

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

05-74351

54. TITULO NUEVOS ANTICUERPOS ANTI-IGF-IR Y SUS USOS

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE PIERRE FABRE MEDICAMENT

DOMICILIO BOULOGNE-BILLANCOURT FRANCIA

74. APODERADO HECTOR GOMEZ MEJIA

22. SANTAFE DE BOGOTA, D.C. _____

PETITORIO

AS: 98.448



SE/INDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación: 05074351 00000000 Folios: 69
Fecha (H/D): 2005-07-26 16:20:27
Tramite: C22 PATENTES 0 1 REGISTRO/ 411 PRESENTE
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

1 SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.

2- SOLICITANTE (71)

Nombre: PIERRE FABRE MEDICAMENT

Dirección: 45, PLACE ABEL GANCE 92100 BOULOGNE-BILLANCOURT, FRANCIA

Nacionalidad o Domicilio: Francia
Lugar de Constitución: Francia

Teléfono: Fax:
E-mail:

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual

Número

3 REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: HECTOR GOMEZ MEJIA

Dirección: Cra. 7 No. 16-56 Piso 9

Teléfono: 380-2200 Fax: 380-2700
E-mail:

IDENTIFICACION

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual

Número 22720 TP 19436

4 INVENTOR (ES) (72)

Nombre: Liliane Goetsch, Nathalie Corvaia

Dirección: 15, route de Cluses - 74130 Ayze, Francia; Résidence Les Chênes - 2 rue des Chênes - 74160 Archamps, Francia (Respectivamente)

Nacionalidad o Domicilio: Francia

5 Título (54): NÚEVOS ANTICUERPOS ANTIHGF-IR Y SUS USOS

6 Clasificación Internacional (51) AG12 39/395

7 Prioridad	(33) Pais de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
SI ☒ NO ☐	FR	29-07-2004	0408379
	US	29-07-2004	60/591,932

8 Para publicar a partir de la fecha de la presente solicitud a los:

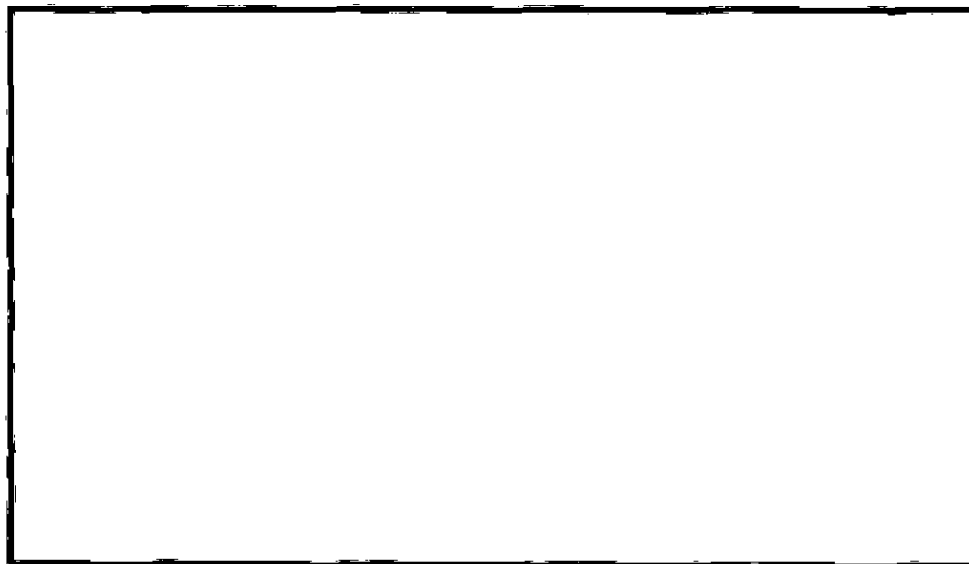
6 meses ☒ 12 meses ☐ 18 meses ☐ Otro ☐

9 Comprobante de pago No. 05-52.331 - 52.336 - 337 Fecha 27-07-2005

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$443.000
- ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.
- ☒ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. \$248.000
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. **Fotocopia autenticada**
- ☐ Certificado de la fecha de presentación de la solicitud prioridad expedida por la autoridad correspondiente y una copia certificada de la primera solicitud, si se reivindica prioridad.
- ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☒ Resumen.
- ☒ Descripción de la invención.
- ☒ Una o más reivindicaciones.
- ☒ Dibujos y/o planos necesarios.
- ☐ De ser el caso, copia del 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 12x12.
- ☐ 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.
- ☒ Extracto para publicación y Tarjeta de Archivo Temático.

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

NOMBRE: HECTOR GOMEZ MEJIA

FIRMA:

C.C. 22720 de Bogotá T.P. 19436 del C.S.J.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 05 - 52,331
FECHA : JULIO 14 DE 2005

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 85874251 00000000 Folios: 69
Fecha (AMD): 2005-07-28 16:28:27
Tramite : 002 PATENTES 0 1 REGISTRAR/ 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PBO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	34991285	14/07/2005	29,806,500.00

CONCEPTO

CANT. HISTORICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	443,000.00
	TOTAL :	443,000.00

SON: CUATROCIENTOS CUARENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176009-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 05 - 52,336
FECHA : JULIO 14 DE 2005

4
SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 05074351 00000000 Folios: 69
Fecha (MM): 2005-07-28 16:28:27
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

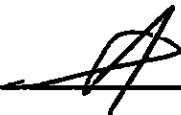
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	34991285	14/07/2005	29,806,500.00

***** CONCEPTO *****

CANT. HISTORICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	02 INVOCACION DE UNA PRIORIDAD EN NU	124,000.00
	TOTAL :	\$ 124,000.

SON: CIENTO VEINTICUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

MIT : 000176009-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 05 - 52,337
FECHA : JULIO 14 DE 2005

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 05074351 00000000 Folios: 69
Fecha (HH): 2005-07-29 16:29:27
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRADO/ 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	34991285	14/07/2005	29,806,500.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	02 INVOCACION DE UNA PRIORIDAD EN NU	124,000.00
		TOTAL :	124,000.00

SON: CIENTO VEINTICUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Foto 6 tarjeta
a

NUEVOS ANTICUERPOS ANTI-IGF-IR Y SUS USOS

La presente invención se refiere a nuevos anticuerpos capaces de unirse específicamente al receptor IGF-IR del factor de crecimiento humano similar a la insulina y/o capaces de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho IGF-IR, especialmente anticuerpos monoclonales de origen murino, quimérico o humanizado, así como las secuencias de los aminoácidos y secuencias de nucleótidos que codifiquen estos anticuerpos. La invención también abarca el uso de estos anticuerpos como medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de cánceres que sobreexpresen IGF-IR o cualquier patología conectada con la sobreexpresión de dicho receptor, así como los procesos o kits de diagnóstico de enfermedades relacionadas con la sobreexpresión de IGF-IR. La invención finalmente comprende los productos y/o las composiciones que abarquen los mencionados anticuerpos en combinación con anticuerpos anti-EGFR y/o anticuerpos anti-VEGF y/o anticuerpos dirigidos contra otros factores de crecimiento involucrados en la progresión del tumor o metástasis y/o compuestos y/o agentes anticancerígenos o agentes conjugados con toxinas y su uso para la prevención y/o tratamiento de ciertos cánceres.

El receptor del factor I de crecimiento similar a la insulina, llamado IGF-IR es un receptor profundamente descrito con actividad de tirosin-quinasa, que presenta una homología de un 70% con el receptor de insulina IR. El IGF-IR es una glicoproteína de peso molecular aproximado de 350 000.

Es un receptor heterotetramérico en el cual cada una de las mitades está unida por puentes disulfuro, y está compuesta por una subunidad α extracelular y una subunidad β transmembranaria. El IGF-IR une IGF1 e IGF 2 con una gran afinidad (K_d N° 1nM), pero es igualmente capaz de unirse a insulina con una afinidad entre 100 y 1000 veces menor. Por el contrario, el IR une insulina con una gran afinidad, y las IGF se unen al receptor de insulina con una afinidad 100 veces menor. Los dominios tirosin-quinasa del IGF-IR y del IR presentan una gran homología de secuencia, aunque las zonas de menor homología son respectivamente la región rica en cisteína situada en la subunidad α y la región C-terminal de la subunidad β . Las diferencias en la secuencia observadas en la subunidad α están localizadas en la zona de unión de los ligandos y originan por lo tanto las afinidades relativas por IGF-IR e IR para las IGFs e insulina,

67

respectivamente. Las diferencias en el extremo C-terminal de la subunidad β resultan en una divergencia en las vías de señalización de ambos receptores; IGF-IR media efectos mitogénicos, efectos de diferenciación y anti-apoptóticos, en tanto la activación de IR comprende principalmente efectos al nivel de las rutas metabólicas (Baserga et al.,
5 Biochim. Biophys. Acta, 1332:F105-126, 1997; Baserga R., Exp. Cell. Res., 253:1-6, 1999).

Las proteínas tirosin-quinasa del citoplasma se activan por la unión del ligando al dominio extracelular del receptor. La activación de las quinasas involucra, a su vez, la estimulación de diferentes sustratos intracelulares, incluyendo IRS-1, IRS-2, Shc y Grb
10 10 (Peruzzi F. et al., J. Cancer Res. Clin. Oncol., 125:166-173, 1999). Los dos sustratos más importantes de IGF-IR son IRS y Shc que median, por medio de la activación de numerosos efectores corriente abajo, la mayoría de los efectos de crecimiento y diferenciación conectados a la unión de los IGFs a este receptor. La disponibilidad de
15 estos sustratos puede por lo tanto dictar el efecto biológico final conectado a la activación del IGF-IR. Cuando predomina el IRS-1, las células tienden a proliferar y a transformarse. Cuando domina el Shc, las células tienden a diferenciarse (Valentinis B. et al., J. Biol. Chem., 274:12423-12430, 1999). Pareciera ser que la ruta principalmente involucrada en los efectos de la protección contra la apoptosis es la ruta de las fosfatidil-
20 inositol 3-quinazas (PI 3-quinazas) (Prisco M. et al., Horm. Metab. Res., 31:80-89, 1999; Peruzzi F. et al., J. Cancer Res. Clin. Oncol., 125:166-173, 1999).

El papel del sistema IGF en carcinogénesis ha sido objeto de intensos estudios en los últimos diez años. Este interés siguió al descubrimiento del hecho de que, además de sus propiedades mitogénicas y anti apoptóticas, el IGF-IR parece ser necesario para establecer y mantener un fenotipo transformado. De hecho, está bien establecido que una
25 sobreexpresión o una activación constitutiva del IGF-IR lleva, en una gran variedad de células, a un crecimiento de las células independientemente del soporte en medios desprovistos de suero fetal de ternero, y a la formación de tumores en ratones atímicos. Esto en sí mismo no es una propiedad única, dado que una gran variedad de productos de genes sobreexpresados pueden transformar células, incluyendo un buen número de
30 receptores de factores de crecimiento. Sin embargo, el descubrimiento crucial que ha demostrado el importante papel desempeñado por el IGF-IR en la transformación, ha sido que las células R- en las que el gen que codifica IGF-IR ha sido inactivado son

totalmente refractarias a la transformación por diferentes agentes que son normalmente capaces de transformar las células como por ejemplo las proteínas E5 de papilomavirus bovino, una sobreexpresión de EGFR o de PDGFR, el antígeno T de SV 40, proteína ras activada o la combinación de estos dos últimos factores (Sell C. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 90:11217-11221, 1993; Sell C. et al., Mol. Cell. Biol., 14:3604-3612, 1994; Morrión A. J., Virol., 69:5300-5303, 1995; Coppola D. et al., Mol. Cell. Biol., 14:4588-4595, 1994; DeAngelis T et al., J. Cell. Physiol., 164:214-221, 1995).

El IGF-IR se expresa en una variedad de tumores y líneas de tumores y las IGF amplifican el crecimiento del tumor por medio de su unión al IGF-IR. Otros argumentos a favor del papel del IGF en carcinogénesis provienen de estudios en los que se usan anticuerpos monoclonales murinos dirigidos contra el receptor, o que usan dominantes negativos de IGF-IR. En efecto, los anticuerpos monoclonales murinos dirigidos contra el IGF-IR inhiben la proliferación de muchas líneas celulares en cultivo, y el crecimiento de tumores in vivo (Arteaga C. et al., Cancer Res., 49:6237-6241, 1989; Li et al., Biochem. Biophys. Res. Com., 196:92-98, 1993; Zia F et al., J. Cell. Biol., 24:269-275, 1996; Scotlandi K et al., Cancer Res., 58:4127-4131, 1998). También se ha demostrado en los trabajos de Jiang et al. (Oncogene, 18:6071-6077, 1999) que un dominante negativo de IGF-IR es capaz de inhibir la proliferación del tumor.

Las patologías de cáncer se caracterizan por un crecimiento celular descontrolado. En una variedad de cánceres, los factores de crecimiento están unidos específicamente a sus receptores, y por ende transmiten señales de crecimiento, de transformación o de supervivencia a la célula tumoral. La sobreexpresión de los receptores de factor de crecimiento en la superficie de células tumorales es un hecho ampliamente descrito (Salomon D.S. et al., Crit. Rev. Oncol. Hematol., 1995, 19:183; Burrow S. et al., J. Surg. Oncol., 1998, 69:21; Hakam A. et al., Hum. Pathol., 1999, 30:1128; Railo M.J. et al., Eur. J. Cancer, 1994, 30:307; Happerfield L.C. et al., J. Pathol., 1997, 183:412). Esta sobreexpresión, o activación anormal, que conduce a una perturbación directa de los mecanismos reguladores del crecimiento celular, puede afectar también a la sensibilidad de la célula para producir una apoptosis inducida por una terapia clásica, tal como quimio o radio terapia.

En los últimos años, se ha mostrado que apuntar a receptores de factor de crecimiento como EGFR o Her2/neu sobreexpresados en la superficie de células

tumorales con anticuerpos humanizados (herceptin) o quiméricos (C225) resulta en una inhibición significativa del crecimiento tumoral en pacientes y en un aumento significativo de la eficacia de los tratamientos clásicos de quimioterapia (Carter P., Nature Rev. Cancer, 2001, 1(2):118; Hortobagyi G. N. Semin., Oncol., 2001, 28:43; 5 Herbst R. S. et al., Semin. Oncol., 2002, 29:27). Otros receptores como el IGF-IR o VEGF-R (para el receptor del factor de crecimiento vascular endotelial) han sido identificados como blanco potencial en varios estudios preclínicos.

En particular, IGF-IR es parte de los receptores de tirosin-quinasa. Muestra una gran homología con el receptor de insulina (IR) que existe bajo dos isoformas, A y B.

10 Las secuencias del IR, isoformas A y B están registradas bajo los Números de Acceso X02160 y M10051, respectivamente, en el NCBI Genbank. Otros datos, sin limitaciones, relacionados con IR están incorporados aquí de acuerdo mediante las referencias: (Vinten et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:249-252; Belfiore et al., 2002, The Journal of Biological Chemistry, 277:39684-39695; Dumesic et al., 2004, The 15 Journal of Endocrinology & Metabolism, 89(7):3561-3566).

Los receptores IGF-IR e IR son glicoproteínas tetraméricas compuestas de dos subunidades α extracelulares y de dos subunidades β transmembranarias unidas por puentes disulfuro. Cada subunidad α que contiene el sitio de unión del ligando pesa aproximadamente 130- a 135 kDa, mientras que cada subunidad β que contiene el 20 dominio de tirosin-quinasa pesa aproximadamente de 90- a 95 kDa. Estos receptores presentan una similitud de más del 50% en total de la secuencia de aminoácidos, y poseen una similitud de un 84% en el dominio de tirosin-quinasa. Después de la unión al ligando, los receptores fosforilados reclutan y fosforilan proteínas de acoplamiento, incluyendo la familia de proteínas del receptor de insulina sustrato-1 (IRS1), Gab1 y Shc 25 (Avruch, 1998, Mol.Cell. Biochem., 182, 31-48; Róth et al., 1988, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 53, 537-543; White, 1998, Mol. Cell. Biochem., 182, 3-11; Laviola et al., 1997, J. Clin. Invest. 99, 830-837; Cheatham et al., 1995, Endocr. Rev. 16, 117-142), conduciendo a la activación de diferentes mediadores intracelulares. Aunque ambos receptores, IR e IGF-IR activan de manera similar rutas de señalización 30 principales, existen diferencias en el reclutamiento de ciertas proteínas de acoplamiento y en los mediadores intracelulares entre ambos receptores (Sasaoka et al., 1996, Endocrinology 137, 4427-4434; Nakae et al., 2001, Endocr. Rev. 22, 818-835; Dupont

and Le Roith, 2001, Horm. Res. 55, Suppl. 2, 22-26; Koval et al., 1998, Biochem. J., 330, 923-932). Estas diferencias son la base de los efectos metabólicos predominantes provocados por la activación IR y los efectos predominantemente mitogénicos, transformadores y anti apoptóticos provocados por la activación de IGF-IR (De Meyts et al., 1995, Ann. N.Y. Acad. Sci., 766, 388-401; Singh et al., 2000, Prisco et al., 1999, Horm. Metab. Res. 31, 80-89; Kido et al., 2001, J. Clin. Endocrinol. Metab., 86, 972-979). La insulina se une al IR con una afinidad unas 100 veces más alta que al IGF-IR, mientras que los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF1 e IGF2) se unen al IGF-IR con una afinidad 100 veces mayor que al IR.

El receptor IR humano existe en dos isoformas, IR-A e IR-B, generadas por el "splicing" (empalmado) alternativo del gen IR que excluye o incluye 12 residuos de aminoácidos codificados por un pequeño exón (exón 11) en el extremo carboxi-terminal de la subunidad α del IR. La abundancia relativa de las isoformas del IR está regulada por factores específicos del tejido, y por factores desconocidos. (Moller et al., 1989, Mol. Endocrinol., 3, 1263-1269; Mosthaf et al., 1990, EMBO J., 9, 2409-2413). IR-B es la isoforma predominante en tejidos adultos normales (tejido adiposo, hígado y músculo) que son los blancos principales de la acción de la insulina (Moller et al., 1989; Mosthaf et al., 1990). El IR-A es la isoforma predominante en tejido fetal y media el crecimiento del feto en respuesta a IGF2 (Frasca et al., 1999, Mol. Cell. Biol. 19, 3278-3288), lo que también ha sido sugerido en estudios genéticos llevados a cabo en ratones transgénicos (DeChiara et al., 1990, Nature 345, 78-80; Louvi et al., 1997, Dev. Biol. 189, 33-48). Más aún, cuando las células se transforman y devienen malignas, la desdiferenciación está frecuentemente asociada a un aumento de la abundancia relativa de IR-A (Pandini et al., 2002, The Journal of Biological Chemistry, Vol. 277, N° 42, pp39684-39695).

Dado el alto grado de homología, los hemi-receptores de insulina y de IGF-I (compuestos de una subunidad α y de otra β) pueden heterodimerizar, llevando a la formación de receptores híbridos insulina/IGF-I (Híbrido-R)(Soos et al., 1990, Biochem J. 270, 383-390; Kasuya et al., 1993, Biochemistry 32, 13531-13536; Seely et al., 1995, Endocrinology, 136, 1635-1641; Baillyes et al., 1997, Biochem J. 327, 209-215).

Ambas isoformas del IR son igualmente capaces de formar híbridos con IGF-IR. Los receptores híbridos (híbridos-R), sin embargo, presentan diferentes características funcionales. Un Híbrido-RsB tiene una afinidad reducida por IGF1 y especialmente por

IGF2. Por el contrario, un Híbrido-RsA tiene una gran afinidad por IGF1 y también unen IGF2 e insulina en el rango de concentración fisiológico. La expresión de un Híbrido-RsA regula hacia valores superiores el sistema IGF mediante dos mecanismos diferentes: i) unión (con gran afinidad) y activación por IGF1 e IGF2 (lo que no ocurre en el Híbrido-RsB), ii) activación de la vía IFG-IR luego de la unión a insulina. La unión de la insulina a un Híbrido-RsA fosforila la subunidad β del IGF-IR y activa un sustrato específico del IGF-IR (Crkl), de manera que el Híbrido-RsA desplaza a la insulina a la vía de señalización de IGF-IR (Pandini et al., 2002).

En tejidos tales como hígado, bazo o placenta, los Híbridos-R están más representados que los IGF-IR (Baillyes et al., 1997). Cuando los tejidos tumorales se sobreexpresan o presentan una activación anormal, ambos receptores IGF-IR e IR-A (Frasca et al., 1999; Sciacca et al., 1999, Oncogene 18, 2471-2479; Vella et al., 2001, Mol. Pathol., 54, 121-124), los Híbridos-RsA también pueden estar sobreexpresados en una variedad de tejidos malignos humanos, incluyendo cáncer de tiroides o de mama, dando una ventaja selectiva de crecimiento a células malignas capaces de responder mediante una señalización de tipo IGF-IR que responden a una estimulación por IGF1 y/o IGF2 pero también por insulina en concentraciones fisiológicas (Baillyes et al., 1997; Pandini et al., 1999, Clin. Cancer Res. 5, 1935-1944; Belfiore et al., 1999, Biochimie (Paris) 81, 403-407; Frasca et al., 1999; Sciacca et al., 1999; Vella et al., 2001).

La elaboración de "herramientas terapéuticas" capaces de bloquear al mismo tiempo los dos receptores reviste particular interés, dado que permitirá evitar los fenómenos de escape mediados por la expresión, o activación anormal de IGF-IR e Híbrido-R en un mismo tumor.

Dado el interés creciente en IGF-IR y particularmente en anticuerpos monoclonales capaces de unirse a IGF-IR, o de inhibir la actividad tirosin-quinasa de la misma, los solicitantes han desarrollado y caracterizado un anticuerpo monoclonal llamado 7c10 o 117c10 (codificado F30033). El 24 de julio de 2003 se ha presentado y publicado una solicitud de patente internacional PCT/FR 03/00178 bajo el número de publicación WO 03/059951 relacionada con el anticuerpo y sus usos. El contenido de esta solicitud de patente se incorpora a la presente por medio de la referencia.

El objeto de la presente invención es poder disponer de otros anticuerpos monoclonales murinos, preferentemente anticuerpos quimerizados o humanizados, que reconozcan específicamente IGF-IR y con gran afinidad. Estos anticuerpos interactuarán poco o nada con el IR. Su unión será capaz de inhibir *in vitro* el crecimiento de tumores que expresen IGF-IR, interactuando principalmente con las vías de transducción de señal que se activan por medio de las interacciones IGF1/IGF-IR e IGF2/IGF-IR. Estos anticuerpos serán capaces de ser activos *in vivo* en todos los tipos de tumores que expresen IGF-IR, incluyendo tumores estrógeno-dependientes de mama, y tumores de próstata.

10 La presente invención también permite bloquear conjuntamente la actividad del híbrido-R y del IGF-IR por medio de la generación de un compuesto, más particularmente anticuerpos, de alta afinidad, capaces de unirse a los dos receptores citados y además bloquear su activación por IGF1, IGF2 o insulina.

La presente invención también trata del uso de anticuerpos aislados según la presente invención, o un fragmento de los mismos, siendo dichos anticuerpos o fragmentos capaces de unirse a i) IGF-IR humana, y/o inhibir la unión de sus ligandos nativos, preferentemente IGF1 y/o IGF2, y/o también capaces de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho IGF-IR, y/o ii) híbrido-R, y/o inhibir la unión de sus ligandos nativos, preferentemente IGF1, IGF2 y/o Insulina, y/o también capaces de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho híbrido-R.

De acuerdo con otra realización preferencial, los mencionados anticuerpos son usados para terapia de cáncer, más particularmente terapia de cáncer de mama.

De hecho, se sabe que las células cancerosas de mama presentan específicamente en su superficie IGF-IR pero también un gran número de receptores de insulina, y como consecuencia, un gran número de Híbridos-R (Frasca et al., 1999; Sciacca et al., 1999; Vella et al., 2001).

Más particularmente, la presente invención se refiere a cuatro anticuerpos monoclonales diferentes anti-IGF-IR.

30 En un primer aspecto, un sujeto de la presente invención es un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de dichos fragmentos es capaz de unirse específicamente al receptor I del factor de crecimiento

humano similar a la insulina y, si es necesario, preferentemente capaz, además, de inhibir la unión natural de los ligandos IGF1 y/o IGF2 de IGF-IR y capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de la mencionada IGF-IR, caracterizado por una cadena liviana que comprende al menos una región determinante de complementariedad (CDR) elegida entre las CDR de las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 1, 2 y 3, o por lo menos una CDR cuya secuencia tenga al menos una identidad del 80%, preferentemente del 85%, 90%, 95% y 98%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 1, 2 y 3, o porque comprende una cadena pesada que comprende por lo menos una CDR elegida entre las CDR de las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 4, 5 y 6, o por lo menos una CDR cuya secuencia tenga al menos una identidad del 80%, preferentemente 85%, 90%, 95% y 98%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 4, 5 y 6.

En la presente especificación y los ejemplos correspondientes, este anticuerpo se denominará 13F5.

En la presente descripción, los términos "unir" y "ligar" tienen el mismo sentido y son intercambiables.

En la presente descripción, los términos polipéptido, secuencias de polipéptidos, péptidos y proteínas unidos a anticuerpos o a su secuencia son intercambiables.

Se debe comprender aquí que la invención no se refiere a los anticuerpos en su forma natural, es decir, que no están en su medio natural, pero que se los ha podido aislar u obtener por purificación a partir de fuentes naturales, o bien se los ha obtenido por recombinación genética, o por síntesis química, y que pueden contener aminoácidos no naturales, como se verá más adelante.

Por regiones CDR (o CDRs) se entiende las regiones hipervariables de las cadenas pesada y liviana de las inmunoglobulinas, definidas por Kabat et al. (Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, NIH, 1991, y ediciones posteriores). Existen tres CDR de cadena pesada y tres CDR de cadena liviana. El término CDR o CDRs se usa aquí para indicar, de acuerdo al caso, una de estas regiones, o algunas, o incluso todas, las regiones que contengan la mayoría de los residuos de aminoácido responsables de la unión por afinidad del anticuerpo con el antígeno o epítope que éste reconoce.

X 14

Por "porcentaje de identidad" entre dos secuencias de aminoácidos o de ácidos nucleicos, en el sentido de la presente invención se quiere indicar un porcentaje de nucleótidos o de residuos de aminoácidos idénticos entre dos secuencias que se comparan, obtenido después del mejor alineamiento posible (alineamiento óptimo),
5 siendo este porcentaje puramente estadístico y estando las diferencias entre las dos secuencias distribuidas al azar y sobre la longitud completa de las mismas. Las comparaciones entre dos secuencias de ácidos nucleicos o de aminoácidos se llevan a cabo tradicionalmente por comparación entre dichas secuencias después de alinearlas de una manera optima, dicha comparación puede llevarse a cabo por segmento, o por una
10 "ventana de comparación". El alineamiento óptimo de las secuencias para la comparación puede llevarse a cabo, además de manualmente, por medio del algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1981) [Ad. App. Math. 2:482], por medio del algoritmo de homología local de Neddleman y Wunsch (1970) [J. Mol. Biol. 48:443], por medio del método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman (1988) [Proc.
15 Natl. Acad. Sci. USA 85:2444], por medio de un software que utiliza estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI, o por medio del software de comparación BLAST N o BLAST P).

El porcentaje de identidad entre dos secuencias de ácidos nucleicos o de aminoácidos se determina por comparación de estas dos secuencias alineadas de una
20 manera optima, y en la cual la secuencia de ácidos nucleicos o de aminoácidos a comparar puede incluir adiciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, para una alineación óptima entre las dos secuencias. El porcentaje de identidad se calcula determinando el número de posiciones idénticas para las cuales el
25 nucleótido o el residuo de aminoácido es idéntico entre las dos secuencias, dividiendo este número de posiciones idénticas por el número total de posiciones en la ventana de comparación, y multiplicando este último resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad entre las dos secuencias.

Por ejemplo, es posible usar el programa BLAST, "BLAST 2 sequences"
30 (Tatusova et al., "Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences", FEMS Microbiol Lett. 174:247-250) disponible en el sitio <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>) los parámetros usados son los

predeterminados (particularmente, para los parámetros "open gap penalty": 5, y "extension gap penalty": 2, eligiendo por ejemplo, la matriz "BLOSUM 62", propuesta por el programa), el porcentaje de identidad entre las dos secuencias es calculado directamente por el programa.

5 Mediante una secuencia de aminoácidos de al menos una identidad del 80%, preferentemente del 85%, 90%, 95% y 98% con respecto a una secuencia de aminoácidos de referencia, aquellas que tengan con respecto a la secuencia de referencia, algunas modificaciones, en particular, un agregado, una eliminación o una sustitución de un aminoácido como mínimo, se prefieren una truncación o una
10 elongación. En el caso de una sustitución de uno o más aminoácidos consecutivos o no, se prefieren aquellas sustituciones en las que los aminoácidos sustituidos hayan sido reemplazados por aminoácidos "equivalentes". La expresión "aminoácidos equivalentes" apunta aquí a indicar cualquier aminoácido capaz de ser reemplazado por uno de los aminoácidos de la estructura básica sin por ello, modificar esencialmente la
15 actividad biológica de los anticuerpos correspondientes como se definirá más adelante, especialmente en los ejemplos. Estos aminoácidos equivalentes pueden ser determinados ya sea basándose en su homología estructural con los aminoácidos a los que reemplazan, ya sea a partir de los resultados de los experimentos comparativos de la actividad biológica entre los diferentes anticuerpos que pueden llevarse a cabo.

20 A modo de ejemplo, se mencionan las posibilidades de sustitución que pueden llevarse a cabo sin resultar en una modificación profunda de la actividad biológica del anticuerpo modificado correspondiente. Es posible entonces reemplazar leucina por valina o isoleucina, ácido aspártico por ácido glutámico, glutamina por asparagina, arginina por lisina, etc.; las sustituciones inversas son naturalmente posibles en las
25 mismas condiciones.

 En un segundo aspecto, un sujeto de la presente invención es un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de dichos fragmentos es capaz de unirse específicamente al receptor I del factor de crecimiento humano similar a la insulina y, si es necesario, preferentemente capaz, además, de
30 inhibir la unión natural de los ligandos IGF1 y/o IGF2 de IGF-IR y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de la mencionada IGF-IR, caracterizado por comprender una cadena liviana que comprende al menos una región determinante de

complementariedad CDR elegida entre las CDR de las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 7, 8 y 9, o por lo menos una CDR cuya secuencia tenga al menos una identidad del 80%, preferentemente 85%, 90%, 95% y 98%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 7, 8 y 9, o que comprenda una cadena pesada que comprenda por lo menos una CDR elegida entre las CDR de las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 10, 11 y 12, o por lo menos una CDR cuya secuencia tenga al menos una identidad del 80%, preferentemente 85%, 90%, 95% y 98%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 10, 11 y 12.

10 En la especificación siguiente, este anticuerpo se denominará 12D5.

En un tercer aspecto, un sujeto de la presente invención es un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de dichos fragmentos es capaz de unirse específicamente al receptor I del factor de crecimiento humano similar a la insulina y, si es necesario, preferentemente capaz, además, de inhibir la unión natural de los ligandos IGF1 y/o IGF2 de IGF-IR y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de la mencionada IGF-IR, caracterizado por comprender una cadena liviana que comprende al menos una región determinante de complementariedad (CDR) elegida entre las CDR de las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 13, 14 y 15, o por lo menos una CDR cuya secuencia tenga al menos una identidad del 80%, preferentemente 85%, 90%, 95% y 98%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 13, 14 y 15, o porque comprende una cadena pesada que comprende por lo menos una CDR elegida entre las CDR de las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 16, 17 y 18, o por lo menos una CDR cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, preferentemente 85%, 90%, 95% y 98%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 16, 17 y 18.

En la especificación siguiente, este anticuerpo se denominará 2D10.

Por último, en otro aspecto, un sujeto de la presente invención es un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, capaz de unirse específicamente al receptor I del factor de crecimiento humano similar a la insulina y, si es necesario, preferentemente capaz, además, de inhibir la unión natural de los ligandos IGF1 y/o IGF2 de IGF-IR y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de la

mencionada IGF-IR, caracterizado por consistir en el anticuerpo 21E3 y registrado en el CNCM como se menciona subsiguientemente.

Los anticuerpos según esta invención, 13F5, 12D5, 2D10 y 21E3 son preferentemente anticuerpos monoclonales, especialmente de origen murino, quimérico
5 o humanizado, que pueden obtenerse de acuerdo a métodos estandarizados bien conocidos para el experto en la técnica.

En general, para la preparación de anticuerpos monoclonales o sus fragmentos funcionales, especialmente de origen murino, es posible referirse a las técnicas que han sido descriptas en particular en el manual "Antibodies" (Harlow y Lane, Antibodies: A
10 Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor NY, pp. 726, 1988) o a la técnica de preparación a partir de hibridomas descripta por Kohler y Milstein (Nature, 256:495-497, 1975).

Los anticuerpos monoclonales según esta invención pueden obtenerse, por ejemplo, a partir de una célula animal inmunizada contra el IGF-IR, o uno de sus
15 fragmentos, el cual contenga el epítipo reconocido específicamente por los anticuerpos monoclonales de esta invención ya mencionados. Dicho IGF-IR, o uno de sus fragmentos, puede ser producido especialmente según los métodos de trabajo usuales, por recombinación genética, comenzando con una secuencia de ácidos nucleicos contenida en la secuencia de ADNc que codifica para el IGF-IR, o mediante la síntesis
20 del péptido, comenzando a partir de una secuencia de aminoácidos incluida en la secuencia de péptido correspondiente al IGF-IR.

Los anticuerpos monoclonales según esta invención pueden purificarse, por ejemplo, en una columna de afinidad en la cual el IGF-IR o uno de sus fragmentos, el cual contenga el epítipo reconocido específicamente por los anticuerpos monoclonales
25 de esta invención ya mencionados, haya sido inmovilizado previamente. Particularmente, los anticuerpos monoclonales mencionados pueden ser purificados por cromatografía en proteína A y/o G, seguido o no por cromatografía de intercambio iónico, con la finalidad de eliminar los contaminantes proteicos residuales, tales como el ADN y la LPS, a su vez seguido, o no, por cromatografía de exclusión en gel de
30 Sefarosa, con el fin de eliminar los potenciales agregados, debidos a la presencia de dímeros u otros multimeros. En una modalidad aún más preferida, todas estas técnicas pueden ser usadas simultánea o sucesivamente.

Los anticuerpos quiméricos o humanizados son igualmente incluidos en anticuerpos de acuerdo con la presente invención.

Por anticuerpo quimérico se entiende un anticuerpo que contiene una región variable natural (de cadena pesada y liviana) derivada de un anticuerpo de una especie determinada, en combinación con las regiones constantes de cadenas pesada y liviana de un anticuerpo de una especie heteróloga de la especie mencionada en primer término.

Los anticuerpos de tipo quimérico o sus fragmentos según esta invención pueden prepararse usando recombinación genética. Por ejemplo, el anticuerpo de tipo quimérico puede producirse a partir de la clonación de un ADN recombinante que contiene un promotor y una secuencia que codifica para la región variable de un anticuerpo monoclonal de una especie no humana, preferentemente murina, según esta invención, y una secuencia que codifica para la región constante de un anticuerpo humano. Un anticuerpo quimérico de esta invención codificado por este gen recombinante será por ejemplo una quimera ratón-hombre, la especificidad de este anticuerpo está determinada por la región variable derivada del ADN murino, y estando su isotipo determinado por la región constante derivada del ADN humano. Para los métodos de preparación de anticuerpos quiméricos es posible referirse, por ejemplo, al documento de Verhoeven et al. (BioEssays, 8:74, 1988).

Por anticuerpo humanizado se entiende un anticuerpo que contiene regiones CDR derivadas de un anticuerpo de origen no humano, mientras que las otras partes de la molécula de anticuerpo derivan de uno (o varios) anticuerpos humanos. Más aún, algunos de los residuos de los segmentos del esqueleto (llamados FR) pueden modificarse con el fin de conservar la afinidad de la unión (Jones et al., Nature, 321:522-525, 1986; Verhoeven et al., Science, 239:1534-1536, 1988; Riechmann et al., Nature, 332:323-327, 1988).

Los anticuerpos humanizados según esta invención, o sus fragmentos, pueden prepararse mediante técnicas conocidas para el experto en la técnica, como las descritas por ejemplo en Singer et al., J. Immun. 150:2844-2857, 1992; Mountain et al., Biotechnol. Genet. Eng. Rev., 10:1-142, 1992; o Bebbington et al., Bio/Technology, 10:169-175, 1992). Tales anticuerpos humanizados según la invención son los preferidos para su uso en métodos de diagnóstico *in vitro*, o bien en tratamiento profiláctico o terapéutico *in vivo*.

Por fragmento funcional según esta invención, se entiende en particular un fragmento de anticuerpo, tal como Fv, scFv (sc por simple cadena), Fab, F(ab')₂, Fab', fragmentos scFv-Fc o di-anticuerpos", o cualquier fragmento cuyo tiempo de vida media haya sido incrementado por modificación química, como el agregado de poli(alquilén)glicol tales como poli(etilén)glicol ("PEGilación") (los fragmentos pegilados se denominan Fv-PEG, scFv-PEG, Fab-PEG, F(ab')₂-PEG o Fab'-PEG, donde PEG es polietilén glicol), o por incorporación en un liposoma, dichos fragmentos tienen por lo menos una de las CDRs características de las secuencias SEQ ID No. 1 a 6, 7 a 12 o 13 a 18 según esta invención, y especialmente porque son capaces de ejercer de una manera general aunque sea una actividad parcial del anticuerpo a partir del cual descende, como por ejemplo, particularmente la capacidad de reconocer y de unirse al IGF-IR y, si es necesario, inhibir la actividad del IGF-IR.

Preferentemente, dichos fragmentos funcionales estarán constituidos o comprenderán una secuencia parcial de la cadena variable pesada o liviana del anticuerpo del cual derivan, siendo dicha secuencia parcial suficiente para retener la misma especificidad de unión que la del anticuerpo del cual descende y una afinidad suficiente, preferiblemente por lo menos igual a 1/100, más preferiblemente hasta por lo menos 1/10 de aquélla del anticuerpo del cual descende, con respecto al IGF-IR. Tal fragmento funcional contendrá por lo menos 5 aminoácidos, preferentemente 10, 15, 25, 50 y 100 aminoácidos consecutivos de la secuencia del anticuerpo del cual descende.

Preferentemente, estos fragmentos funcionales serán fragmentos de Fv, scFv, Fab, F(ab')₂, F(ab'), de tipo scFv-Fc o di-anticuerpos), los que generalmente tienen la misma especificidad de unión que los anticuerpos de los que descienden. Según la presente invención, los fragmentos de anticuerpo de la invención pueden obtenerse comenzando a partir de anticuerpos como los descritos arriba, por métodos tales como la digestión por enzimas, como pepsina o papaína, y/o por ruptura de puentes disulfuro mediante reducción química. En otro procedimiento, los fragmentos de anticuerpo comprendidos en esta invención pueden obtenerse por técnicas de recombinación genética, también bien conocidas por el experto, o por otra parte, por ejemplo por medio de sintetizadores automáticos de péptidos como los suministrados por la compañía Applied Biosystems, etc.

H 20

En particular, la invención comprende los anticuerpos, o sus fragmentos funcionales, según la presente invención, especialmente anticuerpos quiméricos o humanizados, obtenidos por recombinación genética o por síntesis química.

5 Según una primera aproximación, el anticuerpo será definido por la secuencia de cadena pesada.

En un primer método preferido, la presente invención se refiere a un anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, de acuerdo a la invención, caracterizado por incluir una cadena pesada que incluye al menos dos de los tres CDRs o las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 4 a 6, o por lo menos dos de las tres CDRs o las tres CDRs
10 de una secuencia que tenga respectivamente al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 4 a 6.

En un segundo método preferido, la presente invención se refiere a un anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, de acuerdo con la invención, caracterizado porque comprende una cadena pesada que incluye al menos dos de las tres
15 CDRs o las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 10 a 12, o por lo menos dos de las tres CDRs o los tres CDRs de una secuencia que respectivamente tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 10 a 12.

En un tercer método preferido, la presente invención se refiere a un anticuerpo o
20 uno de sus fragmentos funcionales, de acuerdo a la invención, caracterizado por incluir una cadena pesada que incluye al menos dos de las tres CDRs o las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 16 a 18, o por lo menos dos de las tres CDRs o las tres CDRs de una secuencia que tiene respectivamente al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias SEQ ID números 16 a 18.

25 Según una segunda aproximación, el anticuerpo será ahora definido por la secuencia de la cadena liviana.

En una primera realización también preferida, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, según la invención, está caracterizado porque comprende una cadena liviana que incluye al menos una CDR elegida entre las CDRs de las secuencias
30 SEQ ID Nos. 1 a 3, o una CDRs cuya secuencia tenga al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 1 a 3.

21

En una segunda realización, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, según la invención, está caracterizado porque comprende una cadena liviana que incluye al menos una CDR elegida entre las CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 7 a 9, o una CDR cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 7 a 9.

En una tercera realización preferida, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, según la invención, está caracterizado porque comprende una cadena liviana que incluye al menos una CDR elegida entre las CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 13 a 15, o una CDR cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 13 a 15.

Según una tercera aproximación, el anticuerpo será ahora definido por las secuencias de las cadenas pesada y liviana.

En un primer método preferido, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, según la invención, está caracterizado porque comprende una cadena pesada que incluye las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 4 a 6, o tres CDRs cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 4 a 6, y además porque comprende además una cadena liviana que incluye las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 1 a 3, o tres CDRs cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 1 a 3.

En un segundo método preferido, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, según la invención, está caracterizado porque comprende una cadena pesada que incluye las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 10 a 12, o tres CDRs cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 10 a 12, y además porque comprende una cadena liviana que incluye las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 7 a 9, o tres CDRs cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 7 a 9.

En un tercer método preferido, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, según la invención, está caracterizado porque comprende una cadena pesada que incluye las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 16 a 18, o tres CDRs

23 22

cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 16 a 18, y además porque comprende una cadena liviana que incluye las tres CDRs de las secuencias SEQ ID Nos. 13 a 15, o tres CDRs cuya secuencia tiene al menos una identidad del 80%, después de una alineación óptima, con las secuencias de aminoácidos SEQ ID números 13 a 15.

En otra realización preferida, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales según la invención y denominado 13F5, está caracterizado porque comprende una cadena pesada que incluye la secuencia SEQ ID No. 20, y además porque comprende una cadena liviana cuya secuencia incluye la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 19.

10 En otra realización preferida, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales según la invención y denominado 12D5, está caracterizado porque comprende una cadena pesada que incluye la secuencia SEQ ID No. 22 o 23, y además porque comprende además una cadena liviana cuya secuencia comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 21.

15 En otra realización preferida, el anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales según la invención y denominado 2D10, está caracterizado porque comprende una cadena pesada que incluye la secuencia SEQ ID No. 25, y además porque comprende una cadena liviana cuya secuencia incluye la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 24.

Otra posibilidad, parte de la presente invención, es un anticuerpo en el cual las tres CDRs de la cadena pesada están elegidas al azar entre el grupo que incluye las CDRs de 13F5, 12D5 y 2D10, y en el cual las tres CDRs de la cadena liviana están también elegidas al azar dentro del grupo que incluye las CDRs de 13F5, 12D5 y 2D10.

Según otro aspecto, el sujeto de la siguiente invención es un anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, según la invención, caracterizado porque no se une o no se une de manera significativa al receptor de la insulina humana, IR.

En un método preferido, estos fragmentos funcionales según la presente invención, se elegirán entre los fragmentos de Fv, scFv, Fab, F(ab')₂, Fab', scFv-Fc o di-anticuerpos, o cualquier fragmento funcional cuyo tiempo de vida media haya sido incrementado por modificación química, especialmente por pegilación, o por incorporación en un liposoma.

Según otro aspecto, la siguiente invención tiene que ver con hibridoma murino capaz de secretar anticuerpos monoclonales según la presente invención, especialmente

24/23

hibridoma de origen murino como el que está depositado en el Centre National de Culture De Microorganisme (CNCM, Centro Nacional de Cultivo de Microorganismos) (Institut Pasteur, Paris, Francia).

5 El anticuerpo monoclonal aquí denominado 13F5 o uno de sus fragmentos funcionales, caracterizado porque es secretado por el hibridoma depositado en el CNCM el 25/03/2004 bajo el número CNCM I-3193 es, por supuesto, parte de la presente invención. Este hibridoma consiste en un hibridoma murino resultante de la fusión celular de esplenocitos de ratón inmunizado con una línea celular de mieloma (Sp20 Ag14).

10 El anticuerpo monoclonal aquí denominado 12D5 o uno de sus fragmentos funcionales, caracterizado por ser secretado por el hibridoma depositado en el CNCM el 08/04/2004 bajo el número CNCM I-3195 es, por supuesto, parte de la presente invención. Este hibridoma consiste en un hibridoma murino resultante de la fusión celular de esplenocitos de ratón inmunizado con una línea celular de mieloma (Sp20 Ag14).

15 El anticuerpo monoclonal aquí denominado 2D10 o uno de sus fragmentos funcionales, caracterizado porque es secretado por el hibridoma depositado en el CNCM el 13/03/2004 bajo el número CNCM I-3214 es, por supuesto, parte de la presente invención. Este hibridoma también consiste en un hibridoma murino resultante de la fusión celular de esplenocitos de ratón inmunizado con una línea celular de mieloma (Sp20 Ag14).

20 El anticuerpo monoclonal aquí denominado 21E3 o uno de sus fragmentos funcionales, caracterizado porque es secretado por el hibridoma depositado en el CNCM el 1ro de julio de 2004 bajo el número CNCM I-3249 es, por supuesto, parte de la presente invención. Este hibridoma también consiste en un hibridoma murino resultante de la fusión celular de esplenocitos de ratón inmunizado con una línea celular de mieloma (Sp20 Ag14).

25 Según un aspecto también particular, la presente invención se refiere a un anticuerpo quimérico, o uno de sus fragmentos funcionales según la invención, caracterizado porque dicho anticuerpo además incluye las regiones constantes de las cadenas pesada y liviana derivadas de un anticuerpo de una especie heteróloga del ratón, especialmente el hombre, y de una manera preferencial, porque las regiones constantes

27 29

de la cadena liviana y pesada derivadas de un anticuerpo humano son respectivamente de las regiones kappa y gamma-1, gamma-2 o gamma-4.

Según un aspecto novedoso, la presente invención se refiere a un ácido nucleico aislado caracterizado porque es elegido dentro de los siguientes ácidos nucleicos:

- 5 a) un ácido nucleico, ADN o ARN, que codifica para un anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales según la invención,
- b) un ácido nucleico complementario de un ácido nucleico como el definido en a).

10 Por ácido nucleico, secuencia de nucleicos o de ácidos nucleicos, polinucleótido, oligonucleótido, secuencia de polinucleótidos, secuencia de nucleótidos, términos que se emplearán indistintamente en esta invención, se entiende una conectividad precisa de nucleótidos modificados o no modificados, que permiten definir un fragmento o región de ácidos nucleicos, que contiene o no nucleótidos no naturales, y que es capaz de corresponder tan correctamente a un ADN de doble cadena, a un ADN de simple

15 cadena, como los productos de transcripción de dichos ADNs.

 También debe comprenderse aquí que la presente invención no tiene que ver con las secuencias de nucleótidos en sus entornos cromosómicos naturales, es decir, en su estado natural. Se refiere a secuencias que han sido aisladas y/o purificadas, es decir, que han sido seleccionadas directa o indirectamente, por ejemplo mediante copia,

20 habiéndoseles modificado el entorno, al menos parcialmente. También queremos indicar aquí, entonces, los ácidos nucleicos aislados, obtenidos por recombinación genética por medio, por ejemplo, de células huésped u obtenidos por síntesis química.

 La hibridación en condiciones muy rigurosas significa que las condiciones de temperatura y de fuerza iónica se eligen de tal manera de permitir que se mantenga la

25 hibridación entre dos fragmentos complementarios de ADN. A modo de ilustración, las siguientes son las condiciones muy rigurosas que se usan ventajosamente para el paso de hibridación que cumple el propósito de definir los fragmentos de polinucleótido que se describen más arriba:

 La hibridación ADN-ADN o ARN-ADN se lleva a cabo en dos pasos: (1)

30 prehibridación a 42°C durante 3 horas en solución reguladora de fosfato (20 mM, pH 7,5) que contiene 5 x SSC (1 x SSC corresponde a una solución 0,15 M NaCl + 0,015 M citrato de sodio), 50% formamida, 7% de dodecilsulfato de sodio (SDS), 10 x solución

25

de Denhardt, 5% sulfato dextrano, y 1% de ADN de esperma de salmón; (2) hibridación real durante 20 horas a una temperatura dependiente del tamaño de la molécula (i.e.: 42°C, para un tamaño de > 100 nucleótidos) seguido por 2 lavados de 20 minutos a 20°C, en 2 x SSC + 2% SDS, 1 lavado de 20 minutos a 20°C, en 0,1 x SSC + 0,1% SDS. El último lavado se lleva a cabo en 0,1 x SSC + 0,1% SDS durante 30 minutos a 60°C para un tamaño de molécula de más de 100 nucleótidos. Las condiciones muy rigurosas de hibridación, descritas arriba para un polinucleótido de tamaño definido pueden ser adaptadas por el experto en la técnica para oligonucleótidos de mayor o menor tamaño, de acuerdo con las instrucciones de Sambrook et al. (1989, Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd Ed. Cold Spring Harbor).

La invención se refiere igualmente a un vector que comprende un ácido nucleico según la presente invención.

La invención apunta especialmente a vectores de clonado y/o vectores de expresión que contienen una secuencia nucleotídica según la invención.

Los vectores según la invención contienen preferentemente elementos que permiten la expresión y/o la secreción de las secuencias nucleotídicas en una célula huésped determinada. Por lo tanto, el vector debe contener un promotor, señales de iniciación y terminación de la traducción, así como regiones apropiadas de regulación de la transcripción. Debe poderse mantener de manera estable en la célula huésped y puede opcionalmente tener señales particulares que especifiquen la secreción de la proteína traducida. Estos diferentes elementos son elegidos y optimizados por el experto en función de la célula huésped utilizada. A este efecto, las secuencias nucleotídicas según la invención pueden ser insertadas en vectores de replicación autónoma en el huésped elegido, o ser vectores integrantes del huésped elegido.

Tales vectores son preparados por métodos de uso corriente utilizados por el experto en la técnica, y los clones resultantes pueden ser introducidos en un huésped apropiado por métodos estandarizados, como lipofección, electroporación, shock térmico, o métodos químicos.

Los vectores según la invención son, por ejemplo, vectores de origen plasmídico o viral. Estos vectores son útiles para transformar células huésped con el objeto de clonar o expresar las secuencias nucleotídicas de acuerdo con la invención.

2X 20

La invención comprende igualmente las células huésped transformadas por un vector o que comprenden un vector de acuerdo con la invención.

La célula huésped puede ser elegida a partir de un sistema procariótico o eucariótico, por ejemplo células bacterianas, aunque igualmente se pueden utilizar células de levadura o células animales, en particular de mamífero. Es igualmente posible utilizar células de insectos o células vegetales.

La invención se refiere igualmente animales, a excepción del hombre, que comprenden al menos una célula transformada según la invención.

Según otro aspecto de la invención, un sujeto de la misma lo constituye un proceso para la producción de un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales según la invención, caracterizado dicho proceso porque comprende las siguientes etapas:

- a) cultivo en un medio y en condiciones de cultivo apropiadas de una célula huésped de acuerdo con la invención; y
- b) la recuperación de los dichos anticuerpos, o uno de sus fragmentos funcionales así producidos a partir del medio de cultivo o de dichas células cultivadas.

Las células transformadas según la invención pueden ser utilizadas en procesos para la preparación de polipéptidos recombinantes según la invención. Los procesos para la preparación de un polipéptido según la invención en forma recombinante, caracterizados porque emplean un vector y/o una célula transformada por un vector según la invención, están en sí mismos comprendidos en la presente invención. Preferentemente, una célula transformada por un vector según la invención es cultivada bajo condiciones que permiten la expresión de dicho polipéptido y dicho péptido recombinante es entonces recuperado.

Como se ha dicho, la célula huésped puede ser elegida a partir de un sistema procariótico o eucariótico. En particular, es posible identificar secuencias nucleotídicas según la invención, facilitando la secreción en tal sistema procariótico o eucariótico. Un vector según la invención que lleva tal secuencia puede entonces ser ventajosamente utilizado para la producción de proteínas recombinantes, que se pretende secretar. En efecto, la purificación de estas proteínas recombinantes de interés estará facilitada por el hecho de que éstas están presentes en el sobrenadante del cultivo celular, más que en el interior de las células hospedadoras.

27

Es igualmente posible preparar los polipéptidos según la invención por síntesis química. Tal proceso de preparación es igualmente sujeto de la invención. El experto en la técnica conoce los procesos de la síntesis química, por ejemplo las técnicas que emplean fases sólidas (ver especialmente Steward et al., 1984, Solid phase peptide synthesis, Pierce Chem. Company, Rockford, 111, 2nd ed.) o técnicas que emplean fases sólidas parciales, por condensación de fragmentos o por una síntesis clásica en solución. Los polipéptidos obtenidos por síntesis química y que son capaces de contener los aminoácidos no naturales correspondientes están igualmente comprendidos en la invención.

10 Los anticuerpos, o uno de sus fragmentos funcionales, capaces de ser obtenidos por un proceso según la invención están igualmente comprendidos en la presente invención.

De acuerdo con una segunda realización, la presente invención se refiere a un anticuerpo según la invención tal como fue descrito más ampliamente arriba, 15 caracterizado por ser, además, capaz de unirse específicamente al receptor del factor de crecimiento epidérmico humano EGFR y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho EGFR.

La invención se refiere igualmente a una composición farmacéutica que comprende, a modo de principio activo, un compuesto consistente en un anticuerpo, o 20 uno de sus fragmentos funcionales según la invención, preferentemente combinado con un excipiente y/o un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Otra realización complementaria de la invención consiste en una composición tal como la descrita más arriba que comprende, además, como un producto de combinación para uso simultáneo, separado o secuencial, un agente 25 citotóxico/citostático y/o un inhibidor de la actividad tirosin-quinasa respectivamente de los receptores para IGF-I y/o para EGF.

"Uso simultáneo" se entiende como la administración de los dos compuestos de la composición según la invención en una sola e idéntica forma farmacéutica.

30 "Uso separado" se entiende como la administración, al mismo tiempo, de los dos compuestos de la composición según la invención en distintas formas farmacéuticas.

"Uso secuencial" se entiende como la administración sucesiva de los dos compuestos de la composición según la invención, cada uno en una forma farmacéutica distinta.

De una manera general, la composición según la invención aumenta
5 considerablemente la eficacia del tratamiento contra el cáncer. En otras palabras, el efecto terapéutico de los anticuerpos anti-IGF-IR según la invención se potencia de una manera inesperada por la administración de un agente citotóxico. Otra ventaja subsiguiente de magnitud producida por una composición según la invención consiste en la posibilidad de usar dosis eficaces más bajas de principio activo, lo que permite
10 evitar o reducir los riesgos de aparición de efectos secundarios, en particular los efectos del agente citotóxico.

Además, esta composición según la invención permitiría alcanzar el efecto terapéutico esperado más rápidamente.

En una realización particularmente preferencial, dicha composición, como
15 producto de combinación según la invención se caracteriza porque dicho agente citotóxico/citostático se elige entre los agentes que interactúan con el ADN, los antimetabolitos, los inhibidores de topoisomerasa I o II, o incluso el inhibidor del huso o agentes estabilizadores, o también cualquier agente capaz de ser usado en quimioterapia. Tales agentes citotóxicos/citostáticos, para cada una de las clases antes
20 mencionadas de agentes citotóxicos, por ejemplo, son citados en la edición 2001 de VIDAL, en la página dedicada a los compuestos vinculados con la columna de oncología y hematología "Citotóxicos", estos compuestos citotóxicos citados con referencia a este documento son citados aquí como agentes citotóxicos preferenciales.

En una realización particularmente preferencial, dicha composición como
25 producto de combinación según la invención se caracteriza porque dicho agente citotóxico está acoplado químicamente a dicho anticuerpo para uso simultáneo.

En una realización particularmente preferencial, dicha composición según la invención se caracteriza porque dicho agente citotóxico/citostático es elegido entre el inhibidor del huso o agentes estabilizadores, preferentemente vinorelbina y/o vinflunina
30 y/o vincristina.

Para facilitar el acoplamiento entre dicho agente citotóxico y dicho anticuerpo según la invención, es especialmente posible introducir moléculas espaciadoras entre los

dos componentes que deben ser acoplados, tales como poli(alquilén)glicoles como el polietilén glicol, o incluso aminoácidos, o, en otra realización, utilizar derivados activos de dichos agentes citotóxicos dentro de los cuales se habrían introducido funciones capaces de reaccionar con dicho anticuerpo según la invención. Estas técnicas de acoplamiento son bien conocidas por el experto en la técnica y no serán desarrolladas en la presente descripción.

En otra realización preferencial, dicho inhibidor de la actividad tirosin-quinasa de los receptores para IGF-I es seleccionado a partir del grupo consistente en agentes naturales derivados, dianilinoftalimidas, pirazolo- o pirrolopiridopirimidinas o incluso quinazilinas. Tales agentes inhibidores son bien conocidos por el experto en la técnica y descritos en la bibliografía (Ciardiello F., Drugs 2000, Suppl. 1, 25-32).

De acuerdo con otra realización de la invención, la composición tal como se la describe más arriba puede igualmente comprender otro compuesto de anticuerpo dirigido contra el dominio extracelular del receptor HER2/neu, como un producto de combinación para uso simultáneo, separado o secuencial, destinado a la prevención y al tratamiento del cáncer, especialmente de aquellos que sobreexpresan dicho receptor HER2/neu y el receptor IGF-IR, especialmente, el cáncer de mama.

Se puede hacer especial referencia a las publicaciones de Albanell et al. (J. of the National Cancer Institute, 93(24):1830-1831, 2001) y de Lu et al. (J. of the National Cancer Institute, 93(24):1852-1857, 2001), que justifican el inesperado interés de combinar un anticuerpo anti-HER2/neu con un anticuerpo anti-IGF-IR según la presente invención.

De modo particular, dicho anticuerpo anti-HER2/neu de la composición según la invención es el anticuerpo llamado Trastuzumab (también llamado Herceptin®).

La invención se refiere, en otro aspecto, a una composición caracterizada porque, al menos, uno de dichos anticuerpos, o uno de sus fragmentos funcionales; está conjugado con una toxina celular y/o con un radioelemento.

Preferentemente, dicha toxina o dicho radioelemento es capaz de inhibir al menos una actividad celular de las células que expresan el IGF-IR; más preferentemente, de evitar el crecimiento o la proliferación de dicha célula, y especialmente de inactivar totalmente dicha célula.

Preferentemente, también, dicha toxina es una toxina enterobacteriana, especialmente la exotoxina A de *Pseudomonas*.

Los radioelementos (o radioisótopos) preferentemente conjugados con los anticuerpos empleados para la terapia son radioisótopos que emiten rayos gamma y, preferentemente Iodo¹³¹, Ytrio⁹⁰, Oro¹⁹⁹, Paladio¹⁰⁰, Cobre⁶⁷, Bismuto²¹⁷ y Antimonio²¹¹. Los radioisótopos que emiten rayos alfa y beta pueden igualmente ser empleados para la terapia.

Por toxina o radioelemento conjugado con un anticuerpo como mínimo, o uno de sus fragmentos funcionales, según la invención, se pretende indicar cualquier medio que permita a dicha toxina o a dicho radioelemento unirse a dicho anticuerpo, especialmente a través de un enlace covalente entre los dos componentes, con o sin la introducción de una molécula de unión.

Entre los agentes que permiten la unión de un modo químico (covalente), electrostático o no covalente de todos o parte de los componentes del conjugado, se puede mencionar especialmente la benzoquinona, la carbodiimida y más particularmente EDC (clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]-carbodiimida), dimaleimida, ácido ditiobis-nitrobenzoico (DTNB), N-succinimidil S-acetil tio-acetato (SATA); teniendo estas moléculas puente uno o más grupos fenilazida que reaccionan con los ultravioletas (U.V.) y preferentemente N-[4-(azidosalicilamino)butil]-3'-(2'-piridilditio)-propionamida (APDP), N-succinimidyl 3-(2-piridilditio)propionato (SPDP), 6-hidracino-nicotinamida (HYNIC).

Otra forma de enlace, especialmente para los radioelementos, puede consistir en el uso de un quelante de iones bifuncional.

Entre estos quelatos es posible mencionar los quelatos derivados del EDTA (ácido etilen- diamin- tetraacético) o del DTPA (ácido dietilen-triamin-pentaacético) que han sido desarrollados para ligar metales, especialmente metales radiactivos, e inmunoglobulinas. Así, el DTPA y sus derivados pueden ser sustituidos con diferentes grupos en su cadena de carbonos con el objeto de aumentar la estabilidad y la rigidez del complejo ligando-metal (Krejcarek et al., 1977; Brechbiel et al., 1991; Gansow, 1991; patente US 4,831,175).

Por ejemplo el ácido dietilen-triamin-pentaacético (DTPA) y sus derivados, que han sido ampliamente usados en medicina y en biología durante largo tiempo tanto en

32/31

su forma libre como en forma de complejo con un ion metálico, tienen la notable característica de formar quelatos estables con iones metálicos y de ser acoplados con proteínas de interés diagnóstico o terapéutico, tales como anticuerpos, para el desarrollo de radioinmunoconjugados en la terapia del cáncer (Meases et al., 1984; Gansow et al., 5 1990).

También preferentemente, dicho (al menos un) anticuerpo que forma dicho conjugado según la invención es elegido a partir de sus fragmentos funcionales, especialmente los fragmentos amputados de su componente Fc, como por ejemplo, los fragmentos scFv.

10 La presente invención comprende además, el empleo de la composición según la invención para la preparación de un medicamento.

Más particularmente, de acuerdo con otra realización de la invención, esta última se refiere al empleo de un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, y/o de una composición, para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al 15 tratamiento de una enfermedad inducida por una sobreexpresión y/o una activación anormal del receptor de IGF-I, y/o relacionada con una hiperactivación de la vía de transducción de la señal mediada por la interacción del 1-IGF1 o IGF2 con IGF-IR.

Preferentemente, dicho empleo según la invención se caracteriza porque la administración de dicho medicamento no induce o induce sólo levemente efectos 20 secundarios relacionados con la inhibición del receptor de insulina IR, es decir la inhibición de la interacción del IR con sus ligandos naturales debido a la presencia de dicho medicamento, especialmente por una inhibición competitiva relacionada con la unión de dicho medicamento al IR.

La presente invención comprende además, el empleo de un anticuerpo, o uno de 25 sus fragmentos funcionales, preferentemente humanizado, y/o de una composición según la invención, para la preparación de un medicamento destinado a inhibir la transformación de células normales en células de carácter tumoral, preferentemente IGF-dependientes, y especialmente IGF1- y/o IGF2-dependientes.

La presente invención se refiere igualmente al empleo de un anticuerpo, o de 30 uno de sus fragmentos funcionales, preferentemente humanizado, y/o de una composición según la invención, para la preparación de un medicamento destinado a

inhibir el crecimiento y/o la proliferación de células tumorales, preferentemente IGF-dependientes, y especialmente IGF1- y/o IGF2-dependientes.

De un modo general, un sujeto de la presente invención es el empleo de un anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, preferentemente humanizado, y/o de una composición según la invención, para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento del cáncer, preferentemente de aquellos que expresan IGF-IR y/o de aquellos que presentan una hiperactivación de la vía de transducción de la señal mediada por la interacción de IGF1 o IGF2 con IGF-IR, tales como, por ejemplo, la sobreexpresión de IRS1.

Es igualmente sujeto de la presente invención el empleo de un anticuerpo o de uno de sus fragmentos funcionales, preferentemente humanizado, y/o de una composición según la invención, para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento de la psoriasis, psoriasis cuya hiperproliferación epidérmica pueda estar relacionada con la expresión o la sobreexpresión de IGF-IR y/o con la hiperactivación de la vía de transducción de la señal mediada por la interacción de IGF-IR con sus ligandos naturales (Wright C.J. et al., Nat. Biotechnol., 2000, 18(5):521-526. Reversal of epidermal hyperproliferation in psoriasis by insulin-like growth factor I receptor antisense oligonucleotides). Según otra realización, es objeto de la invención el empleo de un anticuerpo o de uno de sus fragmentos funcionales, preferentemente humanizado, y/o de una composición según la invención, para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento de la aterosclerosis.

Entre los cánceres que pueden ser prevenidos y/o tratados, se encuentran preferentemente el cáncer de próstata, los osteosarcomas, el cáncer de pulmón, el cáncer de mama, el cáncer de endometrio, el cáncer de colon o cualquier otro cáncer que presente sobreexpresión de IGF-IR.

De acuerdo con otro aspecto, otro sujeto de la presente invención lo constituye un método de diagnóstico, preferentemente *in vitro*, de enfermedades relacionadas con una sobreexpresión o una subexpresión, preferentemente una sobreexpresión, del receptor de IGF-I, a partir de una muestra biológica en la cual se sospecha la presencia anormal del receptor de IGF-I; caracterizado éste método porque dicha muestra biológica es puesta en contacto con un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales,

3433

según la invención, haciendo posible que dicho anticuerpo sea marcado, si fuese necesario.

Preferentemente, dichas enfermedades relacionadas con la sobreexpresión del receptor de IGF-I en dicho método de diagnóstico serán cánceres.

5 En otra realización particular, los anticuerpos según la invención pueden también ser empleados para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de enfermedades relacionadas no solamente con la sobreexpresión del IGF-IR sino también con la sobreexpresión del Híbrido-R.

10 Más particularmente, el anticuerpo según la invención se caracteriza por ser también capaz de unirse al híbrido-R, isoforma(s) A y/o B, e inhibir la unión de sus ligandos naturales, preferentemente designados aquí como IGF1 y/o IGF2 y/o insulina; y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa del dicho híbrido-R.

Dicho anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, puede estar presente bajo la forma de un inmunoconjugado o de un anticuerpo marcado de tal manera de
15 obtener una señal detectable y/o cuantificable.

Los anticuerpos marcados según la invención o sus fragmentos funcionales incluyen, por ejemplo, anticuerpos llamados inmunoconjugados que pueden ser conjugados, por ejemplo, con enzimas tales como peroxidasa, fosfatasa alcalina, α -D-galactosidasa, glucosa oxidasa, glucosa amilasa, anhidrasa carbónica, acetilcolinesterasa, lisozima, malato deshidrogenasa o glucosa 6-fosfato deshidrogenasa,
20 o con una molécula como la biotina, digoxigenina, o 5-bromodeoxiuridina. Igualmente pueden conjugarse marcadores fluorescentes con los anticuerpos o con sus fragmentos funcionales según la invención, e incluir especialmente la fluoresceína y sus derivados, fluorocromo, rodamina y sus derivados, GFP (GFP por "Green Fluorescent Protein"), dansilo, umbeliferona etc. En tales conjugados, los anticuerpos de la invención o sus
25 fragmentos funcionales pueden ser preparados por métodos conocidos por el experto en la técnica. Pueden ser acoplados a las enzimas o a los marcadores fluorescentes directamente o por intermedio de un grupo espaciador o de un grupo de unión tal como un polialdehído, como glutaraldehído, ácido etilen-diamin-tetraacético (EDTA), ácido dietilen-triamin-pentaacético (DPTA), o en presencia de agentes de acoplamiento tales
30 como los mencionados más arriba para los conjugados terapéuticos. Los conjugados que

3734

contienen marcadores de tipo fluoresceína pueden ser preparados por reacción con un isotiocianato.

Otros conjugados pueden igualmente incluir marcadores quimioluminiscentes como el luminol y los dioxetanos, marcadores bio-luminiscentes como luciferina y luciferasa, o incluso marcadores radiactivos como Iodo¹²³, Iodo¹²⁵, Iodo¹²⁶, Iodo¹³³, Bromo⁷⁷, Tecnecio^{99m}, Indio¹¹¹, Indio^{113m}, Galio⁶⁷, Galio⁶⁸, Rutenio⁹⁵, Rutenio⁹⁷, Rutenio¹⁰³, Rutenio¹⁰⁵, Mercurio¹⁰⁷, Mercurio²⁰³, Renio^{99m}, Renio¹⁰¹, Renio¹⁰⁵, Escandio⁴⁷, Teluro^{121m}, Teluro^{122m}, Teluro^{125m}, Tulio¹⁶⁵, Tulio¹⁶⁷, Tulio¹⁶⁸, Flúor¹⁸, Ytrio¹⁹⁹, Iodo¹³¹. Los métodos, conocidos por el experto en la técnica, ya existentes para acoplar los radioisótopos terapéuticos a los anticuerpos tanto directamente como vía un agente quelante como EDTA, DTPA mencionados arriba, pueden ser empleados para los radioelementos utilizables en diagnóstico. Es igualmente posible mencionar el marcado con Na[I¹²⁵] por el método de la cloramina T [Hunter W.M. and Greenwood F.C., 1962, Nature 194:495] o aún con Tecnecio^{99m} por la técnica de Crockford et al. (patente US 4,424,200) o unión vía DTPA según la descripción de Hnatowich (patente US 4,479,930).

Así, los anticuerpos, o sus fragmentos funcionales, según la invención pueden ser empleados en un proceso para la detección y/o la cuantificación de una sobreexpresión o de una subexpresión, preferentemente una sobreexpresión, del receptor de IGF-I en una muestra biológica; caracterizado este proceso por comprender los siguientes pasos:

- a) el contacto entre la muestra biológica y un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales según la invención, y
- b) la demostración del complejo IGF-IR/anticuerpo posiblemente formado.

En una realización particular, los anticuerpos, o sus fragmentos funcionales según la invención, pueden ser empleados en un proceso para la detección y/o la cuantificación del receptor de IGF-I en una muestra biológica, para monitorear la eficacia de un tratamiento profiláctico y/o terapéutico del cáncer IGF-dependiente o incluso de psoriasis o aterosclerosis.

De manera más general, los anticuerpos, o sus fragmentos funcionales según la invención pueden ser ventajosamente empleados en cualquier situación en la cual la

cuantitativa.

3035

Preferentemente, la muestra biológica estará constituida por un fluido biológico como suero, sangre entera, células, una muestra de tejido o biopsias de origen humano.

5 Se puede emplear cualquier procedimiento o prueba convencional con el objeto de llevar a cabo tal detección y/o dosaje. Dicha prueba puede ser una prueba de competencia, o una prueba sandwich, o cualquier prueba conocida por el experto en la técnica, que dependa de la formación de un complejo inmune de tipo antígeno-anticuerpo. Siguiendo las aplicaciones según la invención, los anticuerpos o sus
10 fragmentos funcionales pueden ser inmovilizados o marcados. Esta inmovilización puede realizarse sobre numerosos soportes conocidos por el experto en la técnica. Estos soportes pueden incluir especialmente vidrio, poliestireno, polipropileno, polietileno, dextrano, nylon, o células naturales o modificadas. Estos soportes pueden ser tanto solubles como insolubles.

15 A modo de ejemplo, un método preferencial pone en juego procesos inmunoenzimáticos según la técnica de ELISA, por inmunofluorescencia, por la técnica de radio-inmunoensayo (RIA) o equivalente.

Así, la presente invención comprende igualmente los kits o juegos necesarios para conducir un método de diagnóstico de enfermedades inducidas por una
20 sobreexpresión o una subexpresión del receptor de IGF-I, o para conducir un proceso para la detección y/o cuantificación de una sobreexpresión o de una subexpresión del receptor de IGF-I en una muestra biológica, preferentemente una sobreexpresión de dicho receptor; caracterizado dicho kit porque comprende los siguientes elementos:

- a) un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales según la invención;
- 25 b) opcionalmente, los reactivos para la formación del medio favorable a la reacción inmunológica;
- c) opcionalmente, los reactivos que permiten la demostración de los complejos IGF-IR/anticuerpo producidos por la reacción inmunológica.

La invención se refiere además al empleo de una composición, como un
30 producto de combinación según la invención, para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento del cáncer, especialmente aquellos cánceres para los cuales se prescribe generalmente dicho agente citotóxico o dicho anticuerpo

anti-HER2/neu, y, especialmente para aquellos en los cuales las células tumorales expresan o sobreexpresan el receptor de IGF-I.

Es igualmente un sujeto de la invención el empleo de un anticuerpo según la invención para la preparación de un medicamento en el cual un compuesto biológicamente activo tiene como blanco específico las células que expresan o
5 sobreexpresan el receptor de IGF-I.

Se pretende indicar aquí por "compuesto biológicamente activo" cualquier compuesto capaz de modular, y especialmente de inhibir, la actividad celular, en particular el crecimiento de las células, su proliferación, la transcripción o la traducción
10 de genes.

Es también un sujeto de la invención un reactivo de diagnóstico *in vivo* que comprende un anticuerpo según la invención, o uno de sus fragmentos funcionales, preferentemente marcado, especialmente radiomarcado, y su empleo en medicina de imágenes, en particular para la detección del cáncer relacionado con la expresión o la
15 sobreexpresión del receptor de IGF-I por parte de una célula.

La invención se refiere igualmente a una composición, como producto de combinación o a un conjugado anti-IGF-IR/toxina o radioelemento, según la invención, como un medicamento.

Preferentemente, dicha composición como producto de combinación o dicho
20 conjugado según la invención serán combinados con un excipiente y/o un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En la presente descripción, un vehículo farmacéuticamente aceptable indica un compuesto o combinación de compuestos que entra en una composición farmacéutica que no provoca reacciones secundarias y que permite, por ejemplo, la facilitación de la
25 administración del (los) compuesto(s) activo(s), un aumento de su vida media y/o de su eficacia en el cuerpo, un aumento en su solubilidad en solución o incluso una mejora en su conservación. Estos vehículos farmacéuticamente aceptables son bien conocidos y serán adaptados por el experto en la técnica en función de la naturaleza y del modo de administración del (los) compuesto(s) activo(s) elegido(s).

30 Preferentemente, estos compuestos serán administrados por la ruta sistémica, en particular por la ruta intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal o subcutánea, o por la vía oral. De una manera preferencial, la composición que

37

comprende los anticuerpos según la invención será administrada varias veces, de manera secuencial.

Sus modos de administración, dosajes y formas farmacéuticas óptimas podrán ser determinados según los criterios generalmente tenidos en cuenta en el establecimiento de un tratamiento adaptado a un paciente, como, por ejemplo, la edad o el peso corporal del paciente, la seriedad de su condición general, la tolerancia al tratamiento y los efectos secundarios percibidos.

Otras características y ventajas de la invención aparecen en la continuación de la descripción con los ejemplos y las figuras, donde:

- 10 - La Figura 1 representa la evaluación *in vitro* de los anticuerpos anti IGF-IR en el modelo MCF-7,
- Las Figuras 2 y 3 representan la evaluación *in vivo* de los anticuerpos anti IGF-IR en DU145,
- La Figura 4 representa el desplazamiento de [125 I]-IGF-1 en células intactas que expresan IGF-IR,
- 15 - La Figura 5 representa el desplazamiento de [125 I]-IGF-1 sobre HR-A capturado inmunológicamente,
- La Figura 6 representa el desplazamiento de [125 I]-IGF-1 sobre HR-B capturado inmunológicamente,
- 20 - La Figura 7 representa el desplazamiento de [125 I]-INS en células intactas que expresan IR-A, y
- La Figura 8 representa el desplazamiento de [125 I]-INS en células intactas que expresan IR-B.

25 Ejemplo 1: Generación de anticuerpos monoclonales contra IGF-1R

Se generaron hibridomas por fusión de esplenocitos de ratones BALB/c inmunizados con un IGF-1R recombinante heterotetramérico $\alpha 2$ - $\beta 2$ humano soluble (R&D System, Minneapolis, USA), y la línea celular de mieloma SP2/0-Ag14. Los anticuerpos murinos resultantes fueron primero verificados con análisis de ELISA y FACS (analizador celular activado por fluoresceína) sobre células MCF-7. Luego, se realizó una búsqueda final sobre Sf9-IGF-1r versus células Sf9-IR, para eliminar los anticuerpos que reconocieran a ambos IGF e IR. Los anticuerpos monoclonales (AM)

seleccionados (positivos en el ELISA y que reconocen el receptor salvaje en las células MCF-7) fueron producidos en líquido ascítico y purificados por una cromatografía en proteína A antes de verificarlos *in vitro* y/o *in vivo* como se resume en la Tabla 1.

	Análisis con FACSCAN			Isotipo	Actividad <i>in vitro</i>	Actividad <i>in vivo</i>
	MCF-7	Sf9 IGF-1R+	Sf9 IR+		MCF-7	DU145
2D10	+	+	+	IgG1 κ	+	+
2F2	+	-	-	IgG1 κ	+/-	+/-
6E5	+	+	-	IgG1 κ	+/-	+
7A4	+	+	-	IgG1 κ	-	-
7G3	+	-	-	IgG1 λ	-	-
9E5	+	+	-	IgG1 κ	+/-	-
9F5	+	+	+	Nd	Nd	Nd
10B7	+	-	-	Nd	Nd	Nd
11H6	+	+	-	IgE	Nd	-
12B1	+	+	-	IgG1 κ	+	-
12D5	+	+	+	IgG1 κ	+	+
12D8	+	Nd	-	Nd	Nd	Nd
13E5	+	+	+	IgG1 κ	+	+
13G10	+	+/-	-	IgG1 λ	+/-	Nd
15B9	+	+	-	IgG1 κ	+/-	-
16A12	+	-	+	IgG1 κ	+/-	-
9D5	+	Nd	-	IgG1 κ	Nd	Nd
14H1	-	Nd	+	IgG1 κ	Nd	Nd
15H1	-	Nd	Nd	IgG1 κ	Nd	Nd
18B5	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
20D1	nd	Nd	Nd	IgG1 κ	Nd	-
21B3	-	-	-	Nd	Nd	Nd
13F10	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
14A1	-	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
2B10	+	-	-	IgG1 κ	-	-
3A9	+	+/-	-	IgG1 κ	Nd	Nd
3C9	+	+	-	IgG1 κ	-	-
4G4	+	+	-	IgG1 κ	+	Nd
6F4	+	-	-	IgG1 κ	+/-	-
9E10	+	+/-	-	IgG1 λ	+/-	Nd
14D7	+	+	-	IgG1 κ	Nd	Nd
21E3	+	+	+	IgG2a	+	+

5

TABLA 1: Selección de anticuerpos monoclonales anti-IGF-1R

Ejemplo 2: Actividad *in vitro* de los anticuerpos anti-IGF-1R.**Método**

Se cultivaron rutinariamente células MCF-7 de ATCC en un medio RPMI libre de rojo fenol (Invitrogen Corporation, Escocia, UK), 10% FCS (Invitrogen Corporation), 1% L-Glutamina (Invitrogen Corporation). Las células MCF-7 fueron
5 plaqueadas en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos con una densidad de 5×10^4 células/pocillo en medio libre de suero. Después de 24 horas se agregó al medio un rango de dosis de IGF1 que fue de 1 a 50 ng/ml tanto en ausencia como en presencia de cada anticuerpo a verificar a una concentración final de 5 µg/ml.

Después de 3 días, las células fueron expuestas a pulsos de 0,5 µCi de $[^3\text{H}]$ timidina (Amersham Biosciences AB, Uppsala, Suecia) durante 16 horas. La magnitud de $[^3\text{H}]$ timidina incorporada en el ADN insoluble en ácido tricloroacético fue cuantificada mediante recuento por centellografía líquida. Los resultados se expresan como un índice proliferativo (cpm de células más IGF1 más anticuerpo / cpm de células
10 más anticuerpo solamente).
15

Resultados

La evaluación *in vitro* fue la primera selección de AM en términos de actividad mitogénica. Para estos ensayos los anticuerpos generados, producidos en líquido ascítico, fueron adicionados a células MCF-7 al mismo tiempo que IGF1 y comparados
20 con el AM αIR3, disponible comercialmente, con el objeto de seleccionar los anticuerpos al menos tan eficaces como este último. Los AM positivos (5 AM) descritos como (+) en la Tabla 2* de la respuesta anterior son los únicos que dieron índices proliferativos <5 cuando las células se estimularon con la dosis más alta de IGF1 (50 ng/ml).

La Figura 1 muestra la actividad *in vitro* de cuatro de los seis inhibidores fuertes
25 *in vitro* (2D10, 12D5, 12B1, 13F5). Los AM 2F2 y 21E3 fueron considerados como AM (±)* ($5 < \text{Índice proliferativo} < 15$ para la concentración más alta de IGF1) y 7G3 y 2B10 fueron considerados como anticuerpos no neutralizantes (Índice proliferativo >15). Es interesante remarcar que el 21E3 es el único AM de isotipo IgG2.

Ejemplo 3: Actividad *in vivo* de los anticuerpos anti-IGF-1R**Método**

Se cultivaron rutinariamente células DU145 de ATCC en un medio DMEM (Invitrogen Corporation, Escocia, UK), 10% FCS (Invitrogen Corporation), 1% L-Glutamina (Invitrogen Corporation). Las células fueron disgregadas dos días antes de la implantación de modo que se encontraban en fase de crecimiento exponencial. Se implantaron dos millones de células DU145 en PBS a ratones Swiss nude. Un día después de la implantación, los animales fueron divididos en grupos de 6 ratones. Los ratones fueron tratados subcutáneamente en el lado opuesto al tumor con 200 µg de cada anticuerpo a probar, 3 veces por semana. El grupo control fue tratado tanto con un isotipo murino control (EC2) en la primera selección como con PBS para las selecciones subsiguientes como se demostró en el primer experimento que no se observaron diferencias en el crecimiento del tumor entre estos 2 grupos de ratones. El volumen del tumor se midió una vez por semana y se calculó según la fórmula:

$\pi/6 \times \text{longitud} \times \text{ancho} \times \text{altura}.$

Resultados

Se realizaron tres experimentos *in vivo* para probar una serie de AM. Las Figuras 2 y 3 muestran que 13F5, 2D10 y 6E5 inhiben significativamente el crecimiento *in vivo* de las células DU145. Los análisis estadísticos (prueba de Mann y Whitney) se muestran en la Tabla 2.

41

Primera selección		D16	D23	D29	D36	D43
PBS/13F5	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,47	p=0,086	p=0,046	p=0,015	p=0,023

Segunda selección		D12	D20	D26	D30
PBS/2D10	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,0041	p=0,0017	p=0,0027	p=0,0027
PBS/6E5	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,027	p=0,013	p=0,0092	p=0,019
PBS/12B1	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,11	p=0,11	p=0,067	p=0,11
PBS/2F2	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,18	p=0,067	p=0,050	p=0,14

Tercera selección		D12	D20	D26	D33
PBS/16A12	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,063	p=0,087	p=0,19	p=0,11

Tabla 2: Análisis estadístico de los datos *in vivo*.

5 **Ejemplo 4: Evaluación de la capacidad de 2D10, 12D5, 13F5 para unirse a IGF-IR y al híbrido-R**

A continuación se enumeran las células utilizadas para este estudio:

- R+: fibroblastos-R transfectados de manera estable con el ADNc del receptor de IGF-I (IGF-IR)
- 10 - R-/IR-A: fibroblastos-R transfectados de manera estable con el ADNc del receptor de insulina isoforma A (IR-A)
- R-/IR-B: fibroblastos-R transfectados de manera estable con el ADNc del receptor de insulina isoforma B (IR-B)
- R+/IR-A: fibroblastos-R co-transfectados de manera estable con el ADNc del
- 15 receptor de IGF-I y del receptor de insulina isoforma A y que, por lo tanto, expresan receptores híbridos A (Híbrido-RsA)
- R+/IR-B: fibroblastos-R co-transfectados de manera estable con el ADNc del receptor de IGF-I y el receptor de insulina isoforma B y que, por lo tanto, expresan receptores híbridos B (Híbrido-RsB).

43 42

Ejemplo 4-1: Análisis del desplazamiento de [125 I]IGF1 en IGF-IR por 2D10, 12D5, 13F5 y α IR-3

Se dejó al [125 I]IGF-1 (20,000 cpm) unirse a células intactas R+ durante 16 horas a 4°C, en ausencia o presencia de concentraciones crecientes de ligando no marcado (IGF1, IGF2 o insulina), o de anticuerpos (2D10, 12D5, 13F5). Los resultados se grafican como porcentaje de máxima unión específica y se representan en la Figura 4.

Tanto 2D10 como 13F5 desplazaron eficaz y completamente a IGF1 con afinidades sub-nanomolares y en este ejemplo con IC₅₀ de 0,15 y 0,20 nM, respectivamente, en comparación con el anticuerpo de referencia α IR3 (IC₅₀: 0,05 nM). Las afinidades son más altas que las de los ligandos naturales de IGF-IR, IGF1 (2,2 nM en este ejemplo) e IGF2 (15 nM en este ejemplo).

Ejemplo 4-2: Análisis del desplazamiento de [125 I]IGF1 en el receptor híbrido RsA por 2D10, 12D5, 13F5 y 47-9

Los receptores Híbrido-RsA a partir de lisados de células R+/IR-A fueron capturados inmunológicamente en placas Maxisorb cubiertas con anticuerpo anti-IR 83-7.

Se dejó entonces al [125 I]IGF-1 (Fig. 5) unirse a los receptores capturados inmunológicamente en ausencia o presencia de concentraciones crecientes de ligando no marcado (IGF1, IGF2 o insulina), o de anticuerpos (2D10, 12D5, 13F5, 47-9, 9G4). Los resultados se grafican como porcentaje de máxima unión específica y se representan en la Figura 5.

2D10 y 13F5 desplazaron eficaz y completamente al IGF1 marcado con afinidades sub-nanomolares muy similares, y en este ejemplo de 0,2 y 0,35 nM, respectivamente. En comparación, 47-9 produjo un valor de IC₅₀ de 0,18 nM (Fig. 5).

Estas afinidades son más altas que las de los ligandos naturales de Híbrido-RsA, IGF1 (2,0 nM en este ejemplo) e IGF2 (12 nM en este ejemplo).

Ejemplo 4-3: Análisis del desplazamiento de [125 I]IGF1 en Híbrido-RsB por 2D10, 12D5, 13F5 y 47-9

Los receptores Híbrido-RsB a partir de lisados de células R+/IR-B fueron capturados inmunológicamente en placas Maxisorb cubiertas con anticuerpo 83-7.

Se dejó entonces al [125 I]IGF-1 (Fig. 6) unirse a los receptores capturados inmunológicamente en ausencia o presencia de concentraciones crecientes de IGF1, IGF2, insulina o anticuerpos (2D10, 12D5, 13F5, 47-9, 9G4). Los resultados se grafican como porcentaje de máxima unión.

- 5 2D10 y 13F5 desplazaron eficaz y completamente al IGF1 marcado con afinidades sub-nanomolares muy similares, y en este ejemplo de 0,04 y 0,15, respectivamente. En comparación, 47-9 fue menos efectivo con un valor de IC_{50} de 0,40 nM (Fig. 6).

10 Ejemplo 4-4: Análisis del desplazamiento de [125 I]insulina en los receptores de insulina isoformas A (IR-A) y B (IR-B) por 2D10, 12D5, 13F5 y MA-10

- 15 Se dejó a la [125 I]insulina (40 000 cpm) unirse a células intactas R⁺/IR-A o R⁺/IR-B durante 16 horas a 4°C, en ausencia o presencia de concentraciones crecientes de ligando no marcado (IGF1, IGF2 o insulina) o anticuerpos (2D10, 12D5, 13F5). Los resultados se grafican como porcentaje de máxima unión específica y se representan en las figuras 7 y 8, respectivamente para IR-A e IR-B.

Ni 2D10 ni 12D5 ni 13F5 desplazaron a la insulina, en contraste con el anticuerpo de referencia MA-10 (IC_{50} : 0,90 y 1,5 nM para IR-A (Fig. 7) e IR-B (Fig. 8), respectivamente).

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, siendo dicho anticuerpo o uno de dichos fragmentos capaz de unirse al receptor del factor de crecimiento humano similar a insulina I IGF-IR y, si fuera necesario, de inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2, y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho IGF-IR; caracterizado porque comprende una cadena liviana que comprende al menos una región determinante de complementariedad CDR elegida entre las CDRs de secuencia SEQ ID No. 1, 2 o 3, o al menos una CDR cuya secuencia tenga al menos un 80% de identidad después de una alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 1, 2 o 3, o porque comprende una cadena pesada que comprende al menos una CDR elegida entre las CDRs de secuencia SEQ ID Nos. 4, 5 y 6, o al menos una CDR cuya secuencia tenga al menos un 80% de identidad después de una alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 4, 5 y 6.
2. El anticuerpo de la reivindicación 1, llamado 13F5 y caracterizado porque comprende una cadena pesada con una secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 20 y porque comprende además una cadena liviana con una secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 19.
3. Un hibridoma murino capaz de secretar un anticuerpo conforme a una de las reivindicaciones 1 o 2.
4. El hibridoma murino conforme a la reivindicación 3 presentado en el CNCM, Instituto Pasteur, París, el 25 de marzo de 2004 bajo el número I-3193.
5. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, siendo dicho anticuerpo o uno de dichos fragmentos capaz de unirse al receptor del factor I de crecimiento humano similar a insulina IGF-IR y, si fuera necesario, de inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2, y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho IGF-IR; caracterizado porque comprende una cadena liviana que comprende al menos una región determinante de complementariedad CDR elegida entre las CDRs de secuencia SEQ ID No. 7, 8 o 9, o al menos una CDR cuya secuencia tenga al menos un 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 7, 8 o 9, o porque comprende una cadena pesada que comprende al menos una CDR elegida entre las CDRs de secuencia SEQ ID Nos. 10, 11 y 12, o al menos una

CDR cuya secuencia tenga al menos un 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 10, 11 y 12.

5 6. El anticuerpo de la reivindicación 5, denominado 12D5 y caracterizado porque comprende una cadena pesada con una secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 22 o 23 y porque comprende además una cadena liviana con una secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 21.

7. Un hibridoma murino capaz de secretar un anticuerpo conforme a una de las reivindicaciones 5 o 6.

10 8. El hibridoma murino conforme a la reivindicación 7 presentado ante el CNCM, Instituto Pasteur, París, el 8 de abril de 2004 bajo el número I-3195.

9. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, siendo dicho anticuerpo o uno de dichos fragmentos capaz de unirse al receptor del factor I de crecimiento humano similar a insulina IGF-IR y, si fuera necesario, de inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2, y/o capaz de inhibir específicamente la actividad
15 tirosin-quinasa de dicho IGF-IR; caracterizado porque comprende una cadena liviana que comprende al menos una región determinante de complementariedad CDR elegida entre las CDRs de secuencia SEQ ID No. 13, 14 o 15, o al menos una CDR cuya secuencia tenga al menos un 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 13, 14 o 15, o porque comprende una cadena pesada que
20 comprende al menos una CDR elegida entre las CDRs de secuencia SEQ ID Nos. 16, 17 y 18, o al menos una CDR cuya secuencia tenga al menos un 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 16, 17 y 18.

10. El anticuerpo de la reivindicación 9, denominado 2D10 y caracterizado porque comprende una cadena pesada con una secuencia que comprende la secuencia de
25 aminoácidos SEQ ID No. 25 y porque comprende además una cadena liviana con una secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 24.

11. Un hibridoma murino capaz de secretar un anticuerpo conforme a una de las reivindicaciones 9 o 10.

12. El hibridoma murino conforme a la reivindicación 11 presentado ante el
30 CNCM, Instituto Pasteur, París, el 13 de marzo de 2004 bajo el número I-3214.

13. Un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, caracterizado dicho anticuerpo por ser secretado por el hibridoma conforme a las reivindicaciones 4, 8 o 12.

14. El anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, conforme a la reivindicación 13, caracterizado dicho anticuerpo porque es un anticuerpo quimérico y porque comprende además, las regiones constantes de la cadena liviana y la cadena pesada derivadas de un anticuerpo de una especie heteróloga al ratón.

5 15. El anticuerpo quimérico, o uno de sus fragmentos funcionales conforme a la reivindicación 14, caracterizado porque dicha especie heteróloga es el hombre.

16. Un hibridoma murino presentado ante el CNCM, Instituto Pasteur, París, el 1º de julio de 2004 bajo el número I-3249.

10 17. Una composición que comprende a modo de principio activo un compuesto consistente en un anticuerpo, o sus fragmentos funcionales, conforme a las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13-15, o producido por un hibridoma según las reivindicaciones 3-4, 7-8, 11-12 o 16.

15 18. La composición conforme a la reivindicación 17, caracterizada porque comprende, además, como producto de combinación para uso simultáneo, separado o secuencial, un anticuerpo, un agente citotóxico/citostático y/o un inhibidor de la actividad tirosin-quinasa respectivamente de los receptores para IGF-I y/o para EGF.

19. La composición conforme a una de las reivindicaciones 17 o 18 como un medicamento.

20 20. El uso de un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, conforme a las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13-15, o producido por un hibridoma según las reivindicaciones 3-4, 7-8, 11-12 o 16; y/o de una composición conforme a cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19 para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento de una enfermedad relacionada con una sobreexpresión y/o activación anormal del receptor de IGF-I, y/o relacionada con una hiperactivación de la
25 vía de transducción de la señal mediada por la interacción de IGF1 o IGF2 con IGF-IR.

21. El uso conforme a la reivindicación 20 para la preparación de un medicamento destinado a inhibir la transformación de células normales en células con carácter tumoral, preferentemente IGF-dependientes, y especialmente células IGF1- y/o IGF2-dependientes.

30 22. El uso conforme a la reivindicación 20 para la preparación de un medicamento destinado a inhibir el crecimiento y/o la proliferación de células tumorales, preferentemente IGF-dependientes, y especialmente células IGF1- y/o IGF2-

47

dependientes.

23. El uso conforme a una de las reivindicaciones 20 a 22 para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento del cáncer.

24. El uso conforme a la reivindicación 23, caracterizado porque dicho
5 cáncer es seleccionado entre el cáncer de próstata, los osteosarcomas, el cáncer de pulmón, el cáncer de mama, el cáncer de endometrio o el cáncer de colon.

25. El uso conforme a una de las reivindicaciones 20 a 22 para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento de la psoriasis o la aterosclerosis.

10 26. Un método de diagnóstico *in vitro* de enfermedades inducidas por una sobreexpresión o una subexpresión del receptor de IGF-I a partir de una muestra biológica en la cual se sospecha la presencia anormal del receptor de IGF-I; caracterizado porque dicha muestra biológica es puesta en contacto con un anticuerpo conforme a una de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13-15 o producido por un
15 hibridoma según las reivindicaciones 3-4, 7-8, 11-12 o 16, siendo posible que dicho anticuerpo sea marcado, si fuera necesario.

27. Anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13-15, caracterizado porque es capaz de unirse al híbrido-R, isoforma(s) A y/o B, y/o de inhibir la unión de sus ligandos naturales, preferentemente designados aquí como
20 IGF1 y/o IGF2 y/o insulina, y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho Híbrido-R, isoforma(s) A y/o B.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a nuevos anticuerpos capaces de unirse específicamente al receptor IGF-IR del factor de crecimiento humano similar a la insulina y/o capaces de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho IGF-IR, especialmente anticuerpos monoclonales de origen murino, quimérico o humanizado, así como las secuencias de los aminoácidos y secuencias de nucleótidos que codifiquen estos anticuerpos. La invención también abarca el uso de estos anticuerpos como medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de cánceres que sobreexpresen IGF-IGR o cualquier patología conectada con la sobreexpresión de dicho receptor, así como los procesos o kits de diagnóstico de enfermedades relacionadas con la sobreexpresión de IGF-IGR. La invención finalmente comprende los productos y/o las composiciones que abarquen los mencionados anticuerpos en combinación con anticuerpos anti-EGFR y/o anticuerpos anti-VEGF y/o anticuerpos dirigidos contra otros factores de crecimiento involucrados en la progresión del tumor o metástasis y/o compuestos y/o agentes anticancerígenos o agentes conjugados con toxinas y su uso para la prevención y/o tratamiento de ciertos cánceres.

LISTA DE FRECUENCIA

<110> PIERRE FABRE MEDICAMENT

<120> Nuevos anticuerpos anti-igf-ir y sus usos

<130> D22514

<150> US 60/591 932

<151> 2004-07-29

<150> FR 04/08379

<151> 2004-07-29

<160> 26

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

Arg Ser Ser Gln Thr Ile Ile His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
1 5 10

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Asp Tyr Trp Met Asn
1 5

5/30

<210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 5

Leu Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Leu Asp Gln Asn Phe Tyr
 1 5 10 15

Asp

<210> 6
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 6

Ser Val Ile Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10

<210> 7
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 7

Lys Ala Ser Gln Asn Val Val Thr Asn Val Ala
 1 5 10

<210> 8
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 8

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
 1 5

<210> 9
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 9

His Gln Tyr Asn Asn Phe Pro Leu Thr
 1 5

<210> 10
 <211> 5
 <212> PRT

51

<213> Mus musculus

<400> 10

Glu Tyr Gly Val Ser
1 5

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 11

Val Ile Trp Gly Gly Arg Asp Thr Tyr Tyr His Ser Pro Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 12

His Glu Gly Met Asp Tyr
1 5

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Asn
1 5 10

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro
1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Leu Gln Ser Asp Lys Met Pro Leu Thr
1 5

<210> 16
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 16

Asn Tyr Ala Met Ser
 1 5

<210> 17
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 17

Ser Ile Gly Ser Ala Gly Tyr Ile His Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 18
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 18

Glu Gly Gly Leu Val Trp Phe Ala Tyr
 1 5

<210> 19
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 19

Asp Val Leu 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 Thr Ile Ile His Ser
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu 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 Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 20
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 20

Gln Ala Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Val Leu Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Ser Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Lys Arg Arg Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Ile
 35 40 45
 Gly Leu Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Leu Asp Gln Asn Phe
 50 55 60
 Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Phe Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Ser Val Ile Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 21
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 21

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Val Thr Asn
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Pro Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys His Gln Tyr Asn Asn Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

54

100

105

<210> 22
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 22

Gln	Val	Gln	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Gln
1				5					10					15	
Ser	Leu	Ser	Ile	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Asn	Glu	Tyr
			20					25					30		
Gly	Val	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
		35					40					45			
Gly	Val	Ile	Trp	Gly	Gly	Arg	Asp	Thr	Tyr	Tyr	His	Ser	Pro	Leu	Lys
	50					55					60				
Ser	Arg	Leu	Ser	Ile	Thr	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe	Leu
65					70					75				80	
Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala
			85						90					95	
Lys	His	Glu	Gly	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val
		100						105					110		

Ser Ser

<210> 23
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 23

Gln	Val	Gln	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Gln
1				5					10					15	
Ser	Leu	Ser	Ile	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Asn	Glu	Tyr
			20					25					30		
Gly	Val	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
		35					40					45			
Gly	Val	Ile	Trp	Gly	Gly	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	His	Ser	Pro	Leu	Lys
	50					55					60				
Ser	Arg	Leu	Ser	Ile	Thr	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe	Leu
65					70					75				80	
Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala
			85						90					95	
Lys	His	Glu	Gly	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val

55

<210> 24
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 24

Glu	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ser	Val	Ala	Thr	Gly
1				5					10					15	
Glu	Lys	Val	Thr	Ile	Arg	Cys	Ile	Thr	Ser	Thr	Asp	Ile	Asp	Asp	Asp
		20					25					30			
Met	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Glu	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
	35					40						45			
Ser	Glu	Gly	Asn	Thr	Leu	Arg	Pro	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Ser
	50					55					60				
Ser	Gly	Tyr	Gly	Thr	Asp	Phe	Val	Leu	Thr	Ile	Glu	Asn	Thr	Leu	Ser
65				70					75					80	
Glu	Asp	Val	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Ser	Asp	Lys	Met	Pro	Leu
			85					90						95	
Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys					
		100						105							

<210> 25
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 25

Glu	Val	Asn	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Ile	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr
		20					25						30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Thr	Pro	Glu	Lys	Arg	Leu	Glu	Trp	Val
	35					40						45			
Ala	Ser	Ile	Gly	Ser	Ala	Gly	Tyr	Ile	His	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys
	50					55					60				
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Arg	Asn	Ile	Leu	Tyr	Leu
65				70					75					80	
Gln	Met	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala
			85					90						95	
Arg	Glu	Gly	Gly	Leu	Val	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu

~~56~~ 56

100

105

110

Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 26

Val Ile Trp Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr His Ser Pro Leu Lys Ser
1 5 10 15

265x

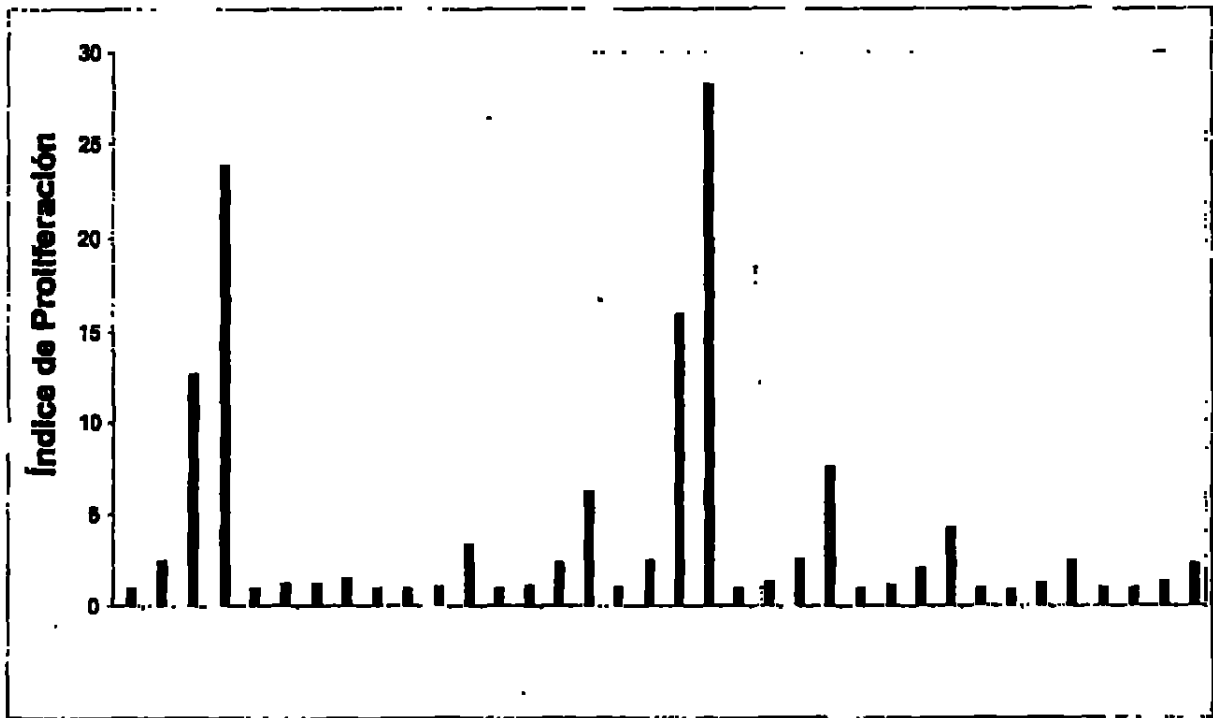


FIGURA 1

458

2/5

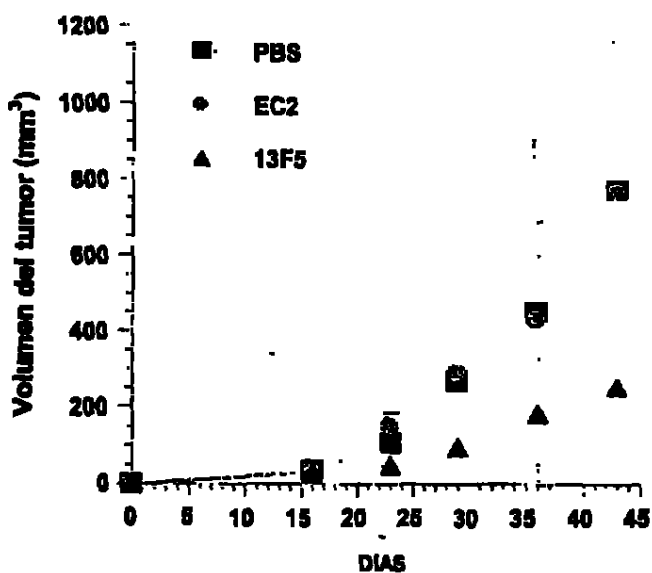


FIGURA 2

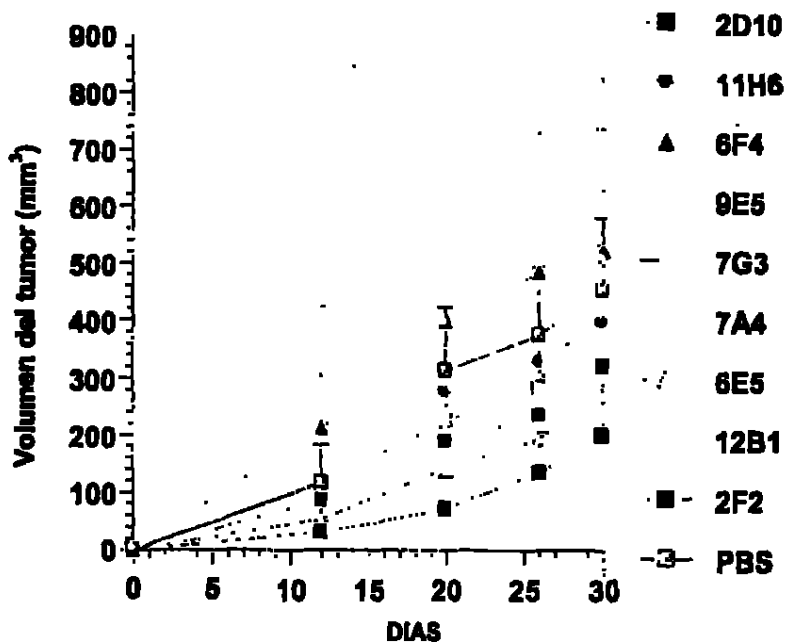


FIGURA 3

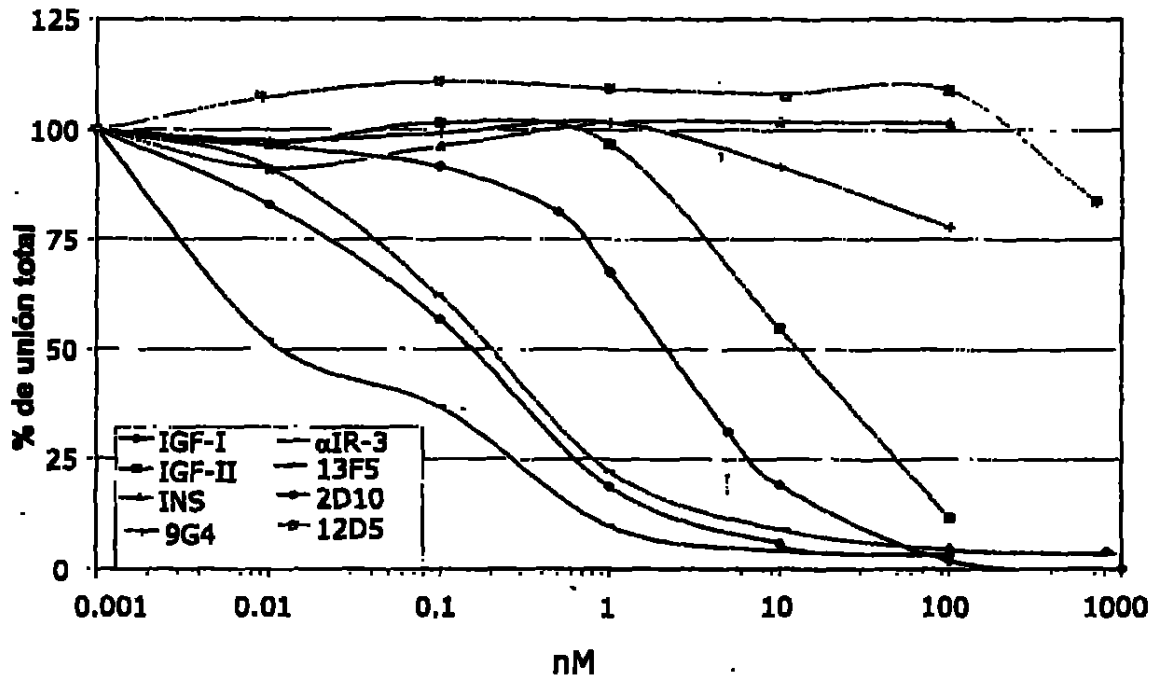


FIGURA 4

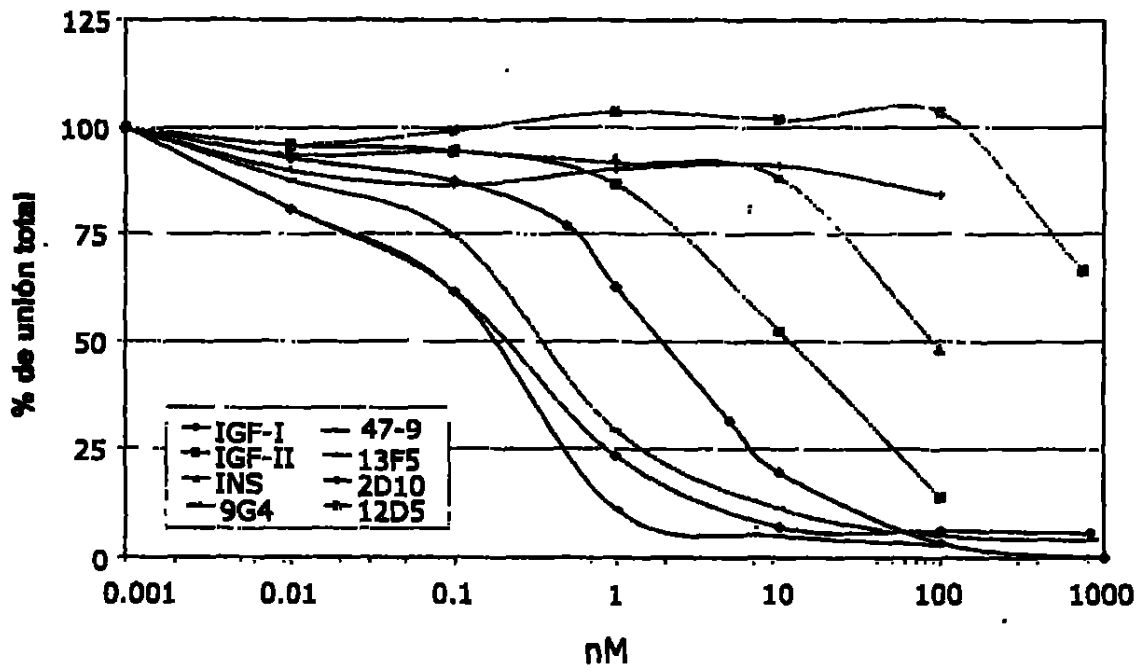


FIGURA 5

60

4/5

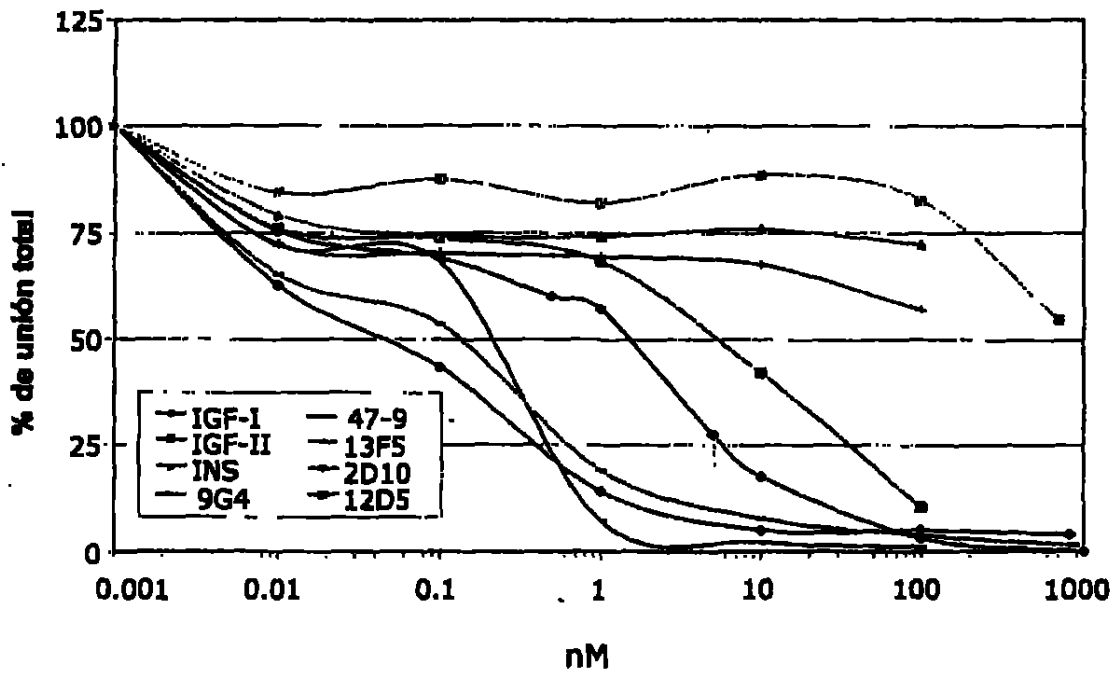


FIGURA 6

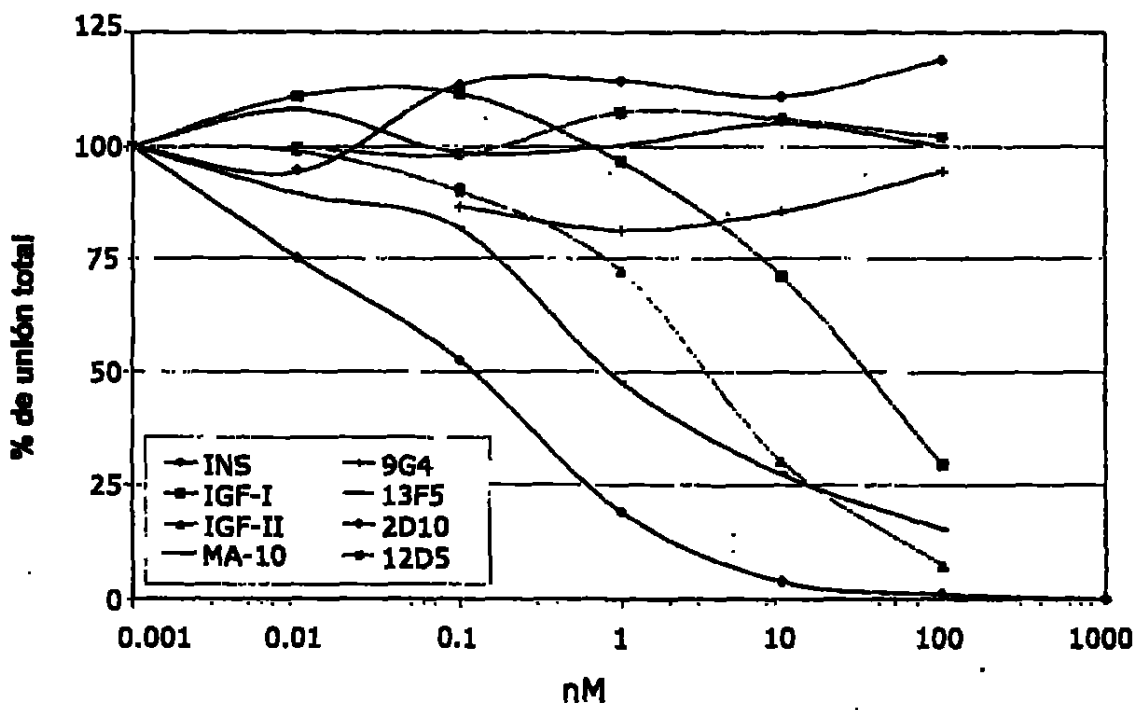


FIGURA 7

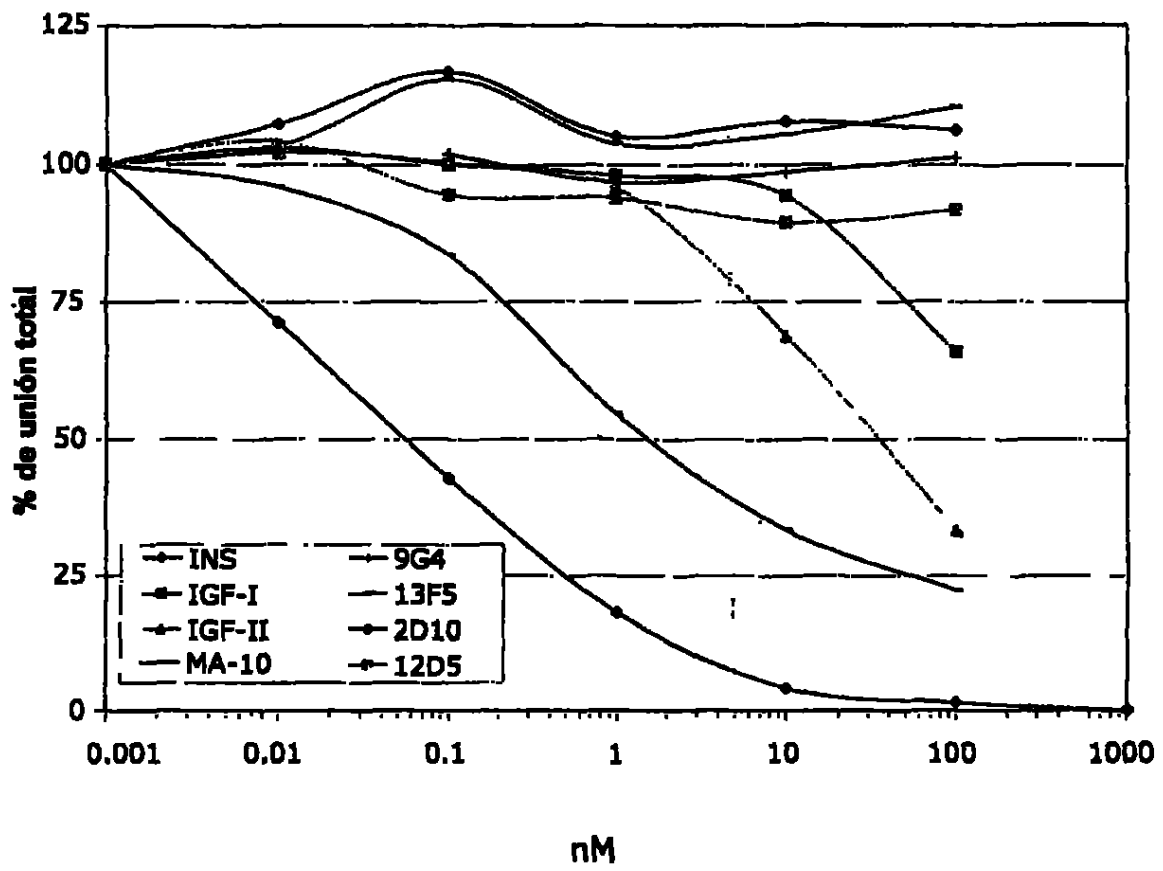


FIGURA 8

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

15.46-232

62

No. 057

El suscrito Cónsul General de Colombia en París.

CERTIFICA:

- Que la firma *Pierre Fabre Medicament* existe y está organizada de conformidad con las leyes de Francia domiciliada en el No. *125 rue de la Faisanderie 75116 Paris* y que ésta cumple con su objeto legal.
- Que está registrada en el Tribunal de Comercio de *Paris* bajo el No. *R.C.S. Paris B 326 118 502*
- Que el o (los) señor (es) *Pierre Fabre* desempeña (n) actualmente el o (los) cargo (s) de *Presidente* de la sociedad y que tiene (n) facultad suficiente para otorgar poderes y nombrar apoderados en el exterior.
- Que todos los hechos anteriores le constan por haber tenido a la vista los documentos respectivos.

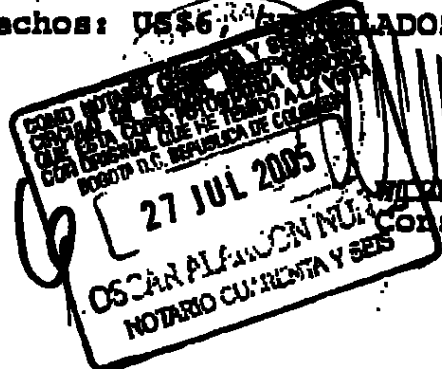
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
SECCION NEGOCIOS GENERALES
HACE CONSTAR:
Que el señor *Pierre Fabre*
Cuya firma aparece al pie del presente documento, desempeña en esta fecha las funciones allí indicadas.
BOGOTA, 07 MAR. 1991
JOSE ANIBAL ALVARO
JEFE NEGOCIOS GENERALES

El Cónsul no asume responsabilidad por el contenido del documento.

Dado y firmado en París, Francia.

a los 25 días del mes de febrero de 1991

Derechos: US\$6,000.00



JOSE ANIBAL ALVARO
Cónsul General de Colombia

BRIGARD & CASTRO

(CON CERTIFICACION CONSULAR)

Yo (nuestros)

domiciliado (s) en

Nombre (amos) :

de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recibir de las Oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de privilegio de invención, de dibujos y modelos industriales, registro de marcas, depósitos de nombres comerciales y enseñas, así como sus traslases, prórrogas, renovaciones y cambios de nombre: elaborar, tramitar, otorgar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases: intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso y ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposición al registro de marcas: acciones de caducidad y nulidad; acciones reivindicatorias acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales acciones de indemnización; de perjuicios, reclamos u observaciones o solicitudes de patentes, modelos y dibujos industriales, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo (s) faculto (amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores; dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de mis (nuestros) intereses, con todas las demás facultades legales necesarias, y por el presente documento desde ahora declaro (amos) válido y bueno todo cuanto los apoderados hicieron en mi (nuestra) beneficio.

(CONSULAR CERTIFICATION)

I (we) PIERRE FABRE MEDICAMENT

domiciled in

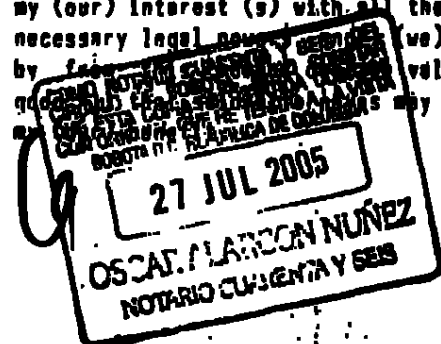
45, Place Abel Gance
92100 BOULOGNE

Hereby appoint.

RAMIRO CASTRO DUQUE y/o HECTOR GOMEZ M.
y/o BEATRIZ JARAMILLO DE LLOREDA.

Of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileged patents of invention, registration of trademarks, industrial models and drawings; registration of commercial names and emblems; and also assignments, extensions, renewals or changes of name concerning such actions; to prepare, process, grant and register licenses of any kind; intervene as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; actions of caducity and nullity; claims actions derived from the obtaining or exploitation of licenses; actions of unfair competition; penal demands; actions of indemnities for damages; claims or observations on patent applications, models and industrial designs; in the exercise of preventive measures; and in other actions of similar proceedings.

And to that effect they are hereby empowered to file applications; formulate descriptions, amendments, protest, declarations, oppositions, cancellations, nullities appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of concession; to receive all kinds of documents valuable, giving the respective release or receipt, and, in general, to take before said authorities and steps necessary to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest (s) with all the other necessary legal powers, and I (we) hereby declare (amos) valid and good all that the apoderados may do for



la signatura de **PIERRE FABRE**, tota poder comprende la facultad de resident Directeurtificar e confirmar en mi (nuestro) nom-
bre la actuado así como la facultad de
BRE MEDICA- desistir, transigir, comprometer y la
NT. de sustituirla en todo o en parte y re-
vocar sustituciones. Asimismo nombre
(años) a

my (our) representative (s) in Bogotá, Colombia, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

Granted and signed

this 17th day of January 1991
by Pierre FABRE
Title Chairman

desarrollado (s) en

Bogotá, Colombia, mis (nuestros) representantes, con facultades de recibir notificaciones y para designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Revisado y firmado en
 Hoy de 19

LEGACION DE COLOMBIA

25 FEB 1961

0503

(PERSONS NATURAL)

El suscrito Cónsul de Colombia CERTIFICA

Los días del mes de *F. Lagallé* This
de 19 *Encomparat (area) personal* 1973
este año *En Comandante de Colombia en* sul

Ministerio Relaciones Exteriores y que lo firma y sella
quien es el (ss) don (ss) de (ss) y me to
consta que es (ss) la (ss) persona (s) y pers
y firmate (s) del documento que precede, the
y declara (s) que otorga (ss) el (ss) cony
para los fines y propósitos que en él se exec
expresan. PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE

VALOR US \$ 6.00.

SLU COLLEGE

ĐI CỘNG

11/11/11

WILLIAM Z. FRANTZ, JR.
SAC, NEW YORK

El infrascrito Cónsul de Colombia en
Francia

certifica: que la firma que antecede y
dice

Pierre FABRE
es auténtico; que el signatario es
Présidenté
de **PIERRE FABRE MEDICAMENT**
que tiene facultad para otorgar este po-
der, y que dicha compañía ejerce los fi-
nes sociales, existe y está organizada
en Francia

conforme a las leyes de Francia

Todos los hechos anteriores me constan
per haber examinado los documentos res-
pectivos que tuve a mi vista y de todo
ello doy fe

Dado y firmado en

Veronica: Consul de la

[illegible]

MALFETES

S'ENVALENT ET BAS DÉLÉGATION

F. LAGRELLE

CONSULAR CERTIFICATE

(Natural persons)

This day of 19
personally appeared before me, the Con-
sul of Colombia in

to me known, and known to me to be the person (s) described in and who executed the foregoing document, and he (they) hereby acknowledge to me that he (they) executed same for the uses and purposes therein expressed.

The Consul

No. 17886

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
SECCION NEGOCIOS GENERALES

CORPORATIONS HAVE CONSTANT

Quel est le nom
M. Zafar Turbay
Consul of Colombia

The undersigned Consul of Colombia
 certifies:
 that the proceeding is authentic
 is authentic; that the person is

of
that he is empowered to grant JOSE ANSEL ALDAN
and that said company follows THE MEMBERS OF THE
objectives exist and is organized in THE

In accordance with the laws of:

All the foregoing facts are known to me the Consul due to my having examined the respective documents to which I, the Consul attest.

Granted and signed in

signed in

COMO NOTARIO GUARDIA Y SEIS
SEÑALA DE BOGOTÁ, DICIEMBRE 1994
QUE ESTABA EN FOTOCOPIA CON
CON ORIGINAL QUE HE TRÁIGO A LA VISTA
BOGOTÁ D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

27 JUL 2005

OSCAR LARCON NUÑEZ
NOTARIO CUARENTA Y SEIS

TRADUCCION DE LOS SELLOS QUE SE ENCUENTRAN EN EL PODER OTORGADO
POR PIERRE FABRE MEDICAMENT A
DE BOGOTA COLOMBIA.

DOCUMENTO FIRMADO EL 17 DE ENERO DE 1991

POR PIERRE FABRE .- Firmado: Ilegible. Director.

VISTO PARA LEGALIZACION DE LA FIRMA DE PIERRE FABRE, Presidente -
Director General de PIERRE FABRE MEDICAMENT.
FIRMADO: PHILIPPE DEYVEAUX. NOTARIO. HAY SELLO DEL NOTARIO.

CAMARA DE COMERCIO E INDUSTRIA DE CASTRES

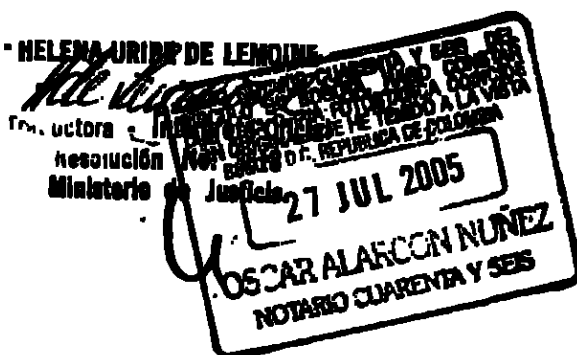
Visto para certificación material de la firma de Pierre Fabre
Castres, 25 de Enero de 1991

Por el Presidente de la Cámara de Comercio e Industria de Castres
FIRMADO: M.MALFETTES.HAY SELLO DE LA CAMARA DE COMERCIO E INDUSTRIA

REPUBLICA FRANCESA - MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
NO. 277704 21 DE ENERO DE 1991

Visto para legalización de la firma de M. MALFETTES
POR EL MINISTRO Y POR DELEGACION: FIRMADO: F. LABRELLETTE.
HAY SELLO DEL MINISTERIO.

SIGUE AUTENTICACION DE LA FIRMA DE F. LABRELLETTE EFECTUADA POR EL
CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN PARIS Y AUTENTICACION DE LA FIRMA
DEL CONSUL EFECTUADA POR EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES EN
BOGOTA. HELENA URIBE DE LENDINE



65

SIGUE CERTIFICACION CONSULAR RELACIONADA CON LA FIRMA PIERRE FABRE
MEDICAMENT (EN ESPAÑOL). FIRMADO: WILMA ZAFRA TURBAY. CONSUL
GENERAL DE COLOMBIA.

HAY SELLO DEL CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN PARIS.

SIGUE AUTENTICACION DE LA FIRMA DEL CONSUL EFECTUADA POR EL
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES EN BOGOTA.

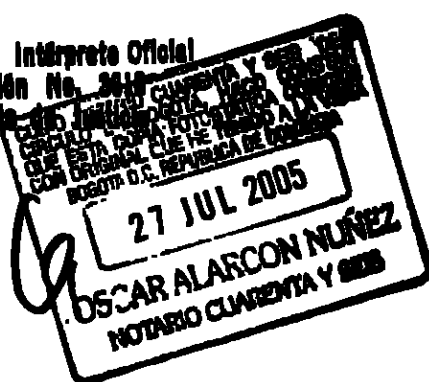
LA TRADUCTORA OFICIAL

Helena Uribe de Lemoine

HELENA URIBE DE LEMOINE

HELENA URIBE DE LEMOINE

Traductora - Intérprete Oficial
Resolución No. 2010
Ministerio de Justicia





144222 - Petites-Affiches

PEINTURES AVI S.A.

Société anonyme

au capital de 12.884.800 F

Siège social :

12, Rond-Point des Champs-Élysées

75008 PARIS

R.C.S. Paris B 885 880 157

(77 B 7.188)

S.I.R.E.T. 885 880 157 00017

Le vingt-quatre octobre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

Le conseil d'administration :

— A pris acte du changement du représentant permanent de la société FINALENS, administrateur, Monsieur Raymond DAVID, demeurant 74, Chaussée de l'Étang, 94180 Saint-Mandé, remplaçant Monsieur Edmond DE CAPELE.

— A décidé de transférer le siège social à la Tour Total, 24, cours Michelet, CEDEX 47, 92000 PARIS-LA DEFENSE à dater du douze novembre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

Autres caractéristiques de la société :

Objet : Fabrication et négoce de tous produits chimiques, peintures, articles de décoration et articles de revêtement muraux.

Durée : Quatre-vingt-dix-neuf années à compter du quatre mai mil neuf cent quarante-trois.

La société sera désormais immatriculée au registre du commerce et des sociétés de Nanterre.

Pour avis.

144222 - Petites-Affiches

S.M.P.R.

Société anonyme

au capital de 300.000 F

Siège social :

18, rue de la Tour

92000 MALAKOFF

R.C.S. Nanterre B 732 021 844

Aux termes des délibérations de l'assemblée générale extraordinaire en date du vingt-huit avril mil neuf cent quatre-vingt-dix, enregistrée à Nanterre le vingt-trois mai mil neuf cent quatre-vingt-dix, folio 14, bordereau 129/1.

Il a été décidé de porter le capital social de trois cent mille francs à un million de francs par incorporation des réserves à concurrence de sept cent mille francs.

En conséquence, l'article 9 des statuts a été modifié.

Mention en sera faite au registre du commerce et des sociétés de Nanterre.

Pour extrait.

144302 - Petites-Affiches

PROMO-SPICA

Société à responsabilité limitée

au capital de 100.000 F

Siège social :

71, boulevard de Richelieu

92000 NANTERRE

R.C.S. Nanterre B 351 488 882

Conformément à l'article 4 des statuts, la gérance décide de transférer le siège social :

à l'adresse Léo-Dum, 92000 PUTEAUX.

L'article 4 des statuts a été modifié en conséquence.

Modification sera faite au registre du commerce et des sociétés de Nanterre.

Pour copie conforme à l'original qui nous a été présenté
CASTRES



144224 - Petites-Affiches

SOCIÉTÉ PROVENCE INVESTISSEMENT

Société à responsabilité limitée

au capital de 300.000 F

Siège social :

185, avenue Charles-de-Gaulle

92000 NEUILLY-SUR-SEINE

R.C.S. Nanterre B 702 001 818

(80 B 10.482)

S.I.R.E.T. 702 001 818 00029

A.P.E. 8.907

Suivant délibération de l'assemblée générale extraordinaire en date du neuf novembre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

Il a été décidé de transférer le siège social de Neuilly-sur-Seine (92200), 185, avenue Charles-de-Gaulle, à LEVALLOIS-PERRET (92300), 100-102, rue de Villiers, à compter du premier décembre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

En conséquence, les statuts ont été modifiés comme suit :

Antécédents mention

Le siège social est fixé à Neuilly-sur-Seine (92200), 185, avenue Charles-de-Gaulle.

Nouvelle mention

Le siège social est fixé à LEVALLOIS-PERRET, 100-102, rue de Villiers.

Le dépôt légal sera effectué au greffe du tribunal de commerce de Nanterre.

Pour avis.

LE REPRÉSENTANT LEGAL.

144223 - Petites-Affiches

AZOLACO

SOCIÉTÉ CHIMIQUE

D'ENGRAIS ET DE PRODUITS

DE SYNTHÈSE

Société anonyme

au capital de 11.000.000 F

Siège social :

Tour Aurore

place des Reflets

92000 PARIS-LA DEFENSE 2

R.C.S. Nanterre B 572 215 089

Aux termes de sa délibération en date du vingt-cinq octobre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

Le conseil d'administration a pris acte de la démission de Monsieur Serge PEBRE de ses fonctions de directeur général.

Les formalités légales seront effectuées au greffe du tribunal de commerce de Nanterre.

Pour avis.

LE CONSEIL D'ADMINISTRATION.

144242 - Petites-Affiches

TERADYNE S.A.

Société anonyme

au capital de 250.000 F

Siège social :

185, avenue de Valmy

92700 COLOMBES

R.C.S. Nanterre B 575 080 179

(80 B 8.184)

Aux termes du conseil d'administration en date du sept décembre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

Il a été décidé de transférer le siège de la société du 10-12, rue de Chartres, Neuilly-sur-Seine (92200), au 185, avenue de Valmy, COLOMBES (92700).

L'article 4 des statuts a été modifié en conséquence.

Pour avis.

PIERRE FABRE MÉMOIRE PANTHOS

Société anonyme

au capital de 22.000.000 F

Siège social :

24, rue de la Falsanderie

75116 PARIS

R.C.S. Paris B 328 118 502

(82 B 11.384)

Transfert du siège social

Aux termes de l'assemblé du procès-verbal des délibérations du conseil d'administration en date du trente novembre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

Les administrateurs ont décidé de transférer le siège social, avec effet au dix-sept décembre mil neuf cent quatre-vingt-dix, du 24, rue de la Falsanderie, 75116 Paris, au 48, place Abel-Gance, 92100 BOULOGNE, sous réserve de la ratification par la prochaine assemblée générale ordinaire.

L'article correspondant des statuts (article 4) sera modifié en conséquence.

Rappel des principales caractéristiques de la société :

Durée : Jusqu'au trente décembre deux mil quatre-vingt-un.

Objet : Fabrication de produits pharmaceutiques, cosmétiques et d'hygiène.

La société sera radulée du registre du commerce et des sociétés tenu par le tribunal de commerce de Paris et réimmatriculée au registre du commerce et des sociétés tenu par le tribunal de commerce de Nanterre ; les dépôts légaux seront effectués aux deux greffes concernés.

Pour avis.

LE CONSEIL D'ADMINISTRATION.

187182 - La Loi

SCI TESSIE

Société civile immobilière

au capital de 37.500 F

Siège social :

28, rue de Buffart

92400 COURBEVOIE

R.C.S. Nanterre D 348 945 787

(88 D 1.188)

Transfert du siège social

Aux termes du procès-verbal de l'assemblée générale extraordinaire en date du 9 novembre 1990, la collectivité des associés a décidé :

— De transférer le siège social, à compter du 9.11.1990 au : 22, place de la République, MALICORNE-SUR-SARTHE (72270).

— De modifier en conséquence l'article 4 (Siège social) des statuts.

Mention en sera portée au R.C.S. de NANTERRE et de LE MANS.

Pour avis.

La Gérance.

144223 - Petites-Affiches

SOCIÉTÉ VABOU

Société civile

au capital de 10.000 F

Siège social :

67, rue du Dôme

92 BOULOGNE-BILLANCOURT

R.C.S. Nanterre D 579 825 942

Aux termes d'un procès-verbal du 17 Décembre 1990, l'assemblée générale a décidé de transférer le siège social, précédemment fixé à BOULOGNE-BILLANCOURT (Hauts-de-Seine), 67, Rue du Dôme à BOULOGNE-BILLANCOURT (Hauts-de-Seine), 8, Rue des Plantes.

LE REPRÉSENTANT LEGAL
CIRCULO DE BOGOTÁ
QUE ESTA COPIA FOTOCOPIADA
CON ORIGINAL CUY HE TENGO A LA VISTA
BOGOTÁ D. C. REPUBLICA DE COLOMBIA

27 JUL 2005
OSCAR ALONSO NUÑEZ
NOTARIO CUARENTA Y SEIS

144224 - Petites-Affiches

REDOX

Café juridique

3, place Saint-Jacques

92000 COMPIEGNE

PRESS CLEAN

Société à responsabilité limitée

au capital de 50.000 F

Siège social :

12, rue Saint-Papin

92000 ANNIERS

En cours de transfert

R.C.S. Nanterre B 338 196 347

S.I.R.E.T. 338 196 347 00019

L'assemblée générale extraordinaire des associés en date à 92000 Anniers du trois décembre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

A décidé de transférer le siège social de la société de 92000 Anniers, 12, r. Saint-Papin à 92000 PUTEAUX, 21-4 rue Jean-Jacques, à compter du trois décembre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

Cette même assemblée a décidé d'étendre l'objet de la société à celle de bar, brasserie, restaurant.

En conséquence, les articles 2 et 4 d statuts ont été modifiés.

Deux copies certifiées conformes de cette délibération seront déposées au greffe du tribunal de commerce et des sociétés de Nanterre.

Pour avis.

LA GERANCE.

144220 - Petites-Affiches

TRAMO

TRAVAUX MECANOGRAPHIQUES

sur ORDINATEUR

Société à responsabilité limitée

au capital de 60.000 F

Siège social :

78, rue Thiers

92100 BOULOGNE

R.C.S. Nanterre B 722 055 899

(80 B 12.374)

Aux termes d'une délibération en date du vingt-sept novembre mil neuf cent quatre-vingt-dix.

La collectivité des associés a décidé de transférer le siège social et de modifier consécutivement l'article 4, alinéa 1 des statuts.

A compter du vingt-sept novembre mil neuf cent quatre-vingt-dix, le siège social :

— Qui était 92100 Boulogne-Billancourt, 78, rue Thiers.

— Est désormais 92000 NEUILLY-SUR-SEINE, 3-7, rue Bourard.

LA GERANCE.

144224 - Petites-Affiches

SOCIÉTÉ LAUBOU

Société civile

au capital de 10.000 F

Siège social :

67, rue du Dôme

92 BOULOGNE-BILLANCOURT

R.C.S. Nanterre D 579 825 942

Aux termes d'un procès-verbal du 17 Décembre 1990, l'assemblée générale a décidé de transférer le siège social précédemment fixé à BOULOGNE-BILLANCOURT (Hauts-de-Seine), 67, rue du Dôme à BOULOGNE-BILLANCOURT (Hauts-de-Seine), 8, Rue des Plantes.

LE REPRÉSENTANT LEGAL
CIRCULO DE BOGOTÁ
QUE ESTA COPIA FOTOCOPIADA
CON ORIGINAL CUY HE TENGO A LA VISTA
BOGOTÁ D. C. REPUBLICA DE COLOMBIA

27 JUL 2005
OSCAR ALONSO NUÑEZ
NOTARIO CUARENTA Y SEIS

CONSULADO DE COLOMBIA

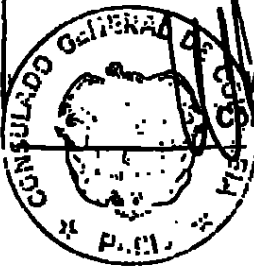
26 FEB 1991 N. 0004

El suscrito, Cónsul de Colombia CERTIFICA

que el señor *L. Laguita*
quien autoriza el presente documento, ejerce legalmente
en la fecha allí expresada, las funciones de Delegado al
Ministerio Relaciones Exteriores y que la firma y sello que
en el documento aparecen como suyos son los que usa
acostumbradamente en sus actos oficiales.

El Cónsul no asume responsabilidad alguna por el
contenido del documento

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE
VALOR US \$ 6.00 SEIS DOLARES



WILMA ZAFRA TURBAY
Cónsul General de Colombia



Nº 47887
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
SECCION NEGOCIOS GENERALES
HACE CONSTAR:
Que el señor *Wilma Zafra Turbay*
Cuya firma aparece al pie del
presente documento, desempeñaba
en esa fecha las funciones allí
indicadas.
BOGOTÁ, 07 MAR. 1991
ZORBA AMORAL ALARCON
JEFE NEGOCIOS GENERALES

COPIA NOTARIAL
QUE ESTA COPIA FUE OTORGADA EN
CONFORMIDAD CON LA LEY 108 DE 1990
BOGOTÁ, D.C., 27 JUL 2005
OSCAR ALARCON NUÑEZ
NOTARIO CUARENTA Y SEIS

67

EXTRACTO DEL DIARIO OFICIAL 88 NO.153 DEL 21 DE DICIEMBRE DE 1990.

PIERRE FABRE MEDICAMENT
SOCIEDAD ANONIMA CON CAPITAL DE 22.000.000 FRANCO\$
SEDE SOCIAL: 125, rue de la Faisanderie - 75116 PARIS
R.C.S. PARIS B 326 118 502 (82 B 11.394)

TRASLADO DE LA SEDE SOCIAL:

De conformidad con el extracto del Acta de Decisiones de la Junta Directiva del 30 de Noviembre de 1990.

La Junta Directiva decide trasladar la sede social, a partir del 17 de Diciembre de 1990, del 125 rue de la Faisanderie, 75116 Paris al 45, place Abel-Gance, 92100 BOULOGNE, bajo reserva de la ratificación en el curso de la próxima Asamblea General Ordinaria.

El artículo correspondiente de los Estatutos (Artículo 4) se modificará en consecuencia.

Resumen de las principales características de la Sociedad:

Duración: hasta el 30 de Diciembre del año 2081

Objeto: Fabricación de productos farmacéuticos, cosméticos e higiénicos.

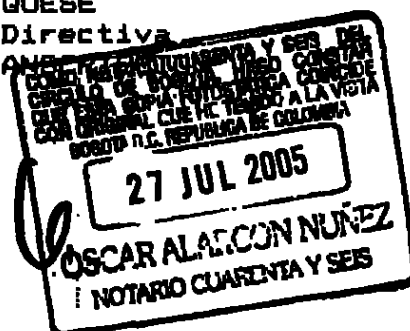
La sociedad será radicada en el Registro de Comercio y de Sociedades llevado por el Tribunal de Comercio de Paris y se matriculará en el Registro de Comercio y de Sociedades llevado por el Tribunal de Comercio de Nanterre. Los depósitos legales se efectuarán en las dos escribanías mencionadas.

COMUNIQUESE

La Junta Directiva
FIN DE LA TRANSCRIPCION

HELENA URIBE DE LEMOINE
Helema Uribe de Lemoine
Interprete Oficial
Resolución No. 3618
Ministerio de Justicia

3



68

CIUDAD DE CASTRES

SERVICIO DE POBLACION

Copia certificada conforme al original que nos fue presentado.

CASTRES, 11 de Enero de 1991

POR EL ALCALDE: EL ADJUNTO DELEGADO IMPEDIDO: EL EMPLEADO
MUNICIPAL DELEGADO: FIRMADO: ILEGIBLE.

REPUBLICA FRANCESA - MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

NO. 273737

22 DE ENERO DE 1991

EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES CERTIFICA QUE EL PRESENTE ACTO
HA SIDO ESTABLECIDO DE CONFORMIDAD CON LA LEY FRANCESA.

POR EL MINISTRO Y POR DELEGACION: FIRMADO: F. LABRELLETTE.

HAY SELLO DEL MINISTERIO.

SIGUE AUTENTICACION DE LA FIRMA DE F. LABRELLETTE EFECTUADA POR EL
CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN PARÍS Y AUTENTICACION DE LA FIRMA
DEL CONSUL EFECTUADA POR EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES EN
BOGOTÁ.

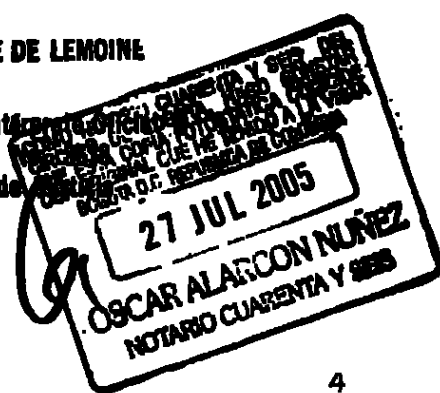
LA TRADUCTORA OFICIAL

Helena Uribe de Lemoine

HELENA URIBE DE LEMOINE

HELENA URIBE DE LEMOINE

Traductora - Interpretadora
Resolución
Ministerio de



REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL
RAMITE

	USUARIO	REDACTOR
PATENTE DE INVENCION	☒	☐
Indicación de que se solicita la concesión de la 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.	☒	☐

COMPLETA ☒ INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

Indicación de que se solicita el registro de diseño Industrial	☐	☐
Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	☐	☐
Representación gráfica o fotográfica del diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño	☐	☐
Comprobante de pago de las tasas establecidas	☐	☐

COMPLETA ☐ INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

Indicación de que solicita el registro de esquema de trazado	☐	☐
Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	☐	☐
Representación gráfica del esquema de trazado	☐	☐
Comprobante de pago de las tasas establecidas	☐	☐

COMPLETA ☒ INCOMPLETA ☐

Firma Responsable

Fecha

28 julio - 05

707A

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCI

Bogotá,
2020

Doctor(a)
GOMEZ MEJIA HECTOR
Apoderado(a) y/o Representante de
PIERRE FABRE MEDICAMENT

4

7779

REFERENCIA	Radicación No. 05 74351
	Trámite 2
	Evento 1
	Actuación 430
	Oficio No.

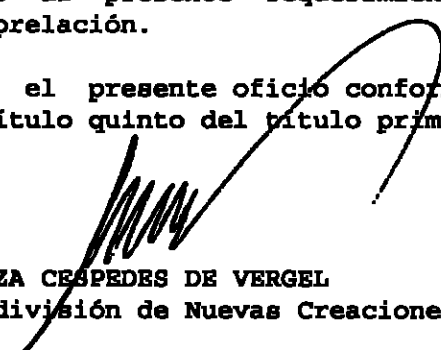
Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

1. Debe allegar copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente otorgado por el(los) inventor(s) al(los) solicitante(s) o a su(s) causante(s) (art. 26-k, Dec 486/2000).

2. Para efectos de la publicación en la gaceta se recomienda allegar el extracto diligenciado.

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos (2) 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.

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
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 01 SET. 2005
adpai

Se recuerda al interesado que debe presentar, dentro de los dieciséis meses siguientes contados a partir de la fecha de presentación de la solicitud cuya prioridad se invoca, copia de la misma certificada por la autoridad que la expidió y, en los casos en que haya lugar, la traducción simple del capítulo reivindicatorio. El incumplimiento de éste plazo, acarreará la pérdida de la prioridad invocada.