación comprende un grupo químico reactivo que puede reaccionar con el anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo. Los grupos químicos reactivos para su reacción con el agente de unión a células pueden ser ésteres de *N*-succinimidilo y ésteres de *N*-sulfosuccinimidilo. De manera adicional, la molécula de unión comprende un grupo químico reactivo, que puede ser un grupo ditiopiridilo que puede reaccionar con el fármaco para formar un enlace disulfuro. Las moléculas de unión incluyen, por ejemplo, 3-(2-piridilditio) propionato de *N*-succinimidilo (SPDP) (véase, por ejemplo, Carlsson *et al.*, Biochem. J., 173: 723-737 (1978)), 4-(2-piridilditio)-butanoato de *N*-succinimidilo (SPDB) (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 4.563.304), 4-(2-piridilditio)2-sulfobutanoato de *N*-succinimidilo (sulfo-SPDB) (véase la publicación de Estados Unidos n.º 20090274713), 4-(2-piridilditio) pentanoato de *N*-succinimidilo (SPP) (véase, por ejemplo, número de registro CAS 341498-08-6), 2-iminotiolano o anhídrido acetilsuccínico. Por ejemplo, el anticuerpo o agente de unión a células se puede



modificar con los reactivos de reticulación y el anticuerpo o agente de unión a células que contiene grupos tiol libres o protegidos así obtenido se hace reaccionar después con un maitansinoide con disulfuro o tiol para producir conjugados. Los conjugados se pueden purificar mediante cromatografía, incluyendo, pero sin limitación, HPLC, exclusión por tamaño, adsorción, intercambio iónico y captura por afinidad, diálisis o filtración de flujo tangencial.

En otro aspecto de la presente invención, el anticuerpo anti-FOLR1 está unido a fármacos citotóxicos a través de enlaces disulfuro y un espaciador de polietilenglicol para mejorar la potencia, la solubilidad o la eficacia del inmunconjugado. Dichos enlazadores hidrófilos escindibles se describen en el documento WO2009/0134976. El beneficio adicional de este diseño de enlazador es la alta relación de monómeros deseada y la mínima agregación del conjugado anticuerpo-fármaco. En este aspecto, se contemplan de forma específica los conjugados de agentes de unión a células y se describen fármacos unidos a través de espaciadores de polietilenglicol con grupos disulfuro (-S-S-) ((CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n=1-14</sub>) con un intervalo estrecho de carga de fármaco de 2-8 que presentan actividad biológica potente relativamente alta hacia las células cancerosas y tienen las propiedades bioquímicas deseadas de un rendimiento de conjugación alto y una relación de monómeros elevada con una agregación mínima de proteínas.

También se pueden preparar conjugados de anticuerpo y maitansinoide con enlazadores no escindibles. Dichos reticulantes se describen en la técnica (véase la publicación de Estados Unidos n.º 20050169933) e incluyen, pero sin limitación, 4-(maleimidometil) ciclohexanocarboxilato de *N*-succinimidilo (SMCC). En algunas realizaciones, el anticuerpo se modifica con reactivos de reticulación tales como 4-(*N*-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC), sulfo-SMCC, éster de maleimidobenzoil-*N*-hidroxisuccinimida (MBS), sulfo-MBS o succinimidil-yodoacetato, tal como se describe en la bibliografía, para introducir 1-10 grupos reactivos (Yoshitake *et al.*, Eur. J. Biochem., 101:395-399 (1979); Hashida *et al.*, J. Applied Biochem., 56-63 (1984) y Liu *et al.*, Biochem., 18:690-697(1979)). El anticuerpo modificado luego se hace reaccionar con el derivado de maitansinoide que contiene tiol para producir un conjugado. El conjugado se puede purificar mediante filtración en gel a través de una columna de Sephadex G25 o mediante diálisis o filtración de flujo tangencial. Los anticuerpos modificados se tratan con el maitansinoide que contiene tiol (1 a 2 equivalentes molares/grupos maleimido) y los conjugados de anticuerpo-maitansinoide se purifican mediante filtración en gel a través de una columna de Sephadex G-25, cromatografía en una columna de hidroxipatita cerámica, diálisis o filtración de flujo tangencial, o una combinación de métodos de los mismos. Normalmente, se enlaza un promedio de 1-10 maitansinoides por anticuerpo. Un método es modificar los anticuerpos con 4-(*N*-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC) para introducir grupos maleimido, seguido por reacción del anticuerpo modificado con un maitansinoide que contiene tiol para proporcionar un conjugado unido a tioéter. Nuevamente, se producen conjugados con 1 a 10 moléculas de fármaco por molécula de anticuerpo. Los conjugados de anticuerpos, fragmentos de anticuerpo y otras proteínas con maitansinoide se realizan del mismo modo.

En otro aspecto de la invención, el anticuerpo FOLR1 se une al fármaco a través de un enlace no escindible por medio de la intermediación de un espaciador de PEG. También se conocen bien en la técnica reactivos de reticulación adecuados que comprenden cadenas de PEG hidrófilas que forman enlazadores entre un fármaco y el anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento, o estos se encuentran disponibles en el mercado (por ejemplo, de Quanta Biodesign, Powell, Ohio). Los agentes de reticulación que contienen PEG adecuados también se pueden sintetizar a partir de PEG disponibles en el mercado utilizando técnicas de química sintética convencionales conocidas por los expertos en la materia. Los fármacos se pueden hacer reaccionar con reticulantes que contienen PEG bifuncionales para proporcionar compuestos de la siguiente fórmula, Z-X<sub>1</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-Y<sub>p</sub>-D, con métodos descritos de forma detallada en la publicación de patente de Estados Unidos 20090274713 y en el documento WO2009/0134976, que luego pueden hacerse reaccionar con el agente de unión a células para proporcionar un conjugado. De manera alternativa, la unión a células se puede modificar con el reticulante de PEG bifuncional para introducir un grupo que reacciona con tiol (tal como una maleimida o haloacetamida), que luego se puede tratar con un maitansinoide que contiene tiol para proporcionar un conjugado. En otro método, la unión a células se puede modificar con el reticulante de PEG bifuncional para introducir una fracción tiol que luego se puede tratar con un maitansinoide que reacciona con tiol (tal como un maitansinoide que porta una maleimida o haloacetamida), para proporcionar un conjugado.

Los ejemplos de enlazadores que contienen PEG adecuados incluyen enlazadores que tienen una fracción de éster de *N*-succinimidilo o éster de *N*-sulfosuccinimidilo para la reacción con el anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo, así como una fracción basada en maleimida o haloacetilo para la reacción con el compuesto. Se puede incorporar un espaciador de PEG en cualquier reticulante conocido en la técnica mediante los métodos descritos en el presente documento.

En algunas realizaciones, el enlazador es un enlazador que contiene al menos un grupo cargado como se describe, por ejemplo, en la publicación de patente de Estados Unidos n.º 2012/0282282. En algunas realizaciones, los reticulantes cargados o procargados son los que contienen sustituyentes sulfonato, fosfato, carboxilo o amina cuaternaria que aumentan de forma significativa la solubilidad del agente de unión a células modificado y los conjugados de agente de unión a células-fármaco, especialmente para los

conjugados de anticuerpo monoclonal-fármaco con 2 a 20 fármacos/anticuerpos enlazados. Los conjugados preparados a partir de enlazadores que contienen una pro-fracción cargada producirían una o más fracciones cargadas luego de que el conjugado se metabolice en una célula. En algunas realizaciones, el enlazador se selecciona del grupo que consiste en: 4-(2-piridilditio)-2-sulfopentanoato de N-succinimidilo (sulfo-SPP) y 4-(2-piridilditio)-2-sulfobutanoato de N-succinimidilo (sulfo-SPDB).

Muchos de los enlazadores divulgados en el presente documento se describen de forma detallada en las publicaciones de patentes de Estados Unidos n.º 2005/0169933, 2009/0274713 y 2012/0282282 y en el documento WO2009/0134976.

La presente invención incluye aspectos en los que aproximadamente 2 a aproximadamente 8 moléculas de fármaco ("carga de fármaco"), por ejemplo, maitansinoide, se unen a un anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo. "Carga de fármaco", como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de moléculas de fármaco (por ejemplo, un maitansinoide) que pueden estar unidas a un agente de unión a células (por ejemplo, un anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo). En un aspecto, el promedio de la cantidad de moléculas de fármaco que se pueden unir a un agente de unión a células puede ser de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 (por ejemplo, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1). Se pueden utilizar N2'-desacetil-N2'-(3-mercapto-1-oxopropil)-maitansina (DM1) y N2'-desacetil-N2'-(4-mercapto-4-metil-1-oxopentil) maitansina (DM4).

Por lo tanto, en un aspecto, un inmunoconjugado comprende 1 maitansinoide por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende 2 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende 3 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende 4 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende 5 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende 6 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende 7 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende 8 maitansinoides por anticuerpo.

En un aspecto, un inmunoconjugado comprende de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende de aproximadamente 2 a aproximadamente 7 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 maitansinoides por anticuerpo. En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 maitansinoides por anticuerpo.

En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 (por ejemplo, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1) moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) unidas por anticuerpo. En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) por anticuerpo. En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente 2 a aproximadamente 7 moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) por anticuerpo. En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) por anticuerpo. En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) por anticuerpo. En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) por anticuerpo. En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) por anticuerpo.

En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente  $2 \pm 0,5$ , aproximadamente  $3 \pm 0,5$ , aproximadamente  $4 \pm 0,5$ , aproximadamente  $5 \pm 0,5$ , aproximadamente  $6 \pm 0,5$ , aproximadamente  $7 \pm 0,5$  o aproximadamente  $8 \pm 0,5$  moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) unidas por anticuerpo. En un aspecto, una composición que comprende inmunoconjugados tiene un promedio de aproximadamente  $3,5 \pm 0,5$  moléculas de fármaco (por ejemplo, maitansinoides) por anticuerpo.

El anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo se puede modificar haciendo reaccionar un reactivo de reticulación bifuncional con el anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo, produciendo de este modo la

unión covalente de una molécula enlazadora con el anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento del mismo. Como se usa en el presente documento, un "reactivo de reticulación bifuncional" es cualquier fracción química que una de forma covalente un agente de unión a células a un fármaco, tal como los fármacos descritos en el presente documento. En otro método, el fármaco proporciona una parte de la fracción de enlace. A este respecto, el fármaco comprende una fracción de enlace que forma parte de una molécula enlazadora más grande que se utiliza para unir el agente de unión a células al fármaco. Por ejemplo, para formar el maitansinoide DM1, se modifica la cadena lateral en el grupo hidroxilo C-3 de maitansina para tener un grupo sulfhidrilo (SH) libre. Esta forma tiolada de maitansina puede reaccionar con un agente de unión a células modificado para formar un conjugado. Por lo tanto, el enlazador final se ensambla a partir de dos componentes, uno de los cuales lo proporciona el reactivo de reticulación, mientras que el otro lo proporciona la cadena lateral de DM1.

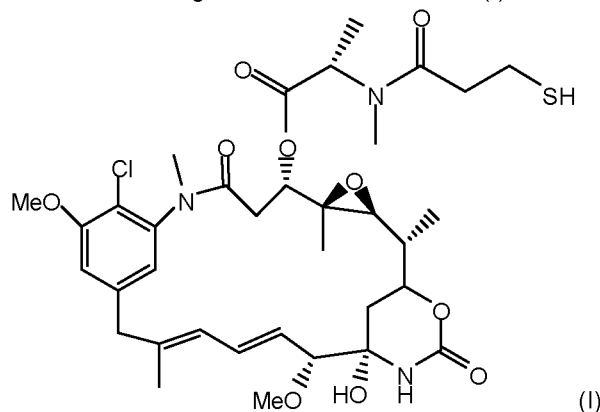
Las moléculas de fármaco también se pueden unir a las moléculas de anticuerpo a través de una molécula transportadora intermediaria tal como seroalbúmina.

Como se usa en el presente documento, la expresión "unido a un agente de unión a células" o "unido a un anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento" se refiere a la molécula de conjugado que comprende al menos un derivado de fármaco unido a un agente de unión a células anticuerpo anti-FOLR1 o fragmento, a través de un grupo de enlace adecuado o un precursor del mismo. Los ejemplos de grupos de enlace son SPDB o sulfo-SPDB.

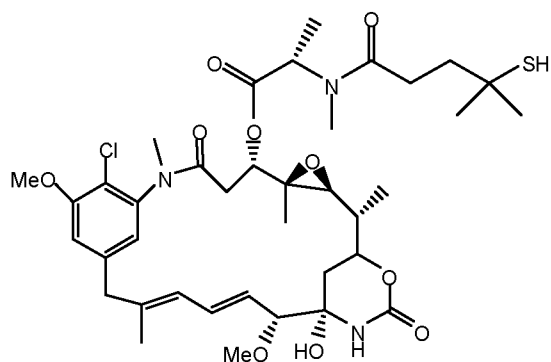
En determinadas realizaciones, los agentes citotóxicos útiles en la presente invención son los maitansinoides y análogos de maitansinoides. Los ejemplos de maitansinoides adecuados incluyen ésteres de maitansinol y análogos de maitansinol. Se incluye cualquier fármaco que inhiba la formación de microtúbulos y que sea altamente tóxico para las células de mamíferos, como son el maitansinol y los análogos de maitansinol.

Los ejemplos de ésteres de maitansinol adecuados incluyen los que tienen un anillo aromático modificado y los que tienen modificaciones en otras posiciones. Dichos maitansinoides adecuados se divulgan en las patentes de Estados Unidos n.º 4.424.219; 4.256.746; 4.294.757; 4.307.016; 4.313.946; 4.315.929; 4.331.598; 4.361.650; 4.362.663; 4.364.866; 4.450.254; 4.322.348; 4.371.533; 5.208.020; 5.416.064; 5.475.092; 5.585.499; 5.846.545; 6.333.410; 7.276.497 y 7.473.796.

En una realización determinada, los inmunconjugados de la invención utilizan el maitansinoide que contiene tiol (DM1), denominado formalmente *N*<sup>2</sup>-desacetil-*N*<sup>2</sup>-(3-mercapto-1-oxopropil)-maitansina, como agente citotóxico. DM1 se representa mediante la siguiente fórmula estructural (I):

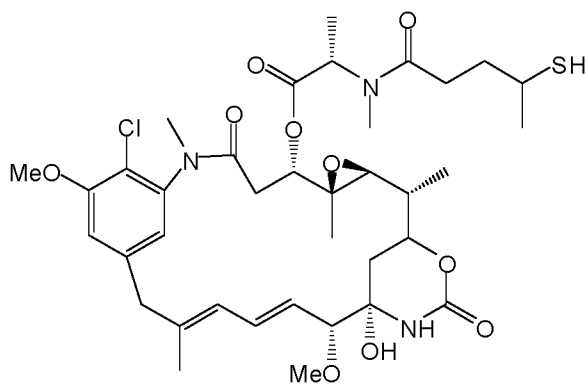


En otra realización, los conjugados de la presente invención utilizan el maitansinoide que contiene tiol *N*<sup>2</sup>-desacetil-*N*<sup>2</sup>-(4-metil-4-mercapto-1-oxopentil)-maitansina (por ejemplo, DM4) como agente citotóxico. DM4 se representa mediante la siguiente fórmula estructural (II):



(II)

Otro maitansinoide que comprende una cadena lateral que contiene un enlace tiol con impedimento estérico es *N*<sup>2</sup>-desacetil-*N*-2-(4-mercapto-1-oxopentil)-maitansina (denominado DM3), representado por la siguiente fórmula estructural (III):

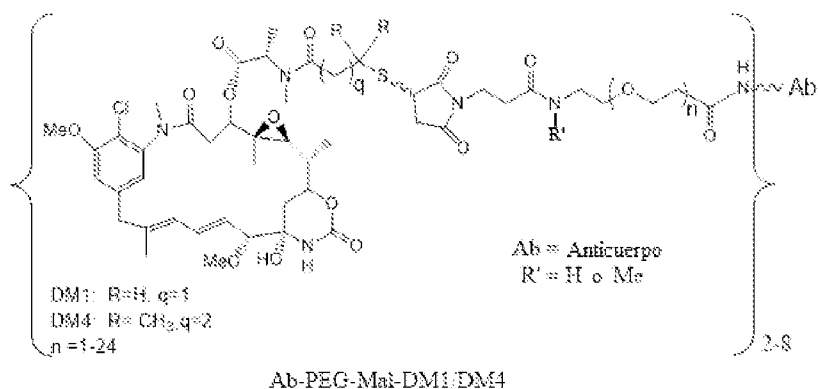


(III)

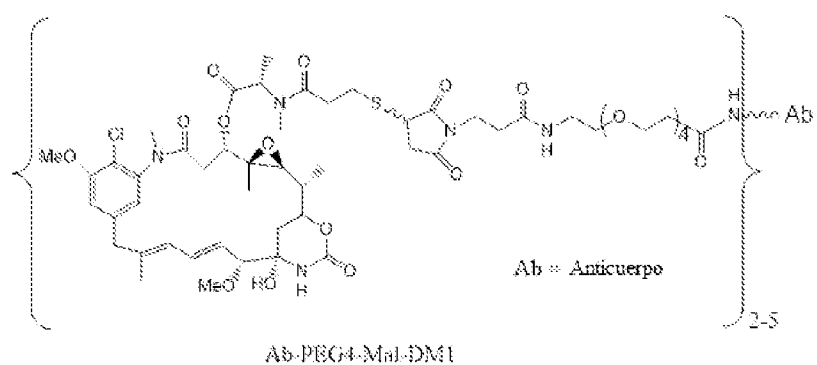
Cada uno de los maitansinoides que se enseñan en las patentes de Estados Unidos n.º 5.208.020 y 7.276.497 también se puede utilizar en el conjugado de la presente invención.

Muchas posiciones en los maitansinoides pueden servir como la posición para unir químicamente la fracción de enlace. Por ejemplo, se espera que sean útiles la posición C-3 que tiene un grupo hidroxilo, la posición C-14 modificada con hidroximetilo, la posición C-15 modificada con hidroxilo y la posición C-20 que tiene un grupo hidroxilo. En algunas realizaciones, la posición C-3 sirve como la posición para unir químicamente la fracción de enlace y, en algunas realizaciones particulares, la posición C-3 de maitansinol sirve como la posición para unir químicamente la fracción de enlace.

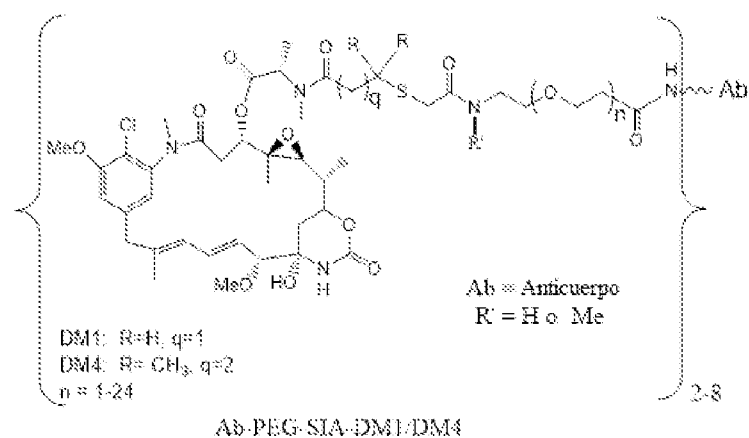
A continuación, se muestran representaciones estructurales de algunos conjugados:



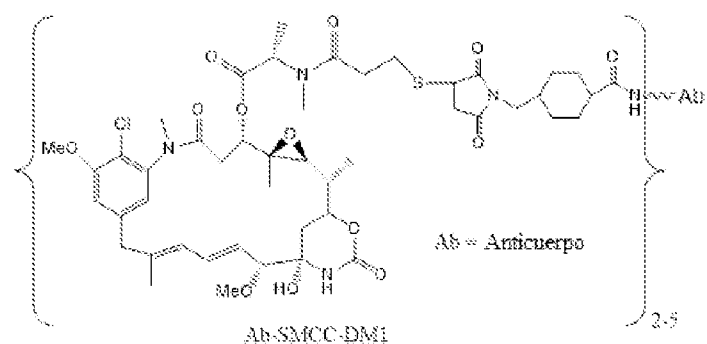
(IV)



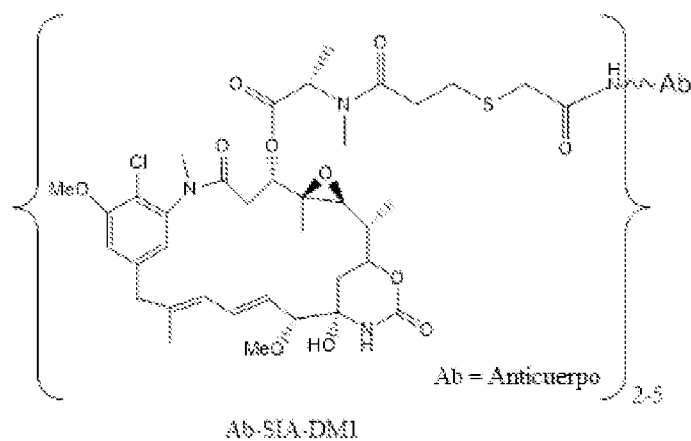
(V)



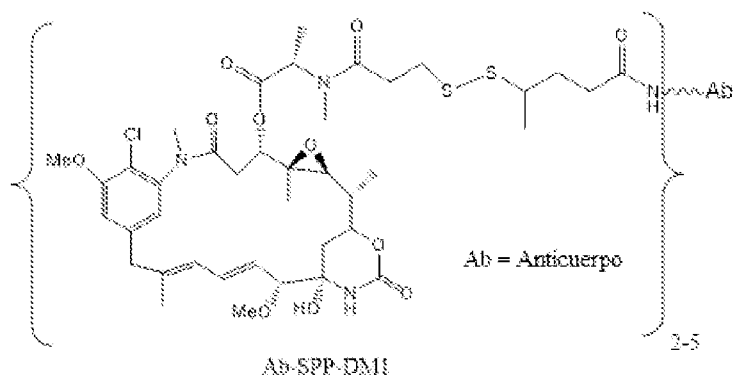
(VI)



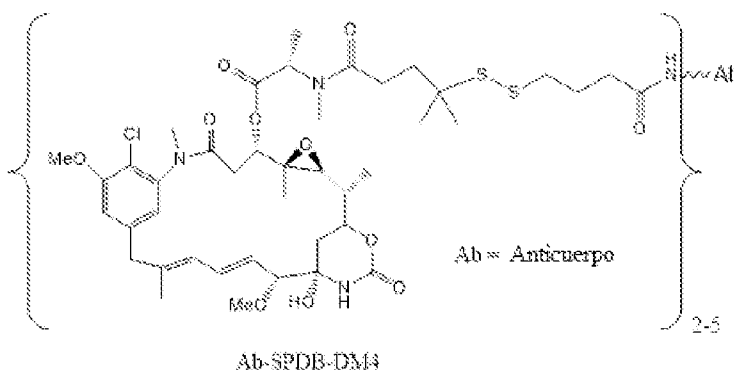
(VII)



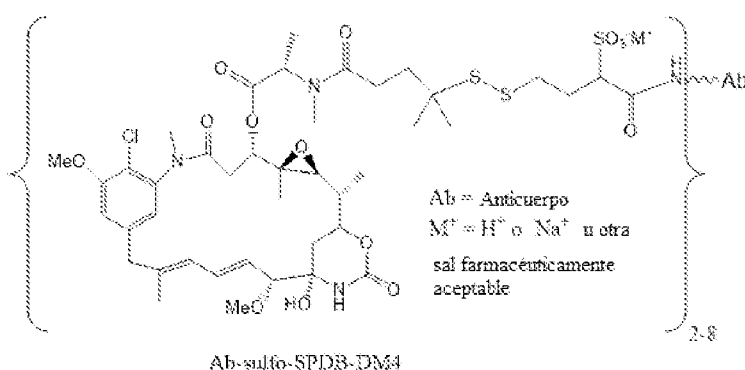
(VIII)



(IX)



(X)



(XI)

5

En la presente invención, también se incluye cualquier estereoisómero y mezcla del mismo para cualquier compuesto o conjugado ilustrado mediante cualquiera de las estructuras anteriores.

- 10 En las patentes de Estados Unidos n.º 6.333.410, 6.441.163, 6.716.821 y 7.368.565 se proporcionan varias descripciones para producir tales conjugados de anticuerpo-maitansinoide.

- 15 En general, se puede incubar una solución de un anticuerpo en tampón acuoso con un exceso molar de maitansinoides que tienen una fracción disulfuro que porta un grupo reactivo. La mezcla de reacción se puede inactivar mediante la adición de un exceso de amina (tal como etanolamina, taurina, etc.). Después, el conjugado de maitansinoide-anticuerpo se puede purificar mediante filtración en gel.

- 20 La cantidad de moléculas de maitansinoide unidas por molécula de anticuerpo se puede determinar midiendo de forma espectrofotométrica la relación de la absorbancia a 252 nm y a 280 nm. El número promedio de moléculas de maitansinoide/anticuerpo puede ser, por ejemplo, de 1-10 o de 2-5. El número promedio de moléculas de maitansinoide/anticuerpo puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. El número promedio de moléculas de maitansinoide/anticuerpo puede ser de aproximadamente 3,5.

- 25 Los conjugados de anticuerpos con maitansinoide u otros fármacos se pueden evaluar para determinar su capacidad de suprimir *in vitro* la proliferación de diversas líneas celulares no deseadas. Por ejemplo, las líneas celulares tales como la línea celular de linfoma humano Daudi y la línea celular de linfoma humano

Ramos se pueden utilizar fácilmente para la evaluación de la citotoxicidad de estos compuestos. Las células que se deben evaluar se pueden exponer a los compuestos durante 4 a 5 días y las fracciones supervivientes de células se pueden medir en ensayos directos mediante métodos conocidos. Se pueden calcular los valores de  $Cl_{50}$  a partir de los resultados de los ensayos.

5 Los inmunoconjugados puede, de acuerdo con algunas realizaciones descritas en el presente documento, internalizarse en las células. Por lo tanto, el inmunoconjugado puede ejercer un efecto terapéutico cuando es absorbido, o internalizado, por una célula que expresa FOLR1. En algunas realizaciones particulares, el inmunoconjugado comprende un anticuerpo, fragmento de anticuerpo o polipéptido unido a un agente  
10 citotóxico mediante un enlazador escindible y el agente citotóxico se escinde del anticuerpo, fragmento de anticuerpo o polipéptido, en donde se interioriza en una célula que expresa FOLR1.

En algunas realizaciones, los inmunoconjugados pueden reducir el volumen tumoral. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el tratamiento con un inmunoconjugado produce un valor de % de T/C que es inferior a  
15 aproximadamente el 50 %, inferior a aproximadamente el 45 %, inferior a aproximadamente el 40 %, inferior a aproximadamente el 35 %, inferior a aproximadamente el 30 %, inferior a aproximadamente el 25 %, inferior a aproximadamente el 20 %, inferior a aproximadamente el 15 %, inferior a aproximadamente el 10 % o inferior a aproximadamente el 5 %. En algunas realizaciones particulares, los inmunoconjugados pueden reducir el tamaño tumoral en un modelo de xenoinjerto de KB, OVCAR-3, IGROV-1 y/u OV-90. En algunas  
20 realizaciones, los inmunoconjugados pueden inhibir las metástasis.

### III. Métodos de administración de agentes de unión a FOLR1

Los agentes de unión a FOLR1 (que incluyen anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno e  
25 inmunoconjugados, como se define en las reivindicaciones) son útiles en una diversidad de aplicaciones que incluyen, pero sin limitación, métodos de tratamiento terapéutico, tales como el tratamiento del cáncer. En determinadas realizaciones, los agentes son útiles para inhibir el crecimiento tumoral, inducir la diferenciación, inhibir las metástasis, reducir el volumen tumoral y/o reducir la tumorigenicidad de un tumor. Los métodos de uso pueden ser métodos *in vivo*.

30 De acuerdo con los tratamientos descritos en el presente documento, los agentes de unión a FOLR1 pueden administrarse a dosis particulares. En la presente invención, el inmunoconjugado que comprende los agentes de unión a FOLR1 (por ejemplo, IMG853) se administran a aproximadamente 6,0 mg/kg, en donde los kilogramos de peso corporal se ajustan al AIBW (ADJ).

35 Además, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar en un intervalo de dosis particular. Por ejemplo, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar de aproximadamente cuatro veces por semana a aproximadamente una vez cada cuatro semanas. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran aproximadamente una vez cada tres semanas. En algunas  
40 realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran aproximadamente una vez cada dos semanas y media. En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran aproximadamente una vez cada dos semanas. En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran aproximadamente una vez cada diez días. En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran aproximadamente una vez por semana.

45 Los agentes de unión a FOLR1 también se pueden administrar en un ciclo de aproximadamente 3 semanas (es decir, aproximadamente 21 días). Por ejemplo, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar dos veces en aproximadamente 3 semanas. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar en aproximadamente los días 1 y 8 de un ciclo de 21 días. En otras  
50 realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar tres veces en aproximadamente 3 semanas. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar en aproximadamente los días 1, 8 y 15 de un ciclo de 21 días.

Los agentes de unión a FOLR1 también se pueden administrar en un ciclo de aproximadamente 4 semanas (es decir, aproximadamente 28 días). Por ejemplo, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar tres  
55 veces en aproximadamente 4 semanas. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar en aproximadamente los días 1, 8 y 15 de un ciclo de 28 días.

60 De acuerdo con los métodos descritos en el presente documento, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar a dosis particulares como se define en las reivindicaciones. Los agentes de unión a FOLR1 (por ejemplo, IMG853) pueden administrarse a aproximadamente 6,0 mg/kg una vez a la semana durante tres semanas en una pauta de cuatro semanas.

En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 de la presente invención se pueden administrar en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  particular. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 110 a aproximadamente 160  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 110 a aproximadamente 150  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 110 a aproximadamente 140  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 120 a aproximadamente 160  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 120 a aproximadamente 150  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 120 a aproximadamente 140  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 90 a aproximadamente 160  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 90 a aproximadamente 150  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 90 a aproximadamente 140  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 100 a aproximadamente 160  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 100 a aproximadamente 150  $\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce una  $C_{m\acute{a}x}$  de aproximadamente 100 a aproximadamente 140  $\mu\text{g/ml}$ .

En determinadas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se pueden administrar en una dosis que produce un ABC particular. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce un  $ABC_{0-24}$  de no más de 2785  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En determinadas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce un  $ABC_{0-24}$  de no más de 2741  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En determinadas realizaciones, los agentes de unión a FOLR1 se administran en una dosis que produce un  $ABC_{0-24}$  de no más de 2700  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de aproximadamente 1000-3500  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de aproximadamente 1000-3000  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de aproximadamente 1000-2785  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de aproximadamente 1000-2741  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de aproximadamente 1000-2700  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de aproximadamente 1000-2500  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de no más de 1500-3500  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de no más de 1500-3000  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de no más de 1500-2785  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de no más de 1500-2741  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de no más de 1500-2700  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ . En algunas realizaciones, la administración produce un  $ABC_{0-24}$  de aproximadamente 1500-2500  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ .

La enfermedad tratada con el agente de unión a FOLR1 o antagonista (por ejemplo, un anticuerpo anti-FOLR1) es un cáncer que se caracteriza por células que expresan FOLR1 a las cuales se une el agente de unión a FOLR1 (por ejemplo, un anticuerpo). En determinadas realizaciones, un tumor sobreexpresa el FOLR1 humano.

La presente invención proporciona composiciones e inmunoconjugados como se define en las reivindicaciones, para su uso en métodos de tratamiento para el cáncer, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de unión a FOLR1 (por ejemplo, un sujeto que necesita tratamiento). Los cánceres que se pueden tratar mediante los métodos que abarca la invención incluyen, pero sin limitación, neoplasias, tumores, metástasis o cualquier enfermedad o trastorno caracterizado por un crecimiento celular descontrolado. El cáncer puede ser un cáncer primario o metastásico. Ejemplos específicos de cánceres que se pueden tratar mediante los métodos que abarca la invención incluyen, pero sin limitación, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer gastrointestinal, melanoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, glioblastoma, cáncer de endometrio y cáncer de cabeza y cuello. En determinadas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario. En determinadas realizaciones, el cáncer es cáncer de endometrio. En determinadas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón. En determinadas realizaciones, el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón no microcítico. En determinadas realizaciones, el cáncer de pulmón no microcítico es adenocarcinoma de pulmón.

El cáncer es un cáncer que expresa FOLR1 (polipéptido o ácido nucleico). En algunas realizaciones, el agente de unión a FOLR1 se administra a un paciente con un mayor nivel de expresión de FOLR1, por ejemplo, como se describe en la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2012/0282175 o la solicitud publicada internacional n.º WO 2012/135675. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la expresión de FOLR1 se mide mediante inmunohistoquímica (IHC) y recibe una puntuación de intensidad de tinción y/o una



puntuación de uniformidad de tinción en comparación con controles (por ejemplo, controles calibrados) que presentan puntuaciones definidas (por ejemplo, una muestra de prueba recibe un valor de intensidad de 3 si la intensidad se puede comparar con el control calibrado de nivel 3 o la muestra de prueba recibe una intensidad de 2 si la intensidad se puede comparar con el control calibrado de nivel 2). Una uniformidad de tinción que es heterogénea u homogénea también indica mayor expresión de FOLR1. Las puntuaciones de intensidad de tinción y de uniformidad de tinción se pueden usar solos o en combinación (por ejemplo, 2 homo, 2 hetero, 3 homo, 3 hetero, etc.). En otro ejemplo, un aumento en la expresión del FOLR1 se puede determinar mediante la detección de un aumento de al menos 2 veces, al menos 3 veces o al menos 5 veces con respecto a los valores de control (por ejemplo, el nivel de expresión en un tejido o célula de un sujeto sin cáncer o con un cáncer que no tiene valores de FOLR1 elevados).

En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa FOLR1 a un nivel de 1 hetero o mayor mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa FOLR1 a un nivel de 2 hetero o mayor mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa FOLR1 a un nivel de 3 hetero o mayor mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer de pulmón que expresa FOLR1 a un nivel de 3 hetero o mayor mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario que expresa FOLR1 a un nivel de 2 hetero o mayor mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario que expresa FOLR1 a un nivel de 3 hetero o mayor mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer endometrioide que expresa FOLR1 a un nivel de 1 hetero o mayor mediante IHC. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer endometrioide que expresa FOLR1 a un nivel de 2 hetero o mayor mediante IHC.

En determinadas realizaciones, el método para inhibir el crecimiento tumoral comprende administrarle a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de unión a FOLR1. En determinadas realizaciones, el sujeto es un ser humano. En determinadas realizaciones, el sujeto tiene un tumor o se le extirpó un tumor.

Además, la invención proporciona un método para reducir la tumorigenicidad de un tumor en un sujeto, que comprende administrarle al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de unión a FOLR1. En determinadas realizaciones, el tumor comprende células madre cancerosas. En determinadas realizaciones, la frecuencia de las células madre cancerosas en el tumor se reduce mediante la administración del agente.

La presente invención proporciona adicionalmente composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los agentes de unión a FOLR1 descritos en el presente documento. En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden además un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones farmacéuticas se usan para inhibir el crecimiento tumoral y tratar el cáncer en pacientes humanos.

En determinadas realizaciones, las formulaciones se preparan para el almacenamiento y el uso combinando un anticuerpo o agente purificado de la presente invención con un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, un transportador, un excipiente) (Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20ª Edición Mack Publishing, 2000). Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, pero sin limitación, tampones no tóxicos tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos, sales tales como cloruro de sodio, antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina, conservantes (por ejemplo, cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; alcohol fenólico, butílico o bencilico; alquilparabenos, tales como metil o propil-parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol y m-cresol), polipéptidos de bajo peso molecular (por ejemplo, menos de aproximadamente 10 restos de aminoácidos), proteínas tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas, polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona, aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina, hidratos de carbono tales como monosacáridos, disacáridos, glucosa, manosa o dextrinas, agentes quelantes tales como EDTA, azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol, contraiones formadores de sales tales como sodio, complejos metálicos (por ejemplo, complejos de proteína-Zn) y tensioactivos no-iónicos tales como TWEEN o polietilenglicol (PEG).

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden administrar en cualquier cantidad de formas para tratamiento local o sistémico. La administración puede ser tópica (tal como a las membranas de mucosas, incluido el suministro vaginal y rectal), tal como parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, atomizadores, líquidos y polvos; pulmonar (por ejemplo, mediante inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, que incluye mediante un nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmica y transdérmica); oral o parenteral, incluida inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; o intracraneal (por ejemplo, intratecal o intraventricular). En algunas realizaciones particulares, la administración es intravenosa.

Un anticuerpo o inmunoconjugado se puede combinar en una formulación de combinación farmacéutica o régimen de dosificación como terapia de combinación con un segundo compuesto. En algunas realizaciones,

el segundo compuesto es un esteroide. En algunas realizaciones, los métodos abarcan la administración de un esteroide y un inmunoconjugado que produce una reducción de las cefaleas en comparación con la administración del inmunoconjugado solo.

- 5 El esteroide se puede administrar al mismo tiempo que el inmunoconjugado, antes de la administración del inmunoconjugado y/o después de la administración del inmunoconjugado. En algunas realizaciones, el esteroide se administra en un plazo de aproximadamente una semana, aproximadamente cinco días, aproximadamente tres días, aproximadamente dos días o aproximadamente un día o 24 horas antes de la administración del inmunoconjugado. En algunas realizaciones, el esteroide se administra en un plazo de un día desde la administración del inmunoconjugado. En algunas realizaciones, el esteroide se administra múltiples veces. En algunas realizaciones, el esteroide se administra aproximadamente un día antes de la administración del inmunoconjugado y en el mismo día que la administración del inmunoconjugado. El esteroide se puede administrar a través de cualquier cantidad de formas que incluyen, por ejemplo, administración tópica, pulmonar, oral, parenteral o intracaneal. En algunas realizaciones, la administración es oral. En algunas realizaciones, la administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la administración es oral e intravenosa.

Un anticuerpo o inmunoconjugado también se puede combinar en una formulación de combinación farmacéutica o en un régimen de dosificación como terapia de combinación con un analgésico u otros medicamentos que previenen o tratan las cefaleas. Por ejemplo, además de la administración del anticuerpo o inmunoconjugado se pueden administrar paracetamol y/o difenhidramina. El analgésico se puede administrar antes, al mismo tiempo o después de la administración del inmunoconjugado y puede ser a través de cualquier vía de administración apropiada. En algunas realizaciones, el analgésico se administra por vía oral.

En algunas realizaciones, los tratamientos comprenden la administración de un primer compuesto que es un anticuerpo o inmunoconjugado, un segundo compuesto que es un esteroide y un tercer compuesto que es un analgésico. En algunas realizaciones, los tratamientos comprenden la administración de un primer compuesto que es IMGN388, un segundo compuesto que es dexametasona y un tercer compuesto que es paracetamol y/o difenidramina.

Un anticuerpo o inmunoconjugado se puede combinar en una formulación de combinación farmacéutica o en un régimen de dosificación como terapia de combinación con un segundo compuesto que tenga propiedades contra el cáncer. El segundo compuesto de la formulación de combinación farmacéutica o el régimen de dosificación puede tener actividades complementarias al ADC (por sus siglas en inglés *antibody-drug conjugate*: conjugado de anticuerpo-fármaco) de la combinación, de modo que no se afecten negativamente entre sí. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden el agente de unión a FOLR1 y el segundo agente contra el cáncer.

Las realizaciones de la presente divulgación se pueden definir adicionalmente por referencia a los siguientes ejemplos, que describen de forma detallada la preparación de determinados anticuerpos de la presente divulgación y métodos para el uso de anticuerpos de la presente divulgación.

### Ejemplos

Se comprende que los ejemplos y las realizaciones que se describen en el presente documento tienen fines meramente ilustrativos. Los ejemplos relativos a materias que no abarca la invención sirven como referencia.

#### Ejemplo 1

##### Ensayo de dosificación de IMGN853 en pacientes humanos con cáncer

IMGN853 es un conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC, por su sigla en inglés) que comprende un anticuerpo de unión al receptor 1 de folato (FOLR1) y el maitansinoide potente, DM4. IMGN853 se ha descrito anteriormente en las solicitudes internacionales publicadas n.º WO 2011/106528, WO 2012/135675 y WO 2012/138749 y las solicitudes de Estados Unidos publicadas n.º 2012/0009181, 2012/0282175 y 2012/0282282. IMGN853 es huMov19-sSPDB-DM4 y el anticuerpo huMov19 contiene una cadena pesada variable con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una cadena ligera variable con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5. La proteína FOLR1 se expresa en niveles elevados en muchos tumores sólidos, particularmente cáncer de ovario epitelial (COE), cáncer de endometrio, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) y cáncer de células renales de células claras.

Se inició un estudio para determinar la dosis máxima tolerada (MTD, por sus siglas en inglés *maximum tolerated dose*) y la dosis de fase 2 recomendada (RP2D, por sus siglas en inglés *recommended phase 2 dose*), así como para evaluar la seguridad, farmacocinética (PK), farmacodinámica (PD) y eficacia de IMGN853. El estudio incluye dos componentes: un componente de titulación de dosis acelerada, en que se

administró el inmunoconjugado IMGN853 a pacientes con cualquier tipo de tumores sólidos insensibles que expresan FOLR1, incluido cáncer de ovario epitelial (COE) y otros tumores sólidos positivos para FOLR1, y un componente de expansión de dosis.

- 5 Para la parte de titulación acelerada del estudio, se proporcionó IMGN853 por vía intravenosa (i.v.) en el día 1 de cada ciclo de 21 días (3 semanas). Se incluyeron en el estudio veintinueve pacientes en siete niveles de dosis que oscilaban de 0,15 a 7,0 mg/kg de IMGN853 en la parte acelerada del ensayo clínico y actualmente se cuenta con datos de seguridad para 23 pacientes. No hubo EA de ningún grado relacionados con el fármaco en el estudio informados en pacientes tratados en las primeras 4 cohortes de dosis. A dosis de hasta 5,0 mg/kg, los EA relacionados con IMGN853 fueron leves a moderados. A niveles de dosis de 5,0 y 7,0 mg/kg, 4 de 10 y 5 de 5 pacientes, respectivamente, informaron toxicidad ocular.

Tabla 1: Inclusión en el estudio por tipo de tumor

Inclusión en el estudio y expresión de FOLR1 por tipo de tumor N=29							
Diagnóstico	Nivel de expresión de FOLR1						
	2 Hetero	2 Homo	3 Hetero	3 Homo	Otro	Totales	
Cáncer de ovario	2	2	7	4	1	16	
Seroso		11		61	3		10
Célula de transición				1 <sup>2</sup>			1
Célula clara		1	1		1		3
Carcinosarcoma			1			1 <sup>4</sup>	1
Endometrio		2	0	5	1	0	8
Seroso				3 <sup>3</sup>	1		4
Endometrioide		2					2
Escamoso				1			1
Mixto				1			1
Adenocarcinoma CPNM		1					1
Célula renal		0	2			2 <sup>5</sup>	4
Célula clara			2			2 <sup>5</sup>	4

<sup>1</sup>Respuesta a CA125 en 1 paciente uno a cada uno de 3,3 mg/kg, 5,0 mg/kg y 7,0 mg/kg

<sup>2</sup>Respuesta parcial confirmada

<sup>3</sup>Respuesta parcial sin confirmar y respuesta a CA125 confirmada en 1 paciente a 5,0 mg/kg

<sup>4</sup>Focal

<sup>5</sup>Negativo

- 15 Se midió la exposición al fármaco en 23 pacientes y se descubrió que, en general, aumenta de forma lineal, con una semivida a dosis  $\geq 2,0$  mg/kg de aproximadamente 5 días. Un paciente con cáncer de endometrio seroso también tuvo una respuesta a CA125 y una respuesta parcial sin confirmar a 5 mg/kg. Tres pacientes con cáncer de ovario informaron respuesta a CA125 confirmada (uno a cada uno de 7 mg/kg, 5 mg/kg y uno a 3,3 mg/kg). Los pacientes que recibieron IMGN853 en dosis mayores o iguales a 5,0 mg/kg recibieron dexametasona, 10 mg i.v. (o equivalente esteroide similar), 30 a 60 minutos antes de la administración de inmunoconjugado anti-FOLR1 (por ejemplo, IMGN853).

- 25 Los parámetros farmacocinéticos (PK) se informan para el ciclo 1 (primer ciclo de dosificación para cada paciente solamente) del ensayo de fase 1 de IMGN853. (Figuras 1A y B) Se demostró que la depuración de IMGN853 fue rápida a dosis bajas (CL= 1,1 ml/h/kg) con una semivida de aproximadamente 35,4 horas o 1,5 días. La depuración disminuye (CL= 0,4 ml/h/kg) a dosis más elevadas y la semivida aumenta hasta aproximadamente 4 o aproximadamente 5 días a dosis  $\geq 2,0$  mg/kg. Se muestra que la exposición (ABC) y la C<sub>máx</sub> también aumentan, generalmente, a las dosis más elevadas.

- 30 Con la dosis de 7,0 mg/kg, los 5 pacientes experimentaron toxicidad ocular. Se informó un paciente con queratitis punteada limitante de la dosis de grado 3 y visión borrosa de grado 2, que se consideraron definitivamente relacionadas con el tratamiento del estudio. Adicionalmente, hubo un paciente con visión borrosa grado 3, uno con grado 2 y otro con grado 1; todos los acontecimientos se consideraron posible o definitivamente relacionados con el tratamiento con IMGN853. Como resultado de esto, la dosis máxima tolerada en esta pauta de administración (es decir, una vez cada tres semanas) se consideró superada en el nivel de dosis de 7,0 mg/kg y a todos los pacientes que continuaban a un nivel de dosis de 7,0 mg/kg se le

redujo la dosis al nivel de dosis anterior (5,0 mg/kg), y se evaluaron 7 pacientes adicionales con la dosis de 5 mg/kg. Junto con los 3 pacientes tratados previamente, se trataron 10 pacientes a una dosis de 5 mg/kg. Del total de 10 pacientes en el nivel de 5 mg/kg, 3 tuvieron visión borrosa, incluido 1 paciente con visión borrosa de grado 3 y 2 pacientes tuvieron cambios en la córnea. Otros acontecimientos adversos de grado 3 relacionados incluyeron fosfatasa alcalina elevada e hipofosfatemia de grado 3. Se incluyeron en el estudio 5 pacientes adicionales en el nivel de dosis de 3,3 mg/kg para explorar y confirmar adicionalmente el perfil de seguridad observado con los 3 pacientes que se habían asignado originalmente a esta dosis. Está en curso la revisión de la seguridad de los 6 pacientes adicionales actualmente en tratamiento con 3,3 mg/kg y el IMGN853 es bien tolerado. A la fecha, tres de los nueve pacientes tratados con el nivel de dosis de 3,3 mg/kg 10 informaron EA relacionados con IMGN853, incluidos neuropatía periférica de grado 2 (1 paciente), náuseas de grado 2, fatiga y aumento de AST (1 paciente), y 1 paciente con vómitos de grado 2.

Una vez definido el MTD, el estudio proseguirá a la fase de expansión de la dosis. Tres cohortes de expansión evaluarán a los pacientes con (1) cáncer de ovario epitelial resistente al platino, (2) cáncer de 15 ovario epitelial recidivante o insensible y (3) cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) recidivante o insensible, positivos a la proteína FOLR1. Las cohortes 2 y 3 tendrán evaluación de PD de IMGN853 mediante biopsia tumoral previa y posterior a la dosis, y/o mediante obtención de imágenes por FLT-PET, respectivamente. IMGN853 se administrará a una dosis de al menos 3,3 mg/kg y puede incluir dosis de 5,0 mg/kg o de hasta 6,0 mg/kg, o incluso de 7,0 mg/kg. Inicialmente, IMGN853 se debería administrar a una 20 velocidad de 1 mg/min, después de 30 minutos, la velocidad se puede aumentar a 3 mg/min si se tolera bien. Si se tolera bien después de 30 minutos a 3 mg/min, la velocidad se puede aumentar a 5 mg/min. Las infusiones posteriores se pueden suministrar a la velocidad tolerada.

Para todas las dosificaciones de IMGN853 a 3,3 mg/kg o mayores, se incluirá tratamiento profiláctico con 25 esteroides utilizando los protocolos descritos en el ejemplo 2 (por ejemplo, se incluye tratamiento con esteroides a 10 mg de dexametasona i.v. (o equivalente esteroide similar) 30 a 60 minutos antes de que se requiera administración de IMGN853 y se recomienda la administración profiláctica de HCl de difenhidramina y paracetamol antes de la administración de IMGN853). Se repiten los ciclos hasta que (i) la enfermedad del 30 paciente empeore, (ii) el paciente experimente toxicidad inaceptable, (iii) el paciente retire su consentimiento, (iv) el paciente desarrolle una afección concomitante que impediría continuar con el tratamiento del estudio o (v) el paciente se retire del estudio debido a incumplimiento o motivos administrativos.

Las respuestas se evalúan utilizando RECIST y los criterios del Gynecologic Cancer Intergruop (GCIG) (según corresponda).

Ejemplo 2

#### Profilaxis a base de esteroides en IMGN853 para reacción a la infusión

Para disminuir la probabilidad de reacción a la infusión, se puede utilizar cualquiera de los siguientes 40 protocolos de profilaxis a base de esteroides.

- (1) Los pacientes reciben dexametasona, 10 mg i.v. (o equivalente esteroide similar), 30 a 60 minutos antes de la administración del inmunoconjugado anti-FOLR1 (por ejemplo, IMGN853).
- 45 (2) Los pacientes reciben dexametasona, 10 mg i.v. (o equivalente esteroide similar) y HCl de difenhidramina (25-50 mg i.v. o v.o.), con o sin paracetamol (325-650 mg i.v. o v.o.), 30 a 60 minutos antes de la administración del inmunoconjugado anti-FOLR1 (por ejemplo, IMGN853). Se recomienda este protocolo profiláctico a criterio de cada investigador.
- 50 (3) Los pacientes reciben dexametasona 8 mg (o equivalente esteroide similar) por boca BID (dos veces al día) el día antes de la administración del inmunoconjugado anti-FOLR1 (por ejemplo, IMGN853). El día de la administración del inmunoconjugado anti-FOLR1 (por ejemplo, IMGN853), 30-60 min antes de la administración del inmunoconjugado anti-FOLR1 (por ejemplo, IMGN853), los pacientes reciben dexametasona, 10 mg i.v. (o equivalente esteroide similar), HCl de difenhidramina (25-50 mg i.v. o v.o.), con o sin paracetamol (325-650 mg i.v. o v.o.).
- 55 (4) En un máximo de 24 horas antes de la infusión, se administran esteroides (por ejemplo, dexametasona) por vía oral.

Ejemplo 3

#### Relación de la exposición a IMGN853 con la toxicidad ocular

Para cada paciente tratado con el protocolo de IMGN853 descrito en los ejemplos 1 y 2, se midió la concentración en plasma de IMGN853 en diversos momentos en cada ciclo, comenzando al finalizar la infusión y continuando hasta el día 21. El análisis de parámetros farmacocinéticos (PK) identificó una 65 asociación evidente entre la C<sub>máx</sub> y la aparición de toxicidad ocular, que se caracteriza mediante depósitos

en la córnea y pérdida de agudeza visual. También se observó la correlación estadísticamente significativa con niveles de exposición temprana según la medición del área bajo la curva en las primeras 24 h ( $ABC_{0-24}$ ). (Véanse las Figuras 2A-2C).

- 5 En las cohortes de 3,3 a 7,0 mg/kg, se observó toxicidad ocular en 9/10 pacientes con valores de  $C_{máx}$  de 147,7  $\mu\text{g/ml}$  o mayores, indicados mediante la línea punteada en la Figura 2A. Ningún paciente con valores de  $C_{máx}$  por debajo de 147,7  $\mu\text{g/ml}$  desarrolló toxicidad ocular. Todos los pacientes (9/9) con un  $ABC_{0-24}$  de 2785  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$  o mayor, indicado mediante la línea punteada en la Figura 2B, desarrollaron toxicidad ocular, mientras que ninguno por debajo tuvo toxicidad ocular alguna. Las señales de eficacia se observaron a dosis
- 10  $\geq 3,3$  mg/kg y no tuvieron correlación con los informes de toxicidad ocular. El menor valor de  $C_{máx}$  en pacientes que habían tenido señales de actividad fue de 91,25  $\mu\text{g/ml}$ .

- Después de haber tratado 24 pacientes con IMGN853 3,3 mg/kg, 5,0 mg/kg o 7,0 mg/kg, un valor de  $C_{máx}$  superior al umbral tuvo correlación con toxicidad ocular (reversible) utilizando la prueba exacta de Fisher,  $p = 0,00004$ . Un valor de  $ABC_{0-24}$  superior al nivel umbral de 2.741  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$  también tuvo correlación con toxicidad ocular (reversible) utilizando la prueba exacta de Fisher,  $p = 0,00001$ . Basándose en estos resultados y los cálculos utilizando valores de concentración y tiempo teóricos, se determinó que los pacientes con una  $C_{máx}$  mayor que aproximadamente el 150  $\mu\text{g/ml}$  o un valor de  $ABC_{0-24}$  mayor que 2785  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$  era más probable que tuvieran una mayor tasa de toxicidad ocular, y los pacientes que tenían señales de actividad tuvieron un
- 20 nivel de  $C_{máx}$  de al menos aproximadamente 90  $\mu\text{g/ml}$ . Se desarrollaron estrategias para modificar la dosificación para reducir la variabilidad observada en cada nivel de dosis y para lograr un nivel de  $C_{máx}$  para una eficacia óptima y una toxicidad mínima a cada peso del paciente.

#### Ejemplo 4

25

#### Estrategias de dosificación alternativa de IMGN853

- Como se describió en el ejemplo 3 anterior, se observó una correlación entre los valores de  $C_{máx}$  por encima de 150  $\mu\text{g/ml}$  o valores de  $ABC_{0-24}$  por encima de 2785  $\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$ , y se observó incidencia de toxicidad ocular
- 30 en todos los niveles de dosis. Además, el análisis inicial de parámetros PK demostró que, si bien la  $C_{máx}$  aumentó de forma proporcional con la dosis de IMGN853, hubo una variación significativa en la  $C_{máx}$ , el  $ABC_{0-24}$  y el volumen de distribución en los niveles de dosis (Figura 3).

- La variación en la  $C_{máx}$  fue particularmente sorprendente en la cohorte de 5 mg/kg, en donde se analizó la PK en 10 pacientes. No hubo variabilidad de la  $C_{máx}$  intrapaciente evidente en los ciclos y los tiempos de infusión fueron similares entre los pacientes, y no se asociaron con una variación de la  $C_{máx}$ . El análisis de covariables demostró una correlación entre el peso y la  $C_{máx}$ . (Figura 4).
- 35

- El volumen de distribución ( $V_{ss}$ ) indica el volumen de plasma para productos biológicos y no aumenta de forma lineal con el peso. Cuando los valores de  $C_{máx}$  se normalizaron mediante el  $V_{ss}$ , se redujo la variación. Estos datos sugieren que la exploración de estrategias de dosificación alternativas que no sean las que se basan en el peso corporal total podría producir una dosificación más uniforme entre las cohortes. Con esta finalidad, se calcularon los valores de  $C_{máx}$  utilizando cálculos de dosificación alternativa para todos los pacientes tratados en los grupos de dosis de 3,3 (n=3), 5,0 (n=10) y 7 mg/kg (n=5). Los valores de  $C_{máx}$  calculados se normalizaron con respecto a un nivel de dosis de 5 mg/kg y se compararon con los valores de
- 40  $C_{máx}$  observados a partir de la dosificación por peso corporal total (TBW). Además, se consideró el área de superficie corporal (BSA); no obstante, los valores de  $C_{máx}$  basados en la dosificación por BSA disminuyeron la  $C_{máx}$ , pero la variabilidad solo se vio mínimamente afectada y se observó aún una correlación positiva entre el peso y la  $C_{máx}$ , aunque en menor grado. Se evaluaron tres fórmulas alternativas adicionales: (1) peso corporal ideal (IBW), peso corporal magro (LBW) y peso corporal ajustado (ADJ). La fórmula para cada uno de IBW, LBW, ADJ y BSA se proporciona a continuación:
- 45
- 50

#### *Peso corporal ideal (IBW)*

- 55 IBW (macho) =  $0,9H-88$   
IBW (hembra) =  $0,9H-92$

(donde H=altura en cm)

- 60 *Peso corporal magro (LBW)*

Hombres =  $1,10 \times \text{peso en kg} - 128([\text{peso en kg}]^2/[100 \times \text{altura en metros}]^2)$

Mujeres =  $1,07 \times \text{peso en kg} - 148([\text{peso en kg}]^2/[100 \times \text{altura en metros}]^2)$

65

#### *Peso corporal ideal ajustado (AIBW o ADJ)*

$IBW + 0,4(\text{peso real en kg} - IBW)$   
 Área de superficie corporal (BSA) - Fórmula de Mosteller

$$BSA (m^2) = (\text{altura(cm)} \times \text{peso(kg)} / 3600)^{1/2}$$

5

Área de superficie corporal (BSA) - Fórmula de Boyd

$$BSA (m^2) = (0,0003207 \times \text{altura(cm)}^{0,3} \times \text{peso(gramos)}^{(0,7285 - (0,0188 \times \text{LOG(gramos)}))})$$

- 10 Los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  promedio fueron de 93,06, 82,72, 110,77 y 137,46  $\mu\text{g/ml}$  para IBW, LBW, AIBW (ADJ) y TBW, respectivamente. Adicionalmente, los tres parámetros alternativos redujeron la desviación típica en la  $C_{m\acute{a}x}$  (21,7, 20,5, 22,9 contra 33,7  $\mu\text{g/ml}$  para TBW). (Véase la Figura 5).

- 15 Como se mencionó anteriormente, se observó una correlación positiva para TBW frente a la  $C_{m\acute{a}x}$ . El análisis de correlación de IBW y LBW frente a las gráficas de peso demostró una correlación negativa frente al peso. La dosificación mediante el peso corporal AIBW (ADJ) tuvo la menor dependencia del peso corporal (véase la Figura 6), de forma similar al BSA pero con menor variabilidad PK.

- 20 La dosificación mediante el IBW, LBW o AIBW (ADJ) produjo menor dependencia del peso en comparación con la dosificación por TBW. Basándose en los datos actuales, la dosificación mediante el peso AIBW (ADJ) produce la menor variación en la  $C_{m\acute{a}x}$ .

- 25 Se observaron los valores de  $ABC_{0-24}$  en 24 pacientes que recibieron 3,3, 5 o 7 mg/kg de IMG853 basándose en el peso corporal total (véase la Figura 7, "TBW real"). Además, también se observaron los valores de  $ABC_{0-24}$  en 7 pacientes que recibieron 5 mg/kg de IMG853 basándose en el peso corporal ideal ajustado (véase la Figura 7, "5 ADJ real"). Estos valores reales obtenidos con los 24 pacientes se compararon con los valores proyectados que se habrían obtenido con los mismos pacientes si se hubieran tratado con 5 mg/kg basándose en el peso corporal total (Figura 7, "TBW 5 mg/kg") o si todos se hubieran tratado con 5, 5,4 o 6 mg/kg basándose en el peso corporal ideal ajustado (Figura 7, "ADJ 5 mg/kg", "ADJ 5,4 mg/kg" y "ADJ 6 mg/kg"). Como se muestra en la tabla de la Figura 7, la administración de 5 mg/kg de IMG853 basándose en el AIBW (ADJ) minimiza la cantidad de pacientes que se prevé que superen el nivel umbral de  $ABC_{0-24}$  de 2741 h\* $\mu\text{g/ml}$  asociado con toxicidad ocular. Además, solamente el 14 % de los 7 pacientes que recibieron 5 mg/kg de IMG853 basándose en el AIBW (ADJ) alcanzó niveles de  $ABC_{0-24}$  por encima de 2741 h\* $\mu\text{g/ml}$ , mientras que el 38 % de los pacientes que recibieron 3,3, 5 o 7 mg/kg de IMG853 basándose en el TBW superó este nivel. El análisis original del  $ABC_{0-24}$  se calculó usando los valores de concentración y tiempo teóricos, y dieron como resultado un valor de 2785 h\*  $\mu\text{g/ml}$ . Al volver a realizar el cálculo utilizando el tiempo real, el resultado fue una ligera modificación de los valores del  $ABC_{0-24}$  y una determinación de un valor umbral de 2741 h\*  $\mu\text{g/ml}$ .

- 40 Después, los pacientes se trataron con 5 mg/kg basándose en el peso corporal ideal ajustado, 6 mg/kg basándose en el peso corporal ideal ajustado, 5 mg/kg basándose en el peso corporal total o 7 mg/kg basándose en el peso corporal total. Los valores de  $ABC_{0-24}$  observados en estos pacientes se muestran en la Figura 8 ("reales") y estos valores se compararon con los valores proyectados ("proy.") que se habrían obtenido si todos estos pacientes se hubieran tratado con 5 mg/kg basándose en el peso corporal ideal ajustado, 6 mg/kg basándose en el peso corporal ideal ajustado, 5 mg/kg basándose en el peso corporal total o 7 mg/kg basándose en el peso corporal total. La dosificación basándose en el peso corporal ideal ajustado disminuyó la variabilidad en niveles de exposición temprana y disminuyó los acontecimientos adversos oculares, como se muestra en la tabla 2 a continuación. En particular, solamente un paciente que recibió 5 mg/kg basándose en el peso corporal ideal ajustado experimentó trastorno visual de grado 1 y tres
- 50 pacientes que recibieron 6 mg/kg basándose en el peso corporal ideal ajustado experimentaron toxicidad ocular de grado 1-2. Por el contrario, las dosis de 5 mg/kg o más basándose en el peso corporal total se asociaron con más pacientes con acontecimientos adversos oculares y con la aparición de acontecimientos adversos oculares de grado 3.

- 55 Tabla 2: Acontecimientos adversos oculares (OAE, por sus siglas en inglés *ocular adverse events*) informados con dosificación basada en el peso corporal ideal ajustado (todos reversibles)

IMG853 (mg/kg de peso corporal ideal ajustado)	Tamaño de la cohorte	Pacientes con cualquier grado de OAE	OAE		DLT
			Grado 1-2	Grado 3 <sup>1</sup>	
5,0	7	1	1 <sup>2</sup>	0	0
6,0	7	3	5 <sup>3</sup>	0	0

<sup>1</sup>No hubo acontecimientos adversos de grado 4.

<sup>2</sup>Un paciente informó trastorno visual.

<sup>3</sup>Visión borrosa de grado 2 y queratitis punteada en 1 paciente, retinopatía de grado 2 en un paciente y visión borrosa de grado 1 y moscas volantes en 1 paciente.

Ejemplo 5

#### Pautas alternativas para IMG853

Se desarrolló un modelo de PK de población basándose en perfiles de concentración-tiempo ricos y escasos (pico y mínimos) de IMG853 luego de la dosificación Q3W (cada tres semanas) (cambio de escala de la dosis). La PK de IMG853, como se indicó anteriormente, parece ser lineal en todo el intervalo de dosis estudiado.

Este modelo se utilizó para simular una exposición en situación de equilibrio a IMG853 para los siguientes regímenes candidatos:

- 1 a 2,5 mg/kg QW (cada semana) (10 niveles de dosis en aumentos de 0,15 mg/kg)
- 2 a 5 mg/kg Q2W (cada 2 semanas) (10 niveles de dosis en aumentos de 0,3 mg/kg)
- 1 a 2,5 mg/kg QWx4 (cada semana x 4), luego Q2Wx4 (cada 2 semanas x 4) (10 niveles de dosis en aumentos de 0,15 mg/kg)
- 1 a 2,5 mg/kg QWx3 (cada semana x 3) en 4W (4 semanas) (10 niveles de dosis en aumentos de 0,15 mg/kg)

El régimen de dosificación de QWx4 y luego Q2Wx4 produjo la menor acumulación (es decir, índice de acumulación de 1) en el tiempo, mientras que el régimen de dosificación QW produjo la mayor acumulación (es decir, índice de acumulación de 1,97). QWx3 en 4W permitió un aumento en la exposición global de hasta ~3 veces, mientras que limitó la  $C_{\max}$  a niveles por debajo del observado con la toxicidad ocular (tabla 3).

Tabla 3

Pauta	Dosis (mg/kg)	$C_{\max}$ (µg/ml)	$C_{\min}$ (µg/ml)	$C_{\text{prom}}$ (µg/ml)	$ABC_{12w}$ (h*mg/ml)
Q3W	4,2	112	7,8	30	32
Q2W	4,1	119	18	44	84
QWx3 en 4W	3,3	119	20	52	105

El modelo de PK de población también se utilizó para simular una población hipotética de 500 pacientes mediante un nuevo muestreo Monte Carlo. Se obtuvo una estadística descriptiva para determinar un régimen de dosificación con el porcentaje de sujetos con  $C_{\max} < 150$  µg/ml, para optimizar el perfil de seguridad de IMG853. Para el régimen de QWx3 en 4W, los niveles de dosis de 1,5, 2,0 y 2,5 mg/kg produjeron un 99 %, 95 % y 90 % de la población con una  $C_{\max} < 150$  µg/ml, respectivamente.

Ejemplo 6

#### Actividad antitumoral *in vivo* y farmacocinética predicha de IMG853 de múltiple dosis

Las concentraciones en plasma de conjugado IMG853 intacto administradas por vía intravenosa a una dosis de 10 mg/kg en ratones CD-1 hembra se determinaron mediante ELISA en diversos momentos tras la inyección. Los análisis de farmacocinética (PK) se realizaron utilizando los algoritmos habituales del programa de análisis farmacocinético no compartimental (201), WinNonlin, versión profesional 6.1 (Pharsight, Mountain View, CA). Se calcularon la concentración máxima ( $C_{\max}$ ), el área total bajo la curva de concentración-tiempo ( $ABC_{0-\infty}$ ), la semivida ( $t_{1/2}$ ) en la fase de eliminación terminal, la depuración (CL) total en sangre y el volumen de distribución en situación de equilibrio ( $V_{ss}$ ). Los valores de la constante de primer orden para determinar la  $t_{1/2}$  del conjugado se evaluaron utilizando los datos de concentración de 1 a 28 días tras la administración. Los valores de la constante de primer orden para determinar la  $t_{1/2}$  del anticuerpo se evaluaron utilizando los datos de concentración de 1 a 28 días tras la administración. Basándose en los valores medidos generados con la dosis de 10 mg/kg, se realizaron simulaciones de PK con WinNonlin usando diversos niveles de dosis, con pautas de dosis única y múltiple. Los parámetros resultantes se evaluaron en comparación con la actividad antitumoral de IMG853 a diversos niveles de dosis y pautas en xenoinjertos de NCI-H2110 (cáncer de pulmón no microcítico, CPNM) en ratones SCID hembra.

Cuando se administró IMG853 como una única inyección, se observó actividad antitumoral dependiente de la dosis en el modelo NCI-H2110. Todos los niveles de dosis (2,8, 5,6 y 8,5 mg/kg) fueron altamente activos con valores T/C <10 %, aunque hubo un aumento en los números de regresiones tumorales completas (CR) con mayores dosis de IMG853. Los parámetros de PK en plasma predichos también mostraron un aumento dependiente de la dosis en la  $C_{\max}$  (concentración en plasma máxima), la  $C_{\text{prom}}$  (concentración en plasma promedio) y la exposición ( $ABC_{0-540 \text{ h}}$ ). Por lo tanto, se demostró que la actividad de dosis únicas de

IMGN853 era dependiente de la dosis y que se podía predecir basándose en los parámetros de PK en plasma, como se muestra en la Figura 9.

A diferencia de la actividad de dosis únicas, las pautas de dosis múltiples de IMGN853 muestran que la actividad no depende de la  $C_{\text{máx}}$  (Figura 10). IMGN853 administrado a una dosis de 2,8 mg/kg x 3, ya sea en una pauta diaria o de cada 3 días (dosis total de 8,4 mg/kg) tuvo una actividad similar a IMGN853 de dosis única a 8,5 mg/kg. De manera interesante, la exposición total (ABC) y la concentración en plasma promedio (Cprom) del conjugado fueron comparables entre los grupos de tratamiento, mientras que la  $C_{\text{máx}}$  fue más alta en el grupo de dosis única de 8,5 mg/kg. La actividad observada con las pautas de dosis múltiple sugiere que este método de dosificación tiene mayor actividad, ya que quedaron animales sin tumor al final del estudio, frente a la ausencia de animales sin tumor en el grupo de una única dosis elevada.

Se evaluaron pautas y niveles adicionales de dosis de IMGN853 en cuanto a la actividad contra xenoinjertos de NCI-H2110, con resultados que demuestran de forma consistente que la administración de dosis múltiples es igualmente activa o tiene mejor actividad que la dosis única de IMGN853. La concentración en plasma promedio predicha de IMGN853 administrada como dosis única de 5,6 mg/kg de IMGN853 fue comparable a la de 1,4 mg/kg diarios durante 3 días. Pese a tener unas menores dosis total (4,2 mg/kg),  $C_{\text{máx}}$  y exposición (ABC<sub>0-540</sub>), 1,4 mg/kg qd x3 (por día x 3) tuvo actividad antitumoral comparable *in vivo* (Figura 11). Estos resultados sugieren que mantener una determinada concentración mínima en plasma es crucial para la actividad.

También se descubrió que una pauta semanal de IMGN853 con una dosis total en correspondencia con una única dosis elevada de IMGN853 tenía una actividad comparable *in vivo* (Figura 12). Nuevamente, mantener una concentración en plasma promedio por encima de un umbral mínimo fue necesario para la actividad, dando como resultado la dosis única de IMGN853 (8,5 mg/kg) una Cprom y un ABC ligeramente mayores, pero con actividad global comparable. La diferencia clave en los parámetros farmacocinéticos predichos con la pauta de dosis única frente a la de dosis múltiples es la reducción dramática en la  $C_{\text{máx}}$ . Se predice que la  $C_{\text{máx}}$  de la dosificación semanal sea casi el 60 % más baja que la  $C_{\text{máx}}$  de la dosis única de IMGN853. Dado que no hay beneficio de actividad evidente de lograr una mayor  $C_{\text{máx}}$ , evitar concentraciones elevadas en plasma puede ser beneficioso para reducir la toxicidad.

## SECUENCIAS

SEQ ID NO: 1 – receptor 1 de folato humano

MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMNAAKHHEKPGPEDKLHEQ  
CRPWRKNACCSTNTSQAHKDVSYLRFNWNHCGEMAPACKRHFQIDTCLYECSPNLG  
PWIQQVDQSWRKERVNLNPLCKEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGNWWTSGFNKCA  
VGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNNYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFY  
AAAMSGAGPWAAWPFLSLALMLLWLLS

SEQ ID NO: 2 – secuencia de ácido nucleico del receptor 1 de folato humano

atggctcagcggatgacaacacagctgctgctccttctagtgtgggtggctgtagtagggaggctcagacaaggattgcatgggccagga  
ctgagcttctcaatgctgcatgaacccaagcaccacaaggaaaagccaggccccaggacaagttgcatgagcagtgctgaccctgga  
ggaagaatgctgctgttctaccaacaccagccagggaagccataaggatgttctctacatatagattcaactggaaccactgtggagag  
atggcacctgcctgcaaacggcatttcatccaggacacctgcctctacagtgctcccccaactggggccctggatccagcaggtggatc  
agagctggcgcaaagagcgggtactgaacgtgccccgtgcaaagaggactgtgagcaatgggtgggaagattgtcgcacctcctacacct  
gcaagagcaactggcacaagggtggaactggacttcagggttaacaagtgcgcagtgaggagctgctgccaaccttccatttctacttc  
ccacacccactgttctgtgcaatgaaatctggactcactcctacaaggtcagcaactacagccgaggagtgccgctgcatccagatgtg  
gttcgacccagccaggggcaacccaatgaggaggtggcgaggttctatgctgcagccatgagtggggtgggcccctgggcagcctggc  
cttctctgcttagcctggccctaagtgtgctgtggctgctcagc

SEQ ID NO: 3 - vHC de huMov19

QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRIHPYDGGT  
FYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVT  
VSS

SEQ ID NO: 4 - vLCv1.00 de huMov19



DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWHYHQKPGQQPRLLIYRASNLEA  
GVPDRFSGSGSKTDFTLNISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGKLEIKR

SEQ ID NO: 5 - vLCv1.60 de huMov19

5 DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWHYHQKPGQQPRLLIYRASNLEA  
GVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGKLEIKR

SEQ ID NO: 6 - CDR1 de vLC de huMov19  
KASQSVSFAGTSLMH

10 SEQ ID NO: 7 - CDR2 de vLC de huMov19  
RASNLEA

15 SEQ ID NO: 8 - CDR3 de vLC de huMov19  
QQSREYPYT

SEQ ID NO: 9 - CDR1 de vHC de huMov19  
GYFMN

20 SEQ ID NO: 10 - CDR2 de vHC de huMov19 – definido por Kabat  
RIHPYDGDFTYNQKFQG

25 SEQ ID NO: 11 - CDR2 de vHC de huMov19 – definido por Abm  
RIHPYDGDFT

SEQ ID NO: 12 - CDR3 de vHC huMov19  
YDGSRAMDY

30 SEQ ID NO: 13 – secuencia de aminoácidos de HC de huMov19

QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRIHPYDGD  
FTYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVT  
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL  
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL  
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE  
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL  
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT  
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

35 SEQ ID NO: 14 - LCv1.00 de huMov19

DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWHYHQKPGQQPRLLIYRASNLEA  
GVPDRFSGSGSKTDFTLNISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFI  
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS  
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

40 SEQ ID NO: 15 - LCv1.60 de huMov19

DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWHYHQKPGQQPRLLIYRASNLEA  
GVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFI  
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS  
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

45 SEQ ID NO: 16 - CDR2 de vHC de muMov19 – definido por Kabat

ES 2 983 055 T3

RIHPYDGDTFYNQNFKD

## REIVINDICACIONES

1. Un inmunoconjugado que se une al polipéptido FOLR1, para su uso en el tratamiento de un cáncer que expresa FOLR1, en el que el inmunoconjugado comprende un maitansinoide y una molécula de unión a FOLR1, en el que la molécula de unión a FOLR1 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias de las SEQ ID NO: 6 a 10 y la secuencia de SEQ ID NO: 12, y en el que el inmunoconjugado se administra a una dosis de 6 miligramos (mg) por kilogramo (kg) de peso corporal ideal ajustado (AIBW).
2. El inmunoconjugado de la reivindicación 1, en el que el inmunoconjugado comprende 1-10 moléculas de maitansinoide, más preferentemente 2-5 moléculas de maitansinoide y muy preferentemente 3-4 moléculas de maitansinoide.
3. El inmunoconjugado de la reivindicación 1 o 2, en el que el maitansinoide es DM4.
4. El inmunoconjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el inmunoconjugado comprende el enlazador sulfo-SPDB.
5. Una composición que comprende inmunoconjugados que se unen al polipéptido FOLR1, para el tratamiento de un cáncer que expresa FOLR1 en un paciente humano, en el que los inmunoconjugados comprenden un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias de las SEQ ID NO: 6 a 9 y las secuencias de las SEQ ID NO: 11 y 12, y un maitansinoide, y en el que la composición se formula para la administración a una dosis de 6 miligramos (mg) por kilogramo (kg) de peso corporal ideal ajustado (AIBW) del paciente, en el que la composición comprende un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 maitansinoides por anticuerpo o fragmento de unión a antígeno.
6. La composición de la reivindicación 5, en la que la composición se administra una vez cada tres semanas.
7. La composición de la reivindicación 5, en la que la composición se administra una vez por semana.
8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en la que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la VH CDR-2 de la SEQ ID NO: 10.
9. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-8, en la que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio de cadena pesada variable que comprende la SEQ ID NO: 3 y un dominio de cadena ligera variable que comprende la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 5 o comprende un dominio de cadena pesada variable que comprende la SEQ ID NO: 3 y un dominio de cadena ligera variable que comprende la SEQ ID NO: 5.
10. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-9, en la que el anticuerpo comprende (i) una cadena pesada que comprende la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada codificada por el plásmido depositado en la Colección americana de cultivos tipo (ATCC) como PTA-10772 y (ii) una cadena ligera que comprende la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera codificada por el plásmido depositado en la ATCC como PTA-10774.
11. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-10, en la que la composición comprende un promedio de aproximadamente 2-5 maitansinoides o un promedio de aproximadamente 3-4 maitansinoides.
12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-11, en la que el maitansinoide es DM4.
13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-12, en la que los inmunoconjugados comprenden el enlazador sulfo-SPDB.
14. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-13, en la que los inmunoconjugados comprenden DM4 y un anticuerpo que comprende (i) una cadena pesada que comprende la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada codificada por el plásmido depositado en la Colección americana de cultivos tipo (ATCC) como PTA-10772 y (ii) una cadena ligera que comprende la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera codificada por el plásmido depositado en la ATCC como PTA-10774, y en la que el DM4 está unido al anticuerpo mediante sulfo-SPDB.
15. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-14, en la que la composición está formulada para administración i.v..
16. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5-15, en la que dicho cáncer es cáncer de

ovario, cáncer del peritoneo, cáncer endometrial o cáncer uterino, opcionalmente, en la que el cáncer de ovario es resistente a platino, recidivante o refractario.

Figura 1A

## Resultados de farmacocinética de IMGN853

Dosis (mg/kg)	0,15		0,5		1,0		2,0		3,3		5,0		7,0	
	(n=2)		(n=1)		(n=1)		(n=1)		(n=3)		(n=3)		(n=4)	
C <sub>máx</sub> (ug/ml)	2,9	10,5	22,1	65,7	96,6 (16,4)	108 (32,7)	179 (21,8)							
Semivida (h)	35,4	41,2	70,1	69,9	99,5 (15,7)	105 (4,4)	87,6 (11,5)							
Semivida (d)	1,5	1,7	2,9	2,9	4,1 (0,65)	4,4 (1,0)	3,6 (0,5)							
ABC <sub>(0-∞)</sub> (h*ug/ml)	150,9	596,6	1779	6505	12188 (2581)	12708(2112)	17559(2850)							
ABC <sub>(0-168)</sub> (h*ug/ml)	104,6	496,6	1678	5330	8178 (1129)	8254 (1771)	12177(1621)							
CL (ml/h/kg)	1,1	0,8	0,6	0,3	0,3 (0,06)	0,4 (0,07)	0,4 (0,06)							
V <sub>ss</sub> (ml/kg)	51,8	46,7	54,9	28,2	38,6 ( 5,2)	61,2 (16,1)	52,8 (8,3)							

**Figura 1B**

Resultados de farmacocinética de IMGN853

Dosis de cohorte (mg/kg)	N	C <sub>Máx</sub> (µg/ml)	T <sub>1/2</sub> (días)	CI (ml/h/kg)	V <sub>ss</sub> (ml/kg)	ABC <sub>0-∞</sub> (h* µg/ml)
0,15	2	2,90 (± 0,47)	1,5 (± 0,2)	1,08 (± 0,38)	53,2 (± 11,2)	149 (± 52)
0,5	1	10,55	3,2	0,58	59,2	865
1	1	22,09	3,4	0,56	57,0	1.777
2	1	65,73	5,0	0,30	32,4	6.757
3,3	3	96,64 (± 16,39)	4,7 (± 0,3)	0,26 (± 0,05)	36,82 (± 5,7)	12.915 (± 2.056)
5	10	141,90 (± 41,63)	4,9 (± 1,2)	0,35 (± 0,08)	51,9 (± 17,0)	15.079 (± 3.740)
7	5	172,98 (± 23,58)	6,2 (± 1,3)	0,36 (± 0,08)	65,7 (± 8,9)	20.146 (± 4.099)

Figura 2A-C

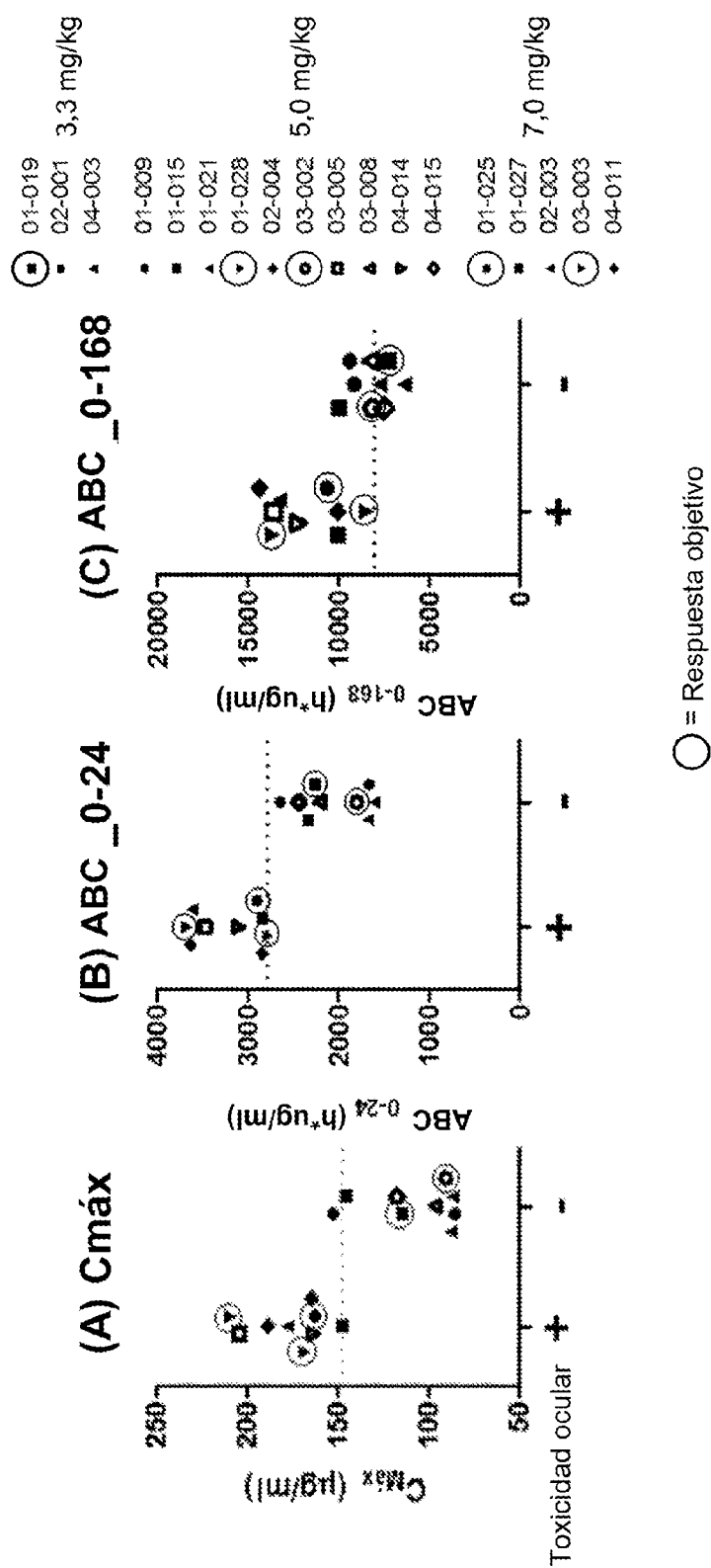


Figura 3

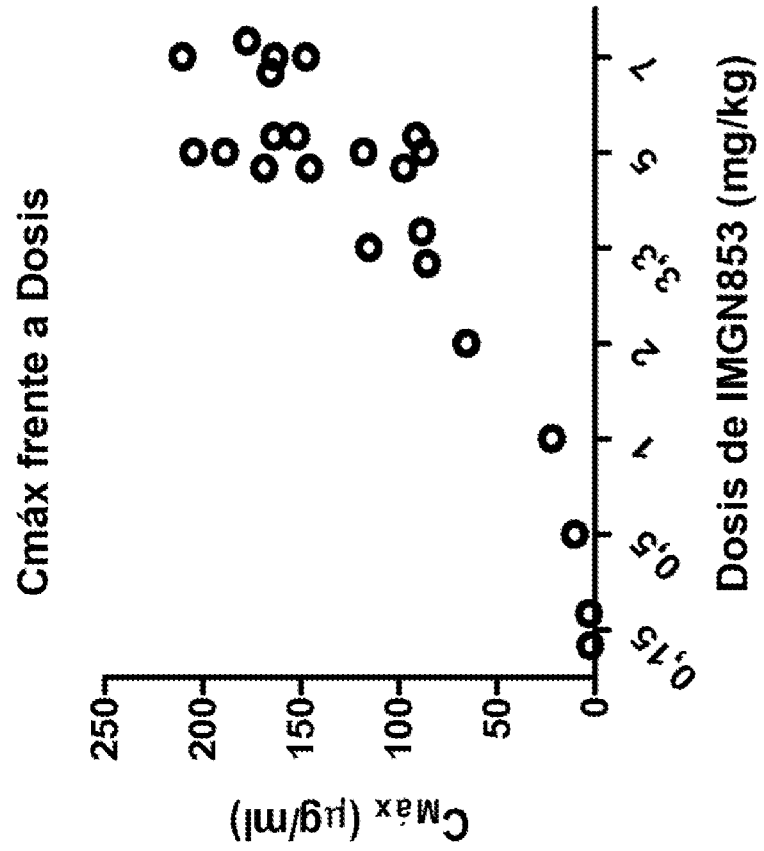




Figura 4

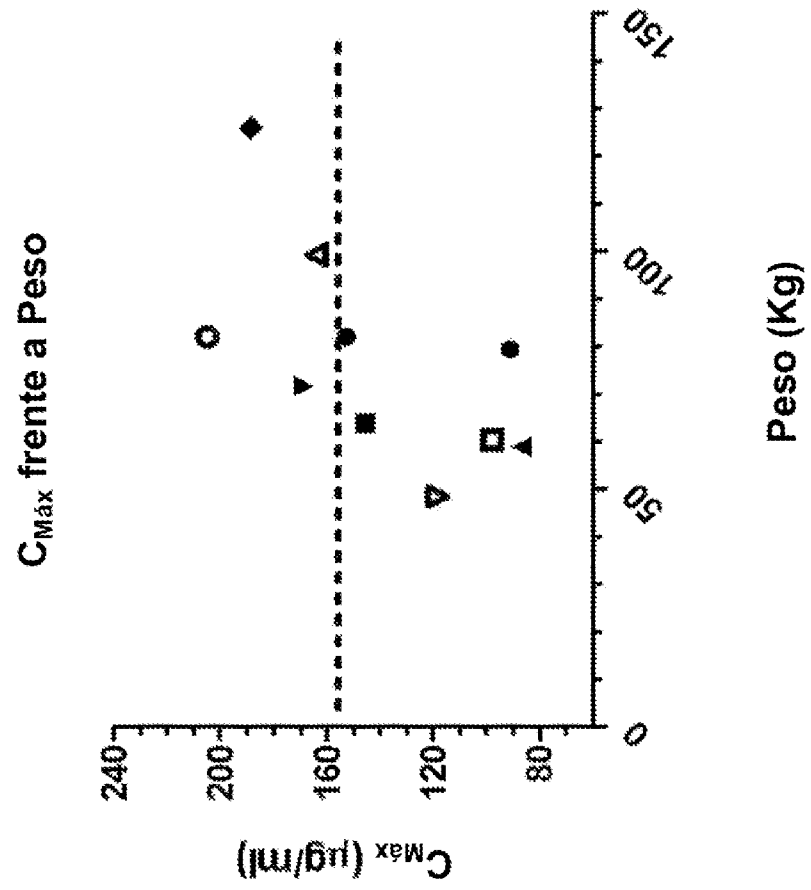
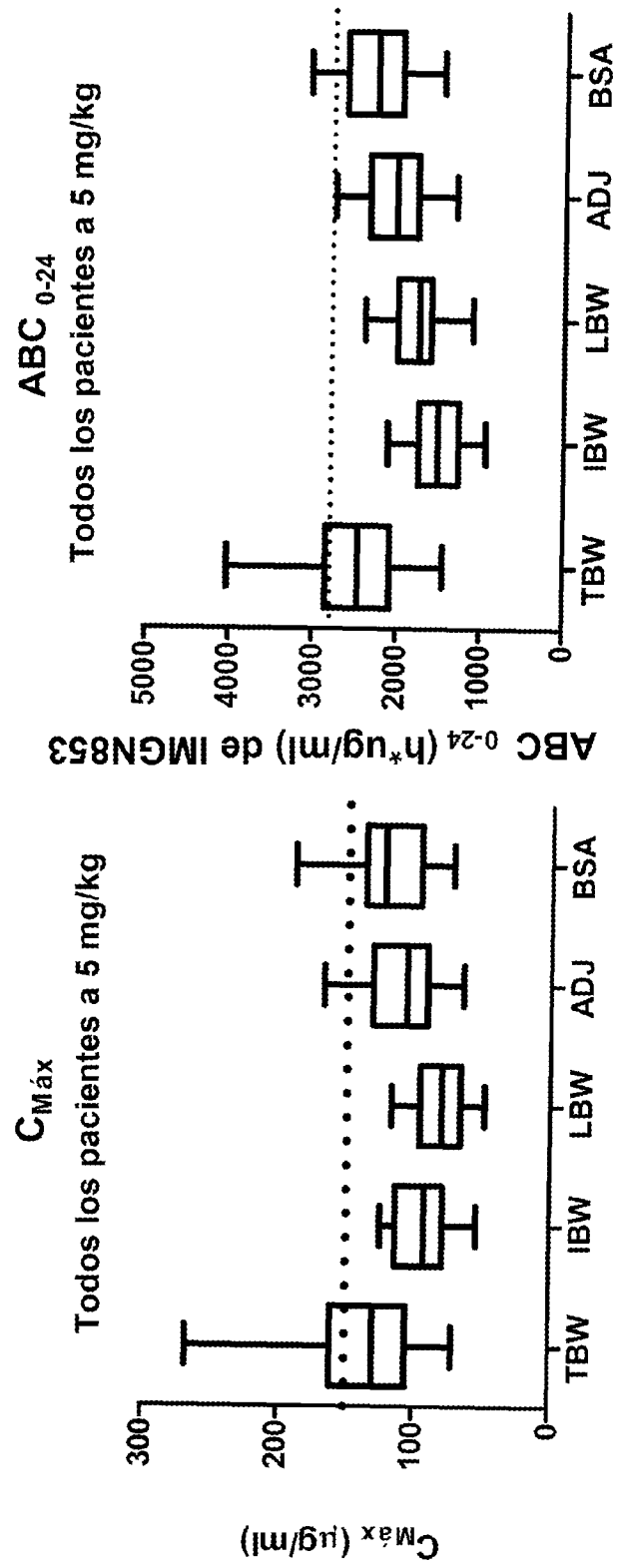


Figura 5



**Figura 6**

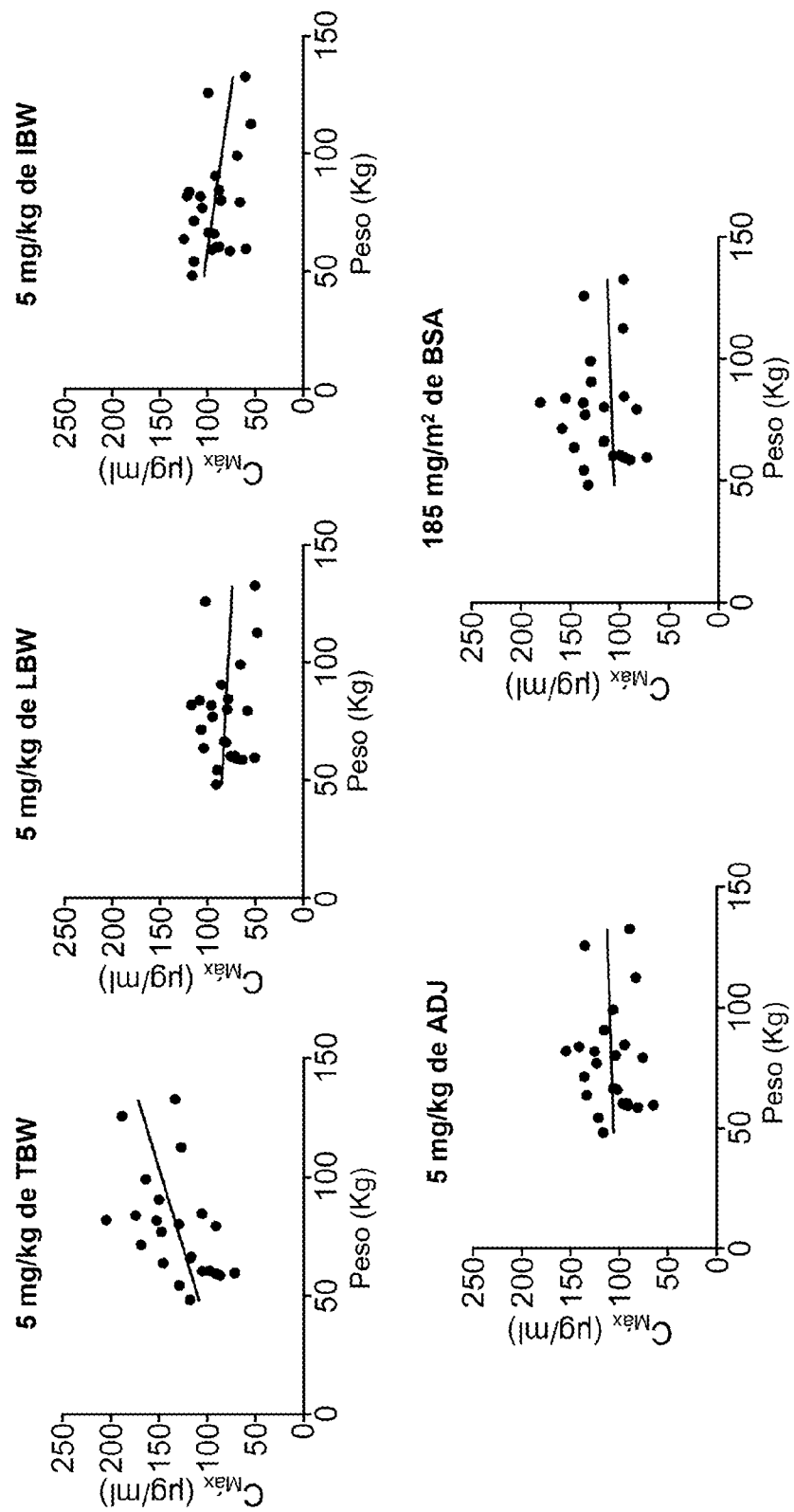
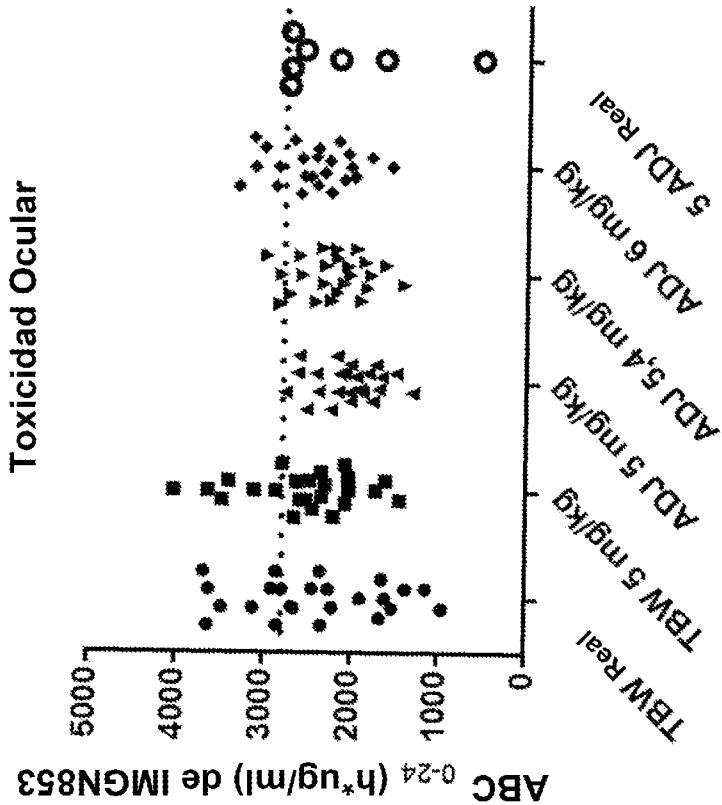


Figura 7



		Porcentaje de pacientes por encima del umbral						
Lectura	Parámetro PK	Umbral (h*ug/ml)	TBW real	TBW 5 mg/kg	ADJ 5 mg/kg	ADJ 5,4 mg/kg	ADJ 6 mg/kg	5 ADJ real
Toxicidad Ocular	ABC _0-24	>2741	38%	29%	0%	13%	25%	14%*

\*-Paciente a 2749 h\*ug/ml

Figura 8

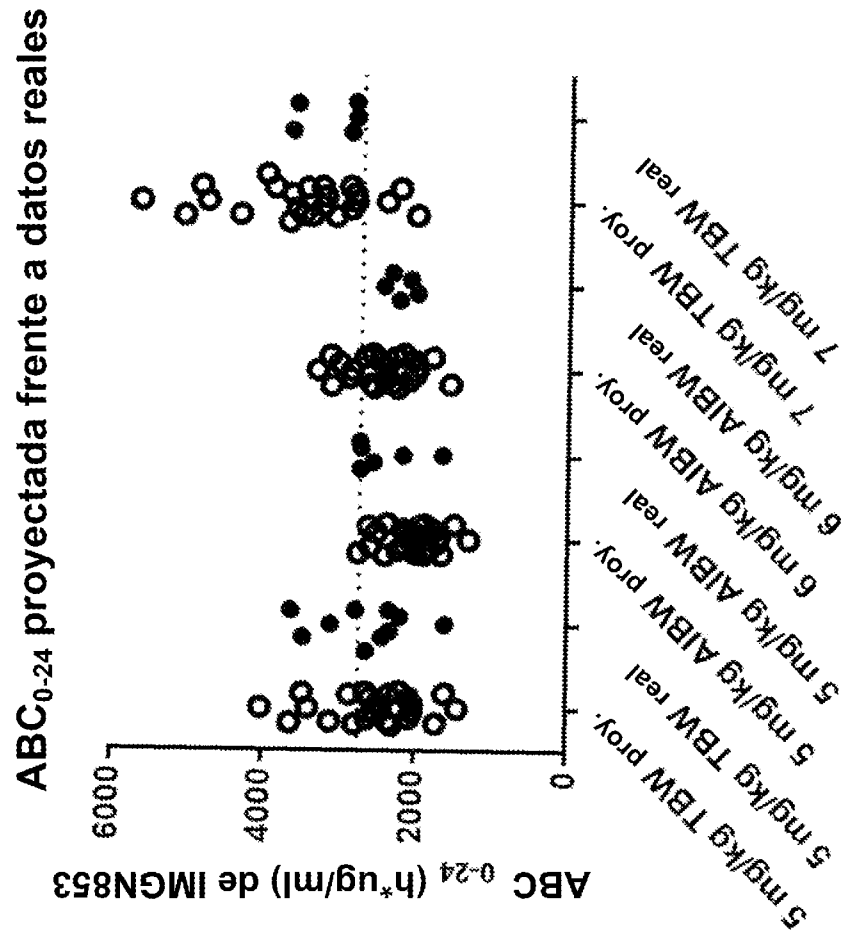
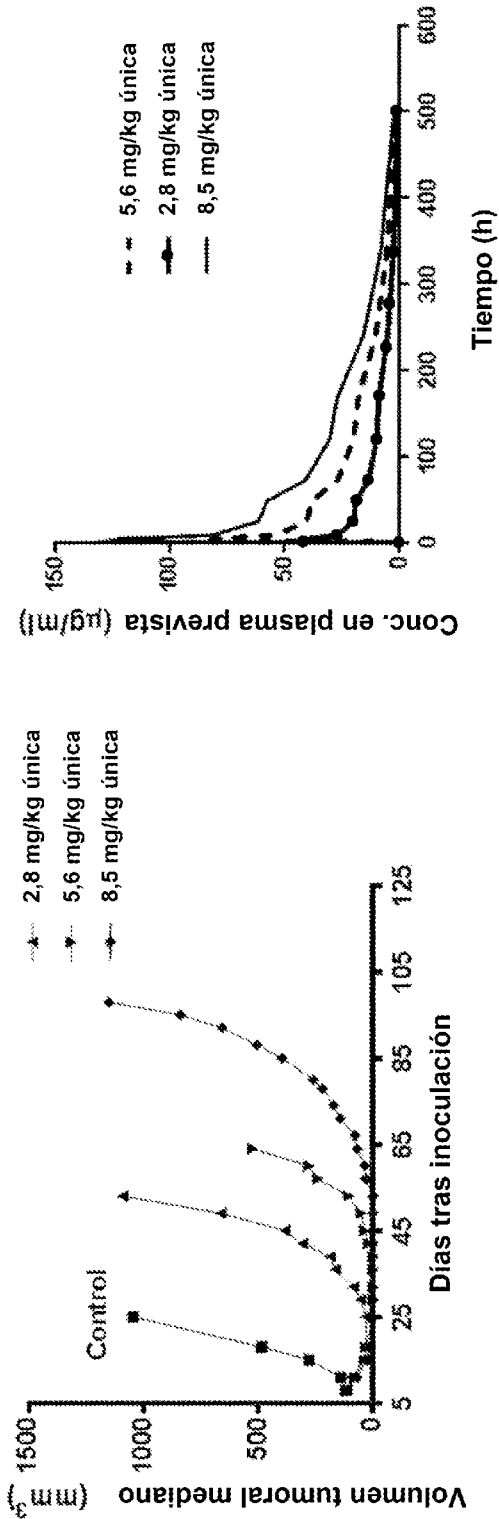
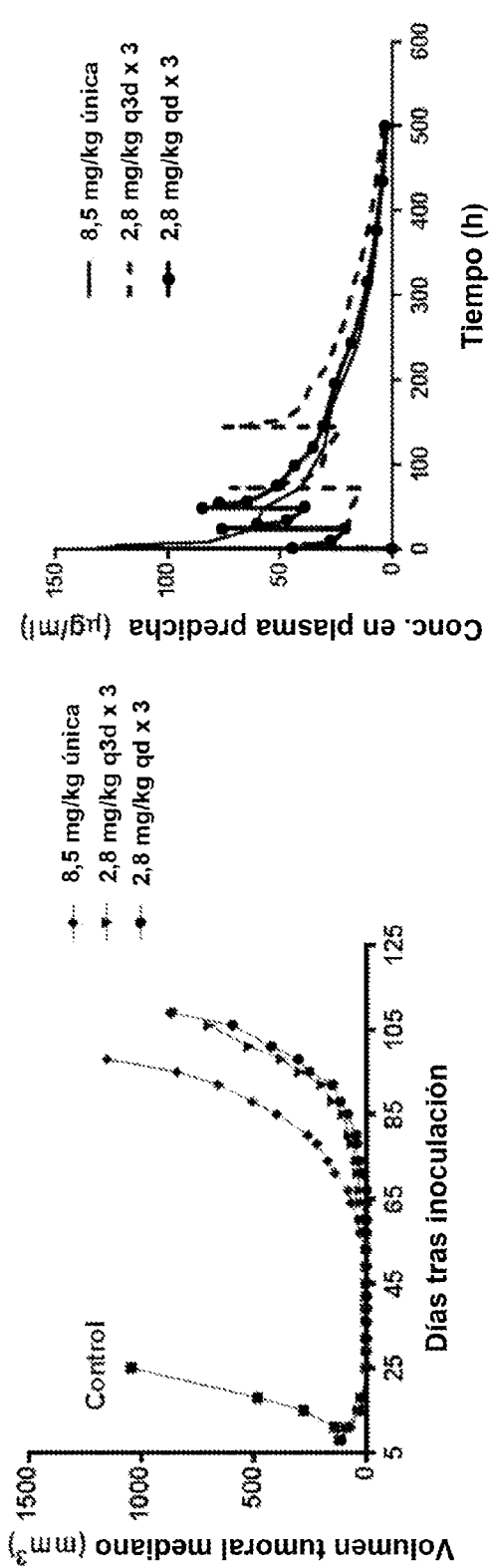


Figura 9



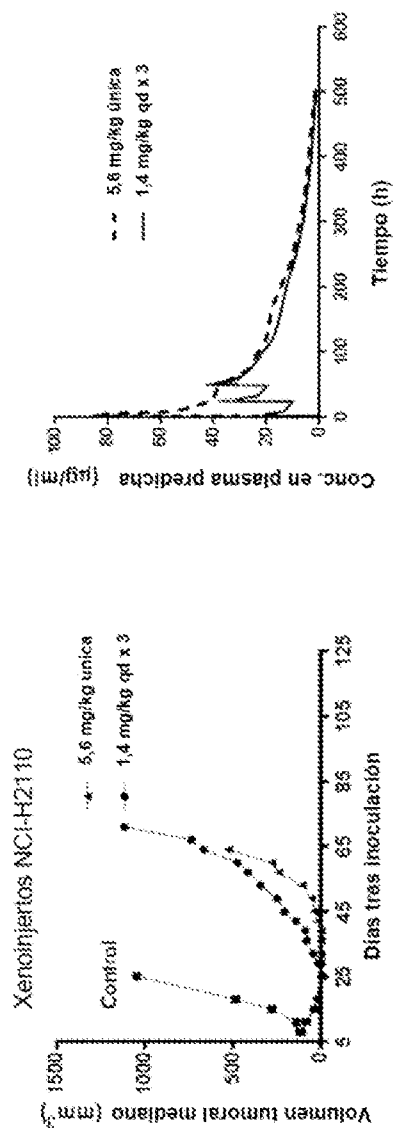
Dosis (mg/kg)	Pauta	T/C (%)	Destrucción celular log	CR	C <sub>máx</sub> (µg/ml)	Cprom. (µg/ml)	ABC 0-540 (h*µg/ml)
2,8	Única	3	1,5	2/6	43	7	3740
5,6	Única	0	2,7	4/6	86	15	7481
8,5	Única	0	3,9	6/6	131	23	11354

Figura 10



Dosis (mg/kg)	Pauta	Dosis total (mg/kg)	T/C (%)	Destrucción celular log	CR	Sin tumor (día 120)	C <sub>máx</sub> (µg/ml)	C <sub>prom.</sub> (µg/ml)	ABC 0-540 (h*µg/ml)
8,5	Única	8,5	0	3,9	6/6	0/6	131	23	11354
2,8	qd x 3	8,4	0	4,6	6/6	1/6	85	28	10961
2,8	q3d x 3	8,4	0	4,1	6/6	2/6	75	21	10762

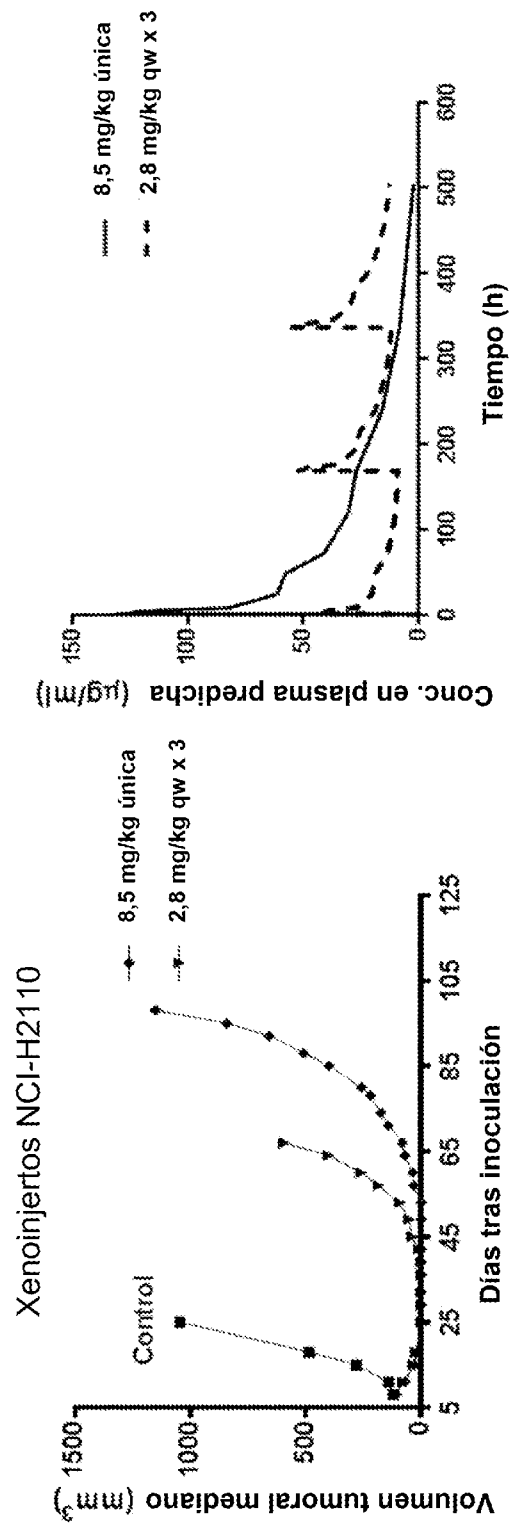
**Figura 11**



Dosis (mg/kg)	Fauta	Dosis total (mg/kg)	T/C (%)	Destrucción celular log	CR	Cmáx (µg/ml)	Cprom. (µg/ml)	ABC 0-540 (h·µg/ml)
5,6	Única	5,6	0	2,7	4/6	86	15	7481
1,4	qd x 3	4,2	0	2,5	4/6	43	14	5480



Figura 12



Dosis (mg/kg)	Pauta	Dosis total (mg/kg)	T/C (%)	Destrucción celular log	CR	Cmáx (µg/ml)	Cprom. (µg/ml)	ABC 0-540 (h*µg/ml)
8,5	Única	8,5	0	3,9	6/6	131	23	11354
2,8	qw x 3	8,4	0	3,0	6/6	55	15	9614