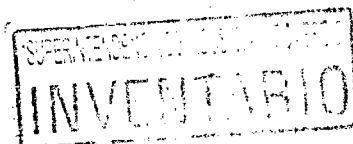


PGT

07

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



**SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION**

10-133385

21. EXPEDIENTE N° _____

54. TÍTULO FÁRMACO CONTRA EL CÁNCER DE HÍGADO.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 39/395

71. SOLICITANTE CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

DOMICILIO Kita-ku, Tokyo, Japón

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. _____

04-11-2010



No. 10-133385- 00000-0000

Fecha: 2010-10-27 14:56:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII -- Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 187

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI
KAISHA

Dirección: 5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku,
Tokyo 115-8543 Japón.

Nacionalidad o domicilio: Kita-ku,
Tokyo, Japón.

Lugar de Constitución: Japón

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN

Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6

Teléfono: 6 181088 **Fax:** 6350824

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Número

41.654.882

TP

20824 CSJ

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER HOJA ANEXA

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/JP2009/001249

Fecha 19 de marzo de 2009

Publicación Internacional No. WO 2009/122667 A1

Fecha 08 de octubre de 2009

6 TÍTULO (54) FÁRMACO CONTRA EL CÁNCER DE HÍGADO.

(Folios 141)

7 Clasificación Internacional (51)

A61K 39/395

A61K 45/00

A61P 35/00

A61P 43/00

8 Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

JAPÓN

JAPÓN

(32) Fecha

04 de abril de 2008

26 de septiembre de 2008

(31) Número de Solicitud

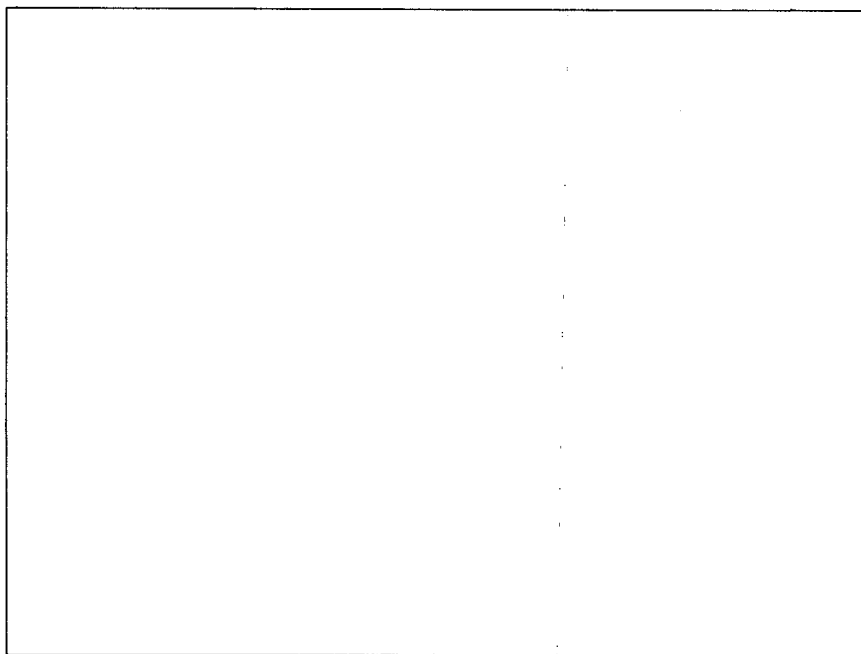
2008-098309

PCT/JP 2008-002690

9 Comprobante de pago No. 10-90,193 // 10-79,987 // 10-79,988 // 10-79,989 // 10-90,283 // 10-90,338

Fecha 26 de octubre de 2010 // 24 de septiembre de 2010

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros Reporte de examen preliminar

11 FIGURA CARACTERÍSTICA**12 Solicito la concesión de la patente****NOMBRE :** DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN**FIRMA:****C.C. 41.654.882****T.P. 20824**

ANEXOS

INVENTORES

1.)

KINOSHITA, Yasuko

(200, Kajiwara, Kamakura-shi, Kanagawa 247-8530, Japon);

2.)

SUGIMOTO, Masamichi

(200, Kajiwara, Kamakura-shi, Kanagawa 247-8530, Japon);

3.)

ISHIGURO, Takahiro

(200, Kajiwara, Kamakura-shi, Kanagawa 247-8530, Japon);

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 90,193
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133385-00000-0000

Fecha: 2010-10-27 14:56:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 187

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	389368663	25/10/2010	96,705,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
	TOTAL :	\$ 554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

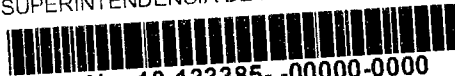
P-2715
3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

MIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 79,987
FECHA : SEPTIEMBRE 24 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133385-00000-0000

Fecha: 2010-10-27 14:56:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 187

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353205366	24/09/2010	90,750,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-02	PRORROGAS Y RENOVACIONES	30 PRORROGAS Y RENOVACIONES
			TOTAL : \$ 819,000.00

SON: OCHOCIENTOS DIEZ Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

P-2715
4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 79,988
FECHA : SEPTIEMBRE 24 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133385-00000-0000

Fecha: 2010-10-27 14:56:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 187

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353205366	24/09/2010	90,750,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-02	PRORROGAS Y RENOVACIONES	819,000.00
30		PRORROGAS Y RENOVACIONES	819,000.00
		TOTAL :	\$ 819,000.00

SON: OCHOCIENTOS DIEZ Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : 
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 79,989
FECHA : SEPTIEMBRE 24 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133385-00000-0000

Fecha: 2010-10-27 14:56:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 187

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353205366	24/09/2010	90,750,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-02	PRORROGAS Y RENOVACIONES	819,000.00
30		PRORROGAS Y RENOVACIONES	819,000.00
		TOTAL :	\$ 819,000.00

SON: OCHOCIENTOS DIEZ Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 90,283
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133385- -00000-0000

Fecha: 2010-10-27 14:56:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 187

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	389368663	25/10/2010	96,705,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS
			200,000.00
		TOTAL :	\$ 200,000.00

SON: DOSCIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 90,338
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133385- -00000-0000

Fecha: 2010-10-27 14:56:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 187

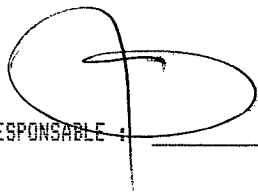
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	389368663	25/10/2010	96,705,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
99		OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	100,000.00
TOTAL :			\$ 100,000.00

SON: CIENTO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 Fax: (57 1) 6350824 Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de
CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de
Japan

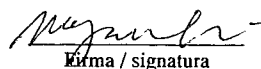
y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en **5-1. Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 115-8543, Japón**

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de **DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN**, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y **CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ**, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

a los días de


Firma / signatura

YAMAGUCHI, Masahisa

General Manager, Intellectual Property Department

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

legal representative(s) of
CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

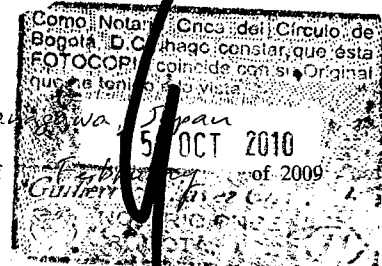
an organization existing under the laws of
Japan

and in present execution of its business activity, domiciled **5-1. Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 115-8543, Japan**

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to **DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN**, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and **CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ**, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related objet and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Granted and signed at **Kanagawa, Japan**
on this **6th** day of



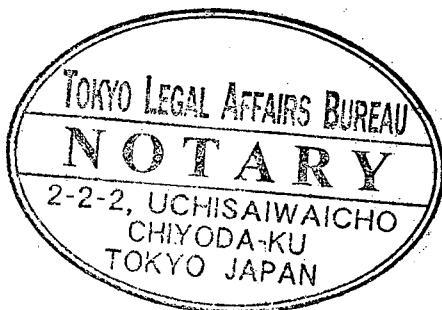
NOTARIAL CERTIFICATE

I, the undersigned NOTARY, duly authorized and practicing at TOKYO, JAPAN, DO HEREBY CERTIFY THAT:

The signature that appears at the foot of the written Power of Attorney is the genuine and authentic signature of Mr. MASAHISA YAMAGUCHI, General Manager, Intellectual Property Department of CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA, a corporation existing and organized under the laws of Japan, who has produced sufficient proof of his power to execute the said instrument on behalf of the above mentioned corporation.

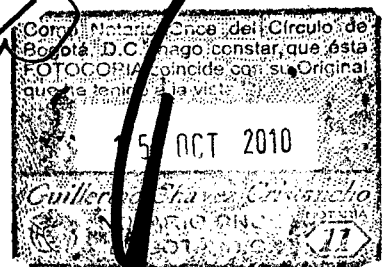
IN TESTIMONY WHEREOF, I have hereto subscribed my name and affixed my seal of office.

Dated this 10th day of March, 2009,



Makazu Ikeda

MAKAZU IKEDA
NOTARY



認 証

嘱託人中外製薬株式会社知的財産部長山口雅久の代理人弘藤瑞恵は、本公証人に対し、嘱託人が別添文書に署名したことを自認している旨陳述した。



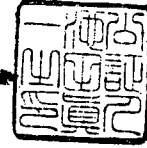
よって、これを認証する。

平成21年 3 月 10 日、本公証人役場において
東京都千代田区内幸町2丁目2番2号

東京法務局所属

公 証 人
Notary

池田真一
MAKAZU IKEDA



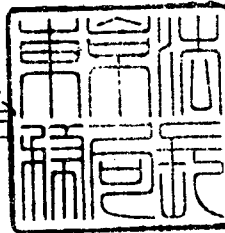
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、
真実のものであることを証明する。

平成21年 3 月 10 日

東京法務局長

五十嵐義治



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

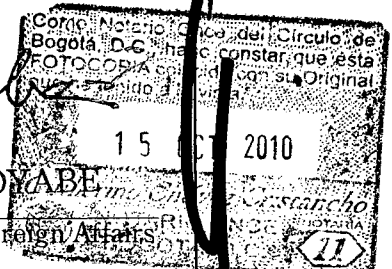
1. Country: JAPAN
This public document
 2. has been signed by **MAKAZU IKEDA**
 3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau
 4. bears the seal/stamp of **MAKAZU IKEDA, NOTARY**
- Certified
5. at Tokyo
 6. **MAR 10 2009**
 7. by the Ministry of Foreign Affairs
 8. 09- N^o 000148
 9. Seal/stamp:
 10. Signature



K. Oyabe

Kazutoyo OYABE

For the Minister for Foreign Affairs



Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 del Ministerio de Justicia, del documento legalizado mediante la APOSTILLA No. 000148 de 10 de marzo de 2009 expedida en Japón, el cual corresponde a un documento de poder en inglés con su correspondiente traducción al español (razón por la cual no se hace traducción del mismo texto), otorgado por la sociedad CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA, domiciliada en Tokio, Japón, firmado el 6 de febrero de 2009 por YAMAGUCHI, Masahisa, Director General del departamento de propiedad intelectual.

Registro No. 394 de 2009

Certificado Notarial

Yo, el suscrito NOTARIO, debidamente autorizado y practicante en TOKIO, JAPÓN, POR MEDIO DEL PRESENTE CERTIFICO QUE:

La firma que aparece al pie del Poder escrito es la firma genuina y auténtica del señor MASAHISA YAMAGUCHI, director general del departamento de propiedad intelectual de CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA, una sociedad existente y organizada bajo las leyes de Japón, quien ha producido suficiente prueba de su poder para ejecutar dicho instrumento a nombre de la mencionada sociedad.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, he suscrito mi nombre y fijado el sello de mi oficina.

Fechado este día 10 de marzo de 2009.

Firmado: Masakazu Ikeda, Notario



Sello: Oficina de Asuntos Legales de Tokio
 No. 2-2-2, Uchisaiwaicho, Chiyoda-Ku, Tokio, Japón

APOSTILLA

(Convención de la Haya de 5 de octubre de 1961)

1. País: **JAPÓN**

Este documento público

2. Ha sido firmado por **Masakazu Ikeda**

3. Actuando en su calidad de **Notario de la Oficina de Asuntos Legales de Tokio**

4. Lleva el sello de **Masakazu Ikeda, Notario**

CERTIFICADO

5. En Tokio

6. Marzo 10 de 2009

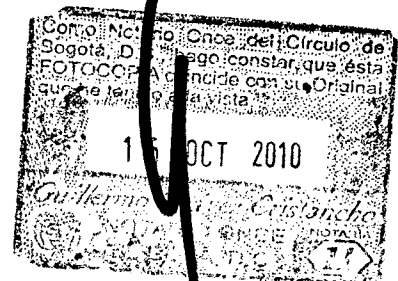
7. Por el Ministerio de Asuntos Exteriores

8. NO. 000149

9. Sello/Estampilla: Ministerio de Asuntos Exteriores, Japón

10. Firma (ilegible), Kazutoyo OYABE, Por el Ministro de Asuntos Exteriores

Jimena Escobar Uribe
JIMENA ESCOBAR URIBE
 Traductor e Intérprete Oficial
 Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995



RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN:

Se proporcionan una composición farmacéutica novedosa para tratar o prevenir carcinoma hepatocelular y un método de
5 tratamiento. Se obtiene una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de hígado al combinar un agente quimioterapéutico con un anticuerpo 3 antiglipicano. También se describe una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de hígado que comprende como un ingrediente
10 activo un anticuerpo 3 antiglipicano para uso en combinación con un agente quimioterapéutico, o que comprende como un ingrediente activo un agente quimioterapéutico para uso en combinación con un anticuerpo 3 antiglipicano. La utilización del agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano
15 en combinación proporciona mejores efectos terapéuticos que utilizando solo el agente quimioterapéutico, y mitiga los efectos colaterales que surgen del tratamiento contra el cáncer de hígado tratamiento con el agente quimioterapéutico.

FÁRMACO CONTRA EL CÁNCER DE HÍGADO

Solicitudes Relacionadas

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud JP No. 2008-98309, presentada en abril 4, 2008 y la PCT/JP2008/002690, presentada en septiembre 26, 2008, los contenidos de las cuales se incorporan aquí como referencia.

10 Campo de la Invención

La presente invención se relaciona con una composición farmacéutica para tratar o prevenir efectivamente el cáncer de hígado que comprende una combinación de un agente
15 quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano, así como también un método de tratamiento utilizando la composición farmacéutica.

Descripción de Técnica Relacionada

20

El número anual de muertes por carcinoma hepatocelular es de 600.000, haciéndola la quinta causa de muerte por cáncer en todo el mundo (Llovet, JM, Burroughs, A., Bruix, J.: *Lancet* 362 de 1907 a 17 (2003)). La mayoría de los
25 pacientes con carcinoma hepatocelular mueren dentro del año siguiente al diagnóstico de esta enfermedad. Desafortunadamente, el carcinoma hepatocelular se diagnostica frecuentemente en una etapa tardía cuando el tratamiento

curativo no es muy exitoso. En tales pacientes, los efectos de las modalidades de tratamiento que incluyen quimioterapia, quimioembolización, cauterización o dioterapia de haz de electrones siguen siendo insuficientes. La mayoría de los

5 pacientes presentan una recaída de la enfermedad acompañada de infiltración vascular y metástasis intrahepática múltiple, que rápidamente progresará a la etapa avanzada. El índice de supervivencia a cinco años es sólo del 7% (Bosch, FX, Ribes, J., Cleries, R.: *Gastroenterology* 127, S5-16 (2004)). Los

10 pacientes con carcinoma hepatocelular sensibles a la resección quirúrgica de tumores localizados tiene un pronóstico relativamente bueno, aunque el índice de supervivencia a cinco años está todavía entre 15% y 39% (Takenaka, K., Kawahara, N., Yamamoto, K., Kajiyama, K.,

15 Maeda, T., Itasaka, H., Shirabe, K., Nishizaki, T., Yanaga, K., Sugimachi, K.: *Arco Surg* 131, 71-6 (1996)). De acuerdo con lo anterior, existe un deseo en la técnica de una nueva forma para tratar esta enfermedad altamente maligna.

20 El carcinoma hepatocelular según se dice, reporta más del 90% de cánceres de hígado primarios en Japón. Los métodos para tratar el cáncer hepatocelular incluyen una terapia de embolización arterial transcatéter (TAE) basada en quimioterapia, donde se induce la necrosis selectiva del

25 carcinoma hepatocelular mediante la infusión de una mezcla de un medio de contraste a base de aceite (Lipiodol), y un carcinostático una sustancia de obstrucción (Gelfoam) en la arteria hepática (que sirve como la ruta de suministro de

nutrientes al tumor) y por lo tanto obstruye la arteria
 nutriente. Adicionalmente, los ensayos clínicos se llevan a
 cabo en la quimioterapia sistémica utilizando tales agentes
 quimioterapéuticos como fluorouracilo (5-FU), uracilo-tegafur
 5 (UFT), mitomicina C (MMC), mitoxantrona (DHAD), adriamicina
 (ADR), epirubicinaa (EPI) y cisplatina (CDDP), ya sea solos o
 en combinación con interferón (IFN) (Yeo, W., Mok, TS, Zee,
 B., Leung, TW, Lai, PB, Lau, WY, Koh, J., Mo, FK, Yu, SC,
 Chan, AT, Hui, P., Ma, B., Lam, KC, WM Ho, Wong, HT, Tang, A.
 10 Johnson, PJ: *J. Natl. Cancer Inst.* 97, 1532-8 (2005)). Sin
 embargo, todavía no se ha establecido una terapia estándar
 contra el cáncer de hígado (Furuse, J., Ishii, H., Nakachi, K.
 Suzuki, E., Shimizu, S., Nakajima, K.: *Cancer Sci.*, octubre
 22 (E-Pub) (2007)).

15

Recientemente, se está investigando un número de
 fármacos objetivados a los factores de crecimiento para el
 tratamiento de cáncer de hígado. Estas investigaciones
 sugieren que el receptor del factor de crecimiento
 20 epidérmico/receptor epidérmico humano 1 (EGFR/HER1) se
 expresa en una forma activa en las células de cáncer de
 hígado humano. El erlotinib, un inhibidor del receptor del
 factor de crecimiento epidérmico/receptor epidérmico humano 1,
 y el lapatinib, un inhibidor de la tirosina cinasa doble del
 25 receptor de factor de crecimiento epidérmico/receptor
 epidérmico humano 1 y ErbB-2 (HER2/neu), se han investigado
 en ensayos clínicos de fase II. El índice de respuesta en
 pacientes a los que se les ha administrado erlotinib es de 4

a 9%, el tiempo hasta la progresión es de 2.1 a 3.2 meses, y el período de supervivencia es de 5.8 a 13 meses. Sin embargo, el índice de respuesta en pacientes a los que se les ha administrado lapatinib es 0% y el tiempo de progresión es de 1.8 meses (Philip, P.A., Mahoney, M.R., Allmer, C., Thomas, J., Pitot, H.C., Kim, G., Donehower, R.C., Fitch, T., Picus, J., Erlichman, C.: *J. Clin. Oncol.* 23, 6657-63 (2005)). La forma oralmente activa del inhibidor de cinasa Sorafenib (Nexavar ®, BAY43-9006), inhibe la transducción de señal Raf/MEK/ERK en la etapa de cinasa Raf, bloqueando por lo tanto el crecimiento de células cancerosas. Adicionalmente, al objetivar tirosina cinasa VEGFR-2, VEGFR-3 y PDGFR- β , el Sorafenib provoca un efecto antiangiogénico, y así ha exhibido efectos benéficos en comparación con los agentes quimioterapéuticos enumerados anteriormente. En un ensayo clínico de fase II en sujetos Japoneses y no Japoneses, el tiempo de progresión es de 4.2 a 4.9 meses, el índice de respuesta es de 2 a 4%, y el período de supervivencia libre de progresión es de 9.2 a 15.6 meses (Thomas, M.B., Dutta, A., Brown, T., Charnsangavej, C., Rashid, A., Hoff, P.M., Dancey, J., Abbruzzese, J.L.: *J. Clin. Oncol.*, 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings, 23, 16S (2005)). El Sunitinib (SU11248) es un inhibidor multi-cinasa como Sorafenib, que tiene una actividad que inhibe dos o más tipos de cinasa (Mendel DB, Laird AD, Xin X, Louie SG, Christensen JG, Li G, Schreck RE, Abrams TJ, Ngai TJ, Lee LB, Murray LJ, Carver J, Chan E, Moss KG, Haznedar JO, Sukbuntherng J, Blake RA, Sun L, Tang C, Miller T, Shirazian S, McMahon G, Cherrington JM;

Clin Cancer Res (2003), 9, 327-37) y está bajo una prueba clínica para el tratamiento de hepatocarcinoma.

En la prueba clínica donde 34 pacientes con
5 hepatocarcinoma avanzado reciben Sunitinib, 1 paciente tiene una respuesta parcial después de 12 semanas de tratamiento, y 17 pacientes logran condición estable. Se demuestra que supervivencia general media es de 9.8 meses, la supervivencia libre de progresión promedio es de 3.9 meses (95% de
10 intervalo de confianza de 2.6 a 6.9), la supervivencia libre de progresión a los tres meses es 56%, y la supervivencia libre de progresión a seis meses es 32%, lo que sugiere que el Sunitinib exhibe una actividad antitumoral contra el hepatocarcinoma (Zhu A, Sahani D, di Tomaso E et al.; 99th
15 AACR annual meeting. San Diego, CA, USA 12-16 Abril (2008)). De manera general, en la medida que progresa el cáncer de hígado, se observan varios síntomas específicos al cáncer de hígado y asociados con disfunción hepática, tales como la falta de apetito, pérdida de peso, sensación general de
20 cansancio, masa palpable del hipocondrio derecho, dolor del hipocondrio derecho, sensación de llenura abdominal, fiebre e ictericia. Sin embargo, los agentes quimioterapéuticos tales como Sorafenib y lapatinib típicamente tienen un número de complicaciones, que incluyen tales efectos colaterales como
25 diarrea o estreñimiento, anemia, supresión del sistema inmune (en un grado como para provocar infecciones o septicemia de gravedad letal), hemorragia, toxicidad cardíaca, toxicidad hepática, toxicidad renal, falta de apetito y pérdida de peso.

Aunque usualmente no se observan síntomas particulares, en etapa temprana al comienzo del cáncer de hígado, se observan varios síntomas específicos para el cáncer de hígado y asociados con disfunción hepática como progreso de cáncer de hígado, que incluyen la falta de apetito, pérdida de peso, sensación general de cansancio, masa de hipocondrio derecho palpable, dolor en hipocondrio derecho, sensación de llenura abdominal, fiebre e ictericia. Se ha observado clínicamente que tales síntomas se mejoran por el uso de los agentes quimioterapéuticos mencionados anteriormente. Por ejemplo, la falta de apetito en un paciente al que se ha detectado cáncer hepatocelular, y los síntomas tales como pérdida de peso que están asociados con o independientes de la falta de apetito, se mejoran algunas veces mediante la administración de agentes quimioterapéuticos al paciente. Cuando tales síntomas se desarrollan, a veces es necesario interrumpir el uso de los agentes quimioterapéuticos. Por lo tanto, la expansión de los síntomas anteriores es un factor que dificulta el tratamiento con agentes quimioterapéuticos.

De acuerdo con lo anterior, subsiste un deseo para el establecimiento de mejores modalidades de tratamiento en términos de intensificación de los efectos terapéuticos y mejoramiento de la calidad de vida del paciente que recibe el tratamiento.

RESUMEN DE LA INVENCION

Es por lo tanto un objeto de la presente invención proporcionar un fármaco contra el cáncer de hígado que, en pacientes que se observa que tienen síntomas distintivos del
5 cáncer de hígado, tales como pérdida de peso asociada con progresión de cáncer, es capaz de reducir los efectos colaterales característicos de agentes quimioterapéuticos, tales como diarrea o estreñimiento, anemia, supresión del sistema inmune (a un grado como para provocar infecciones o
10 septicemia de severidad letal), hemorragia, toxicidad cardíaca, toxicidad hepática, toxicidad renal, falta de apetito y pérdida de peso que surgen con la administración de agentes quimioterapéuticos tales como inhibidores de cinasa, y que más aún son capaces de mejorar los efectos terapéuticos
15 contra cáncer de hígado.

Los inventores han descubierto que al combinar un anticuerpo terapéutico que se une a una proteína que se expresa altamente en células de cáncer de hígado y tiene la
20 capacidad de provocar citotoxicidad contra tales células con un fármaco contra el cáncer de hígado que comprende como el ingrediente activo un agente quimioterapéutico efectivo contra las células de cáncer de hígado, se pueden lograr mejores efectos terapéuticos en el paciente con cáncer de
25 hígado que cuando se utiliza solo un agente quimioterapéutico. Más aún, los inventores también han encontrado que el fármaco de la presente invención, adicionalmente tiene los efectos deseables mencionados

anteriormente, reduce significativamente los efectos colaterales característicos de los agentes quimioterapéuticos, tales como diarrea o estreñimiento, anemia, supresión del sistema inmune (a un grado como para 5 provocar infecciones o septicemia de severidad letal), hemorragia, toxicidad cardíaca, toxicidad hepática, toxicidad renal, falta de apetito y pérdida de peso, exhibiendo por lo tanto buenos efectos terapéuticos.

10 Adicionalmente, como se muestra en los ejemplos adelante, cuando se utiliza un modelo de cáncer de hígado animal no humano implantado con HepG2 como un modelo de los síntomas tales como falta de apetito y pérdida de peso asociada con progresión de cáncer de hígado, tal pérdida de 15 peso se intensifica adicionalmente mediante la administración de un agente quimioterapéutico, en particular Sorafenib, mientras que se suprime la pérdida de peso mediante la administración del fármaco de acuerdo con la invención.

20 La presente invención proporciona:

[1] Una composición farmacéutica para tratar o prevenir un cáncer de hígado que comprende una combinación de un agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano;

25

[2] La composición farmacéutica de acuerdo con [1], en donde la composición farmacéutica es una preparación de combinación;

[3] La composición farmacéutica de acuerdo con [1], en donde se administran concomitantemente el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano;

5

[4] La composición farmacéutica de acuerdo con [3], en donde el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano se administran simultáneamente o secuencialmente;

10 [5] La composición farmacéutica de acuerdo con [3], en donde se administran separadamente el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano;

15 [6] Una composición farmacéutica para tratar o prevenir un cáncer de hígado para uso en combinación con un agente quimioterapéutico, dicha composición comprende un anticuerpo 3 antiglipicano como un ingrediente activo;

20 [7] La composición farmacéutica de acuerdo con [6], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra simultáneamente con el agente quimioterapéutico;

25 [8] La composición farmacéutica de acuerdo con [6], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra antes de o después de administración del agente quimioterapéutico;

[9] Una composición farmacéutica para tratar o prevenir un cáncer de hígado para uso en combinación con un anticuerpo 3

antiglipicano, dicha composición comprende un agente quimioterapéutico como un ingrediente activo;

[10] La composición farmacéutica de acuerdo con [9], en donde
5 el agente quimioterapéutico se administra simultáneamente con el anticuerpo 3 antiglipicano;

[11] La composición farmacéutica de acuerdo con [9], en donde
10 el agente quimioterapéutico se administra antes de o después de administración del anticuerpo 3 antiglipicano;

[12] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
cualquiera de [1]-[11], en donde el agente quimioterapéutico
es un inhibidor de cinasa;
15

[13] La composición farmacéutica de acuerdo con [12], en
donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-
cinasa;

20 [14] La composición farmacéutica de acuerdo con [12] o [13],
en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-
9006);

[15] La composición farmacéutica de acuerdo con [12] o [13],
25 en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib;

[16] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
cualquiera de [1]-[15], en donde el anticuerpo 3

antiglipicano tiene citotoxicidad;

[17] La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de [1]-[16], en donde el anticuerpo 3
5 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende el CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
10 la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

15 la región variable de cadena L que comprende el CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
20 la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[18] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
25 cualquiera de [1]-[17], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

- 5 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente;

[19] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
10 cualquiera de [1]-[16] o [18], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

- 15 la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 7; y

- 20 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 24, y

- 25 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 25;

[20] La composición farmacéutica de acuerdo con uno

cualquiera de [1]-[16] o [18], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

5 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

10 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

20 [21] La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de [1]-[16] o [18], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

25 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 32,

5 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 25;

10 [22] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
cualquiera de [1]-[21], en donde el anticuerpo 3
antiglipicano;

[23] La composición farmacéutica de acuerdo con [22], en
15 donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de
aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de
20 aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4;

[24] La composición farmacéutica de acuerdo con [22], en
donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de
aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de
aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ ID NO: 4 se

sustituye con otro residuo de aminoácido;

[25] La composición farmacéutica de acuerdo con [22], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29;

10

[26] La composición farmacéutica de acuerdo con [22], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y

15

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33;

[27] Un agente para reducir un efecto colateral originado por un tratamiento de un cáncer de hígado mediante agente quimioterapéutico, dicho agente comprende un anticuerpo terapéutico como un ingrediente activo;

20

[28] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con [27], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa;

25

[29] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo

con [27] o [28], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa;

[30] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo
5 con [28] o [29], en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006);

[31] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo
con [28] o [29], en donde el agente quimioterapéutico es
10 Sunitinib;

[32] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo
con uno cualquiera de [27]-[31], en donde el efecto colateral
es pérdida de peso;

15

[33] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo
con uno cualquiera de [27]-[32], en donde el anticuerpo
terapéutico es un anticuerpo 3 antiglipicano;

20 [34] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo
con [33], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene
citotoxicidad;

[35] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo
25 con [33] o [34], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano
comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

10 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

15 [36] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con uno cualquiera de [33]-[35], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

20

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que
25 comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente;

[37] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo

con uno cualquiera de [33], [34] o [36], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

5 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

10 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[38] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con uno cualquiera de [33], [34] o [36], en donde el

20 anticuerpo 3 antiglipicano comprende la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

25 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[39] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con uno cualquiera de [33], [34] o [36], en donde el
10 anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

20 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
25 la SEQ ID NO: 25;

[40] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con uno cualquiera de [33]-[39], en donde el anticuerpo 3

con uno cualquiera de [33], [34] o [36], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

5 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

10 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[38] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con uno cualquiera de [33], [34] o [36], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende la región variable de

20 cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

25 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[39] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con uno cualquiera de [33], [34] o [36], en donde el
10 anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

20 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

25 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[40] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con uno cualquiera de [33]-[39], en donde el anticuerpo 3

antiglipicano es un anticuerpo humanizado;

[41] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con [40], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4;

10

[42] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con [40], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

15

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ ID NO: 4 se sustituye con otro residuo de aminoácido;

20 [43] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con [40], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y

25 la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29;

[44] El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo

con [40], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y

5 la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33;

[45] Una composición farmacéutica para mejorar la eficacia del tratamiento de un cáncer de hígado mediante un agente
10 quimioterapéutico, dicha composición comprende un anticuerpo 3 antiglipicano;

[46] La composición farmacéutica de acuerdo con [45], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra
15 simultáneamente con el agente quimioterapéutico;

[47] La composición farmacéutica de acuerdo con [45], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra antes de o después de administración del agente quimioterapéutico;

20

[48] La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de [45]-[47], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa;

25 [49] La composición farmacéutica de acuerdo con [48], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa;

[50] La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de [45]-[49], en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006);

5 [51] La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de [45]-[49], en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib;

[52] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
10 cualquiera de [45]-[51], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad;

[53] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
cualquiera de [45]-[52], en donde el anticuerpo 3
15 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:
el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 5,

20 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

25 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 8,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[54] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
5 cualquiera de [45]-[53], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

10 la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y
la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID
15 Nos: 8, 24, y 25, respectivamente;

[55] La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de [45]-[52] o [54], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

20

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:
el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
25 la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[56] La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de [45]-[52] o [54], en donde el anticuerpo 3

10 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

20 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

25 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[57] La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de [45]-[52] o [54], en donde el anticuerpo 3

antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

5 la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 30, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 7; y

10 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 24, y

15 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 25;

[58] La composición farmacéutica de acuerdo con uno
cualquiera de [45]-[57], en donde el anticuerpo 3

20 antiglipicano es un anticuerpo humanizado;

[59] La composición farmacéutica de acuerdo con [58], en
donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de
aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de
aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4;

[60] La composición farmacéutica de acuerdo con [58], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ ID NO: 4 se sustituye con otro residuo de aminoácido;

10

[61] La composición farmacéutica de acuerdo con [58], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y

15

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29;

[62] La composición farmacéutica de acuerdo con [58], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

20

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33;

25

[63] Un método para tratar o prevenir un cáncer de hígado en un sujeto que comprende administrar al sujeto una combinación

de una cantidad efectiva de un agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano;

5 [64] El método de acuerdo con [63], en donde el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano se administran simultáneamente o secuencialmente;

10 [65] El método de acuerdo con [63], en donde se administran separadamente el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano;

[66] El método de acuerdo con uno cualquiera de [63]-[65], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa;

15 [67] El método de acuerdo con [66], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa;

[68] El método de acuerdo con [66] o [67], en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006);

20

[69] El método de acuerdo con [66] o [67], en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib;

25 [70] El método de acuerdo con uno cualquiera de [63]-[69], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad;

[71] El método de acuerdo con uno cualquiera de [63]-[70], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende el CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
5 la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 7; y

10 la región variable de cadena L que comprende el CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 8,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
15 la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
la SEQ ID NO: 25;

[72] El método de acuerdo con uno cualquiera de [63]-[71], en
20 donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que
comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID
25 Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que
comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID

Nos: 8, 24, y 25, respectivamente;

[73] El método de acuerdo con uno cualquiera de [63]-[70] o [72], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

10 la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

15 una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

20

[74] El método de acuerdo con uno cualquiera de [63]-[70] o [72], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

25 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

5 la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 25;

10

[75] El método de acuerdo con uno cualquiera de [63]-[70] o [72], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

15 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 30, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

20 la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

25 la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 25;

[76] El método de acuerdo con uno cualquiera de [63]-[75], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado;

5 [77] El método de acuerdo con [76], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

10 la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4;

[78] El método de acuerdo con [76], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ ID NO: 4 se

20 sustituye con otro residuo de aminoácido;

[79] El método de acuerdo con [76], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29;

[80] El método de acuerdo con [76], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

- 5 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y
la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33;

10 [81] Un método para reducir un efecto colateral originado por un tratamiento de un cáncer de hígado mediante agente quimioterapéutico en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de un anticuerpo terapéutico;

15 [82] El método de acuerdo con [81], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa;

[83] El método de acuerdo con [81] o [82], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa;

20

[84] El método de acuerdo con [82] o [83], en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006);

[85] El método de acuerdo con [82] o [83], en donde el agente
25 quimioterapéutico es Sunitinib;

[86] El método de acuerdo con uno cualquiera de [81]-[85], en donde el efecto colateral es pérdida de peso;

[87] El método de acuerdo con uno cualquiera de [81]-[86], en donde el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo 3 antiglipicano;

5

[88] El método de acuerdo con [87], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad;

10

[89] El método de acuerdo con [87] o [88], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

15

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

20

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

25

la SEQ ID NO: 25;

[90] El método de acuerdo con uno cualquiera de [87]-[89], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un

epítopo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que
5 comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente;

10

[91] El método de acuerdo con uno cualquiera de [87], [88] o [90], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

15 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

20 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

25 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[92] El método de acuerdo con uno cualquiera de [87], [88] o

[89], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

- el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 5 la SEQ ID NO: 5,
 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 26, y
 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 7; y
 10 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:
 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 28,
 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 24, y
 15 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 25;

[93] El método de acuerdo con uno cualquiera de [87], [88] o
 [90], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

20

- la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:
 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 5,
 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 25 la SEQ ID NO: 30, y
 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 7; y
 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

[94] El método de acuerdo con uno cualquiera de [87]-[93], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado;

[95] El método de acuerdo con [94], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4;

20 [96] El método de acuerdo con [94], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

25 la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ ID NO: 4 se sustituye con otro residuo de aminoácido;

[97] El método de acuerdo con [94], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29;

[98] El método de acuerdo con [94], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33;

[99] Un método para mejorar la eficacia del tratamiento de un cáncer de hígado mediante un agente quimioterapéutico en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de un anticuerpo 3 antiglipicano;

[100] El método de acuerdo con [99], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra simultáneamente con el agente quimioterapéutico;

[101] El método de acuerdo con [99], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra antes de o después de administración del agente quimioterapéutico;

[102] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[101] en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa;

5

[103] El método de acuerdo con [102], en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa;

[104] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[103], en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006);

15

[105] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[103], en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib;

[106] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[105], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad;

[107] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[106], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:
el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

25 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:
 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 8,
 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 5 la SEQ ID NO: 24, y
 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 25;

[108] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[107],
 10 en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a
 un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en
 donde dicho segundo anticuerpo comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que
 comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID
 15 Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que
 comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID
 Nos: 8, 24, y 25, respectivamente;

20

[109] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[106]
 o [108], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:
 25 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 5,
 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
 la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

5 una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 25;

10

[110] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[106]

o [108], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

15 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 26, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

20 la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

25 la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en

la SEQ ID NO: 25;

[111] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[106] o [108], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

5 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

10 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

20 [112] El método de acuerdo con uno cualquiera de [99]-[111], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado;

[113] El método de acuerdo con [112] en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de

aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4;

[114] El método de acuerdo con [112], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ ID NO: 4 se

10 sustituye con otro residuo de aminoácido;

[115] El método de acuerdo con [112], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29;

20 [116] El método de acuerdo con [112], en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y

25 la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es una gráfica que muestra los efectos que suprimen el crecimiento en las células de cáncer de hígado mediante la administración combinada de doxorubicina (DOX) o mitoxantrona (MX) y anticuerpo GC33;

5

La Figura 2 es una gráfica que muestra los efectos antitumorales, con base en el cambio en el volumen de tumor, del anticuerpo hGC33 y Sorafenib en un modelo de ratón implantado con células de la estirpe celular de cáncer de hígado humana Huh-7;

10

La Figura 3 es una gráfica que muestra los efectos antitumorales, con base en el cambio en el volumen de tumor, del anticuerpo hGC33 y Sorafenib en un modelo de ratón implantado con células de la estirpe celular de cáncer de hígado humana HepG2; y

15

La Figura 4 es una gráfica que muestra los efectos del anticuerpo hGC33 y Sorafenib sobre la pérdida de peso de un modelo de ratón implantado con células de la estirpe celular de cáncer de hígado humana HepG2, con base en los cambios en el peso del modelo.

20

La Figura 5 es una gráfica que muestra los efectos antitumorales del anticuerpo pH7pL16 y Sorafenib en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado HepG2 como se expresa en el cambio en el volumen de tumor.

25

La Figura 6 es una gráfica que muestra el efecto del anticuerpo pH7pL16 y Sorafenib sobre la pérdida de peso en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado HepG2 como se expresa en el cambio en el peso corporal.

La Figura 7 es una gráfica que muestra los efectos antitumorales del anticuerpo hGC33 y Sunitinib en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado HepG2 como se expresa en el cambio en el volumen de tumor (media $\pm$ DE).

La Figura 8 muestra la secuencia de aminoácido de las regiones variables de cadena H y cadena L de anticuerpos humanizados preferiblemente utilizados en la presente invención.

La Figura 9 muestra la secuencia de aminoácido de los CDR de las regiones variables de cadena H y cadena L de anticuerpos humanizados preferiblemente utilizados en la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

25

La presente invención proporciona una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de hígado que comprende una combinación de un agente quimioterapéutico y un

anticuerpo 3 antiglipicano.

Como se utiliza aquí, la frase "composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de hígado que comprende una
5 combinación de un agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano" se refiere a una composición farmacéutica en la que un agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano se combinan para administración concurrente, separada, o sucesiva en el tratamiento o prevención de cáncer
10 de hígado. La composición farmacéutica de la invención se puede proporcionar en la forma de una preparación de combinación que contiene un agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano. Alternativamente, se puede proporcionar separadamente un fármaco que comprende el agente
15 quimioterapéutico y un fármaco que comprende el anticuerpo 3 antiglipicano, y utilizar concurrentemente, separadamente, o sucesivamente. También es posible proporcionar un equipo compuesto de un fármaco que comprende el agente quimioterapéutico y un fármaco que comprende el anticuerpo 3
20 antiglipicano.

En la composición farmacéutica anterior, cuando se proporcionan el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano en fármacos separados, estos fármacos pueden
25 tener la misma forma de dosificación o formas de dosificación diferentes. Por ejemplo, ambas pueden ser de formas de fármaco mutuamente diferentes seleccionadas de fármacos parenterales, inyecciones, gotas y fluidos intravenosos, o

ambas pueden ser de la misma forma de dosificación seleccionada de fármacos parenterales, inyecciones, gotas y fluidos intravenosos. Adicionalmente, también se puede combinar uno o más de otro tipo de fármaco en la composición
5 farmacéutica anteriormente mencionada.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo 3 antiglipicano como el ingrediente activo para uso en
10 combinación con un agente quimioterapéutico para tratar o prevenir cáncer de hígado. Cuando se utiliza la composición farmacéutica que comprende un anticuerpo 3 antiglipicano como el ingrediente activo en combinación con un agente quimioterapéutico, se puede administrar simultáneamente con
15 el agente quimioterapéutico, o se puede administrar antes de o después del agente quimioterapéutico. Cuando el anticuerpo 3 antiglipicano se administra antes de o después del agente quimioterapéutico, se puede optimizar el periodo de dosificación al medir la concentración residual del agente
20 quimioterapéutico en el sujeto. Se puede determinar la concentración al someter las muestras recolectadas del sujeto a un método de análisis familiar a las personas medianamente versadas en la técnica utilizando un aparato separador tal como cualquiera de los varios tipos de cromatógrafos.

25

En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un fármaco quimioterapéutico como el ingrediente activo para uso en

combinación con un anticuerpo 3 antiglipicano para tratar o prevenir cáncer de hígado. Cuando se utiliza la composición farmacéutica que comprende un agente quimioterapéutico como el ingrediente activo junto con un anticuerpo 3 antiglipicano, se puede administrar simultáneamente con el anticuerpo 3 antiglipicano, o se puede administrar antes de o después del anticuerpo 3 antiglipicano. Cuando se administra el anticuerpo del agente quimioterapéutico antes de o después del anticuerpo 3 antiglipicano, se puede optimizar el periodo de dosificación al medir la concentración residual del anticuerpo 3 antiglipicano en el sujeto. Se puede determinar la concentración al someter las muestras recolectadas del sujeto a una medida inmunológica familiar a las personas medianamente versadas en la técnica, tal como la técnica ELISA descrita adelante.

Agente Quimioterapéutico

El agente quimioterapéutico utilizado en la invención incluye todos los agentes quimioterapéuticos que se utilizan, o que se han sugerido como útiles, en la quimioterapia del cáncer. El fármaco quimioterapéutico se puede inyectar localmente o se puede administrar sistémicamente. Cuando se inyecta localmente el fármaco, se puede realizar la inyección mediante un método conocido por aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, en la embolización arterial transcatéter (TAE), se induce la necrosis selectiva de carcinoma hepatocelular al infundir una mezcla de un medio de

contraste basado en aceite (Lipiodol), un carcinostático y una sustancia que obstruye (Gelfoam) un carcinostático una sustancia de obstrucción (Gelfoam) en la arteria hepática que sirve como la ruta de suministro de nutrientes al tumor y por lo tanto obstruye la arteria nutriente. Por otro lado, en la quimioterapia sistémica, los fármacos tales como fluorouracilo (5-FU), uracilo-tegafur (UFT), mitomicina C (MMC), mitoxantrona (DHAD), adriamicina (ADR) (otro nombre para el cual es doxorubicina (DXR)), epirubicina (EPI) o cisplatina (CDDP), se utilizan solos o en combinación con interferón (IFN). Adicionalmente, los agentes quimioterapéuticos tales como lapatinib que tiene un mecanismo de acción que involucra la inhibición de cinasa también se utiliza preferiblemente como el agente quimioterapéutico en la presente invención. El Sorafenib, que tiene un mecanismo de acción que involucra la inhibición de cinasa, también se utiliza ventajosamente como el agente quimioterapéutico en la presente invención. Independientemente del mecanismo de acción, un agente quimioterapéutico utilizado ventajosamente en la presente invención puede incluir aquellos que provocan efectos colaterales característicos de los agentes quimioterapéuticos cuando se administran a un sujeto que tiene cáncer de hígado, tal como diarrea o estreñimiento, anemia, supresión del sistema inmune (a un grado como para provocar infecciones o septicemia de severidad letal), hemorragia, toxicidad cardiaca, toxicidad hepática, toxicidad renal, falta de apetito y pérdida de peso.

El Sorafenib (4-[4-[[4-cloro-3-

(trifluorometil)fenil]carbamoilamino]fenoxi]-N-metilpiridina-2-carboxamida) es un compuesto de bajo peso molecular, oralmente activo que tiene un peso molecular de 464.7. El tosilato de Sorafenib (BAY 43-9006), la sal tosíllica (toluenosulfónica) del mismo, se ha probado en Europa y los Estados Unidos como un agente terapéutico para uso en quimioterapia sistémica para el cáncer de hígado.

Adicionalmente al Sorafenib, el Sunitinib (SU11248) muestra tener una actividad antitumoral contra hepatocarcinoma en una prueba clínica en pacientes con hepatocarcinoma también se puede emplear como un agente quimioterapéutico en la presente invención. También se pueden utilizar preferiblemente el Sorafenib o Sunitinib como sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Ejemplos adecuados de tales sales incluyen sales ácidas inorgánicas tales como el clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato y fosfato; sales de ácido sulfónico tales como el metanosulfonato, bencenosulfonato y toluenosulfonato; sales de ácido carboxílico tales como el formato, acetato, oxalato, maleato, fumarato, citrato, malato, succinato, malonato, gluconato, mandelato, benzoato, salicilato, fluoroacetato, trifluoroacetato, tartrato, propionato y glutarato; sales de metal alcalino tales como la sal de litio, sal de sodio, sal de potasio, sal de cesio y sal de rubidio; sales de metales alcalinotérreos tales como la sal de magnesio y la sal de calcio; y sales de amonio tales como la sal de amonio, sales de alquilamonio, sales de

dialquilamonio, sales de trialquilamonio y sales de tetraalquilamonio. De estas, se prefiere especialmente el uso de BAY 43-9006, que es la sal tosílica (ácido toluenosulfónico).

5

Se puede emplear preferiblemente ya sea una ruta oral o parenteral de administración en la quimioterapia, aunque se prefiere el uso de la administración oral. La forma de dosificación utilizada para la administración oral se puede

10 seleccionar adecuadamente de cualquier forma de dosificación tal como preparaciones líquidas, polvos, gránulos, comprimidos, preparaciones de recubrimiento entéricas y cápsulas. Se preparan agentes quimioterapéuticos que tienen estas formas de dosificación mediante un método conocido por

15 las personas medianamente versadas en la técnica. Por ejemplo, se puede llevar a cabo la preparación mediante combinación adecuada con un portador o disolvente farmacológicamente adecuado, tal como agua esterilizada o solución salina fisiológica, aceite vegetal, agente

20 emulsificador, agente de suspensión, tensoactivo, estabilizador, fragancia, excipiente, vehículo, conservante y aglutinante, y mezcla íntima y en una forma de dosis unitaria requerida para la práctica farmacéutica generalmente aceptada, seguida por secado por congelamiento, formación de

25 comprimidos y otras operaciones de formación de preparación.

También se puede utilizar el agente quimioterapéutico parenteralmente en la forma de una inyección, tal como una

solución o suspensión estéril en agua o algún otro líquido farmacológicamente aceptable. La cantidad de ingrediente activo en estas preparaciones se selecciona adecuadamente a fin de permitir la administración de una dosis adecuada dentro del rango indicado. Se pueden formular las composiciones estériles para inyección de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional utilizando un vehículo tal como agua destilada para inyección. Las soluciones acuosas de ejemplo para inyección incluyen solución salina fisiológica, y soluciones isotónicas que contienen glucosa y otros adyuvantes, tales como D-sorbitol, D-manosa, D-manitol y cloruro de sodio; se puede hacer uso concomitante de adyuvantes solubles adecuadas, tales como alcoholes (por ejemplo, etanol, polioles tales como propilenglicol y polietilenglicol, y tensoactivos no iónicos tales como Polisorbato 80TM y HCO-50). Ejemplos de líquidos con base en aceite incluyen aceite de sésamo y aceite de soya; se puede hacer uso concomitante de los adyuvantes solubles tales como benzoato de bencilo y alcohol bencílico. Adicionalmente, la formulación adecuada es posible con agentes de amortiguamiento (por ejemplo, amortiguadores de fosfato, amortiguadores de acetato de sodio), agentes calmantes (por ejemplo, clorhidrato de procaína), estabilizadores (por ejemplo, alcohol bencílico, fenol) y antioxidantes.

25

Anticuerpo Terapéutico

Cualquier anticuerpo que se une con las proteínas

expresadas en las células de cáncer de hígado y tiene la capacidad de provocar la citotoxicidad contra tales células se puede utilizar adecuadamente como el anticuerpo terapéutico en la composición farmacéutica de la presente invención. Las proteínas que se prefieren como las moléculas objetivo para el anticuerpo son proteínas que se expresan en la superficie de las células de cáncer de hígado. Desde el punto de vista de lograr efectos de tratamiento de anticuerpo, es preferible que un número mayor de moléculas objetivo se expresan en la superficie celular, aunque tales efectos no son necesariamente dependientes en el número de las moléculas. Es deseable seleccionar como el objetivo una molécula que se expresa específicamente en células de cáncer cuando se comparan con la expresión en células normales. Un ejemplo preferido de tal una proteína es glipicano 3.

El glipicano 3 es uno de la familia de los proteoglicanos de sulfato de heparán presente en las superficies celulares. Se ha sugerido que el glipicano 3 puede participar en la división celular durante el desarrollo y en la proliferación de células de cáncer, aunque todavía no se conoce bien su función. Se ha encontrado que ciertos tipos de anticuerpos que unidos al glipicano 3 exhiben un efecto que suprime el crecimiento celular debido a una citotoxicidad celular dependiente de antígeno (abreviado adelante como "actividad ADCC") y una citotoxicidad celular dependiente de complemento (abreviado adelante como "actividad CDC") (ver la WO 2003/000883). Más aún, se conoce que el anticuerpo GC33

que se une a un epítopo específico exhibe mayores actividades ADCC y CDC contra las células de cáncer de hígado (ver la WO 2006/006693). Preferiblemente, se pueden utilizar anticuerpos anti-glipicano 3 en el fármaco contra el cáncer de hígado de la presente invención. Un ejemplo de tal un anticuerpo 3 antiglipicano preferido es el anticuerpo GC33 (WO 2006/006693). La secuencia de aminoácidos de las regiones variables de las cadenas H y las cadenas L en el anticuerpo GC33, se muestran en la SEQ ID Nos: 1 y 2, respectivamente.

10

Se puede obtener el anticuerpo 3 antiglipicano a partir de un hibridoma basado en un método conocido (ver la WO 2006/006693). Alternativamente, se puede crear el anticuerpo 3 antiglipicano mediante ingeniería genética. Por ejemplo, se puede producir un anticuerpo recombinante utilizando una técnica de recombinación genética que involucra clonar el gen del anticuerpo de un hibridoma, insertando el gen en un vector adecuado, e introduciendo el vector en un anfitrión (por ejemplo, ver Vandamme, A.M. et al.: *Eur. J. Biochem.* 192, 767-75 (1990)). Específicamente, el mRNA que codifica para la región variable (V) del anticuerpo 3 antiglipicano se aísla de un hibridoma que produce el anticuerpo 3 antiglipicano. Se lleva a cabo el aislamiento de mRNA mediante la preparación de las células del hibridoma utilizando un método conocido, tal como ultracentrifugación de guanidina (Chirgwin, J.M. et al.: *Biochemistry* 18, 5294-5299 (1979)) o el método AGPC (Chomczynski, P. et al: *Anal. Biochem.* 162, 156-159 (1987)), seguido por preparación del

25

mARN objetivo utilizando, por ejemplo, un Equipo de Purificación de mARN (disponible de Pharmacia). Alternativamente, el mARN se puede preparar directamente del hibridoma al utilizar un equipo de purificación QuickPrep
5 mARN (Pharmacia).

Utilizando transcriptasa inversa, el cADN para la región V de anticuerpo se sintetiza a partir del mARN así obtenido. Se puede llevar a cabo la síntesis del cADN utilizando, por
10 ejemplo, un Equipo de Síntesis de cADN Monocatenario de Transcriptasa Inversa AMV (disponible de Seikagaku Corporation). Alternativamente, se puede hacer uso preferible de, por ejemplo, el Equipo 5'-Ampli FINDER RACE (Clontech) y el método 5'-RACE (Frohman, M.A. et al.: *Proc. Natl. Acad.*
15 *Sci. USA* 85, 8998-9002 (1988); Belyavsky, A. et al.: *Nucleic Acids Res.* 17, 2919-2932 (1989)) que emplea la reacción de cadena de polimerasa (PCR) para sintetizar y amplificar el cADN. En el curso de tal síntesis de cADN, se introducen los sitios de enzima de restricción adecuados en ambos extremos
20 del cADN, como se describe adelante en detalle. Se confirma la secuencia de cADN resultante, luego el cADN que codifica para la región V del antiglipicano del anticuerpo 3 objetivo se utiliza en un vector de expresión que lleva la región constante (región C) del anticuerpo deseado para ser
25 fusionada en la estructura con el ADN que codifica para la región C.

Para producir el antiglipicano del anticuerpo 3 en la

presente invención, una región que controla la expresión del gen del anticuerpo se integra en el vector de expresión de tal manera que la expresión tiene lugar bajo el control de, por ejemplo, mejoradores y promotores. Luego la célula anfitriona se transforma con el vector de expresión para obtener una célula recombinante que expresa el ADN que codifica el anticuerpo 3 antiglipicano.

Se puede llevar a cabo la expresión de gen de anticuerpo al integrar separadamente el ADN que codifica las cadenas pesadas de anticuerpo (cadenas H) o cadenas ligeras (cadenas L) en los vectores de expresión y cotransformar la célula anfitriona, o al integrar el ADN que codifica para las cadenas H y las cadenas L en un vector de expresión único y transformar la célula anfitriona (ver la WO 1994/011523).

En los casos donde el gen de anticuerpo se aísla y se introduce en un anfitrión adecuado para producir el anticuerpo, se puede utilizar preferiblemente un anfitrión adecuado y combinación de vector de expresión. Cuando se utiliza una célula eucariótica como el anfitrión, se prefiere el uso de una célula animal, célula de planta o célula fúngica. Ejemplos ilustrativos de células de animales incluyen (1) células de mamíferos, tales como CHO, COS, mieloma, riñón de hámster bebe (BHK), Hela y Vero; (2) células de anfibio tales como Ranas con garras Africanas (*Xenopus*) oocitos; y (3) células de insectos, tales como sf9, sf21 y Tn5. Ejemplos ilustrativos de células de plantas

incluyen células derivadas del género *Nicotiana*, tal como de *Nicotiana tabacum*, cuyas células son, por ejemplo, callos cultivados. Ejemplos ilustrativos de células fúngicas incluyen levaduras, tales como aquellas del género *Saccharomyces* (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*); y hongos filamentosos, tales como aquellos del género *Aspergillus* (por ejemplo, *Aspergillus niger*). Cuando se utiliza una célula procariótica, es preferible utilizar un sistema de producción que emplea células bacterianas.

10 Ejemplos ilustrativos de células bacterianas adecuadas incluyen *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*. El vector de expresión que contiene el anticuerpo objetivo se introduce en estas células a través de la transformación y las células transformadas se cultivan in vitro. Se puede obtener el

15 anticuerpo deseado del cultivo celular transformado.

La producción de anticuerpos recombinantes no solo se limita a las células anfitrionas anteriormente descritas, sino que también se utilizan preferiblemente animales transgénicos. Por ejemplo, se puede construir el gen del anticuerpo como un gen fusionado al insertarlo en una estructura en un gen que codifica para una proteína primaria producida en la leche (por ejemplo, β -caseína). Los fragmentos de ADN que contienen el gen fusionado en los que se inserta el gen de anticuerpo se introducen en embriones de

20

25

cabra, y los embriones resultantes se implantan en una cabra hembra. Se pueden obtener los anticuerpos deseados a partir de leche producida por las cabras transgénicas que nacen de

las cabras que reciben los embriones, o de las crías de las cabras transgénicas. Para incrementar la cantidad de leche que contiene el anticuerpo deseado que se produce por las cabras transgénicas, se pueden utilizar de forma adecuada 5 hormonas en las cabras transgénicas (Ebert, K.M., et al.: *Bio/Technology* 12, 699-702 (1994)).

En la presente invención, se pueden utilizar los anticuerpos genéticamente recombinantes que se han modificado 10 artificialmente con el fin de, por ejemplo, disminuir la heteroantigenicidad en humanos, tales como anticuerpos quiméricos y anticuerpos humanizados. Se pueden producir estos anticuerpos modificados utilizando un método conocido. El anticuerpo quimérico es un anticuerpo compuesto de las 15 regiones variables de cadena pesada y de cadena ligera de un anticuerpo de mamífero no humano, tal como un anticuerpo de ratón, y las regiones constantes de cadena pesada y de cadena ligera de un anticuerpo humano. Tal un anticuerpo quimérico se puede obtener al ligar el ADN que codifica para las 20 regiones de variable de un anticuerpo de ratón con ADN que codifica para las regiones constantes de un anticuerpo humano, y que expresa el anticuerpo en un anfitrión adecuado. Un ejemplo preferido de un anticuerpo humanizado es el anticuerpo hGC33 (WO 2006/006693). La secuencia de aminoácido 25 de las regiones variables de cadena H y cadena L del anticuerpo hGC33 se muestran como la SEQ ID Nos: 3 y 4, respectivamente.

La región Cs de anticuerpos humanos se utiliza en las regiones constantes de los anticuerpos quiméricos y los anticuerpos humanizados. Por ejemplo, se pueden utilizar Cy1, Cy2, Cy3 y Cy4 como las cadenas H, y se pueden utilizar Ck y Cλ como las cadenas L. Se conocen las secuencias para estas regiones. Para mejorar el anticuerpo o la estabilidad de producción del mismo, se puede modificar la región Cs del anticuerpo humano.

10 Los anticuerpos quiméricos se componen de regiones V de un anticuerpo de mamífero no humano y región Cs de un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanizados se componen de regiones determinantes de complementariedad (CDR) de un anticuerpo de mamífero no humano, las regiones de estructura (FR) de un anticuerpo humano, y la región Cs de un anticuerpo humano. Debido a que los anticuerpos humanizados tendrán menor antigenicidad en el cuerpo humano, ellos son útiles como un ingrediente activo en el fármaco de la invención.

20 Los anticuerpos humanizados, que son también denominados anticuerpos humanos reformados, se obtiene al, por ejemplo, reemplazar el CDR de un anticuerpo de ratón con el CDR de un anticuerpo humano. Se conocen las técnicas de recombinación genéticas comunes para hacer tal reemplazo. Específicamente, una secuencia de ADN se designa de tal manera que el CDR de un anticuerpo de ratón y el FR de un anticuerpo humano se fusionan dentro de la estructura, y se sintetiza mediante un

método PCR utilizando como los cebadores una pluralidad de oligonucleótidos diseñados de tal manera que tienen porciones de superposición en sus extremos. Se puede producir un anticuerpo humanizado al insertar en un vector de expresión el ADN obtenido como se describió anteriormente y el ADN que se codifica para la región C del anticuerpo humano de tal manera que se fusionan dentro de la estructura, y expresan el ADN resultante en una célula anfitriona adecuada (ver Patente Europea No. 239400 y WO 96/002576).

10

Las regiones FR derivadas del anticuerpo humano utilizadas en la producción del anticuerpo humanizado se seleccionan de tal manera que el CDR formará un buen sitio de unión a antígeno cuando se liga con el FR. La actividad de unión del anticuerpo humanizado así producida para el antígeno se mide cualitativamente o cuantitativamente y se avalúa, y se puede seleccionar de forma adecuada el FR del anticuerpo humano con base en la actividad de unión. Si es necesario, los aminoácidos del FR en la región V del anticuerpo se pueden sustituir de tal manera que el CDR del anticuerpo humano reformado forma un sitio de unión a antígeno. La sustitución de aminoácido mencionada anteriormente se introduce fácilmente mediante un método PCR convencional. Al medir y evaluar la actividad de unión del anticuerpo variante que tiene tal una sustitución de aminoácido, se selecciona una secuencia FR modificada que tiene las calidades deseadas (Sato, K. et al.: *Cancer Res.* 53, 851-856 (1993)).

También se conocen los métodos para obtener anticuerpos humanos. Por ejemplo, se puede obtener un anticuerpo humano deseado que tiene una actividad de unión a antígeno al sensibilizar los linfocitos humanos in vitro con el antígeno deseado o las células que expresan el antígeno deseado, luego fusionar los linfocitos sensibilizados con células de mieloma humanas, tales como U266 (ver Publicación de Patente Japonesa No. H1-59878). Alternativamente, se pueden obtener los anticuerpos humanos deseados al humanizar un animal transgénico que tiene el repertorio completo de los genes de anticuerpo humano con el antígeno deseado (ver Publicaciones Internacionales WO 1993/012227, WO 1992/03918, WO 1994/002602, WO 1994/025585, WO 1996/034096 y WO 1996/033735). Adicionalmente, también se conoce una técnica para obtener anticuerpos humanos al panear contra una colección de anticuerpo humano. Por ejemplo, es posible expresar la región V de un anticuerpo humano como un anticuerpo monocatenario (scFv) en la superficie de los fagos utilizando la técnica de exhibición de fago, y seleccionar los fagos que unen al antígeno. Se puede determinar la secuencia de ADN que se codifica para la región V del anticuerpo humano que se une al antígeno al analizar los genes de los fagos seleccionados. Se determina la secuencia de ADN del scFv que une al antígeno y se fusiona dentro de la estructura con la secuencia para la región C del anticuerpo humano deseado. La proteína fusionada se puede expresar en una célula adecuada para obtener el anticuerpo humano. Tales

métodos ya se conocen en la técnica, y se pueden practicar haciendo referencia a las Publicaciones Internacionales WO 1992/001047, WO 1992/020791, WO 1993/006213, WO 1993/011236, WO 1993/019172, WO 1995/001438 y WO 1995/015388.

5

El gen de anticuerpo construido como se describió anteriormente se puede expresar y aislar mediante métodos conocidos. Cuando se utiliza una célula de mamífero, el gen de anticuerpo se puede expresar al combinar operablemente un
10 promotor comúnmente utilizado, para expresar el gen de anticuerpo y una señal poli A en la dirección 3'. Un ejemplo preferido de un promotor/mejorador es el promotor/mejorador inmediato temprano citomegalovirus humano. Otros
promotores/mejoradores útiles incluyen promotores/mejoradores
15 víricos de retrovirus, poliomavirus, adenovirus y virus de simio 40 (SV40); y promotores/mejoradores derivados de células de mamíferos tales como factor de elongación humano 1 α (HEF1 α).

20 Cuando se utiliza el promotor/mejorador SV40, se puede llevar a cabo fácilmente la expresión de gen mediante el método de Mulligan et al. (*Nature* 277, 108 (1979)). Cuando se utiliza el promotor/mejorador HEF1 α , se puede llevar a cabo fácilmente la expresión de gen mediante el método de
25 Mizushima et al. (*Nucleic Acids Res.* 18, 5322 (1990)).

Cuando se utiliza *E. coli*, se puede expresar el gen de

anticuerpo al combinar operablemente un promotor comúnmente utilizado, la secuencia de señal para la secreción del anticuerpo y el gen de anticuerpo a ser expresado. Los ejemplos preferidos del promotor incluyen el promotor lacZ y el promotor araB. Cuando se utiliza el promotor lacZ, el gen se expresa mediante el método de Ward et al. (*Nature* 341, 544-546 (1989); *FASEBJ.* 6, 2422-2427 (1992)). Cuando se utiliza el promotor araB, el gen se expresa mediante el método de Better et al. (*Science* 240, 1041-1043 (1988)).

10

Cuando se produce el anticuerpo en el de *E. coli*, la secuencia de señal pelB (Lei, S.P. et al.: *J. Bacteriol.* 169, 4379 (1987)) se puede utilizar como la secuencia de señal para la secreción del anticuerpo. Después de que ha aislado el anticuerpo producido en el periplasma, la estructura del anticuerpo se puede remodelar utilizando una proteína desnaturizada tal como urea o clorhidrato de guanidina de tal manera que el anticuerpo tiene la actividad de unión deseada.

20

El origen de la replicación a ser insertada en el vector de expresión se selecciona preferiblemente de, por ejemplo, SV40, poliomavirus, adenovirus y virus de papiloma bovino (BPV). También, para amplificar el número de copias de gen en el sistema de célula anfitriona, un gen de aminoglicosida transferasa (APH), un gen de timidina cinasa (TK), un gen xantina guanina fosforibosil transferasa de *Escherichia coli* (Ecogpt) o un gen de dihidrofolato reductasa (dhfr) se pueden

insertar preferiblemente como un marcador de selección en el vector de expresión.

Para producir el anticuerpo de la presente invención, se
5 puede utilizar cualquier sistema de expresión, tal como una
célula eucariótica o una célula procariótica. Los ejemplos
preferidos de células eucarióticas incluyen células de
animales tales como estirpes celulares de mamífero
establecidas y estirpes celulares de insecto, así como
10 también células fúngicas filamentosas y células de levadura.
Los ejemplos preferidos de células procarióticas incluyen
células bacterianas tales como células de *E. coli*. El
anticuerpo utilizado en la presente invención se expresa
preferiblemente utilizando células de mamíferos, tales como
15 células CHO, COS, mieloma, BHK, Vero o Hela.

Luego, se cultiva la célula anfitriona transformada in
vitro o in vivo para producir el anticuerpo objetivo. Se
lleva a cabo el cultivo de la célula anfitriona de acuerdo
20 con un método conocido, utilizando como el medio de cultivo,
por ejemplo, DMEM, MEM, RPMI1640 o IMDM. Un complemento de
suero tal como suero de becerro fetal (FCS) se puede utilizar
junto con el medio de cultivo.

25 El anticuerpo expresado y producido como se describió
anteriormente se puede purificar al utilizar uno o una
combinación de métodos conocidos empleados convencionalmente
en la purificación de proteínas. Por ejemplo, el anticuerpo

se puede aislar y purificar al seleccionar y combinar adecuadamente una columna de afinidad tal como una columna de proteína A, una columna de cromatografía, filtración, ultrafiltración, remoción de sales, diálisis y similares

5 (Anticuerpos: A Laboratory Manual; Ed Harlow, David Lane (Cold Spring Harbor Laboratory, 1988)).

Los anticuerpos que tienen cadenas de azúcar modificadas también se pueden utilizar preferiblemente en la invención.

10 Se sabe que la actividad ADCC de un anticuerpo se puede mejorar al modificar la cadena de azúcar del anticuerpo, que se describirá adelante en detalle. En los casos donde la expresión en las células de cáncer de hígado del antígeno al que el anticuerpo se une no es lo bastante alto para permitir

15 la actividad ADCC a ser exhibida fuertemente, se utiliza ventajosamente un anticuerpo que tiene cadena de azúcar modificada. Los anticuerpos conocidos en los que se ha modificado la cadena de azúcar incluyen, por ejemplo, anticuerpos con glucosilación modificada (por ejemplo, WO

20 1999/54342), anticuerpos deficientes en la mucosa agregada a la cadena de azúcar (por ejemplo, WO 2000/061739, WO 2002/031140), y anticuerpos que tienen una cadena de azúcar con un GlcNAc de bisectriz (por ejemplo, WO 2002/079255).

25 La unión de un anticuerpo a su objetivo (es decir, antígeno) se puede valorar de forma adecuada al utilizar un método conocido. Específicamente, se puede medir la actividad de unión de un anticuerpo a las células que expresan el

antígeno mediante las técnicas descritas en las páginas 359 a 420 de *Antibodies: A Laboratory Manual*, Ed Harlow y David Lane (Cold Spring Harbor Laboratory, 1988) con base en ELISA y FACS (clasificación de células activadas por fluorescencia) utilizando las células como el antígeno. En el formato ELISA, se determina cuantitativamente la actividad de unión del anticuerpo a la célula al comparar los niveles de señal generados por una reacción de enzima. Específicamente, el anticuerpo que se prueba se agrega a una placa ELISA en el que se han inmovilizado las células que expresan el antígeno, y se detecta la unión del anticuerpo a las células al utilizar un anticuerpo secundario etiquetado con enzima capaz de reconocer el anticuerpo de prueba. Alternativamente, la actividad de unión de un anticuerpo a las células se puede comparar en FACS donde se prepara una serie de dilución del anticuerpo de prueba y se determina el título de la unión de anticuerpo a las células que expresan antígenos.

En un formato FACS, la unión entre un anticuerpo y un antígeno expresada en la superficie de las células se mide en una suspensión, en lugar de utilizar células unidas a un portador tal como una placa ELISA. Los citómetros de flujo empleados en el formato FACS incluyen FACSCanto™ II, FACS Aria™, FACSArray™, FACSVantage™ SE y FACSCalibur™ (todos disponibles de BD Biosciences); así como también EPICS ALTRA HyPerSort, Cytomics FC 500, EPICS XL-MCL ADC, EPICS XL ADC y Cell Lab Quanta/Cell Lab Quanta SC (todos disponible de Beckman Coulter).

En un método preferido para medir la actividad de unión de un anticuerpo de prueba a un antígeno, se hace reaccionar un anticuerpo de prueba con células que expresan antígeno, teñidas con un anticuerpo secundario etiquetado FITC capaz de reconocer el anticuerpo de prueba, y luego se mide la actividad de unión con FACSCalibur (BD) y se analiza la intensidad fluorescente utilizando Software CELL QUEST (BD). Este método permite la actividad de unión del anticuerpo de prueba a ser evaluado al comparar el valor Promedio Geométrico obtenido utilizando el anticuerpo de prueba (valor Geo-Medio de prueba) con un Valor de Geo-Medio de control obtenido utilizando un anticuerpo de control. Se describe la fórmula para calcular el valor Geo-Medio (media geométrica) en la Guía del Usuario del Software CELL QUEST (BD Biosciences).

Un anticuerpo capaz de unir al epítopo al que el anticuerpo GC33 es capaz de unir se utiliza ventajosamente como el anticuerpo en la presente invención. Se puede probar la capacidad de unión del anticuerpo de la invención al epítopo mediante la técnica FACS o ELISA mencionada anteriormente. Para probar si el anticuerpo de prueba une al mismo epítopo como el epítopo al cual el anticuerpo GC33 une, es decir, si comparte un epítopo con el anticuerpo GC33, se puede ensayar la competencia entre los dos anticuerpos para el mismo epítopo. En la presente invención, se puede determinar la competencia entre los anticuerpos mediante, por

ejemplo, FACS o un ensayo de bloqueo cruzado. En el FACS, primero el anticuerpo GC33 se une a células que expresan GPC3 y se mide la señal de fluorescencia. Luego, se hace reaccionar el anticuerpo competitivo candidato, en seguida se
5 hace reaccionar el anticuerpo GC33 con las mismas células, y se analiza de forma similar la señal mediante FACS. Alternativamente, el anticuerpo GC33 y el anticuerpo competitivo que se prueba se puede hacer reaccionar concurrentemente con las mismas células. Si el patrón de
10 análisis FACS para el anticuerpo GC33 cambia en la presencia del anticuerpo competitivo, se dice que el anticuerpo competitivo reconoce el mismo epítipo como el anticuerpo GC33. Un ensayo de bloqueo cruzado se puede llevar a cabo de acuerdo con el método específicamente descrito aquí o el
15 método conocido en la técnica como se describe en, por ejemplo, "Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed. Harlow and David Lane (1988).

Por ejemplo, el ensayo ELISA competitivo es un ensayo de
20 bloqueo cruzado preferido. En un ensayo de bloqueo cruzado, las células que expresan la proteína GPC3 se inmovilizan en pozos de microplacas, preincubados en la presencia o ausencia del anticuerpo competitivo candidato, luego se agrega el anticuerpo GC33 a los pozos. La cantidad de anticuerpo GC33
25 que se une a las células que expresan la proteína GPC3 en los pozos se correlaciona inversamente con la capacidad de unión del anticuerpo competitivo candidato (anticuerpo de prueba) que compite para unirse con el mismo epítipo. Esto es, a mayor

afinidad del anticuerpo de prueba con el mismo epítopo, menor cantidad de anticuerpo GC33 que se une a los pozos donde se inmovilizan las células que expresan la proteína GPC3. O, por el contrario, a mayor afinidad del anticuerpo de prueba al mismo epítopo, mayor la cantidad del anticuerpo de prueba que se une a los pozos donde se inmovilizan las células que expresan la proteína GPC3.

Se puede medir fácilmente la cantidad de anticuerpo que se une a los pozos al etiquetar previamente el anticuerpo. Por ejemplo, se puede medir el anticuerpo etiquetado con biotina al utilizar un conjugado de peroxidasa avidina y un sustrato adecuado. En particular, los ensayos de bloqueo cruzado que utilizan enzimas etiquetadas con peroxidasa similares se denominan como "ensayos ELISA competitivos." El anticuerpo se puede etiquetar adecuadamente con otra sustancia etiquetada que se pueda detectar o medir, por ejemplo, radioetiquetada y etiquetada fluorescente.

Adicionalmente, en los casos donde el anticuerpo de prueba tiene una región constante que se origina de una especie diferente que el anticuerpo GC33, se puede medir un anticuerpo que se une a los pozos utilizando un anticuerpo etiquetado que reconoce específicamente la región constante que se origina desde esa especie. Cuando el anticuerpo es uno que se origina desde la misma especie pero de una clase diferente, se puede medir de forma ventajosa el anticuerpo que se une a los pozos por medio de anticuerpos que

distinguen específicamente las clases respectivas.

Cuando se compara con la actividad de unión obtenida en una prueba de control que se lleva a cabo en la ausencia del anticuerpo competitivo candidato, cuando el anticuerpo candidato es capaz de bloquear por lo menos 20%, preferiblemente por lo menos 20 a 50%, y más preferiblemente por lo menos 50%, de unión mediante el anticuerpo GC33, el anticuerpo competitivo candidato es un anticuerpo que se une a sustancialmente el mismo epítipo como el anticuerpo GC33 o compete para unirse al mismo epítipo.

Un anticuerpo que se une a sustancialmente el mismo epítipo o compete con la unión en el mismo epítipo como el anticuerpo GC33 se puede seleccionar convencionalmente mediante el ensayo de bloqueo cruzado como se describió anteriormente o mediante cualesquier otros métodos. Ejemplos preferidos pueden incluir, pero no limitarse a:

un anticuerpo que comprende la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de: el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5, el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de: el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23, el CDR2 que comprende la secuencia de

aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25;

- 5 un anticuerpo que comprende la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de: el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5, el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de: el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28, el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25; y

- un anticuerpo que comprende la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de: el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5, el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de: el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32, el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25. Las Figuras 8 y 9 muestran la secuencia de aminoácido de las regiones variables de cadena H

y cadena L y los CDR de los anticuerpos humanizados de ejemplo que se pueden utilizar preferiblemente en la presente invención.

5 El anticuerpo utilizado en la presente invención tiene citotoxicidad. Como se utiliza aquí, "citotoxicidad" significa que el anticuerpo tiene una actividad que origina
daño a las células objetivo que expresan el correspondiente
antígeno. Cuando el complejo anticuerpo- antígeno no se
10 internaliza dentro de la célula debido a la naturaleza del antígeno, los ejemplos preferidos de la citotoxicidad exhibida por el anticuerpo incluyen citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo ("actividad ADCC") y citotoxicidad dependiente de complemento ("actividad CDC"). Por otra parte,
15 cuando el complejo anticuerpo-antígeno se internaliza dentro de la célula debido a la naturaleza del antígeno, se puede utilizar preferiblemente un anticuerpo conjugado compuesto de un anticuerpo y un agente quimioterapéutico, un radioisótopo o una sustancia tóxica adherida al anticuerpo. En tal un
20 caso, la citotoxicidad del anticuerpo se deriva de la citotoxicidad exhibida por el agente quimioterapéutico, el radioisótopo o la sustancia tóxica adherida al anticuerpo conjugado.

25 Se pueden utilizar de forma adecuada métodos conocidos para medir si el anticuerpo utilizado en la invención exhibe una actividad ADCC y si exhibe una actividad CDC (por ejemplo, *Current Protocols in Immunology*, Chapter 7:

Immunologic studies in humans; ed., John E. Coligan et al.
(John Wiley & Sons, Inc.; 1993)).

Primero, se lleva a cabo la preparación de las células
5 efectoras, solución de complemento y células objetivo de
acuerdo con los siguientes procedimientos.

(1) Preparación de Células Efectoras

10 Se remueve el bazo de ratones CBA/N, y se aíslan células
de bazo are en un medio RPMI1640 (Invitrogen). Se pueden
preparar las células efectoras al enjuagar las células de
bazo aisladas en el mismo medio que contiene 10% de suero
bovino fetal (FBS; HyClone), y al ajustar la concentración
15 celular a 5×10^6 /mL.

(2) Preparación de Solución de Complemento

Se puede preparar una solución de complemento mediante
20 10 veces la dilución de Complemento de Conejo Bebé
(CEDARLANE) con un 10% de medio que contiene FBS
(Invitrogen).

(3) Preparación de Células Objetivo

25

Se incuban células que expresan antígeno durante 1 hora
a 37° C en 0.2 mCi de cromato de sodio ^{51}Cr (GE Healthcare
Bio-Science) y 10% de medio DMEM que contiene FBS para

radioetiquetar las células objetivo. Los ejemplos preferidos de células que expresan antígeno que se pueden utilizar en la invención incluyen células transformadas mediante un gen que se codifica para el antígeno, células de carcinoma hepatocelular primario y células de carcinoma hepatocelular metastásico. Después de que se radioetiquetan, las células se enjuagan tres veces con un 10% medio RPMI1640 que contiene FBS y se ajusta la concentración celular a 2×10^5 células/mL para preparar las células objetivo.

10

Se puede medir la actividad ADCC y la actividad CDC mediante los métodos descritos adelante. A la hora de medir la actividad ADCC, las células objetivo y el anticuerpo de acuerdo con la invención se agregan a una placa de fondo en U de 96 pozos (Becton Dickinson) en una cantidad de 50 μ L por cada pozo, luego se hace reaccionar durante 15 minutos en hielo. Después, 100 μ L de células efectoras se agregan al pozo. La placa se incuba durante 4 horas en una incubadora de dióxido de carbono. La concentración final del anticuerpo se establece a 0 o 10 μ g/mL, aunque la concentración se ajusta adecuadamente con base en la actividad del anticuerpo. Luego de la incubación, se remueve 100 μ L de sobrenadante por pozo, y se mide la radioactividad con un contador gama (COBRAII AUTO-GAMMA, Modelo D5005; Packard Instrument Company). Se pueden utilizar los valores de radioactividad obtenidos para calcular la citotoxicidad (%) de acuerdo con la fórmula $(A - C) / (B - C) \times 100$

en donde A representa la radioactividad (cpm) de la muestra, B representa la radioactividad (cpm) de una muestra a la que se ha agregado 1% de NP-40 (Nakalai Tesque), y C representa la radioactividad (cpm) de una muestra que solo contiene las
5 células objetivo .

A la hora de medir la actividad CDC, las células objetivo y el anticuerpo de acuerdo con la invención se agregan a una placa de fondo plano de 96 pozos (Becton
10 Dickinson) en cantidades de 50 μ L por cada pozo, luego se hace reaccionar durante 15 minutos en hielo. Después, 100 μ L de la solución de complemento se agrega al pozo. La placa se incuba durante 4 horas en una incubadora de dióxido de carbono. La concentración final del anticuerpo se establece a
15 0 o 3 μ g/mL, aunque la concentración se ajusta adecuadamente con base en la actividad del anticuerpo. Luego de la incubación, se remueve 100 μ L del sobrenadante por pozo y se mide la radioactividad con un contador gama. La citotoxicidad se puede calcular en la misma forma como en el método
20 utilizado para medir la actividad ADCC.

La citotoxicidad exhibida por el anticuerpo conjugado se puede evaluar preferiblemente al medir la citotoxicidad exhibida por el agente quimioterapéutico, el radioisótopo o
25 la sustancia tóxica adherida al anticuerpo conjugado. A la hora de medir la citotoxicidad exhibida por el agente quimioterapéutico, radioisótopo o sustancia tóxica adherida al anticuerpo conjugado, la célula objetivo y el anticuerpo

conjugado de acuerdo con la invención se agregan a una placa de fondo plano de 96 pozos (Becton Dickinson) en una cantidad de 50 µL por cada pozo, y se hace reaccionar durante 15 minutos en hielo. Después, la placa se incuba durante un periodo de 1 a 4 horas en una incubadora de dióxido de carbono. La concentración final del anticuerpo se establece a 0 o 3 µg/mL, aunque la concentración se ajusta adecuadamente con base en la actividad del anticuerpo conjugado. Luego de la incubación, se remueve 100 µL de sobrenadante por pozo, y se mide la radioactividad con un contador gama. La citotoxicidad se puede calcular en la misma forma como en el método utilizado para medir la actividad ADCC.

Ejemplos ilustrativos de agentes quimioterapéuticos que se pueden conjugar con el anticuerpo de la invención y tienen un efecto citotóxico incluyen: azaribina, anastrozol, azacitidina, bleomicina, bortezomib, briostatina-1, busulfan, camptotecina, 10-hidroxycamptotecina, carmustina, celebrex, clorambucilo, cisplatina, irinotecan, carboplatina, cladribina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, docetaxel, dactinomicina, daunomicina glucorónido, daunorubicina, dexametasona, dietilstilbestrol, doxorubicina, doxorubicina glucorónido, epirubicina, etinil estradiol, estramustina, etoposida, etoposida glucorónido, floxuridina, fludarabina, flutamida, fluorouracilo, fluoximesterona, gemcitabina, caproato de hidroxiprogesterona, hidroxiurea, idarubicinae, ifosfamida, leucovorina, lomustina, mecloretamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de

megestrol, melfalan, mercaptopurina, metotrexato,
mitoxantrona, mitramicina, mitomicina, mitotano,
fenilbutirato, prednisona, procarbazona, paclitaxel,
pentostatina, semustina, estreptozocina, tamoxifén, taxanos,
5 taxol, testosterone propionato, thalidomide, thioguanina,
thiotepa, teniposide, topotecan, mostaza uracilo,
vinblastina, vinorelbina y vincristina.

En la presente invención, los agentes quimioterapéuticos
10 preferidos son los agentes quimioterapéuticos de bajo peso
molecular. Los agentes quimioterapéuticos de bajo peso
molecular aún tienen una baja probabilidad de interferir la
función del anticuerpo después de la conjugación con el
anticuerpo. En la presente invención, el agente
15 quimioterapéutico de bajo peso molecular típicamente tiene un
peso molecular de 100 a 2,000, y preferiblemente de 200 a
1,000. Los agentes quimioterapéuticos mencionados
anteriormente son todos agentes quimioterapéuticos de bajo
peso molecular. Los agentes quimioterapéuticos utilizados en
20 la presente invención incluyen profármacos que se convierten
en el cuerpo en agentes quimioterapéuticos activos. Se puede
activar preferiblemente los profármacos mediante conversión
enzimática o mediante conversión no enzimática.

25 También, el anticuerpo se puede modificar
preferiblemente utilizando péptidos tóxicos tales como
ricina, abrina, ribonucleasa, onconasa, DNasa I,
enterotoxina-A de estafilococos, proteína antivírica de

hierba carmín, gelonina, difteria toxina, exotoxina Pseudomonas, endotoxina Pseudomonas, L-asparaginasa y L-asparaginasa PEG. En otro aspecto, uno o dos o más agentes quimioterapéuticos de bajo peso molecular y se puede combinar
5 un péptido tóxico se puede combinar y utilizar para modificar el anticuerpo. El anticuerpo de la invención se puede conjugar con el agente quimioterapéutico mencionado anteriormente de bajo peso molecular a través de un enlace covalente o un enlace no covalente. Los métodos para producir
10 los anticuerpos conjugados con un agente quimioterapéutico se conocen en la técnica.

Adicionalmente, se puede conjugar preferiblemente un fármaco proteínáceo o toxina con el anticuerpo mediante una
15 técnica de ingeniería genética. Específicamente, al fusionar ADN que se codifica para el péptido tóxico anterior con ADN que se codifica para el anticuerpo de la invención y que expresa el ADN fusionado en una célula anfitriona adecuada. El anticuerpo conjugado con un péptido tóxico se puede
20 obtener preferiblemente como una proteína fusionada. Una proteína fusionada con el anticuerpo se diseña generalmente de tal manera que el fármaco proteínáceo o toxina se dispone en el lado del terminal C del anticuerpo. Un ligador de péptido se puede insertar preferiblemente entre el anticuerpo
25 y el fármaco proteínáceo o toxina.

Composición Farmacéutica

La presente invención proporciona una composición farmacéutica para tratar efectivamente o prevenir cáncer de hígado que comprende una combinación de un agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano, así como
5 también un método efectivo para tratar cáncer de hígado utilizando la composición farmacéutica. En otro aspecto, la invención proporciona un método para utilizar un anticuerpo 3 antiglipicano para mejorar los efectos terapéuticos de un agente quimioterapéutico en el tratamiento de un paciente con
10 cáncer de hígado con el agente quimioterapéutico, y para reducir los efectos colaterales originados por el agente quimioterapéutico. Como se utiliza aquí, la frase "mejorar los efectos terapéuticos" significa que se mejora el índice de respuesta, se reduce la cantidad de agente
15 quimioterapéutico administrado para el tratamiento, y/o se acorta el periodo de tratamiento con el agente quimioterapéutico. En todavía otro aspecto, la invención proporciona un método para utilizar un anticuerpo 3 antiglipicano para preparar una composición farmacéutica para
20 tratar o prevenir cáncer de hígado, cuya composición comprende un agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano como ingredientes activos. Adicionalmente, la invención proporciona un método de tratamiento o prevención para los pacientes con cáncer de hígado utilizando un agente
25 quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano.

En la presente invención, la frase "comprende un agente quimioterapéutico y/o un anticuerpo 3 antiglipicano como un

ingrediente activo" significa que comprende un agente quimioterapéutico y/o un anticuerpo 3 antiglipicano como el ingrediente activo principal, aunque el contenido del agente quimioterapéutico y/o el anticuerpo 3 antiglipicano no se limita particularmente. El término "tratamiento" significa que, al administrar la composición farmacéutica de la invención a un sujeto, se destruyen las células de cáncer de hígado o se reduce el número de tales células, se suprime el crecimiento de las células de cáncer de hígado, o se mejoran los varios síntomas originados por el cáncer de hígado. El término "prevención" significa prevenir un incremento en el número de células de cáncer de hígado debido al recrecimiento o prevenir re recrecimiento de las células de cáncer de hígado de las que se ha suprimido el crecimiento.

15

El anticuerpo terapéutico de la invención se puede administrar oralmente o parenteralmente. Se prefiere especialmente una administración parenteral. Ejemplos ilustrativos de tales métodos de administración incluyen administración por inyección, administración nasal, administración pulmonar y administración percutánea. Ejemplos de administración por inyección incluyen inyección intravenosa, inyección intramuscular, administración intraperitoneal e inyección hipodérmica, en donde el anticuerpo terapéutico de la invención se puede administrar sistémicamente o localmente. El método de administración se puede seleccionar de forma adecuada de acuerdo con la edad y los síntomas particulares del paciente. La dosis se puede

seleccionar de un rango de 0.0001 mg a 1,000 mg por kilogramo de peso corporal por unidad de dosis. Alternativamente, la dosis se puede seleccionar de un rango de 0.001 a 100,000 mg/peso por paciente. Sin embargo, la dosis del anticuerpo
5 terapéutico de la invención no se limita a aquellas mencionadas anteriormente.

El uso combinado del agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano en la invención significa que el
10 agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano se administran o utilizan juntos (indicado colectivamente adelante como simplemente "administrado"); y no se interpreta como limitante del fin de la administración, el intervalo de dosificación y similares. También, se pueden utilizar el
15 agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano de la invención como un equipo que contiene ambos ingredientes. De acuerdo con la invención, se puede utilizar el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano en combinación, si se desea, a menores dosis que cada dosis
20 utilizada sola.

El orden de la administración del agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano de la invención puede incluir: primero administrar el anticuerpo 3
25 antiglipicano luego administrar el agente quimioterapéutico; administrar el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano simultáneamente; o primero administrar el agente quimioterapéutico luego administrar el anticuerpo 3

antiglipicano.

En los casos donde el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano de la invención se administran
5 separadamente, el intervalo de dosificación del agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano se puede seleccionar tomando en consideración aquellos factores que incluyen la ruta de administración y la forma de dosificación. Por ejemplo, el intervalo de dosificación es
10 típicamente de 0 a 168 horas, preferiblemente de 0 a 72 horas, más preferiblemente de 0 a 24 horas, y aún más preferiblemente de 0 a 12 horas. Además de los factores tales como la ruta de administración y la forma de dosificación, las concentraciones residuales en el sujeto del agente
15 quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano de la invención también se pueden tomar en cuenta. En los casos donde el agente quimioterapéutico se administra antes de la administración del anticuerpo 3 antiglipicano, el anticuerpo 3 antiglipicano se puede administrar mientras que la
20 concentración residual del agente quimioterapéutico en el sujeto es suficiente para obtener el efecto deseado del anticuerpo 3 antiglipicano. Se puede determinar la concentración al recolectar una muestra del sujeto y analizar la muestra mediante cualesquier métodos familiares para las
25 personas medianamente versadas en la técnica utilizando un aparato separador tales como cualesquier tipos de cromatógrafos.

Por el contrario, en los casos donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra antes de la administración del agente quimioterapéutico, el agente quimioterapéutico se puede administrar mientras que la concentración residual del anticuerpo 3 antiglipicano en el sujeto es suficiente para obtener el efecto deseado del agente quimioterapéutico. Se puede determinar la concentración al recolectar una muestra del sujeto y analizar la muestra mediante una medida inmunológica familiar para las personas medianamente versadas en la técnica, tal como la técnica ELISA descrita adelante.

El anticuerpo terapéutico de la invención se puede formular de acuerdo con un método convencional (ver, por ejemplo, la última edición de *Remington's Pharmaceutical Science* (Mack Publishing Company, Easton, USA), que puede también comprender un portador y aditivo farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de aditivos que se pueden utilizar incluyen pero no se limitan a, tensoactivos, excipientes, colorantes, fragancias, conservantes, estabilizadores, amortiguadores, suspensiones, agentes de tonicidad, aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, mejoradores de flujo y saborizantes. Adicionalmente, se puede utilizar de forma adecuada los portadores convencionales. Ejemplos ilustrativos de tales portadores incluyen sílice precipitada, lactosa, celulosa cristalina, manitol, almidón, carmelosa de calcio, carmelosa de sodio, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, polivinil acetal dietilaminoacetato, povidona, gelatina, triglicéridos de

ácido grado de cadena media, aceite de ricino endurecido con polioxietileno 60, azúcar blanco, carboximetilcelulosa, almidón de maíz y sales inorgánicas.

5 Los contenidos completos de todas las patentes y referencias citadas en la especificación se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

10 La presente invención se describe en detalle en los siguientes ejemplos, que son solo ilustrativos y no se construyen como limitantes de la invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

15

Efectos del uso combinado de anticuerpo 3 antiglipicano y agente quimioterapéutico (mitoxantrona o clorhidrato de doxorubicina) en modelos de ratón implantados con estirpe celular de cáncer de hígado humano que expresa glipicano 3

20

(1) Estirpe celular

25 Las células HuH-7 (Human Science Research Resource Bank) y células HepG2 (ATCC) se utilizan como las estirpes celulares de cáncer de hígado humano que expresa glipicano 3. Se mantienen las células HuH-7 y se subcultivan en Medio Eagle Modificado de Dulbecco (SIGMA) que contiene 10% de FBS (BIONET), y se mantienen las células HepG2 y se subcultivan

en Medio Eagle Esencial Mínimo (SIGMA) que contiene 10% de FBS, 1 mmol/L de Piruvato de Sodio MEM (Invitrogen) y 1 mmol/L de Aminoácido No Esencial MEM (Invitrogen).

5 (2) Preparación de Modelos de Ratón Implantado con Células Humanas de Cáncer de Hígado

Cada tipo de célula se prepara en un cantador celular de 5×10^7 células por milímetro de una solución que contiene
 10 cantidades iguales del medio de subcultivo y Matriz MATRIGEL (BD Science). Luego, 100 μ L (es decir, 5×10^6 células por ratón) de la suspensión celular se implantan en la región abdominal de los ratones SCID (machos de 5 semanas de edad; CLEA Japón, Inc.) que, en el día anterior a la implantación
 15 celular, se han administrado intraperitonealmente con 100 μ L de anticuerpo anti-asialo GM1 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.; disuelto en 5 mL de fluido dentro de un frasco). Se considera que los modelos se han establecido cuando, en el cálculo del volumen de tumor con la siguiente fórmula, el
 20 volumen promedio de tumor llega a estar entre 237 y 298 mm³:

$$\text{volumen de tumor} = \text{eje mayor} \times \text{eje menor} \times \text{eje menor} / 2$$

(3) Preparación de Anticuerpo y Agente Quimioterapéutico

25

El anticuerpo monoclonal glipicano 3 anti-humano de ratón (nombre del clon: GC33; descrito en la WO 2006/006693)

se prepara a una concentración de 0.5 mg/mL (5 mg/kg por grupo) y 0.1 mg/mL (1 mg/kg por grupo) utilizando PBS(-). El clorhidrato de doxorubicina (Inyección de Adriacina, disponible de Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.) se disuelve a una
5 concentración de 10 mg/mL en agua destilada para inyección (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.), luego se diluye a una concentración de 0.5 mg/mL utilizando PBS(-). El clorhidrato de mitoxantrona (Inyección de Novantrona; disponible de Wyeth) se disuelve en 10 mg/mL en solución salina fisiológica
10 (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.), luego se diluye a una concentración de 0.1 mg/mL using PBS(-).

(4) Administración de Agente Quimioterapéutico

15 En el modelo de ratón implantado con cáncer de hígado humano creado en (2) anteriormente, 10 mL/kg de dosis de la muestra de anticuerpo preparada en (3) anteriormente se administran a través de la vena caudal una vez por semana durante un periodo de tres semanas partiendo en el día 11
20 luego de implante para el modelo de xenoinjerto de célula HuH-7, y partiendo en el día 20 luego de implante para el modelo de xenoinjerto de célula HepG2. Como un control negativo, 10 mL/kg de dosis de PBS(-) (vehículo) esterilizado por filtración se administran similarmente una vez por semana
25 durante un periodo de tres semanas a través de la vena caudal. El modelo de xenoinjerto de célula HuH-7 recibe una única dosis de 10 mL/kg, en el día 10 luego de implante, del clorhidrato de doxorubicina (DOX) preparado en (3)

anteriormente o PBS(-) como un control negativo, con cada dosis que se administra a través de la vena caudal. El modelo de xenoinjerto de célula HepG2 recibe una única dosis de 10 mL/kg por semana durante un periodo de tres semanas, 5 partiendo en el día 20 luego de implante, del clorhidrato de mitoxantrona (MX) preparado en (3) anteriormente o PBS(-) como un control negativo, con cada dosis que se administra a través de la vena caudal. Cada grupo se compone de 6 animales. Los detalles concernientes a la administración de 10 los agentes quimioterapéuticos se muestran en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1: Modelo de Xenoinjerto HuH-7

Grupo	Número de animales	Fármaco	Dosis (mg/kg)	Método de administración	Días de administración
1	6	PBS (-)	--	vena caudal	días 10, 17, 24 después de implante
		PBS (-)	--	vena caudal	día 10 después de implante
2	6	GC33	5	vena caudal	días 10, 17, 24 después de implante
		PBS (-)	--	vena caudal	día 10 después de implante
3	6	PBS (-)	--	vena caudal	días 10, 17, 24 después de implante
		DOX	5	vena caudal	día 10 después de implante
4	6	GC33	5	vena caudal	días 10, 17, 24 después de implante
		DOX	5	vena caudal	día 10 después de implante

Tabla 2: Modelo de Xenoinjerto HepG2

Grupo	Número de animales	Fármaco	Dosis (mg/kg)	Método de administración	Días de administración
1	6	PBS(-)	--	vena caudal	días 20, 27, 34 después de implante
		PBS(-)	--	vena caudal	días 20, 27, 34 después de implante
2	6	GC33	1	vena caudal	días 20, 27, 34 después de implante
		PBS(-)	--	vena caudal	días 20, 27, 34 después de implante
3	6	PBS(-)	--	vena caudal	días 20, 27, 34 después de implante
		MX	1	vena caudal	días 20, 27, 34 después de implante
4	6	GC33	1	vena caudal	días 20, 27, 34 después de implante
		MX	1	vena caudal	días 20, 27, 34 después de implante

(5) Evaluación del Efecto Antitumoral

5

Los efectos antitumorales de la combinación del anticuerpo GC33 y un agente quimioterapéutico en modelos de ratón con implante de cáncer de hígado humano se evalúan con base en el volumen de tumor una semana después de la administración final. Se lleva a cabo análisis estadístico mediante la prueba t utilizando el volumen de los tumores en el final día final de la medida. El Empaque Preclínico SAS (SAS Institute, Inc.) se utiliza para análisis estadístico.

Los resultados se muestran en la Figura 1.

La Figura 1A es una gráfica que muestra el cambio en el volumen de tumor cuando se administran el anticuerpo GC33 y la doxorubicina (DOX) juntos en un modelo de ratón implantado con las células de la estirpe celular de cáncer de hígado humana HuH-7. Los diamantes indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado con el vehículo. Los círculos indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado solo con el anticuerpo GC33. Los triángulos indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado solo con doxorubicina (DOX). Los asteriscos indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo en el que se administran juntos el anticuerpo GC33 y la doxorubicina (DOX). La Figura 1B es una gráfica que muestra el cambio en el volumen de tumor cuando se administran juntos el anticuerpo GC33 y la mitoxantrona (MX) en un modelo de ratón implantado con la estirpe celular HepG2. Los diamantes indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado con el vehículo. Los círculos indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado solo con el anticuerpo GC33. Los triángulos indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado solo con mitoxantrona (MX). Los asteriscos indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo en el que se administran juntos el anticuerpo GC33 y la mitoxantrona (MX).

Como es evidente a partir de la Figura 1, comparada con

el crecimiento de tumor en el grupo administrado con solo GC33, se suprime significativamente el crecimiento de tumor en los grupos administrados con una combinación de GC33 y doxorubicina (DOX, Figura 1A) o mitoxantrona (MX, Figura 1B).

5

Ejemplo 2

Efectos del uso concomitante de anticuerpo 3 antiglipicano y agente quimioterapéutico (Sorafenib) en modelos de ratón implantados con estirpe celular de cáncer de hígado humano que expresa glipicano 3

10

Ratones CB-17 SCID machos de seis semanas de edad se compran de CLEA Japón, Inc. Antes del implante de tumor, los ratones se administran intraperitonealmente con 200 µg de anticuerpo anti-asialo GM (WAKO). Se implantan subcutáneamente las células HepG2 o células HuH-7 (5×10^5 células) dispersas en 50% de Matrigel (Becton Dickinson). Cuando el volumen de tumor alcanza 250 mm³, los ratones se dividen en grupos y se inicia la administración. El anticuerpo 3 antiglipicano humanizado (hGC33, WO 2006/006693) se prepara en una concentración adecuada en PBS(-), y se administra intravenosamente una vez a la semana durante 3 semanas. El Sorafenib se sintetiza de acuerdo con el método descrito en *Organic Process Research & Development* 6, 777-781 (2002), y se suspende en agua pura que contiene 10% de etanol y 10% de Cremofor EL, y se administra oralmente 5 veces por semana durante 3 semanas. El agua pura que contiene PBS (-), 10% de etanol y 10% de Cremofor EL sirve como un vehículo de

15

20

25

control. El volumen del tumor V (mm^3) se calcula por la fórmula descrita en el Ejemplo 1. Los resultados se muestran en las Figuras 2 a 4.

5 La Figura 2 es una gráfica que muestra los efectos antitumorales del anticuerpo hGC33 y el Sorafenib en un modelo de ratón implantado con células de la estirpe celular de cáncer de hígado humana HuH-7 como se indica por el cambio en el volumen de tumor (desviación estándar + promedio). Los
10 círculos abiertos indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado con el vehículo. Los círculos sombreados indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado solo con anticuerpo hGC33 en una dosis de 5 mg/kg. Los cuadrados abiertos indican el cambio en el
15 volumen de tumor en el grupo administrado solo con Sorafenib en una dosis de 80 mg/kg. Los cuadrados sombreados indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado con una combinación de anticuerpo hGC33 en una dosis de 5 mg/kg y Sorafenib en una dosis de 80 mg/kg. La Figura 3 es una
20 gráfica que muestra los efectos antitumorales del anticuerpo hGC33 y Sorafenib en un modelo de ratón implantado con células de la estirpe celular de cáncer de hígado humana HepG2, como se indica por el cambio en el volumen de tumor (desviación estándar + promedio). Los círculos abiertos
25 indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado con el vehículo. Los círculos sombreados indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado solo con anticuerpo hGC33 en una dosis de 5 mg/kg. Los

cuadrados abiertos indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado solo con Sorafenib en una dosis de 80 mg/kg. Los cuadrados sombreados indican el cambio en el volumen de tumor en el grupo administrado con una combinación de anticuerpo hGC33 en una dosis de 5 mg/kg y Sorafenib en una dosis de 80 mg/kg. Los asteriscos en las figuras indican que $P < 0.05$, con base en la prueba de Dunnett. La Figura 4 es una gráfica que muestra el efecto del anticuerpo hGC33 y Sorafenib en la pérdida de peso corporal en un modelo de ratón implantado con células de la estirpe celular de cáncer de hígado humana HepG2, como se indica por el cambio en el peso del modelo (desviación estándar $\pm$ promedio). Los círculos abiertos indican el cambio en el peso corporal en el grupo administrado con el vehículo. Los círculos sombreados indican el cambio en el peso corporal en el grupo administrado solo con anticuerpo hGC33 en una dosis de 5 mg/kg. Los cuadrados abiertos indican el cambio en el peso corporal en el grupo administrado solo con Sorafenib en una dosis de 80 mg/kg. Los cuadrados sombreados indican el cambio en el peso corporal en el grupo administrado con una combinación de anticuerpo hGC33 en una dosis de 5 mg/kg y el Sorafenib en una dosis de 80 mg/kg. Los asteriscos en las figuras indican $P < 0.05$, con base en la prueba de Dunnett.

Como un resultado, se suprime el crecimiento de tumor en el modelo de xenoinjerto HuH-7 al administrar 5 mg/kg de hGC33 solo o 80 mg/kg de Sorafenib solo. Adicionalmente, cuando se administran juntos, se observa que el crecimiento

de tumor se suprime más marcadamente que en el caso cuando se administra solo hGC33 o Sorafenib (Figura 2).

Se indica el efecto supresor del crecimiento de tumor mediante volumen del tumor en el día final de la medición (es decir, en el día 42). En el modelo de xenoinjerto HepG2, el efecto supresor del crecimiento de tumor en el grupo administrado con una combinación de 1 mg/kg de GC33 humanizado y 80 mg/kg (la dosis máxima tolerada) de Sorafenib es significativamente mayor que en los grupos que reciben ya sea solo hGC33 o Sorafenib en la misma dosis. Se observa usualmente pérdida de peso en este modelo asociado con el crecimiento de tumor, y la pérdida de peso se intensifica con administración de solo Sorafenib. Cuando se administra la combinación de Sorafenib y GC33 humanizado, se atenúa significativamente la pérdida de peso (ver, en particular, los resultados en los días 39 y 42 (Figura 3)) adicionalmente a la mejora de la eficacia comparada solo con Sorafenib.

20 Ejemplo de Referencia 3

(1) Construcción de genes de mutación de punto del anticuerpo H0L0 humanizado

Varios genes de mutación de punto se construyen partiendo de un gen que codifica el anticuerpo 3 antiglipicano que comprende el CDR del anticuerpo H0L0 humanizado. Se sintetizan los ADN Oligo diseñados con base en las secuencias de las cadenas codificantes y anticodificantes

que contienen los sitios de modificación. Se construye una pluralidad de genes de mutación de punto utilizando el Equipo de Mutagenia Dirigida a Sitio QuikChange comercial (Stratagene). La construcción de los genes de mutación de punto se lleva a cabo mediante PCR bajo las siguientes condiciones. Después de calentar durante 30 segundos a 95° C, una mezcla de reacción de 10 ng de plásmido de plantilla, 10 pmol de oligo-ADN sintéticos de cadena delantera y cadena inversa y 10X de amortiguador, mezcla dNTP, y Polimerasa de ADN Pfu Turbo proporcionad con el equipo se somete a 18 ciclos de 95° C 30 seg, 55° C 1 min y 68° C 4 min. Se agrega el DpnI proporcionado con el equipo a la mezcla de reacción, y digestión por restricción con la enzima de restricción se lleva durante 1 hora a 37° C. Se transforman las células competentes DH5 α (Toyobo) con la solución de reacción resultante para obtener los transformantes. La introducción de la mutación de punto se confirma al determinar la secuencia de nucleótido del ADN de plásmido aislado de los transformantes. Cada gen de mutación de punto se clona en vectores de expresión capaces de expresar el gen inserto en las células de animales. Se preparan los genes modificados por las modificaciones como se describe adelante.

La expresión transitoria del anticuerpo H0L0 humanizado y sus anticuerpos modificados por mutación de punto se lleva a cabo utilizando polietilenoimina (Polisciencences Inc.). Las células HEK293 se separan mediante EDTA tripsina (Invitrogen), y se siembran en un plato de cultivo 10 cm² a 6

x 10^6 células/10 mL. Al día siguiente, se mezclan medio de cultivo SFMII y polietilenoimina con un ADN de plásmido de expresión de cadena pesada y un ADN de plásmido de expresión de cadena ligera de acuerdo con las instrucciones del fabricante, y la mezcla resultante se deja reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente. La mezcla completa se agrega en forma de gota al plato de cultivo que contiene células HEK293 sembradas como se describió anteriormente. Se recupera el sobrenadante del cultivo depuse de aproximadamente 72 horas y se purifican el anticuerpo H0L0 humanizado expresado y sus anticuerpos modificados por mutación de punto utilizando rProteinA SepharoseTM Fast Flow (GE Healthcare) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

15 (1-1) Modificación del valor T_m del anticuerpo H0L0 humanizado

La desnaturalización térmica de la temperatura de punto medio (T_m) se determina por la parte superior del pico de desnaturalización en el termograma (C_p versus T) obtenido después de calentar la solución de muestra de prueba a un índice de calentamiento programado constante. El valor T_m del anticuerpo H0L0 humanizado se mide utilizando una solución de muestra para medición DSC preparada como se describe en lo siguiente. La solución de anticuerpo (que corresponde a 50 a 100 μ g) cargada en una membrana de diálisis se dializa primero durante 24 horas contra una solución de diálisis externa de 20 mol/L de solución de amortiguador de acetato de

sodio (pH 6.0) que contiene 150 mmol/L de cloruro de sodio. Posteriormente, la solución de muestra se ajusta a su concentración de anticuerpo de 50 a 100 µg/mL con solución externa de diálisis y se utiliza como la solución de muestra para medición DSC.

Un instrumento DSC adecuado, por ejemplo, DSC-II (Calorimetry Sciences Corporation), se utiliza para este experimento. La solución de muestra preparada como se describió anteriormente y la solución de referencia (solución externa de diálisis) se desgasifican completamente, y cada uno de estos especímenes de prueba se colocan en una celda calorimétrica y se equilibran térmicamente a 40° C. Luego se ejecuta una exploración DSC de 40° C a 100° C en un índice de exploración de aproximadamente 1 K/minuto. Los resultados de esta medición se dan como la parte superior del pico de desnaturalización como una función de la temperatura. La desnaturalización térmica de la temperatura de punto medio del anticuerpo H0L0 humanizado se calcula por asignación de pico del dominio Fab de acuerdo con Rodolfo et al., *Immunology Letters* (1999), 47-52.

El anticuerpo H0L0 humanizado, que comprende la cadena pesada mostrada en la SEQ ID NO: 3 y la cadena ligera mostrada en la SEQ ID NO: 4, tiene un valor T_m de 76.6° C según se calcula por el método descrito anteriormente. Los valores T_m de Synagis y Herceptina, proporcionados como ejemplos de anticuerpos existentes, se miden a 85.4° C y

81.8° C, respectivamente. Se muestra así que el valor T_m del anticuerpo H0L0 humanizado es menor que aquel de los anticuerpos existentes.

5 Se preparan por lo tanto anticuerpos modificados a partir del anticuerpo H0L0 humanizado con el fin de elevar el valor de T_m . Se introducen las modificaciones de V37I, A40P, M48I, y L51I en FR2 de la cadena pesada del anticuerpo H0L0 humanizado mostrada en la SEQ ID NO: 3 para preparar el
 10 anticuerpo H15 (SEQ ID NO: 34), donde su subclase se cambia de VH1b a VH4. El valor T_m se mejora a 79.1° C. También la cadena ligera del anticuerpo H0L0 humanizado mostrada en la SEQ ID NO: 4 se modifica al introducir modificaciones L42Q, S48A, y Q50R en el FR2 que cambia la subclase de VK2 a VK3, y
 15 al introducir modificación V2I para reemplazar la V2 del FR1 con I (secuencia de línea germinal), por lo tanto se prepara L4 (SEQ ID NO: 35). El valor T_m de cada anticuerpo se mide como se describió anteriormente. El valor T_m de H15L0 y H0L4 es 79.2° C y 77.2° C, respectivamente, que muestra la mejora
 20 del valor T_m 76.6° C de H0L0. El valor T_m del anticuerpo H15L4 que comprende la combinación de estas dos modificaciones se mejora a 80.5° C.

(1-2) Modificación del valor pI del anticuerpo H0L0
 25 humanizado

La vida media del plasma de un anticuerpo se extiende al reducir el valor pI exhibido por el anticuerpo. Por lo tanto,

se prepara el anticuerpo H0L0 humanizado modificado con un pI reducido y se evalúa si la modificación proporciona una mayor actividad supresora de tumor.

- 5 El valor pI de cada anticuerpo se calcula con base en el análisis mediante electrofóresis isoeléctrica. La electrofóresis se lleva a cabo como se describe en lo siguiente. Utilizando un Casete PhastSystem (Amersham Bioscience), se hincha un gel IEF Seco Phast-Gel (Amersham Bioscience) durante aproximadamente 60 minutos con una solución de hinchamiento con la composición dada adelante.

(a) Composición de la solución de hinchamiento para pI alto:

- 1.5 mL 10% de glicerol
15 100 µL de Pharmalyte 8-10.5 para IEF (Amersham Bioscience)

(b) Composición de la solución de hinchamiento para pI bajo:

- 1.5 mL de agua purificada
20 µL de Pharmalyte 8-10.5 para IEF (Amersham Bioscience)
20 80 µL de Pharmalyte 5-8 para IEF (Amersham Bioscience)

- Aproximadamente 0.5 µg de anticuerpo se carga en un gel hinchado y se ejecuta electrofóresis isoeléctrica utilizando el PhastSystem (Amersham Bioscience) controlado por el programa descrito adelante. La muestra se agrega al gel en la Etapa 2 de este programa. Un Equipo de Calibración para pI (Amersham Bioscience) se utiliza para los marcadores pI.

Etapa 1: 2000 V, 2.5 mA, 3.5 W, 15° C, 75 Vh

Etapa 2: 200 V, 2.5 mA, 3.5 W, 15° C, 15 Vh

Etapa 3: 2000 V, 2.5 mA, 3.5 W, 15° C 410 Vh

5 Después de electrofóresis, el gel se fija con 20% de TCA y se lleva a cabo teñido de plata utilizando un Equipo de Teñido de Plata, Proteína (Amersham Bioscience) de acuerdo con las instrucciones proporcionadas con el equipo. Después de teñido, el punto isoeléctrico de cada anticuerpo (muestra
10 de prueba) se calcula con base en los puntos isoeléctricos ya conocidos de los marcadores pI.

Se prepara Hspd1.8 (Hd1.8) (SEQ ID NO: 27), en el que las modificaciones K19T, Q43E, K63S, K65Q, y G66D se
15 implementan adicionalmente en H15.Lspd1.6 (Ld1.6) (SEQ ID NO: 29) se prepara al hacer las siguientes modificaciones: la modificación Q27E en L4; la modificación de KISRVE en 79-84 del FR3 en L4 a TISLQ; y la modificación S25A. El valor pI del anticuerpo Hspd1.8Lspd1.6 (Hd1.8Ld1.6) compuesto de
20 Hspd1.8 (Hd1.8) y Lspd1.6 (Ld1.6), se mide en 7.4. Debido a que el pI del anticuerpo H0L0 humanizado es 8.9, el pI del anticuerpo Hspd1.8Lspd1.6 (Hd1.8Ld1.6) se reduce por 1.5.

(2) Evaluación mediante ELISA competitivo de la actividad de
25 unión de los anticuerpos modificados de mutación de punto del anticuerpo H0L0 humanizado

El anticuerpo H0L0 humanizado y sus anticuerpos modificados por mutación de punto purificados en (1) se evalúan mediante ELISA competitivo. Se agrega 100 μ L del polipéptido de núcleo GPC3 soluble (SEQ ID NO: 36) a 1 μ g/mL a cada pozo de una placa de 96 pozos. El polipéptido de núcleo GPC3 soluble se inmoviliza en la placa al permitir a la placa reposar durante la noche a 4° C. El polipéptido de núcleo GPC3 soluble inmovilizado en la placa se lava 3 veces con amortiguador de lavado utilizando un Skan WASHER400 (Molecular Devices); y se bloquea con 200 μ L de amortiguador de bloqueo a 4° C durante por lo menos 30 min. La placa bloqueada en la que se inmoviliza el polipéptido de núcleo GPC3 soluble luego se lava 3 veces con amortiguador de lavado utilizando el Skan WASHER400. Posteriormente, cada pozo de la placa recibe 200 μ L de una mezcla que contiene 100 μ L de anticuerpo H0L0 humanizado biotinilado (concentración final = 0.3 μ g/mL) y 100 μ L del anticuerpo H0L0 humanizado o su anticuerpo modificado por punto de mutación (en varias concentraciones). El anticuerpo H0L0 humanizado se biotinila utilizando un Equipo para Etiquetar Biotina (Roche) de acuerdo con las instrucciones proporcionadas con el equipo. La placa se deja reposar durante 1 hora a temperatura ambiente, luego se lava 5 veces con amortiguador de lavado utilizando el Skan WASHER400 (Molecular Devices). 100 μ L de fosfatasa alcalina anti-estreptavidina de cabra (ZYMED), diluido 20,000X con amortiguador de sustrato, se agrega a cada pozo, y la palca resultante se deja reposar durante 1

hora a temperatura ambiente, y luego se lava 5 veces con amortiguador de lavado utilizando el Skan WASHER400. El sustrato de fosfatasa (Sigma) se prepara en 1 mg/mL en el amortiguador de sustrato, agregado a 100 μ L por pozo durante 5 1 hora. La absorbancia en λ 405 nm de la solución de reacción en cada pozo se mide utilizando un Benchmark Plus (BIO-RAD), con la absorbancia de control a 655 nm.

La actividad de unión a antígeno del anticuerpo H15L4 y 10 el anticuerpo Hspd1.8Lspd1.6 (Hd1.8Ld1.6) se muestra por ser aproximadamente la misma como aquella del anticuerpo H0L0 humanizado sujeto a la modificación.

Ejemplo de Referencia 4

15

(1) Selección de sitios de modificación para reducir el pI para la preparación de anticuerpo modificado con pI mediante mutación de punto

20

Para mejorar la actividad de supresión del tumor del anticuerpo Hd1.8Ld1.6, se seleccionan sitios de modificación con la capacidad de disminuir en el valor pI de la región variable. Un ejemplo específico de estas modificaciones para reducir el valor pI es el anticuerpo pH7pL16, que se prepara 25 como sigue.

Se crean los sitios de modificación mediante Ensamble PCR. Se sintetizan los Oligo ADNs diseñados con base en las

secuencias codificante y anticodificante que contienen el sitio de modificación. Se utiliza un par de un oligo ADN anticodificante que contiene el sitio de modificación y un oligo ADN codificante que corresponde al vector que lleva el gen a ser modificado, o un par de un oligo ADN codificante que contiene el sitio de modificación y un oligo ADN anticodificante que corresponde al vector que lleva el gen a ser modificado en PCR con PrimeSTAR (TAKARA) para obtener fragmentos 5'-lado y 3'- lado que contienen el sitio de modificación. Los dos fragmentos se ligan utilizando Ensamble PCR para preparar cada mutante.

El mutante así obtenido se inserta en un vector de expresión que se permite para la expresión del gen insertado en las células de animales. La secuencia de nucleótido del vector de expresión se determina por un método conocido en la técnica. La introducción de la mutación de punto se confirma por la secuencia de nucleótido del ADN de plásmido. El gen que contiene la mutación de punto se clona en un vector de expresión que se permite para la expresión del gen insertado en las células de animales. La expresión y purificación del anticuerpo está de acuerdo con el método descrito en Ejemplo 1 o un método similar.

Partiendo de Hspd1.8 (Hd1.8), la 61ava glutamina (Q) (de acuerdo con la numeración Kabat) presente en el CDR2 de Hspd1.8 (Hd1.8) se sustituye con ácido glutámico (E) para preparar pH7 (SEQ ID NO: 31). Partiendo de Ld1.6, la 24ava

arginina (R) (de acuerdo con la numeración Kabat) presente en el CDR1 de Ld1.6 se sustituye con glutamina (Q), la 37ava glutamina (Q) se sustituye con leucina (L), la 43ava alanina (A) se sustituye con serina (S), la 45ava arginina (R) se sustituye con glutamina (Q), la 74ava treonina (T) se sustituye con lisina (K), la 77ava serina (S) se sustituye con arginina (R), la 78ava leucina (L) se sustituye con valina (V), y la 79ava glutamina (Q) se sustituye con ácido glutámico (E), cada uno presente en FR2 y FR3, para preparar pL14. luego partiendo de PL14, la 104ava leucina (L) (de acuerdo con la numeración Kabat) se sustituye con valina (V), la 107ava lisina (K) se sustituye con ácido glutámico (E), cada uno presente en FR4 de pL14, para preparar pL16 (SEQ ID NO: 33).

15

(2) Medición de valor pI de anticuerpos modificados con mutación de punto pI

Los valores pI del anticuerpo Hd1.8Ld1.6 y anticuerpo pH7pL16 se miden mediante electrofóresis con PhastGel IEF 4-6.5 (GE Healthcare) utilizando el método descrito en Ejemplo de Referencia 3 o método similar. El valor pI del anticuerpo Hd1.8Ld1.6 y el anticuerpo pH7pL16 es 7.47 y 6.52, respectivamente, lo que indica que el valor pI del anticuerpo pH7pL16 es menor que aquel del anticuerpo Hd1.8Ld1.6 por 0.95.

(3) Medición del valor T_m de los anticuerpos modificados pI de mutación de punto

Los valores T_m de Fabs obtenidos de anticuerpo
5 Hd1.8Ld1.6 y anticuerpo pH7pL16 se miden con VP-DSC (Micro
Cal) utilizando el método similar al Ejemplo de Referencia 3.
En este experimento, se utiliza PBS como una solución de
diálisis, y la concentración de anticuerpo en la solución de
prueba para la medición DSC se ajusta a 25-100 $\mu\text{g/ml}$. La
10 exploración DSC se establece de 20°C a 115°C en el índice
de exploración de aproximadamente 4K/min , con la solución de
referencia (solución de diálisis) y la solución de prueba de
medición de DSC. La desnaturalización térmica de la
temperatura de punto medio de los Fabs del anticuerpo
15 Hd1.8Ld1.6 y el anticuerpo pH7pL16 es 77.5 y 74.7°C ,
respectivamente.

(4) Evaluación de la actividad de unión al antígeno de los
anticuerpos modificados pI de mutación de punto mediante
20 ELISA competitivo

La actividad de unión al antígeno glipicano 3 de cada
anticuerpo modificado pI por mutación de punto se mide
utilizando el método descrito en el Ejemplo de Referencia 3.
25 La actividad de unión para el glipicano 3 del anticuerpo
pH7pL16 se muestra por ser comparativa a aquella del
anticuerpo H0L0 humanizado.

Ejemplo 5

(1) Prueba de terapia de combinación de un anticuerpo 3 antiglipicano humanizado y agente quimioterapéutico 5 (Sorafenib) en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado que expresa glipicano 3

Se compran ratones CB-17 SCID machos de 6 semanas de edad de CLEA Japón Inc. Los ratones se administran 10 intraperitonealmente con 200 µg de anticuerpo anti-asialo GM1 (WAKO) justo antes del implante de tumor, luego se implantan subcutáneamente 5×10^5 células HepG2 dispersas en 50% de Matrigel (Becton Dickinson). Cuando el volumen del tumor alcanza a 250 mm³, los ratones se dividen en grupos y se 15 inicia la administración. El anticuerpo pH7pL16 preparado en PBS(-) a una concentración adecuada se administra intravenosamente una vez a la semana durante 3 semanas. El Sorafenib se sintetiza de acuerdo con Organic Process Research & Development (2002) 6, 777-781. Sorafenib se 20 suspende en agua pura que contiene 10% de etanol y 10% de Cremofor EL, y se administra oralmente en 5 veces por semana durante 3 semanas. El agua pura que contiene PBS(-), 10% de etanol y 10% de Cremofor EL sirve como un vehículo de control. El volumen del tumor V (mm³) se calcula por la 25 fórmula descrita en el Ejemplo 1.

(2) Resultados de la prueba de terapia de combinación de un anticuerpo 3 antiglipicano humanizado y un agente

quimioterapéutico (Sorafenib) en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado que expresa glipicano 3

5 La Figura 5 es una gráfica que muestra el efecto antitumoral de una combinación del anticuerpo pH7pL16 y Sorafenib en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado HepG2. Los datos se expresan por el cambio en el volumen de tumor (media $\pm$ DE). El círculo
10 abierto muestra el grupo vehículo; el círculo sombreado muestra el anticuerpo pH7pL16 solo en 1 mg/kg; el cuadrado abierto muestra Sorafenib solo en 80 mg/kg; y el cuadrado sombreado muestra una combinación del anticuerpo pH7pL16 en 1 mg/kg y Sorafenib en 80 mg/kg. El asterisco indica $P < 0.05$ con
15 base en la prueba de Dunnett.

La Figura 6 es una gráfica que muestra el efecto de una combinación del anticuerpo pH7pL16 y Sorafenib sobre la
pérdida de peso en un modelo de ratón implantado con una
20 estirpe celular de cáncer de hígado HepG2. Los datos se expresan mediante el curso de tiempo del peso corporal de los ratones (media $\pm$ DE). El círculo abierto muestra el grupo vehículo; el círculo sombreado muestra el anticuerpo pH7pL16 solo en 1 mg/kg; el cuadrado abierto muestra Sorafenib solo
25 en 80 mg/kg; y el cuadrado sombreado muestra una combinación del anticuerpo pH7pL16 en 1 mg/kg y Sorafenib en 80 mg/kg. El asterisco indica $P < 0.05$ con base en la prueba de Dunnett.

El efecto supresor del crecimiento de tumor se expresa como el volumen del tumor al final de la prueba (día 47). En el modelo de xenoinjerto HepG2, el efecto supresor del crecimiento de tumor en el grupo recibe una combinación del anticuerpo pH7pL16 (1 mg/kg) y Sorafenib (dosis de tolerancia máximo en 80 mg/kg) es significativamente mayor que el grupo que recibe solo el anticuerpo o solo Sorafenib (Figura 5). Se observa usualmente pérdida de peso en este modelo asociado con el crecimiento de tumor, y la pérdida de peso se intensifica con la administración de solo Sorafenib. Cuando se administra la combinación de Sorafenib y el anticuerpo pH7pL16, la pérdida de peso se atenúa significativamente (Figura 6) adicionalmente a la intensificación de la eficacia comparada con solo Sorafenib.

Ejemplo 6

(1) Prueba de terapia de combinación de un anticuerpo 3 antiglipicano humanizado y agente quimioterapéutico (Sunitinib) en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado que expresa glipicano 3

Se compran ratones CB-17 SCID machos de 6 semanas de edad de CLEA Japón Inc. Los ratones se administran intraperitonealmente con 200 µg de anticuerpo anti-asialo GM1 (WAKO) justo antes de implante de tumor, luego se implantan subcutáneamente 5×10^5 células HepG2 dispersas en 50% de Matrigel (Becton Dickinson). Cuando el volumen del tumor

alcanza a 250 mm³, los ratones se dividen en grupos y se inicia la administración.

Un anticuerpo 3 antiglipicano humanizado (hGC33, WO2006006693) preparado en PBS(-) a una concentración adecuada se administra intravenosamente una vez a la semana durante 3 semanas. El Sunitinib (comprado de Sequoia Research Products; cat. # SRP01785S) se suspende en agua pura que contiene 10% de etanol y 10% de Cremofor EL, y se administra oralmente 5 veces a semana durante 3 semanas. El agua pura que contiene PBS(-), 10% de etanol y 10% de Cremofor EL sirve como un vehículo de control. El volumen del tumor V (mm³) se calcula por la fórmula descrita en el Ejemplo 1.

(2) Resultados de la prueba de terapia de combinación de un anticuerpo 3 antiglipicano humanizado y un agente quimioterapéutico (Sunitinib) en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado que expresa glipicano 3

20

La Figura 7 es una gráfica que muestra el efecto antitumoral de una combinación del anticuerpo hCG33 y el Sunitinib en un modelo de ratón implantado con una estirpe celular de cáncer de hígado HepG2. Los datos se expresan por el cambio en el volumen de tumor (media $\pm$ DE). El círculo abierto muestra el grupo vehículo; el círculo sombreado muestra el anticuerpo hCG33 solo en 1 mg/kg; el cuadrado abierto muestra Sunitinib solo en 80 mg/kg; y el cuadrado

sombreado muestra una combinación del anticuerpo hCG33 en 1 mg/kg y Sunitinib en 80 mg/kg. El asterisco indica $P < 0.05$ con base en la prueba de Dunnett.

- 5 El efecto supresor del crecimiento de tumor se expresa como el volumen del tumor al final de la prueba (día 53). En el modelo de xenoinjerto HepG2, el efecto supresor del crecimiento de tumor en el grupo que recibe una combinación del anticuerpo hGC33 (1 mg/kg) y Sunitinib (tolerancia de
- 10 dosis máxima en 80 mg/kg) es significativamente mayor que en el grupo que recibe solo el anticuerpo o solo el Sorafenib (Figura 7).

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para tratar o prevenir un
cáncer de hígado que comprende una combinación de un
5 agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3
antiglipicano.
2. La composición farmacéutica de acuerdo con la
Reivindicación 1, en donde la composición farmacéutica
10 es una preparación de combinación.
3. La composición farmacéutica de acuerdo con la
Reivindicación 1, en donde se administran
concomitantemente el agente quimioterapéutico y el
15 anticuerpo 3 antiglipicano.
4. La composición farmacéutica de acuerdo con la
Reivindicación 3, en donde el agente quimioterapéutico y
el anticuerpo 3 antiglipicano se administran
20 simultáneamente o secuencialmente.
5. La composición farmacéutica de acuerdo con la
Reivindicación 3, en donde se administran separadamente
el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3
25 antiglipicano.
6. Una composición farmacéutica para tratar o prevenir un
cáncer de hígado para uso en combinación con un agente

quimioterapéutico, dicha composición comprende un anticuerpo 3 antiglipicano como un ingrediente activo.

- 5 7. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 6, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra simultáneamente con el agente quimioterapéutico.
- 10 8. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 6, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra antes de o después de administración del agente quimioterapéutico.
- 15 9. Una composición farmacéutica para tratar o prevenir un cáncer de hígado para uso en combinación con un anticuerpo 3 antiglipicano, dicha composición comprende un agente quimioterapéutico como un ingrediente activo.
- 20 10. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 9, en donde el agente quimioterapéutico se administra simultáneamente con el anticuerpo 3 antiglipicano.
- 25 11. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 9, en donde el agente quimioterapéutico se administra antes de o después de administración del anticuerpo 3 antiglipicano.

12. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-11, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa.
- 5 13. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 12, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa.
- 10 14. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 12 o 13, en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006).
- 15 15. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 12 o 13, en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib.
- 20 16. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-15, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad.
- 25 17. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-16, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:
- la región variable de cadena H que comprende el CDR1, 2 y 3 de:
- el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

5 la región variable de cadena L que comprende el CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

10 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

18. La composición farmacéutica de acuerdo con una
15 cualquiera de las Reivindicaciones 1-17, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítopo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

20 la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en
25 la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente.

19. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-16 o 18, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5 la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

10 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

15 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

20 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

20. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-16 o 18, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25 la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

10 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

15

21. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-16 o 18, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

20 la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

25

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

5 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

10 22. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-21, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado.

23. La composición farmacéutica de acuerdo con la
15 Reivindicación 22, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y
20 la región variable de cadena L que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4.

24. La composición farmacéutica de acuerdo con la
Reivindicación 22, en donde el anticuerpo 3
25 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ ID NO.4 se sustituye con otro residuo de aminoácido.

- 5 25. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 22, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

10 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29.

- 15 26. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 22, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

20 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33.

- 25 27. Un agente para reducir un efecto colateral originado por un tratamiento de un cáncer de hígado mediante agente quimioterapéutico, dicho agente comprende un anticuerpo terapéutico como un ingrediente activo.

28. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 27, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa.

5 29. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 27 o 28, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa.

10 30. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 28 o 29, en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006).

15 31. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 28 o 29, en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib.

20 32. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 27-31, en donde el efecto colateral es pérdida de peso.

25 33. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 27-32, en donde el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo 3 antiglipicano.

34. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 33, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad.

35. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 33 o 34, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

10

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

15

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

20

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

36. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 33-35, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

25

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente.

37. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 33, 34 o 36, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y el CDR3 que comprende la

secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

38. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 33, 34 o 36, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

39. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 33, 34 o 36, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

10 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

15

40. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 33-39, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado.

20

41. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 40, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4.

42. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 40, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ ID NO: 4 se sustituye con otro residuo de aminoácido.

10

43. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 40, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29.

20 44. El agente para reducir el efecto colateral de acuerdo con la Reivindicación 40, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33.

45. Una composición farmacéutica para mejorar la eficacia del tratamiento de un cáncer de hígado mediante un agente quimioterapéutico, dicha composición comprende un anticuerpo 3 antiglipicano como un ingrediente activo.

5

46. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 45, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra simultáneamente con el agente quimioterapéutico.

10

47. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 45, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano se administra antes de o después de administración del agente quimioterapéutico.

15

48. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-47, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa.

20

49. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 48, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa.

25

50. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-49, en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006).

51. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-49, en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib.

5 52. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-51, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad.

10 53. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-52, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

15 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

20 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

25 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

54. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-53, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítopo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente.

55. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-52 o 54, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

56. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-52 o 54, en donde
10 el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

15 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

20 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

25 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

57. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-52 o 54, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

58. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 45-57, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado.

59. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 58, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y
la región variable de cadena L que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4.

5

60. La composición farmacéutica de acuerdo con la
Reivindicación 58, en donde el anticuerpo 3
antiglipicano comprende:

10

la región variable de cadena H que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y
la región variable de cadena L que comprende la
secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ
ID NO: 4 se sustituye con otro residuo de aminoácido.

15

61. La composición farmacéutica de acuerdo con la
Reivindicación 58, en donde el anticuerpo 3
antiglipicano comprende:

20

la región variable de cadena H que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y
la región variable de cadena L que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29.

25

62. La composición farmacéutica de acuerdo con la
Reivindicación 58, en donde el anticuerpo 3
antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33.

5

63. Un método para tratar o prevenir un cáncer de hígado en un sujeto que comprende administrar al sujeto una combinación de una cantidad efectiva de un agente quimioterapéutico y un anticuerpo 3 antiglipicano.

10

64. El método de acuerdo con la Reivindicación 63, en donde el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano se administran simultáneamente o secuencialmente.

15

65. El método de acuerdo con la Reivindicación 63, en donde se administran separadamente el agente quimioterapéutico y el anticuerpo 3 antiglipicano.

20

66. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 63-65, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa.

25

67. El método de acuerdo con la Reivindicación 66, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa.

68. El método de acuerdo con la Reivindicación 66 o 67, en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006).

5 69. El método de acuerdo con la Reivindicación 66 o 67, en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib.

10 70. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 63-69, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad.

71. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 63-70, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15

la región variable de cadena H que comprende el CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

20

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

25 la región variable de cadena L que comprende el CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

5

72. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 63-71, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

10

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

15

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente.

20

73. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 63-70 o 72, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

25

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y
la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

5 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,
el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y
el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido
10 mostrada en la SEQ ID NO: 25.

74. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 63-70 o 72, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15 la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,
20 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y
el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y
la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3
25 de:
el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

5

75. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 63-70 o 72, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

10 la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

20 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

25 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

76. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 63-75, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado.

5 77. El método de acuerdo con la Reivindicación 76, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

10 la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4.

78. El método de acuerdo con la Reivindicación 76, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ

20

ID NO: 4 se sustituye con otro residuo de aminoácido.

79. El método de acuerdo con la Reivindicación 76, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25

la región variable de cadena H que comprende la **secuencia** de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29.

80. El método de acuerdo con la Reivindicación 76, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

5 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33.

10 81. Un método para reducir un efecto colateral originado por un tratamiento de un cáncer de hígado mediante agente quimioterapéutico en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de un anticuerpo terapéutico.

15

82. El método de acuerdo con la Reivindicación 81, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa.

20 83. El método de acuerdo con la Reivindicación 81 o 82, en donde el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-cinasa.

25 84. El método de acuerdo con la Reivindicación 82 o 83, en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006).

85. El método de acuerdo con la Reivindicación 82 o 83, en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib.

86. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 81-85, en donde el efecto colateral es pérdida de peso.

5

87. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 81-86, en donde el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo 3 antiglipicano.

10 88. El método de acuerdo con la Reivindicación 87, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad.

89. El método de acuerdo con la Reivindicación 87 o 88, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

20 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

25

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

5

90. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 87-89, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

10

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

15

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente.

20

91. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 87, 88 o 90, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

25

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

5 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23, el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

10

92. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 87, 88 o 89, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

15

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

20

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

25

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

93. El método de acuerdo con una cualquiera de las
5 Reivindicaciones 87, 88 o 90, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

10 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

15 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

20 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

25 94. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 87-93, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado.

95. El método de acuerdo con la Reivindicación 94, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la
5 secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y
la región variable de cadena L que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4.

96. El método de acuerdo con la Reivindicación 94, en donde
10 el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y
la región variable de cadena L que comprende la
15 secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ
ID NO: 4 se sustituye con otro residuo de aminoácido.

97. El método de acuerdo con la Reivindicación 94, en donde
el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

20 la región variable de cadena H que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y
la región variable de cadena L que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29.

- 25 98. El método de acuerdo con la Reivindicación 94, en donde
el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y
la región variable de cadena L que comprende la
secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33.

5

99. Un método para mejorar la eficacia del tratamiento de un
cáncer de hígado mediante un agente quimioterapéutico en
un sujeto que comprende administrar al sujeto una
cantidad efectiva de un anticuerpo 3 antiglipicano.

10

100. El método de acuerdo con la Reivindicación 99, en donde
el anticuerpo 3 antiglipicano se administra
simultáneamente con el agente quimioterapéutico.

15 101. El método de acuerdo con la Reivindicación 99, en donde
el anticuerpo 3 antiglipicano se administra antes de o
después de administración del agente quimioterapéutico.

20 102. El método de acuerdo con una cualquiera de las
Reivindicaciones 99-101 en donde el agente
quimioterapéutico es un inhibidor de cinasa.

25 103. El método de acuerdo con la Reivindicación 102, en donde
el agente quimioterapéutico es un inhibidor de multi-
cinasa.

104. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 99-103, en donde el agente quimioterapéutico es Sorafenib (BAY43-9006).

5 105. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 99-103, en donde el agente quimioterapéutico es Sunitinib.

10 106. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 99-105, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano tiene citotoxicidad.

15 107. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 99-106, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

20 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

25 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 8,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

5

108. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 99-107, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es capaz de unirse a un epítipo al que se puede unir un anticuerpo secundario, en donde dicho segundo anticuerpo comprende:

10

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 5, 6, y 7, respectivamente, y

15

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2, y 3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID Nos: 8, 24, y 25, respectivamente.

20 109. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 99-106 o 108, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 6, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

5 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en una cualquiera de las SEQ ID Nos: 9-23,

10 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

110. El método de acuerdo con una cualquiera de las
15 Reivindicaciones 99-106 o 108, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

20 el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 26, y

25 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 28,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

5 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

111. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 99-106 o 108, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

10 la región variable de cadena H que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 5,

15 el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 30, y

el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 7; y

20 la región variable de cadena L que comprende CDR1, 2 y 3 de:

el CDR1 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 32,

el CDR2 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 24, y

25 el CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 25.

112. El método de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 99-111, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano es un anticuerpo humanizado.

5 113. El método de acuerdo con la Reivindicación 112, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

10 la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 4.

114. El método de acuerdo con la Reivindicación 112, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

15 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 3; y

la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido en donde el 34vo Gly de la SEQ
20 ID NO: 4 se sustituye con otro residuo de aminoácido.

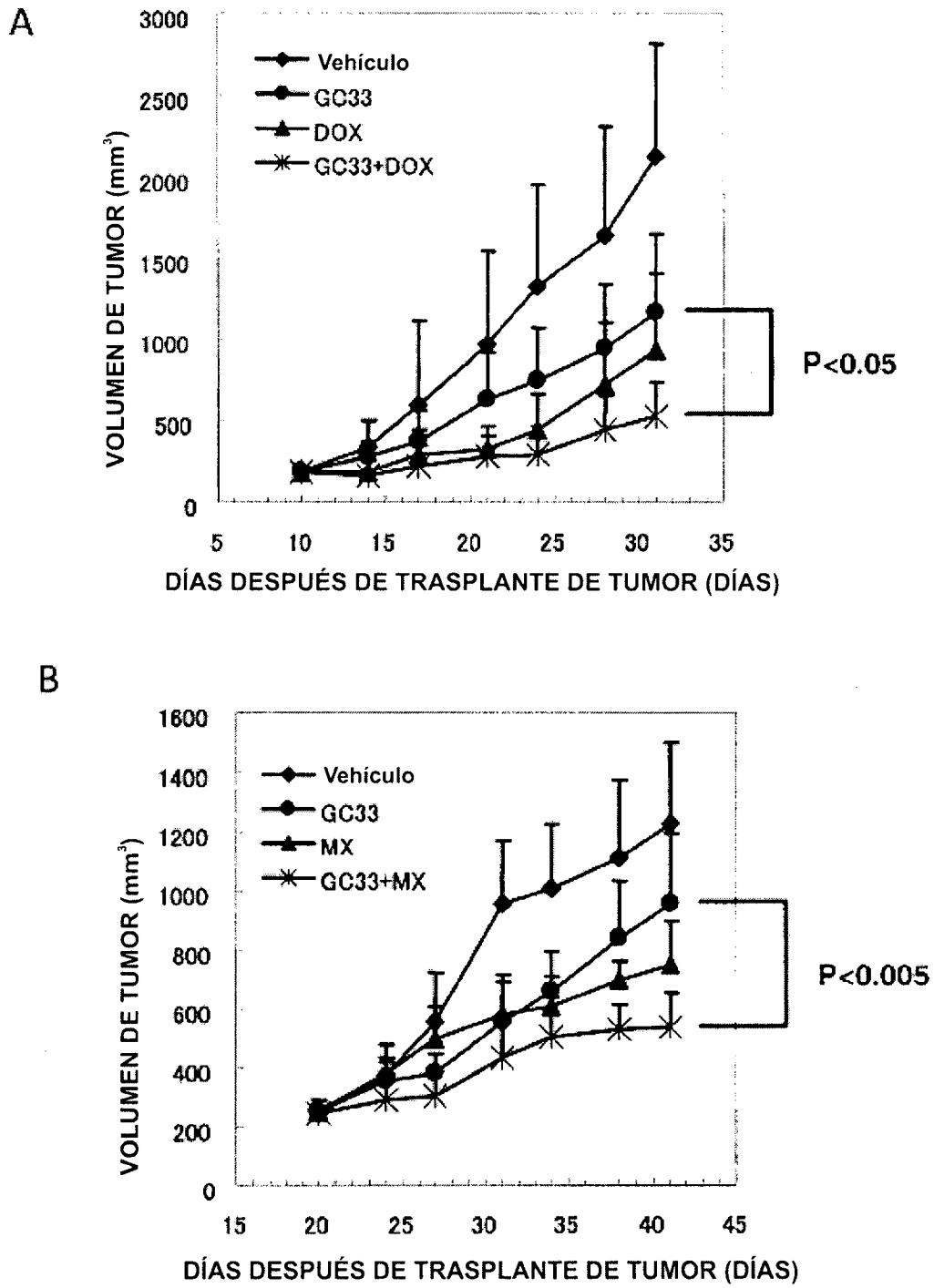
115. El método de acuerdo con la Reivindicación 112, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

25 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 27; y
la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 29.

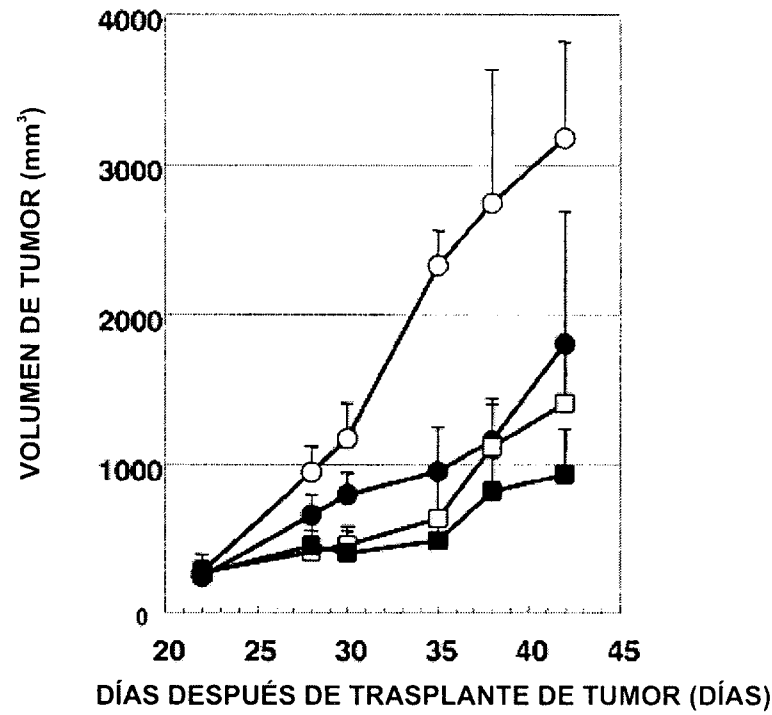
116. El método de acuerdo con la Reivindicación 112, en donde el anticuerpo 3 antiglipicano comprende:

- 5 la región variable de cadena H que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 31; y la región variable de cadena L que comprende la secuencia de aminoácido mostrada en la SEQ ID NO: 33.

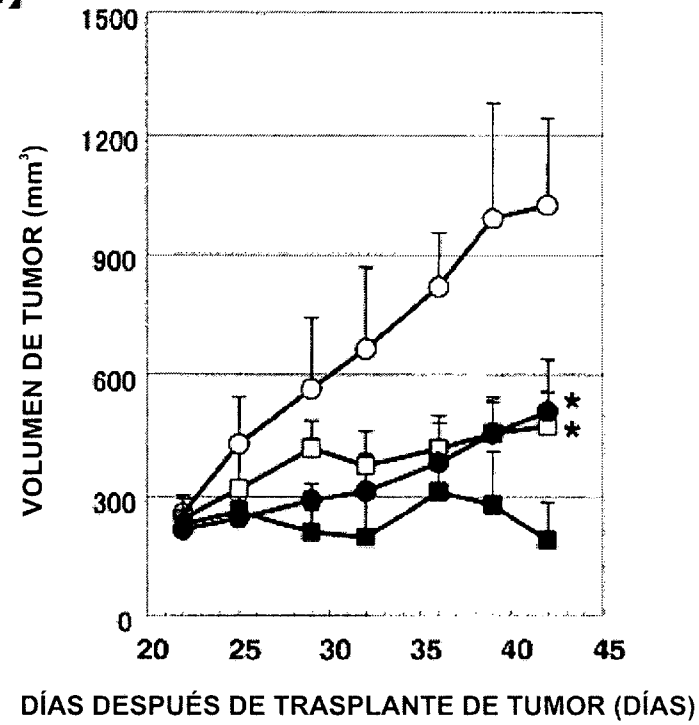
【FIG.1】



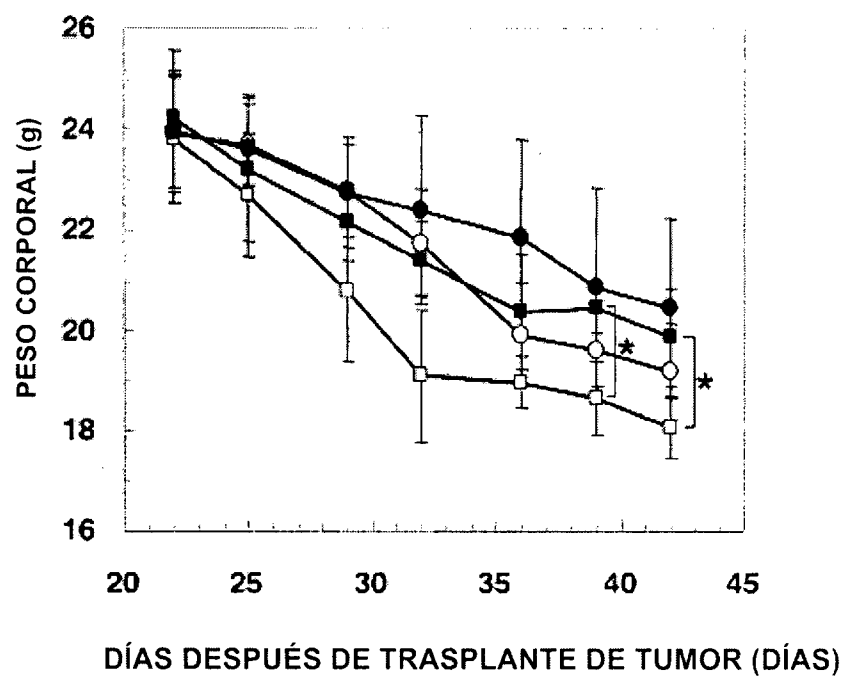
【FIG.2】



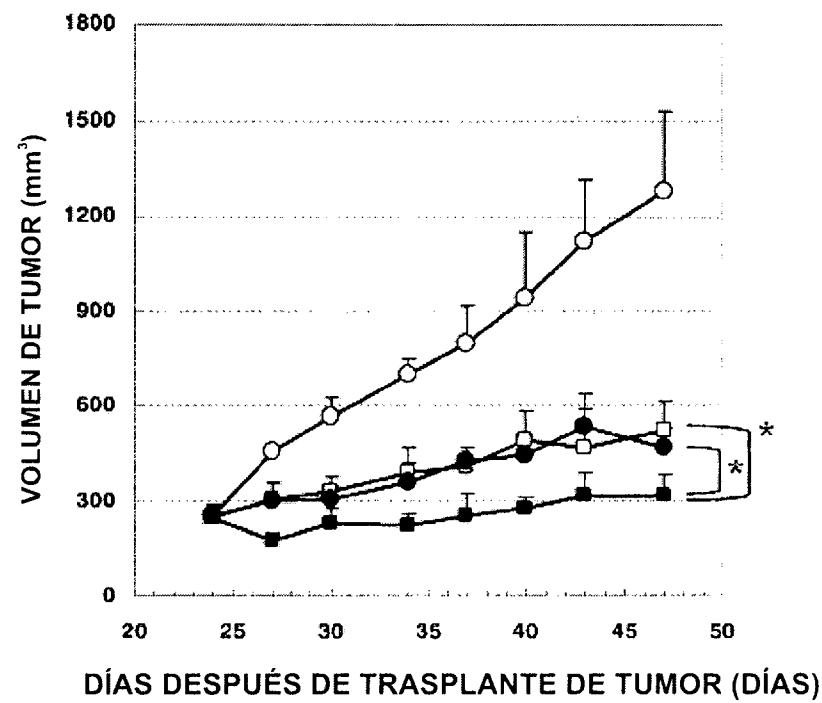
【FIG.3】



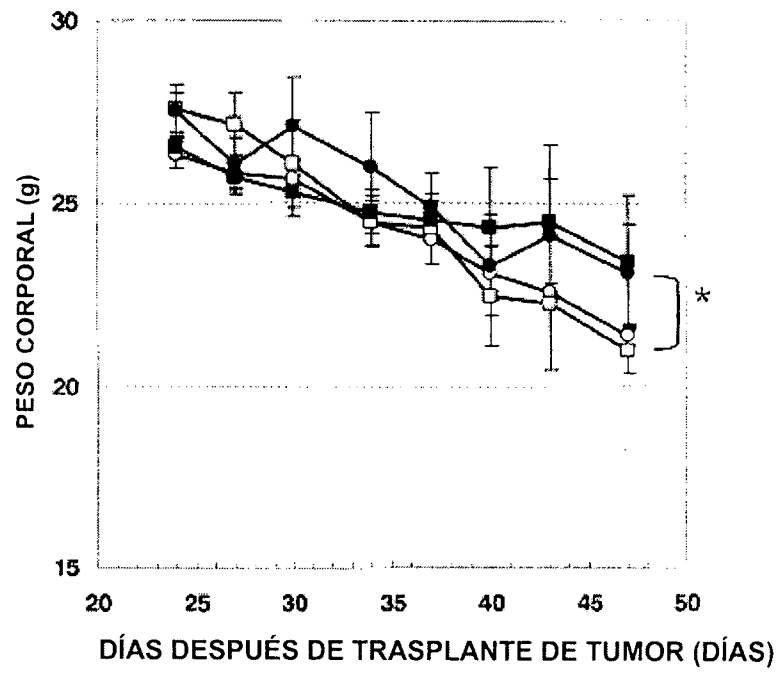
【FIG.4】



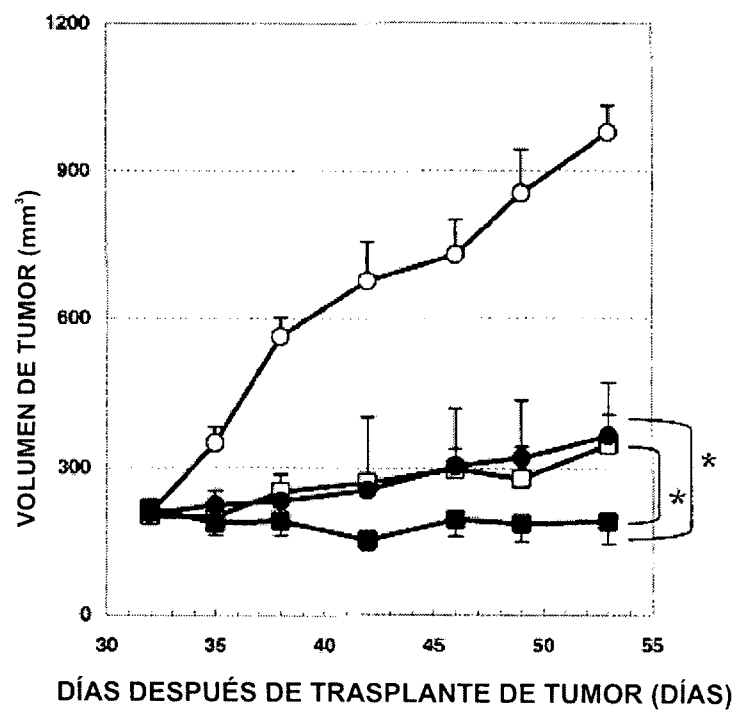
【FIG.5】



【FIG.6】



【FIG.7】



【FIG.8】

NOMBRE DE ANTICUERPO	CADENA	SECUENCIA	SEQ ID NO.
hGC33	H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQA PGQGLEWMGALDPKTGDTAYSQKFGRVTLADKSTSTAY MELSSLTSEDATVYYCTRFYSYTYWGQGTLLTVSS	3
hGC33	L	DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLVHSNGNTYLHW YLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKIS SRVEAEDVGYYCSQNTHPPTFGQGTKLEIK	4
Hspd1.8 (Hd1.8)	H	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRQP PGEGLWIGALDPKTGDTAYSQSFQDRVTLADKSTSTAY MELSSLTSEDATVYYCTRFYSYTYWGQGTLLTVSS	27
Lspd1.6 (Ld1.6) VL	L	DI VMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRASESLVHSNRNTYLHW YQKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVGYYCSQNTHPPTFGQGTKLEIK	29
pH7	H	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRQP PGEGLWIGALDPKTGDTAYSESFQDRVTLADKSTSTAY MELSSLTSEDATVYYCTRFYSYTYWGQGTLLTVSS	31
pL16	H	DI VMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRASESLVHSNRNTYLHW YLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKIS SRVEAEDVGYYCSQNTHPPTFGQGTKVEIE	33
H15	H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWIRQP PGQGLEWIGALDPKTGDTAYSQKFGRVTLADKSTSTAY MELSSLTSEDATVYYCTRFYSYTYWGQGTLLTVSS	34
L4	L	DI VMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLVHSNRNTYLHW YQKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKIS SRVEAEDVGYYCSQNTHPPTFGQGTKLEIK	35

【FIG.9】

NOMBRE DE ANTICUERPO	CADENA	CDR	SECUENCIA	SEQ ID NO.
GC33	H	CDR1	DYEMH	5
GC33	H	CDR2	ALDPKTGDTAYSQKFK	6
GC33	H	CDR3	FYSYTY	7
GC33	L	CDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH	8
GC33 (G34A)	L	CDR1	RSSQSLVHSNANTYLH	9
GC33 (G34D)	L	CDR1	RSSQSLVHSNDNTYLH	10
GC33 (G34E)	L	CDR1	RSSQSLVHSNENTYLH	11
GC33 (G34F)	L	CDR1	RSSQSLVHSNFNTYLH	12
GC33 (G34H)	L	CDR1	RSSQSLVHSNHNTYLH	13
GC33 (G34N)	L	CDR1	RSSQSLVHSNNNTYLH	14
GC33 (G34T)	L	CDR1	RSSQSLVHSNTNTYLH	15
GC33 (G34Q)	L	CDR1	RSSQSLVHSNQNTYLH	16
GC33 (G34I)	L	CDR1	RSSQSLVHSNINTYLH	17
GC33 (G34K)	L	CDR1	RSSQSLVHSNKNTYLH	18
GC33 (G34L)	L	CDR1	RSSQSLVHSNLNTYLH	19
GC33 (G34S)	L	CDR1	RSSQSLVHSNSNTYLH	20
GC33 (G34W)	L	CDR1	RSSQSLVHSNWNTYLH	21
GC33 (G34Y)	L	CDR1	RSSQSLVHSNYNTYLH	22
GC33 (G34R)	L	CDR1	RSSQSLVHSNRNTYLH	23
GC33	L	CDR2	KVSNRFS	24
GC33	L	CDR3	SONTHVPPT	25
Hspd1.8 (Hd1.8)	H	CDR2	AIDPKTGDTAYSQSFQ	26
Lspd1.6 (Ld1.6)	L	CDR1	RASESLVHSNRNTYLH	28
pH7	H	CDR2	AIDPKTGDTAYSESFQ	30
pL16	L	CDR1	QASESLVHSNRNTYLH	32

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Chugai Seiyaku Kabushiki Kaisha

<120> terapia de combinación

<130> PCG-9026WO

<150> JP 2008-098309

<151> 2008-04-04

<150> PCT/JP2008/002690

<151> 2008-09-26

<160> 36

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 115

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Lys Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ala

115

<210> 2

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 2

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 3
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 3

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 4

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 5
Asp Tyr Glu Met His
1 5

<210> 6
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 6
Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

<210> 7
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 7
Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr
1 5

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 8
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 9
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 9
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Ala Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 10
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 10
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Asp Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 11
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 11
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Glu Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 12
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 12
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Phe Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 13
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 13
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn His Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 14
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado

<400> 14

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Asn Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 15

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Thr Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 16

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gln Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 17

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Ile Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 18

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 18

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Lys Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 19

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Leu Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 20

<211> 16

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 20
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Ser Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 21
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Trp Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 22
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 22
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Tyr Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 23
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 23
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 24
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 25
Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr

1 5

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 26

Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Ser Phe Gln

1 5 10 15

<210> 27

<211> 115

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Ser Phe

50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 28

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 28

Arg Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 29

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 29

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn

85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 30

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 30

Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Ser Phe Gln

1 5 10 15

<210> 31

<211> 115

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Anticuerpo modificado

<400> 31

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Ser Phe

50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 32
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 32
Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 33
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 33
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30
Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95
Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 34
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 34
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
 50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
Val Ser Ser
 115

<210> 35
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Anticuerpo modificado
<400> 35
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 35 40 45
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
 85 90 95
Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 36
<211> 545
<212> PRT
<213> homo sapiens
<400> 36

Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser
1 5 10 15

Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro
20 25 30

Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys
35 40 45

Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys Tyr Gln Leu Thr Ala Arg Leu Asn
50 55 60

Met Glu Gln Leu Leu Gln Ser Ala Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile
65 70 75 80

Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg
85 90 95

His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser
100 105 110

Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val
115 120 125

Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn
130 135 140

Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro Val Ile Tyr Thr Gln Leu Met Asn
145 150 155 160

Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala Leu Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly
165 170 175

Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met
180 185 190

Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala
195 200 205

Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe
210 215 220

Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr
225 230 235 240

Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val
245 250 255

Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp
260 265 270

Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg
275 280 285

Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His
290 295 300

Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr
305 310 315 320

Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala
 325 330 335

Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala
 340 345 350

His Val Glu His Glu Glu Thr Leu Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile
 355 360 365

Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr
 370 375 380

Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn
385 390 395 400

Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly
 405 410 415

Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu
 420 425 430

Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu
 435 440 445

Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu
 450 455 460

Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ala Gly Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu
465 470 475 480

Cys Ile Gly Gly Ala Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu
 485 490 495

Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro
 500 505 510

Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe
 515 520 525

His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys His His His His His
 530 535 540

His
545

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(10) 国際公開番号

WO 2009/122667 A1

(43) 国際公開日

2009 年 10 月 8 日(08.10.2009)

PCT

(51) 国際特許分類:

A61K 39/395 (2006.01) A61K 45/00 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2009/001249

(22) 国際出願日:

2009 年 3 月 19 日(19.03.2009)

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ:

特願 2008-098309 2008 年 4 月 4 日(04.04.2008) JP
PCT/JP2008/002690 2008 年 9 月 26 日(26.09.2008) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 中

外製薬株式会社(CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI
KAISHA) [JP/JP]; 〒1158543 東京都北区浮間五丁
目 5 番 1 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 木下 恭子
(KINOSHITA, Yasuko) [JP/JP]; 〒2478530 神奈川県
鎌倉市梶原 2 〇 〇 中外製薬株式会社内 Kana-
gawa (JP). 杉本 正道 (SUGIMOTO, Masamichi)
[JP/JP]; 〒2478530 神奈川県鎌倉市梶原 2 〇 〇
中外製薬株式会社内 Kanagawa (JP). 石黒 敬弘

(ISHIGURO, Takahiro) [JP/JP]; 〒2478530 神奈川県
鎌倉市梶原 2 〇 〇 中外製薬株式会社内 Kana-
gawa (JP).

(74) 代理人: 大野 聖二, 外 (OHNO, Seiji et al.); 〒
1006036 東京都千代田区霞が関 3 丁目 2 番 5 号
霞が関ビル 3 6 階 大野総合法律事務所 Tokyo
(JP).

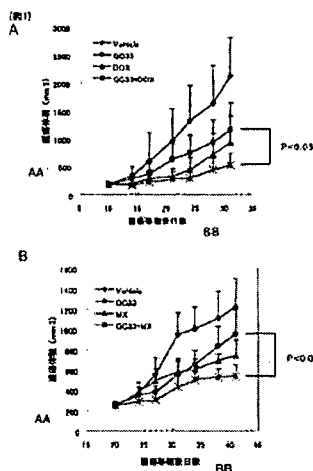
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,
KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL,
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF,

[続葉有]

(54) Title: THERAPEUTIC FOR HEPATIC CANCER

(54) 発明の名称: 肝癌治療剤



AA TUMOR VOLUME (mm³)
BB TIME AFTER TUMOR TRANSPLANTATION (DAYS)

(57) Abstract: Provided are a novel medicinal composition for treating or preventing hepatocellular carcinoma and a therapy method. Disclosed is a medicinal composition for treating or preventing hepatic cancer which comprises a chemotherapeutic agent combined with glypican 3 antibody. Also disclosed are a medicinal composition to be used in combination with a chemotherapeutic agent for treating or preventing hepatic cancer which comprises glypican 3 antibody as the active ingredient; and a medicinal composition to be used in combination with glypican 3 antibody for treating or preventing hepatic cancer which comprises as the active ingredient a chemotherapeutic agent. The combined use of a chemotherapeutic agent with glypican 3 antibody can achieve better therapeutic effect than the chemotherapeutic agent employed alone. Moreover, side effects in treating hepatic cancer with the use of the chemotherapeutic agent can be reduced thereby.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2009/122667 A1

CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, 添付公開書類:
TG).

規則 4.17 に規定する申立て:

- 出願し及び特許を与えられる出願人の資格に
関する申立て (規則 4.17(ii))

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

肝細胞癌を治療または予防するための新規医薬組成物および治療方法を提供する。化学療法剤およびグリピカン3抗体を組み合わせてなる、肝癌を治療または予防するための医薬組成物が開示される。また、グリピカン3抗体を有効成分として含む、化学療法剤と併用して肝癌を治療または予防するための医薬組成物、ならびに化学療法剤を有効成分として含む、グリピカン3抗体と併用して肝癌を治療または予防するための医薬組成物も開示される。化学療法剤とグリピカン3抗体との併用により、化学療法剤が単独で処方されるよりも有効な治療効果を奏し、化学療法剤による肝癌治療の結果生じる副作用を低減させることができる。

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

OHNO, Seiji
OHNO & PARTNERS
Kasumigaseki Building 36F
2-5, Kasumigaseki 3-chome
Chiyoda-ku, Tokyo 1006036
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 26 May 2009 (26.05.2009)	
Applicant's or agent's file reference PCG-9026WO	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP2009/001249	International filing date (day/month/year) 19 March 2009 (19.03.2009)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 04 April 2008 (04.04.2008)
Applicant CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA et al	

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
3. (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
04 April 2008 (04.04.2008)	2008-098309	JP	30 April 2009 (30.04.2009)
26 September 2008 (26.09.2008)	PCT/JP2008/002690	JP	14 May 2009 (14.05.2009)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Yoshiko Kuwahara e-mail PT07.PCT@WIPO.INT Telephone No. +41 22 338 74 07
Facsimile No. +41 22 338 82 70	

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

FIRST NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF
THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION (TO DESIGNATED OFFICES WHICH
DO NOT APPLY THE 30 MONTH TIME LIMIT
UNDER ARTICLE 22(1))

To:

OHNO, Seiji
OHNO & PARTNERS
Kasumigaseki Building 36F
2-5, Kasumigaseki 3-chome
Chiyoda-ku, Tokyo 1006036
JAPON



(PCT Rule 47.1(c))

Date of mailing (day/month/year) 05 November 2009 (05.11.2009)		
Applicant's or agent's file reference PCG-9026WO		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP2009/001249	International filing date (day/month/year) 19 March 2009 (19.03.2009)	Priority date (day/month/year) 04 April 2008 (04.04.2008)
Applicant CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA et al		

1. **ATTENTION:** For any designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002 (30 months from the priority date), **does apply**, please see Form PCT/IB/308(Second and Supplementary Notice) (to be issued promptly after the expiration of 28 months from the priority date).
2. Notice is hereby given that the following designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does not apply**, has/have requested that the communication of the international application, as provided for in Article 20, be effected under Rule 93bis.1. The International Bureau has effected that communication on the date indicated below:
08 October 2009 (08.10.2009)

None

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(i), those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

3. The following designated Offices, for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does not apply**, have not requested, as at the time of mailing of the present notice, that the communication of the international application be effected under Rule 93bis.1 :

LU, TZ, UG

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(ii), those Offices accept the present notice as conclusive evidence that the Contracting State for which that Office acts as a designated Office does not require the furnishing, under Article 22, by the applicant of a copy of the international application.

4. **TIME LIMITS for entry into the national phase**

For the designated Office(s) listed above, and unless a demand for international preliminary examination has been filed before the expiration of **19 months** from the priority date (see Article 39(1)), the applicable time limit for entering the national phase will, **subject to what is said in the following paragraph**, be **20 MONTHS** from the priority date.

In practice, **time limits other than the 20-month time limit** will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain of the designated Offices listed above. For **regular updates on the applicable time limits** (20 or 21 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

It is the applicant's **sole responsibility** to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Yoshiko Kuwahara
Facsimile No. +41 22 338 82 70	e-mail: pt07.pct@wipo.int

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

SECOND AND SUPPLEMENTARY NOTICE
INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION (TO DESIGNATED OFFICES
WHICH APPLY THE 30 MONTH TIME
LIMIT UNDER ARTICLE 22(1))

(PCT Rule 47.1(c))

To:

OHNO, Seiji
OHNO & PARTNERS
Kasumigaseki Building 36F
2-5, Kasumigaseki 3-chome
Chiyoda-ku, Tokyo 1006036
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 05 August 2010 (05.08.2010)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference PCG-9026WO			
International application No. PCT/JP2009/001249	International filing date (day/month/year) 19 March 2009 (19.03.2009)	Priority date (day/month/year) 04 April 2008 (04.04.2008)	
Applicant CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA et al			

1. **ATTENTION:** For any designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002 (30 months from the priority date), **does not apply**, please see Form PCT/IB/308(First Notice) issued previously.

2. Notice is hereby given that the following designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does apply**, has/have requested that the communication of the international application, as provided for in Article 20, be effected under Rule 93bis.1. The International Bureau has effected that communication on the date indicated below:
08 October 2009 (08.10.2009)

AU, AZ, BY, CN, CO, DZ, EP, HU, KG, KP, KR, MD, MK, MY, MZ, NA, NG, PG, RU, SY, TM, US

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(i), those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

3. The following designated Offices, for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does apply**, have not requested, as at the time of mailing of the present notice, that the communication of the international application be effected under Rule 93bis.1 :

AE, AG, AL, AM, AO, AP, AT, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BZ, CA, CH, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, EA, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KM, KN, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LY, MA, ME, MG, MN, MW, MX, NI, NO, NZ, OA, OM, PH, PL, PT, RO, RS, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, TJ, TN, TR, TT, UA, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(ii), those Offices accept the present notice as conclusive evidence that the Contracting State for which that Office acts as a designated Office does not require the furnishing, under Article 22, by the applicant of a copy of the international application.

4. TIME LIMITS for entry into the national phase

For the designated or elected Office(s) listed above, the applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph, be **30 MONTHS** from the priority date.

In practice, time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain of the designated or elected Office(s) listed above. For regular updates on the applicable time limits (30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

It is the applicant's sole responsibility to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Yoshiko Kuwahara
Facsimile No. +41 22 338 82 70	e-mail: pt07.pct@wipo.int

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/001249

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K39/395(2006.01)i, A61K31/404(2006.01)i, A61K31/44(2006.01)i,
A61K45/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K39/395, A61K31/404, A61K31/44, A61K45/00, A61P35/00, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2009
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2009 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2009

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII),
SwissProt/PIR/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2006/006693 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 19 January, 2006 (19.01.06), Claims; examples 18 to 27; sequence listing 90, 92 & JP 4011100 B & JP 2007-300927 A & US 2007/0190599 A1 & EP 1674111 A1 & CA 2544692 A & NO 20063539 A & CN 1842540 A	6-26, 45-62 1-5, 27-44
X Y	WO 2006/046751 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 04 May, 2006 (04.05.06), Claims; each examples; referential examples & US 2008/0124330 A1 & EP 1816140 A1 & CA 2585196 A & KR 10-2007-0070222 A & CN 101068836 A	6-26, 45-62 1-5, 27-44

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

02 April, 2009 (02.04.09)

Date of mailing of the international search report

12 May, 2009 (12.05.09)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/001249

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2006/067913 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 29 June, 2006 (29.06.06), Each examples; referential examples & US 2008/0166756 A1 & EP 1829962 A1 & EP 1829961 A1	6-26, 45-62 1-5, 27-44
X Y	WO 03/000883 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 03 January, 2003 (03.01.03), Each Claims; each examples & JP 2005-225892 A & JP 2007-51159 A & JP 2007-238632 A & JP 2008-120828 A & US 2004/0236080 A1 & US 2007/0172488 A1 & EP 1411118 A1 & EP 1780273 A1 & DE 60228721 D & CA 2451493 A & HK 1079547 A & CN 1688692 A & KR 10-2008-0077295 A & AT 407204 T	6-26, 45-62 1-5, 27-44
Y A	WO 2007/053573 A2 (BAYER PHARMACEUTICALS CORP.), 10 May, 2007 (10.05.07), Claims & EP 1954272 A2 & CA 2627873 A	1-5, 27-44 6-26, 45-62
Y A	WO 2007/091622 A1 (Sankyo Co., Ltd.), 16 August, 2007 (16.08.07), Par. No. [0003]; each examples & EP 1982718 A1 & CA 2642665 A	1-5, 27-44 6-26, 45-62
Y A	Masafumi IKEDA et al., "Genpatsusei Kangan no Yakubutsu Ryoho to Kinase Sogaizai Sorafenib", Hematology & Oncology, 28 January, 2008 (28.01.08), Vol.56, No.1, pages 70 to 75, ISSN:0915-8529	1-5, 27-44 6-26, 45-62
Y A	JP 2008-501677 A (Pfizer Products Inc.), 24 January, 2008 (24.01.08), Each Claims & US 2005/0272755 A1 & EP 1761281 A & WO 2005/117980 A1 & CA 2569277 A	1-5, 27-44 6-26, 45-62
Y A	WO 2007/099988 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 07 September, 2007 (07.09.07), Par. No. [0199] (Family: none)	1-5, 27-44 6-26, 45-62
Y A	JP 2004-503582 A (Pharmacia Italia S.p.A.), 05 February, 2004 (05.02.04), Each Claims; Par. Nos. [0021] to [0022] & US 2005/0032759 A1 & GB 17635 D & EP 1315486 A2 & WO 2002/005791 A2 & AU 1041502 A	1-5, 27-44 6-26, 45-62

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/001249

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 63-116

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

It pertains to methods for treatment of the human body or animal body by surgery or therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.



No. 10-133385- -00000-0000

Fecha: 2010-10-27 14:56:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 187

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	LISTA DE CHEQUEO ADMISIÓN A TRÁMITE - NUEVAS CREACIONES
--	--

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D' ALEMAN DILIA MARIA
Apoderado(a) y/o Representante de
CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

REFERENCIA	Radicación No.	10 133385
	Solicitud internacional	PCT/JP2009/001249
	Fecha inicio fase nacional	04/11/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	15306

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)
2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

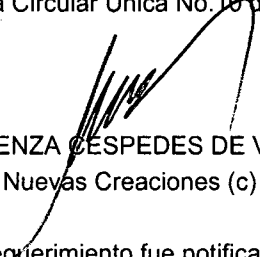
Continúa en la página siguiente...



Continuación radicado No: 10 133385



Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No. 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 26 NOV. 2010
adpa11