

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de los EE. UU. núm. 63/495.545 presentada el 11 de abril de 2023, la cual se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

10 ELECTRÓNICAMENTE

El contenido del listado de secuencias presentado electrónicamente (Nombre: STEAP2ADC-100-WO-PCT_ST26.xml; Tamaño: 76.288 bytes; y Fecha de creación: 10 de abril de 2024) presentado con la solicitud, se incorpora en la presente

15 como referencia en su totalidad.

La presente descripción se relaciona con moléculas de unión (p. ej., anticuerpos) para el tratamiento del cáncer, y conjugados anticuerpo-fármaco relacionados.

ANTECEDENTES

A pesar de años de investigación y desarrollo de posibles medicamentos contra el cáncer, el cáncer sigue siendo una de las principales enfermedades a nivel mundial, con una de cada tres personas desarrollando alguna forma de cáncer a lo largo de su vida.

Las principales terapias para el cáncer siguen siendo la quimioterapia y la radioterapia. Sin embargo, estas terapias se asocian con diversos efectos secundarios indeseables, desde fatiga hasta enfermedad y pérdida del cabello. Estos problemas se ven agravados por los cursos frecuentemente largos de quimioterapia que se usan.

En las últimas dos décadas, se han desarrollado y comercializado una serie de terapias con anticuerpos para el cáncer, lo que ha llevado a una reducción en la necesidad de formas severas de terapia (p. ej., cirugía y quimioterapia) para varios tipos de cáncer. Aunque la disponibilidad de metodología para producir anticuerpos (p. ej., anticuerpos monoclonales) ha mejorado mucho durante este período de tiempo, hay relativamente pocos anticuerpos anticancerígenos disponibles clínicamente, e incluso menos que pueden usarse para atacar un amplio espectro de tipos de cáncer. Además, existe la necesidad de aumentar la potencia de los anticuerpos terapéuticos, que generalmente está limitada por el antígeno diana y los efectos posteriores sobre la célula cancerosa después de la unión del anticuerpo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente descripción se dirige a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a STEAP2, que comprende:

- 5 i. una CDR1 de cadena pesada (HCDR1), una CDR2 de cadena pesada (HCDR2), una CDR3 de cadena pesada (HCDR3), una CDR1 de cadena ligera (LCDR1), una CDR2 de cadena ligera (LCDR2), y una CDR3 de cadena ligera (LCDR3) que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 1, la sec. con. núm. de ident.: 2, la sec. con. núm. de ident.: 3, la sec. con. núm. de ident.: 4, la sec.
10 con. núm. de ident.: 5, y la sec. con. núm. de ident.: 6, respectivamente
- ii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 7, la sec. con núm. de ident.: 8, la sec. con núm. de ident.: 9, la sec. con núm. de ident.: 10, la sec. con núm. de ident.: 11, y la sec. con núm. de ident.: 12, respectivamente;
- 15 iii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 13, la sec. con núm. de ident.: 14, la sec. con núm. de ident.: 15, la sec. con núm. de ident.: 16, la sec. con núm. de ident.: 17, y la sec. con núm. de ident.: 18, respectivamente;
- iv. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3
20 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19, la sec. con núm. de ident.: 20, la sec. con núm. de ident.: 21, la sec. con núm. de ident.: 22, la sec. con núm. de ident.: 23, y la sec. con núm. de ident.: 24, respectivamente; o

v. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25, la sec. con núm. de ident.: 26, la sec. con núm. de ident.: 27, la sec. con núm. de ident.: 28, la sec. con núm. de ident.: 29, y la sec. con núm. de ident.: 30, respectivamente.

5 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con
10 núm. de ident.: 31 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- ii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 33 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- 15 iii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 35 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- iv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos
20 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 37 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- v. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 39 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;

- vi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 45 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- vii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 47 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- viii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 49 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- ix. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 51 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- x. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 31 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente;
- xi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 33 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente;
- xii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al

menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 35 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente;

5 xiii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 37 y la sec. con núm. de ident.: 38, respectivamente;

10 xiv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 39 y la sec. con núm. de ident.: 40, respectivamente;

xv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 45 y la sec. con núm. de ident.: 46, respectivamente;

15 xvi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 47 y la sec. con núm. de ident.: 48, respectivamente;

20 xvii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 49 y la sec. con núm. de ident.: 50, respectivamente; o

xviii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 51 y la sec. con núm. de ident.: 52, respectivamente.

5 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- ii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 33 y la cadena VL de la sec. con
10 núm. de ident.: 32;
- iii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 35 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- iv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 37 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- 15 v. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 39 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- vi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 45 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- vii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 47 y la cadena VL de la sec. con
20 núm. de ident.: 32;
- viii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 49 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;

- ix. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 51 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- x. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 36;
- 5 xi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 33 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 36;
- xii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 35 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 36;
- xiii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 37 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 38;
- 10 xiv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 39 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 40;
- xv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 45 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 46;
- 15 xvi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 47 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 48;
- xvii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 49 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 50; o
- xviii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 51 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 52.
- 20

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena VH y una cadena VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 33 y la sec. con. núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas.

5 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se une a una línea celular seleccionada del grupo que consiste en LNCaP, AD293 muSTEAP3-2, C42, y 22Rv1.

 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia
10 de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 54.

 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región constante de ligera pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 58.

 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de
15 este comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 41; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 42.

 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la
20 sec. con. núm. de ident.: 43; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 44.

 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con un agente heterólogo.

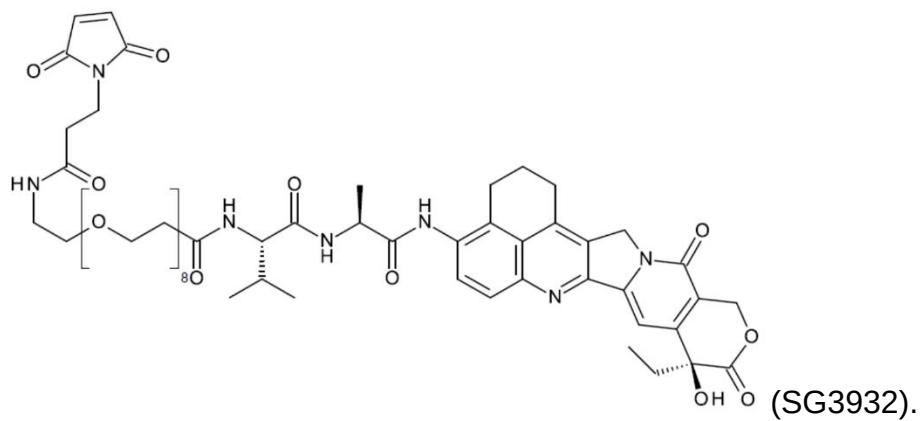
En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con uno o más agentes heterólogos seleccionados del grupo que consiste en un inhibidor de la topoisomerasa I, un derivado de tubulisina, un agente antimicrobiano, un agente terapéutico, un profármaco, un péptido, una proteína, una enzima, un lípido, un
5 modificador de la respuesta biológica, un agente farmacéutico, una linfoquina, un anticuerpo heterólogo, un fragmento de un anticuerpo heterólogo, una etiqueta detectable, un polietilenglicol (PEG, por sus siglas en inglés), un radioisótopo o una combinación de estos.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con uno o más agentes heterólogos seleccionados de un inhibidor de
10 la topoisomerasa I, derivado de tubulisina, o una combinación de estos.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con un inhibidor de la topoisomerasa I.

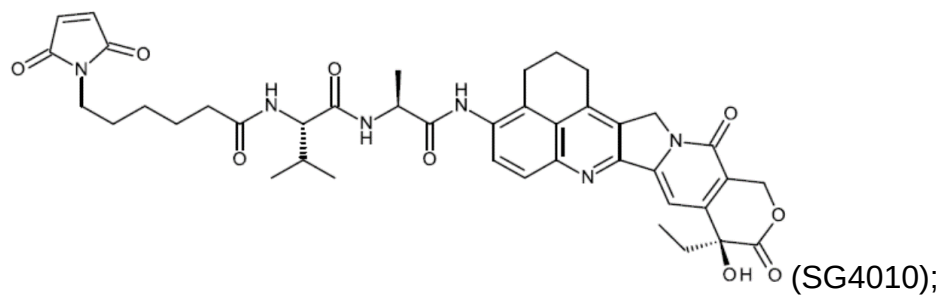
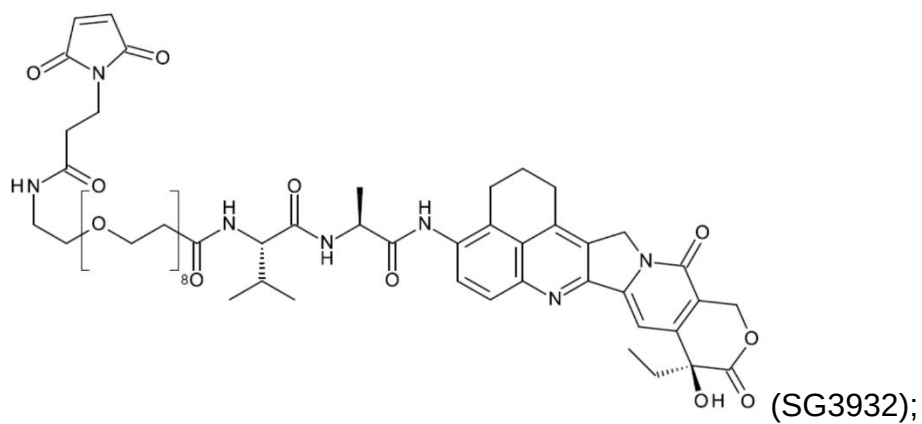
En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con un agente heterólogo seleccionado del grupo que consiste en
15 tubulisina AZ1508, SG3932, o una combinación de estos.

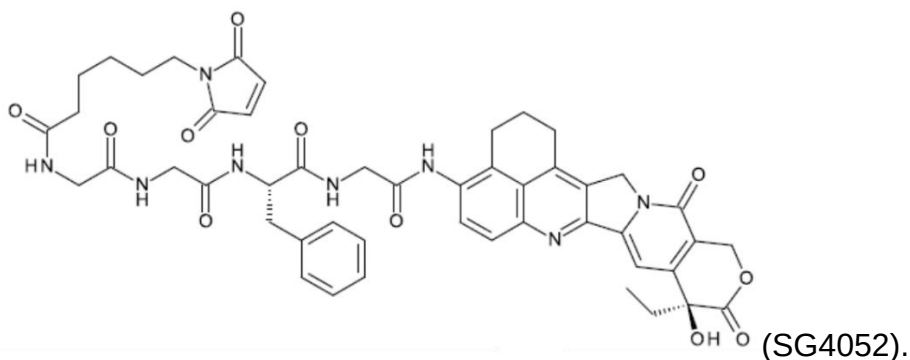
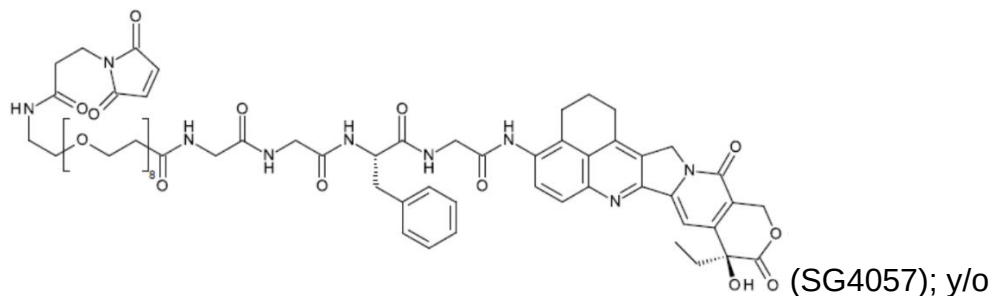
En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con una citotoxina SG3932:



En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con:

5





5 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se conjuga con un fármaco en una relación fármaco a anticuerpo (DAR, por sus siglas en inglés) de aproximadamente 4 o aproximadamente 8.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se conjuga con un fármaco en una relación fármaco a anticuerpo (DAR) de
10 aproximadamente 8.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se conjuga con un fármaco en una relación fármaco a anticuerpo (DAR) de 8.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este es un anticuerpo monoclonal.

15 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este es una IgG1, IgG2, o IgG4 o fragmento de esta.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este es una IgG1 o fragmento de esta.

5 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc.

En algunos aspectos, la región Fc comprende una triple mutación (TM, por sus siglas en inglés) L234F/L235E/P331S.

10 En algunos aspectos, la región Fc comprende una triple mutación (TM) L234F/L235E/P331S de acuerdo con la sec. con núm. de ident.: 59.

En algunos aspectos, la región Fc que comprende una TM tiene citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, por sus siglas en inglés) reducida en comparación con un anticuerpo que tiene una región Fc silvestre.

15 En algunos aspectos, la actividad de ADCC de la composición de anticuerpo se aumenta o disminuye en aproximadamente 10 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, 20 aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 125 %, aproximadamente 150 %, aproximadamente 175 %, aproximadamente 200 %, aproximadamente 1 vez, aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces o

aproximadamente 4 veces, o se aumenta o disminuye en aproximadamente 5 % a aproximadamente 400 %.

En otro aspecto, la descripción se dirige a una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de acuerdo
5 con la descripción en la presente.

En otro aspecto, es un polinucleótido que codifica el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno descrito en la presente.

En otro aspecto, la presente descripción se dirige a una célula huésped que comprende un polinucleótido descrito en la presente.

10 Otro aspecto de la presente descripción es un método para producir un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a STEAP2, que comprende expresar un polinucleótido descrito en la presente en una célula huésped.

Otro aspecto es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este obtenible mediante los métodos descritos en la presente.

15 En otro aspecto es un método para tratar un cáncer que comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2, el método comprende administrar a un sujeto el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno descrito en la presente, la composición farmacéutica descrita en la presente, o una combinación de estos.

Otro aspecto de la presente descripción es un anticuerpo o un fragmento
20 de unión al antígeno descrito en la presente, o la composición farmacéutica descrita en la presente, para usar para tratar un cáncer, en donde dicho cáncer comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2.

Otro aspecto de la presente descripción es un método, o el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este o composición farmacéutica para usar, donde dicho cáncer se selecciona de cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, colangiocarcinoma, NSCLC (escamoso y/o adenocarcinoma), cáncer de páncreas, cáncer gástrico y cáncer de próstata.

En algunos aspectos, el cáncer es cáncer de próstata.

En otro aspecto, el cáncer es cáncer de próstata metastásico, recurrente o recidivante.

Otro aspecto descrito en la presente es un método para detectar la presencia o ausencia de un polipéptido STEAP2 en una muestra, que comprende:

- i. poner en contacto una muestra con un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno como se describe en la presente, o una composición farmacéutica como se describe en la presente, para proporcionar un complejo anticuerpo-antígeno;
- ii. detectar la presencia o ausencia del complejo anticuerpo-antígeno;
- iii. en donde la presencia del complejo anticuerpo-antígeno confirma la presencia de un polipéptido STEAP2;
- iv. en donde la ausencia del complejo anticuerpo-antígeno confirma la ausencia del polipéptido STEAP2.

En otro aspecto, es un método en donde la presencia de dicho complejo anticuerpo-antígeno es indicativa de la presencia de una célula cancerosa, y en donde la ausencia de dicho complejo anticuerpo-antígeno es indicativa de la ausencia de una célula cancerosa.

En otro aspecto, la muestra es una muestra aislada obtenible de un sujeto.

En otro aspecto, el polipéptido STEAP2 es un componente integral de una célula cancerosa.

La presente descripción también proporciona un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC, por sus siglas en inglés) que comprende:

- 5 (i) (a) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 que comprende: una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1; una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 2; una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 3; y una LCDR1 que comprende
10 la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 4; una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 5; y una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 6; o

- (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 que comprende: una HCDR1 que comprende la secuencia de
15 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 7; una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 8; una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 9; y una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 10; una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 11; y una LCDR3
20 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 12;

- (c) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 que comprende: una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19, una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de

la sec. con núm. de ident.: 20, una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 21, una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 22, una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 23, y una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24, respectivamente;

(ii) un agente citotóxico en donde el agente citotóxico es SG3932; y

(iii) en donde el ADC tiene una relación fármaco a anticuerpo (DAR) que varía de aproximadamente 4 a 8.

En otro aspecto, el ADC comprende el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este que comprende:

- i. una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 31 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- 15 ii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 33 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente;
- 20 iii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 35 y SEQ ID NO: 32, respectivamente;

- iv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 37 y SEQ ID NO: 32, respectivamente;
- v. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 39 y SEQ ID NO: 32, respectivamente;
- iv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 45 y SEQ ID NO: 32, respectivamente;
- vii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 47 y SEQ ID NO: 32, respectivamente;
- viii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 49 y SEQ ID NO: 32, respectivamente;
- ix. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 51 y SEQ ID NO: 32, respectivamente;
- x. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 31 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente;

- xi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 33 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente;
- 5 xii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 35 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente;
- xiii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 37 y la sec. con núm. de ident.: 38, respectivamente;
- 10
- xiv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 39 y la sec. con núm. de ident.: 40, respectivamente;
- 15
- xv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 45 y la sec. con núm. de ident.: 46, respectivamente;
- 20
- xvi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al

menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 47 y la sec. con núm. de ident.: 48, respectivamente;

xvii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 49 y la sec. con núm. de ident.: 50, respectivamente; o

xviii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 51 y la sec. con núm. de ident.: 52, respectivamente.

En otro aspecto del ADC, es el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este que comprende:

i. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;

ii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 33 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;

iii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 35 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;

iv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 37 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;

v. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 39 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;

- vi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 45 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- vii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 47 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- 5 viii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 49 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- ix. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 51 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- x. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la cadena VL de la sec. con
10 núm. de ident.: 36;
- xi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 33 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 36;
- xii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 35 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 36;
- 15 xiii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 37 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 38;
- xiv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 39 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 40;
- xv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 45 y la cadena VL de la sec. con
20 núm. de ident.: 46;
- xvi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 47 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 48;

xvii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 49 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 50; o

xviii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 51 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 52.

5 En otro aspecto, la cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 41, y la cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 42.

 En otro aspecto, la relación fármaco a anticuerpo (DAR) es aproximadamente 4 o aproximadamente 8.

10 En otro aspecto, la relación fármaco a anticuerpo es aproximadamente 8.

 En otro aspecto, en donde la relación fármaco a anticuerpo es 8.

 En otro aspecto, en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es una IgG1, IgG2 o IgG4 o fragmento de esta.

 En otro aspecto, dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es una IgG1 o fragmento de esta.

 En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc.

 En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc que comprende una mutación triple (TM) L234F/L235E/P331S.

20 En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc con una mutación triple (TM) L234F/L235E/P331S de acuerdo con la sec. con núm. de ident.: 59.

En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión de este comprende una región Fc que tiene citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos reducida en comparación con un anticuerpo que comprende una región Fc silvestre de acuerdo con la sec. con núm. de ident.: 60.

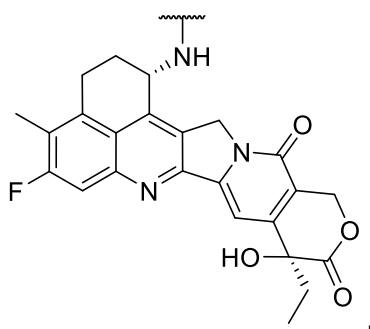
5 En otro aspecto, la presente descripción se dirige a una composición farmacéutica que comprende el ADC como se describe en la presente.

La presente descripción también proporciona un método para tratar un cáncer que expresa STEAP2, que comprende administrar a un sujeto el ADC como se describe en la presente, o la composición farmacéutica como se describe en la
10 presente, o una combinación de estos. En otro aspecto, el sujeto es un humano. En otro aspecto, la célula cancerosa tiene un defecto de reparación del ADN homólogo.

La presente descripción también proporciona un método para reducir el volumen de un tumor que expresa STEAP2, que comprende administrar a un sujeto el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno descrito en la presente, la composición
15 farmacéutica descrita en la presente, el ADC descrito en la presente, o una combinación de estos. En otro aspecto, el tumor presenta un defecto de reparación del ADN homólogo.

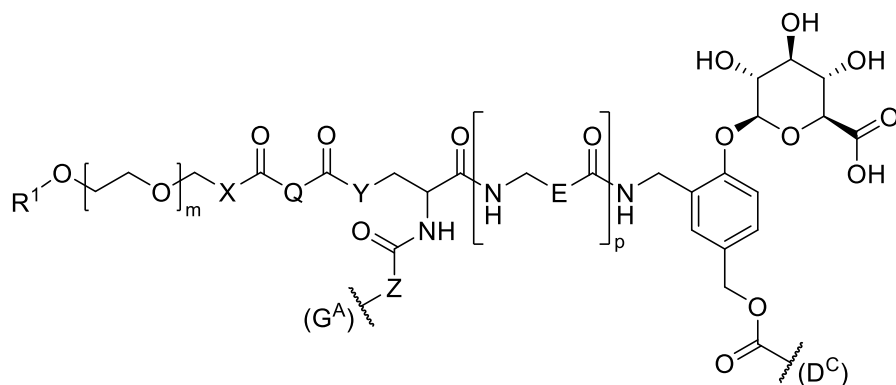
La presente descripción también proporciona un kit de partes que comprende al menos una de una (i) cadena pesada variable, (ii) cadena ligera variable de (a) el anticuerpo o el fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente, (b)
20 el conjugado anticuerpo-fármaco descrito en la presente, o (c) la composición farmacéutica descrita en la presente, o una combinación de estos. En otro aspecto, el kit comprende además instrucciones de uso.

La presente descripción también proporciona un conjugado anticuerpo-fármaco como en la Fórmula (IC): $\text{Ab}-(\text{G}^{\text{A}}-\text{J}^{\text{A}}-\text{D}^{\text{C}})_k$ (IC) o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde Ab es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente, k es un número entero de 1 a 10, aproximadamente 4 a 8, aproximadamente 4, o aproximadamente 8, cada G^{A} es independientemente un grupo de conjugación conjugado con el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este, cada D^{C} es



10

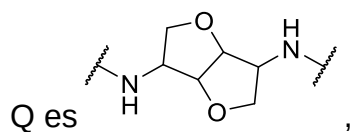
cada J^{A} es independientemente un grupo de la Fórmula (ICA)



(ICA),

15

E es $(\text{CH}_2)_{n1}$, en donde $n1$ es 0, 1, 2 o 3,

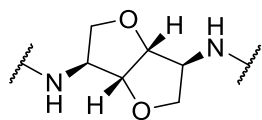


R^1 es alquilo C_{1-4} ,

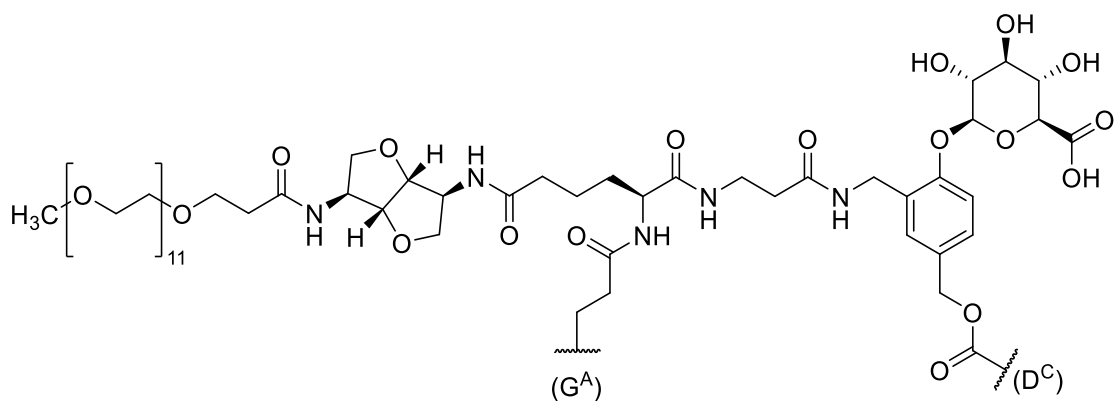
X es $(\text{CH}_2)_{n2}$, en donde $n2$ es 0, 1, 2 o 3,

- 5 Y es $(\text{CH}_2)_{n3}$, en donde $n3$ es 0, 1, 2, 3 o 4, Z es $(\text{CH}_2)_{n4}$, en donde $n4$ es 1, 2, 3, 4 o 5, m es un número entero de 5 a 17, p es 1 o 0, (G^A) indica el punto de acoplamiento a G^A , y (D^C) indica el punto de acoplamiento a D^C .

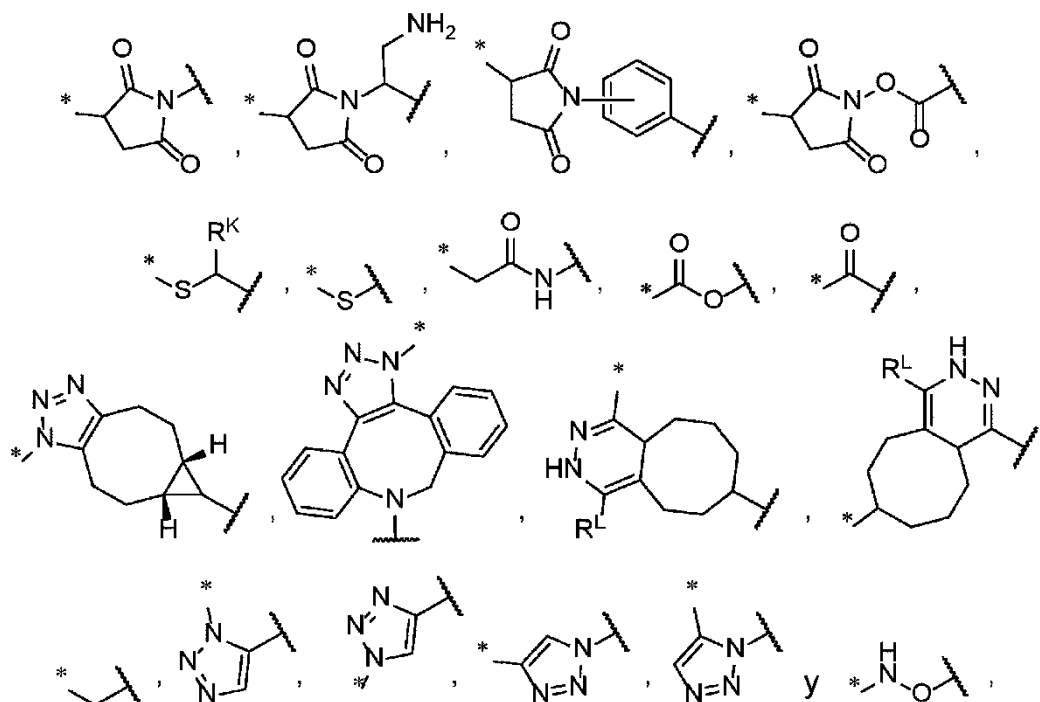
En algunos aspectos, Q es



- 10 . En algunos aspectos, m es 9, 10, 11, 12 o 13. En algunos aspectos, R^1 es CH_3 . En algunos aspectos, E es CH_2 . En algunos aspectos, X es CH_2 . En algunos aspectos, Y es $(\text{CH}_2)_2$. En algunos aspectos, Z es $(\text{CH}_2)_2$. En algunos aspectos, p es 1. En algunos aspectos, cada J^A es un grupo de la Fórmula (ICB)

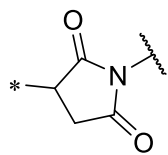


En algunos aspectos, G^A se selecciona de

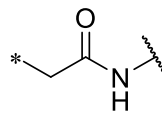


5

en donde R^K es H o CH_3 , R^L es alquilo C_{1-6} , y ---^* indica el punto de acoplamiento al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. En algunos aspectos, G^A es



. En algunos aspectos, G^A es



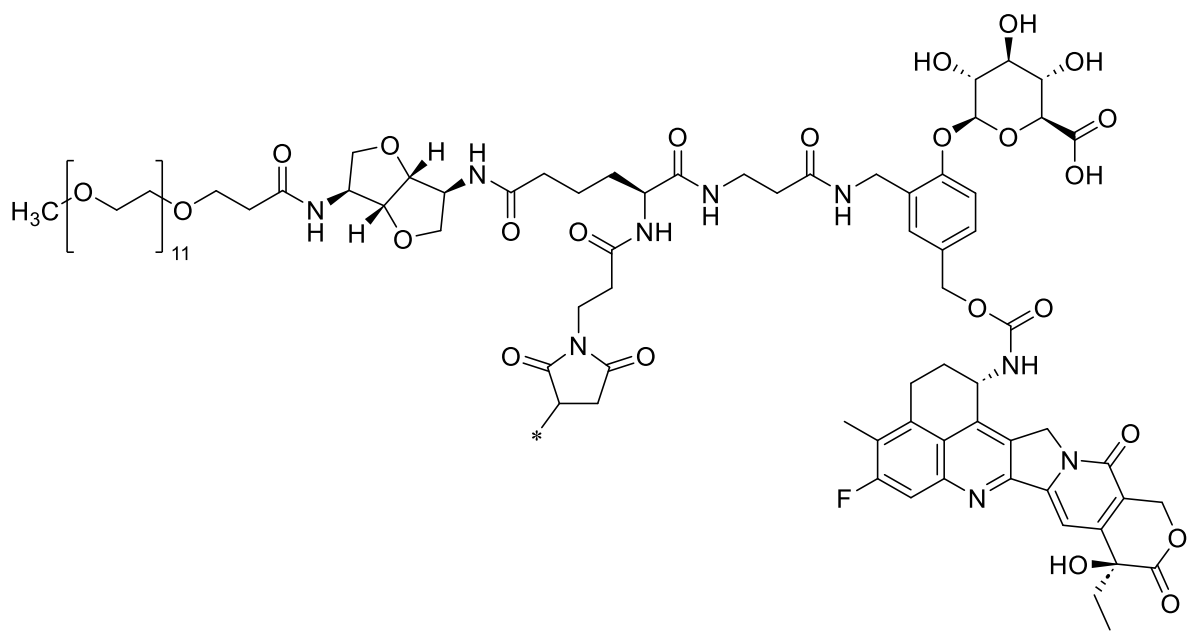
. En algunos aspectos, k

es un número entero de 2 a 8. En algunos aspectos, k es 4. En algunos aspectos,

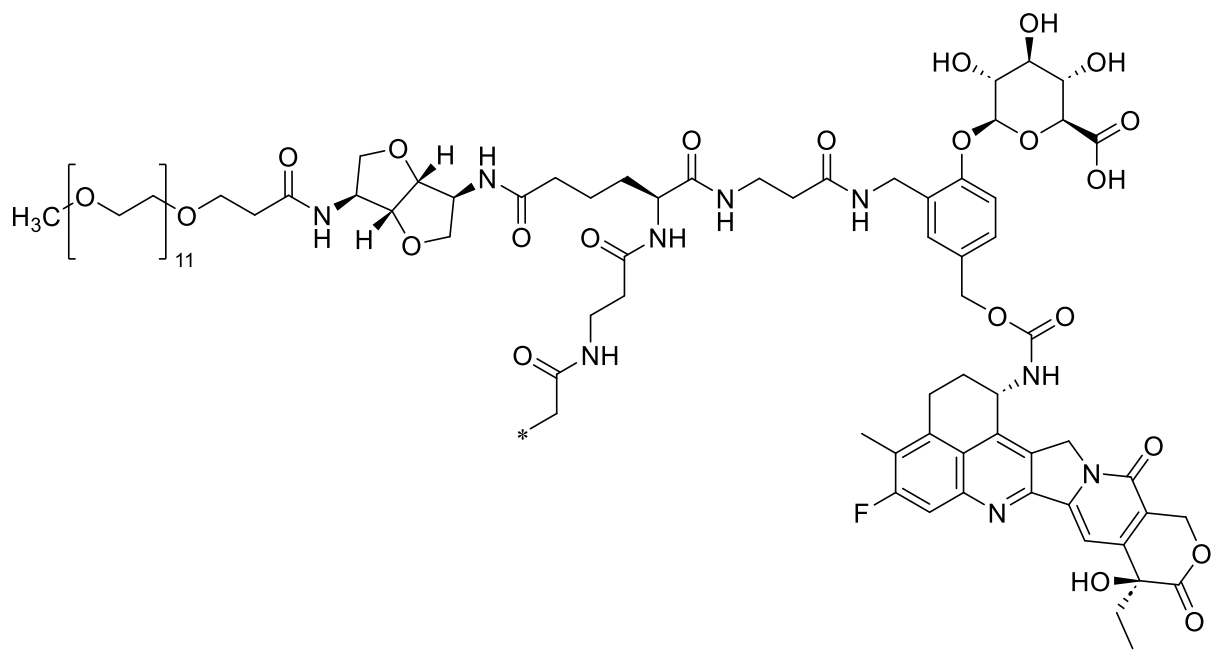
k es 8.

En algunos aspectos, $G^A\text{---}J^A\text{---}D^C$ es LP-1:

10



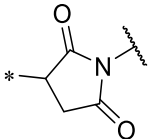
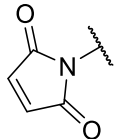
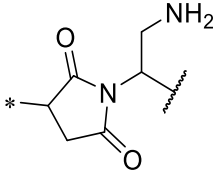
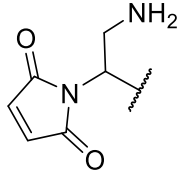
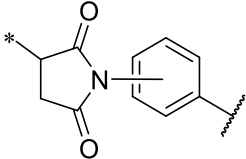
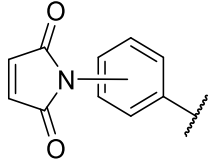
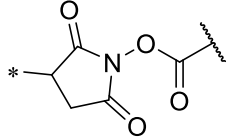
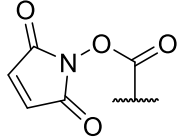
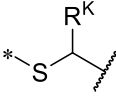
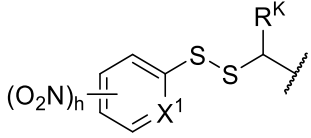
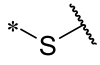
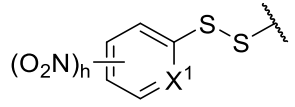
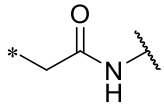
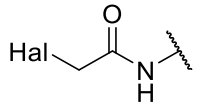
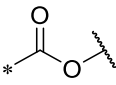
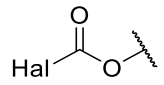
en donde ---^* indica el punto de acoplamiento al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. En algunos aspectos, $G^A\text{--}J^A\text{--}D^C$ es:



5

en donde ---^* indica el punto de acoplamiento al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este.

Los ejemplos de G^A incluyen, pero no se limitan a, los siguientes, en donde X^1 es CH o N, h es 0 o 1, R^K es H o CH_3 , Hal es Cl, Br o I, R^L es alquilo C_{1-6} , y ---^* indica el punto de acoplamiento al anticuerpo, o fragmento de unión al anticuerpo de este.

grupo de conjugación conjugado con un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este (GA)	grupo de conjugación para la conjugación con un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este
	
	
	
	
	
	
	
	

En algunos aspectos, dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es un anticuerpo monoclonal humanizado. En algunos aspectos, dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es una IgG1, IgG2, o IgG4 o fragmento de esta. En algunos aspectos, dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es una IgG1 o fragmento de esta. En algunos aspectos, la actividad de ADCC de la composición de anticuerpo se aumenta o disminuye en aproximadamente 10 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 125 %, aproximadamente 150 %, aproximadamente 175 %, aproximadamente 200 %, aproximadamente 1 vez, aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces o aproximadamente 4 veces, o se aumenta o disminuye en aproximadamente 5 % a aproximadamente 400 %.

La presente descripción también proporciona una composición farmacéutica que comprende un conjugado anticuerpo-fármaco. La presente descripción también proporciona un método para tratar un cáncer que comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2, el método comprende administrar a un sujeto el conjugado anticuerpo-fármaco o formulaciones farmacéuticas en la presente. En algunos aspectos, dicho cáncer comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2. En algunos aspectos, dicho cáncer

se selecciona de cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, colangiocarcinoma, NSCLC (escamoso y/o adenocarcinoma), cáncer de páncreas, cáncer gástrico, y cáncer de próstata. En algunos aspectos, el cáncer es cáncer de próstata. En algunos aspectos, el cáncer es cáncer de próstata metastásico, recurrente o recidivante.

5 La presente descripción también proporciona un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC, por sus siglas en inglés) que comprende: (i) (a) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 que comprende: una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1; una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 2; una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 3; y una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 4; una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 5; y una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6, o (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 que comprende: una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 7; una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 8; una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 9; y una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 10; una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 11; y una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 12; o (c) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 que comprende: una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 19; una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20; una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 21; y una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 22; una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 23; y una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24; y (ii) un agente citotóxico en donde el agente citotóxico es LP-1; y (iii) en donde el ADC tiene una relación fármaco a anticuerpo (DAR) que varía de aproximadamente 4 a aproximadamente 8.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: i. una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) que es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 31 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; ii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 33 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; iii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 35 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; iv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 37 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; v. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 %

al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 39 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; vi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 45 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; vii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 47 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; viii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 49 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; ix. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica al núm.: 51 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente; X. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 31 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente; xi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 33 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente; xi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica

a la sec. con núm. de ident.: 35 y la sec. con núm. de ident.: 36, respectivamente; xiii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 37 y la sec. con núm. de ident.: 38, respectivamente; xiv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 39 y la sec. con núm. de ident.: 40, respectivamente; xv. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 45 y la sec. con núm. de ident.: 46, respectivamente; xvi. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 47 y la sec. con núm. de ident.: 48, respectivamente; xvii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 49 y la sec. con núm. de ident.: 50, respectivamente; o xvii. una cadena VH y una cadena VL al menos 90 %, al menos 91 % al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 51 y la sec. con núm. de ident.: 52, respectivamente.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- ii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 33 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- 5 iii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 35 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- iv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 37 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- v. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 39 y la cadena VL de la sec. con
10 núm. de ident.: 32;
- vi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 45 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- vii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 47 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- 15 viii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 49 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- ix. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 51 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 32;
- x. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la cadena VL de la sec. con
20 núm. de ident.: 36;
- xi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 33 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 36;

- xii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 35 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 36;
 - xiii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 37 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 38;
 - 5 xiv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 39 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 40;
 - xv. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 45 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 46;
 - xvi. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 47 y la cadena VL de la sec. con
10 núm. de ident.: 48;
 - xvii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 49 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 50; o
 - xviii. la cadena VH de la sec. con núm. de ident.: 51 y la cadena VL de la sec. con núm. de ident.: 52.
- 15 En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc. En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc que comprende una mutación triple (TM) L234F/L235E/P331S. En algunos aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc con una mutación triple (TM)
- 20 L234F/L235E/P331S de acuerdo con la sec. con núm. de ident.: 59. En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión de este comprende una región Fc que tiene citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos reducida.

La descripción también proporciona un ADC que comprende una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 41, y una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 42; o una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 43, y una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 44. En algunos aspectos, la relación fármaco a anticuerpo (DAR) es aproximadamente 4 o aproximadamente 8. En algunos aspectos, la relación fármaco a anticuerpo es aproximadamente 8. En algunos aspectos, la relación fármaco a anticuerpo es 8. En algunos aspectos, dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es una IgG1, IgG2 o IgG4 o fragmento de esta. En algunos aspectos, dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es una IgG1 o fragmento de esta. En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión de este comprende una región Fc que tiene citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos reducida en comparación con un anticuerpo que comprende una región Fc silvestre. En algunos aspectos, el ADC se formula como una composición farmacéutica.

La presente descripción también proporciona un método para tratar un cáncer que expresa STEAP2, que comprende administrar a un sujeto el ADC o composición farmacéutica descrita en la presente. En algunos aspectos, el sujeto es un humano. En algunos aspectos, la célula cancerosa tiene un defecto de reparación del ADN homólogo.

La presente descripción también proporciona un método para reducir el volumen de un tumor que expresa STEAP2, que comprende administrar a un sujeto un ADC o una composición farmacéutica descrita en la presente. En algunos aspectos, el tumor presenta un defecto de reparación del ADN homólogo. En algunos aspectos, la

presente descripción también proporciona un kit de partes que comprende al menos una de una (i) cadena pesada variable, (ii) cadena ligera variable de cualquier ADC descrito en la presente. En algunos aspectos, el kit comprende además instrucciones de uso.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

A continuación, se describirán aspectos de la descripción, a manera de ejemplo solamente, con referencia a las siguientes Figuras y Ejemplos.

La **Figura 1** muestra la expresión del ARN de STEAP2 en tejidos normales
10 en comparación con la expresión de otros antígenos asociados a tumores (TAA, por sus siglas en inglés) para el cáncer de próstata, PSMA y STEAP1. Datos consultados de la base de datos Human Protein Atlas (HPA).

La **Figura 2** muestra una expresión elevada de STEAP2 en todas las etapas
15 del cáncer de próstata clínicamente localizado (CaP), que varían desde el diagnóstico primario, el cáncer de próstata resistente a la castración primaria (CRPC, por sus siglas en inglés), y hasta la metástasis de ganglios linfáticos y huesos. Las imágenes de la derecha ilustran dos tinciones inmunohistoquímica (IHC) ilustrativas entre CRPC y metástasis óseas.

La **Figura 3A** muestra la unión de 40A3-LO7 y sus variantes maduras
20 por afinidad a STEAP2 humano en células LNCAP y la falta de esta en la línea celular isogénica de eliminación STEAP2.

La **Figura 3B** muestra la unión de 40A3-LO7 y sus variantes maduras por afinidad a STEAP2 murino confirmando la reactividad cruzada de anticuerpos al ratón. La notación STEAP3-2 se refiere a la línea celular modificada genéticamente que

expresa una proteína quimera con una secuencia de transmembrana STEAP3 y dominio extracelular STEAP2.

La **Figura 4A** muestra la cinética de internalización de 40A3-LO7 y sus variantes maduradas por afinidad en células de cáncer de próstata humano con expresión endógena de STEAP2 (C42). Las imágenes representativas en la parte superior son fluorescentes y de campo brillante que demuestran la internalización del anticuerpo 40A3-LO14 2 h después del tratamiento. No se observó señal de internalización con el anticuerpo de control de isotipo.

La **Figura 4B** muestra la cinética de internalización de 40A3-LO14 que porta la carga útil del enlazador LP-1 en comparación con un anticuerpo LO14 de control, un ADC de control de isotipo con LP-1, y un anticuerpo de control de isotipo en células de cáncer de próstata humano con expresión endógena de STEAP2 (C42).

La **Figura 5** muestra un esquema ilustrativo de las estructuras de ADC DAR8 (fila superior) y DAR4 (fila inferior), y la síntesis usada para obtener el ADC, respectivamente. TA = temperatura ambiente.

La **Figura 6A** muestra el efecto citotóxico de los ADC STEAP2 SG3932 DAR8 en líneas celulares de cáncer de próstata humano que expresan STEAP2. La muerte específica de STEAP2 del ADC LO14 SG3932 DAR8 se confirmó por la disminución dependiente de la dosis en la viabilidad celular de las células LNCAP, C42 y 22Rv1 tratadas y la falta de esta en la línea celular isogénica de eliminación STEAP2. No se observó actividad en el ADC SG3932 DAR8 del isotipo.

La **Figura 6B** muestra el efecto citotóxico de los ADC STEAP2 LO14 LP-1 DAR8 en una línea celular de cáncer de próstata humano que expresa STEAP2. La muerte

específica de STEAP2 del ADC LO14 LP-1 DAR8 se confirmó por la disminución dependiente de la dosis en la viabilidad celular de las células LNCAP tratadas.

La **Figura 6C** muestra el efecto citotóxico de los ADC STEAP2 LO14 LP-1 DAR8 en una línea celular de cáncer de próstata humano que expresa STEAP2. La muerte
5 específica de STEAP2 del ADC LO14 LP-1 DAR8 se confirmó por la disminución dependiente de la dosis en la viabilidad celular de las células C42 tratadas.

La **Figura 6D** muestra el efecto citotóxico de los ADC STEAP2 LO14 LP-1 DAR8 en una línea celular de cáncer de próstata humano que expresa STEAP2. La muerte
10 específica de STEAP2 del ADC LO14 LP-1 DAR8 se confirmó por la disminución dependiente de la dosis en la viabilidad celular de las células 22Rv1 tratadas.

La **Figura 7A** muestra las concentraciones plasmáticas de ADC LO14 hIgG1-TM o SG3932 DAR8 después de una única dosis intravenosa (IV) de 5 miligramos por kilogramo (mpk). Se usó un modelo estándar de grupo sin tratamiento de 2
15 compartimentos para calcular la depuración, la vida media y el volumen de distribución y a lo largo de una duración de 21 días. Existe una diferencia mínima en la depuración del anticuerpo LO14 o ADC en ratones NSG inmunodeprimidos (izquierda). La depuración de ADC LO14 SG3932 DAR8 es similar tanto en ratones inmunodeficientes (NSG, atímico desnudo) como inmunocompetentes (FcRN) (derecha).

La **Figura 7B** muestra las concentraciones plasmáticas de ya sea ADC
20 LO14 SG3932 DAR4 o DAR8 después de una única dosis intravenosa (IV) de 5 miligramos por kilogramo (mpk). Se usó un modelo estándar de grupo sin tratamiento de 2 compartimentos para calcular la depuración, la vida media y el volumen de distribución

y a lo largo de una duración de 21 días. Existe una diferencia mínima en la depuración de los ADC LO14 DAR4 o DAR8 en ratones NSG inmunodeprimidos (izquierda).

La **Figura 7C** muestra las concentraciones plasmáticas de ADC LO14 LP-1 DAR8 y un control de IgG de LO14 después de una única dosis intravenosa (IV) de 5 miligramos por kilogramo (mpk).

La **Figura 8A** muestra la eficacia de ADC DAR8 vs. DAR4 LO14 SG3932 o control de isotipo después de una única dosis IV que varía de 1-10 mpk en ratones NSG que portan xenoinjertos derivados de células de cáncer de próstata humano (CDX). Los ADC LO14 SG3932 mostraron disminuciones dependientes de la dosis en el volumen tumoral en ambos modelos a lo largo de una duración de 50 días. Los valores son la media $\pm$ SEM de los volúmenes tumorales. La línea con puntos denota el volumen tumoral de referencia promedio en el momento de la dosificación.

La **Figura 8B** muestra la eficacia del ADC DAR8 vs. DAR4 LO14 SG3932 o control de isotipo después de una única dosis IV que varía de 1-10 mpk en ratones NSG que portan xenoinjertos derivados de pacientes con cáncer de próstata humano (PDX). Los ADC LO14 SG3932 mostraron disminuciones dependientes de la dosis en el volumen tumoral en ambos modelos a lo largo de una duración de 50 días. Los valores son la media $\pm$ SEM de los volúmenes tumorales. La línea con puntos denota el volumen tumoral de referencia promedio en el momento de la dosificación.

La **Figura 8C** muestra la eficacia de ADC DAR8 LO14 LP1 o control de isotipo después de una única dosis IV que varía de 0,5-6 mpk en ratones NSG que portan xenoinjertos derivados de células de cáncer de próstata humano (CDX). Los ADC LO14 LP-1 DAR8 mostraron disminuciones dependientes de la dosis en el

volumen tumoral en ambos modelos a lo largo de una duración de 50 días. Los valores son la media $\pm$ SEM de los volúmenes tumorales. La línea con puntos denota el volumen tumoral de referencia promedio en el momento de la dosificación.

La **Figura 8D** muestra la eficacia de ADC DAR8 LO14 LP-1 o control de isotipo después de una única dosis IV que varía de 0,25-5 mpk en ratones NSG que portan xenoinjertos derivados de pacientes con cáncer de próstata humano (PDX). Los ADC LO14 LP-1 DAR8 mostraron disminuciones dependientes de la dosis en el volumen tumoral en ambos modelos a lo largo de una duración de 50 días. Los valores son la media $\pm$ SEM de los volúmenes tumorales. La línea con puntos denota el volumen tumoral de referencia promedio en el momento de la dosificación.

La **Figura 8E** muestra la tasa de crecimiento tumoral relativa en ratones NSG que portan modelos CDX o PDX (014-22Rv1, 015-C42, 017-147LuCaP, 018-73LuCaP, y 019-70LuCaP, respectivamente) después de la administración IV de una única dosis IV de ya sea los ADC DAR4 o DAR8 LO14 SG3932.

La **Figura 9A** muestra la mejor respuesta mediana de 19 modelos PDX de próstata humana diferentes después de la administración intravenosa (IV) de ADC LO14 SG3932 DAR8 a 5 miligramos por kilogramo (mpk).

La **Figura 9B** muestra la mejor respuesta mediana de 19 modelos PDX de próstata humana diferentes después de la administración intravenosa (IV) de ADC LO14 SG3932 DAR8 a 2,5 miligramos por kilogramo (mpk).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

El antígeno epitelial de seis transmembranas de próstata 2 (STEAP2), también conocido como STEAP-2, metaloreductasa STEAP2, se expresa en múltiples tipos celulares (p. ej., células de mama, pulmón, páncreas y próstata). STEAP2 también se expresa en corazón normal, cerebro, páncreas, ovario, músculo esquelético, glándula mamaria, testículo, útero, riñón, pulmón, tráquea, colon, e hígado.

No obstante, STEAP2 se sobreexpresa en tejidos cancerosos, que incluyen tumores de próstata, vejiga, cuello uterino, pulmón, colon, riñón, mama, páncreas, estómago, útero y ovario (Gomes, I. M. et al., 2012, Mol. Cancer Res. 10:573-587; Challita-Eid-P. M., et al., 2003, WO 03/087306; Emtage, P. C. R., 2005, WO 2005/079490). Esta sobreexpresión es consistente con el rol de un antígeno cancerígeno. Por lo tanto, esta descripción incluye anticuerpos generados con éxito que muestran una alta unión a las células que expresan STEAP2. Ventajosamente, los anticuerpos pueden dirigirse a múltiples tipos de células cancerosas diferentes que expresan STEAP2, ejemplificando la amplia utilidad de los anticuerpos como terapias anticancerígenas. Además, los anticuerpos pueden enlazarse/conjugarse ventajosamente a fármacos/citotoxinas adecuados (p. ej., para proporcionar conjugados anticuerpo-fármaco (ADC)), aumentando por lo tanto la potencia de los anticuerpos como terapia al permitir la administración dirigida de toxinas a las células cancerosas.

El término “aproximadamente” se usa en la presente descripción para significar aproximadamente, aproximadamente, alrededor, o en las regiones de. Cuando el término “aproximadamente” se usa junto con un rango numérico, modifica ese rango

extendiendo los límites por encima y por debajo de los valores numéricos establecidos. En general, el término “aproximadamente” se usa en la presente para modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor establecido por una varianza de 10 por ciento, hacia arriba o hacia abajo (mayor o menor). Como se describe en la presente, el lenguaje “que comprende” constituye aspectos análogos de cualquier otra manera descritos en los términos “que consiste en” y/o “que consiste esencialmente en”.

A lo largo de esta descripción, diversos aspectos de esta descripción se presentan en un formato de rango. Debe entenderse que la descripción en formato de rango es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la descripción. En consecuencia, se debe considerar que la descripción de un rango ha revelado específicamente todos los subrangos posibles así como valores numéricos individuales dentro de ese rango. Por ejemplo, se debe considerar que la descripción de un rango tal como de 1 a 6 ha revelado específicamente subrangos como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como números individuales dentro de ese rango, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del rango. Los rangos numéricos citados incluyen los números que definen el rango e incluyen cada número entero dentro del rango definido.

Las unidades, prefijos y símbolos se denotan en su forma aceptada del Système International de Unites (SI). Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango. Cuando se cita un rango de valores, debe entenderse que cada valor número entero intermedio, y cada fracción de este, entre los límites superior e inferior citados de ese rango también se describe específicamente, junto con cada subrango entre tales valores. Los límites superior e inferior de cualquier rango pueden incluirse

independientemente o excluirse del rango, y cada rango donde se incluyen cualquiera, ninguno o ambos límites también se abarca dentro de la descripción. Por lo tanto, se entiende que los rangos citados en la presente son una abreviación para todos los valores dentro del rango, incluidos los criterios de valoración citados. Por ejemplo, se
5 entiende que un rango de 1 a 10 incluye cualquier número, combinación de números o subrango del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.

Cuando un valor se cita explícitamente, debe entenderse que los valores que son aproximadamente la misma cantidad o suma que el valor citado también están dentro del alcance de la descripción. Por lo tanto, cualquier valor que se menciona en la presente
10 incluye un valor preciso, así como valores que son aproximadamente los mismos que el valor preciso. Cuando se describe una combinación, cada subcombinación de los elementos de esa combinación también se describe específicamente y está dentro del alcance de la descripción. Por el contrario, cuando diferentes elementos o grupos de elementos se describen individualmente, también se describen combinaciones de estos.
15 Cuando se describe que cualquier elemento de una descripción tiene una pluralidad de alternativas, también se describen ejemplos de esa descripción en los que cada alternativa se excluye individualmente o en cualquier combinación con las otras alternativas; más de un elemento de una descripción puede tener tales exclusiones, y todas las combinaciones de elementos que tienen tales exclusiones se describen en la presente.

20 El término “composición farmacéutica” se refiere a una preparación que se encuentra en forma tal que permita que la actividad biológica del ingrediente activo sea efectiva, y que no contenga componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un participante al que se le administraría la composición. Tal composición

puede ser estéril, y puede comprender un portador farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina fisiológica. Las composiciones farmacéuticas adecuadas pueden comprender uno o más de un regulador (p. ej., regulador de acetato, fosfato o citrato), un surfactante (p. ej., polisorbato), un agente estabilizante (p. ej., albúmina humana), un
5 conservante (p. ej., alcohol bencílico) y promotor de absorción para mejorar la biodisponibilidad y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

Además, se ha demostrado que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este de la descripción se dirige y suprime el crecimiento de tumores positivos para STEAP2 *in vivo*. Por lo tanto, la descripción abarca el anticuerpo definido
10 anteriormente o fragmento de unión al antígeno de este y la composición farmacéutica definida anteriormente para usar en un método de tratamiento del cáncer. En ciertos aspectos, el cáncer comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2.

“Cáncer” como se usa en la presente puede abarcar todos los tipos de procesos oncogénicos y/o crecimientos cancerosos. En esta descripción, el cáncer
15 puede incluir, pero no se limita a tumores primarios así como tejidos metastásicos o células, tejidos u órganos transformados de forma maligno. El cáncer puede abarcar histopatologías y etapas, p. ej., etapas de invasividad/gravedad, de un cáncer. El cáncer puede incluir cáncer recidivante y/o resistente. Los términos “cáncer” y “tumor” se pueden usar indistintamente. Por ejemplo, ambos términos abarcan tumores sólidos
20 y líquidos. Como se usa en la presente, el término “cáncer” o “tumor” incluye cánceres y tumores premalignos, así como malignos.

En un aspecto, se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este para usar en el tratamiento de un cáncer (por ejemplo, en donde dicho

cáncer comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2), en donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende:

- i. una CDR1 de cadena pesada (HCDR1), una CDR2 de cadena pesada (HCDR2), una CDR3 de cadena pesada (HCDR3), una CDR1 de cadena ligera (LCDR1), una CDR2 de cadena ligera (LCDR2) y una CDR3 de cadena ligera (LCDR3) que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 1, la sec. con. núm. de ident.: 2, la sec. con. núm. de ident.: 3, la sec. con. núm. de ident.: 4, la sec. con. núm. de ident.: 5, y la sec. con. núm. de ident.: 6, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- ii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 7, la sec. con. núm. de ident.: 8, la sec. con. núm. de ident.: 9, la sec. con. núm. de ident.: 10, la sec. con. núm. de ident.: 11, y la sec. con. núm. de ident.: 12, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- iii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 13, la sec. con. núm. de ident.: 14, la sec. con. núm. de ident.: 15, la sec. con. núm. de ident.: 16, la sec. con. núm. de ident.: 17, y la sec. con. núm. de ident.: 18, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- iv. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 19, la sec. con. núm. de ident.: 20, la sec. con. núm. de ident.: 21, la sec. con. núm. de ident.: 22, la sec. con. núm. de ident.: 23, y la sec. con. núm. de ident.: 24, respectivamente, o una variante funcional de estas; o

- v. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 25, la sec. con. núm. de ident.: 26, la sec. con. núm. de ident.: 27, la sec. con. núm. de ident.: 28, la sec. con. núm. de ident.: 29, y la sec. con. núm. de ident.: 30, respectivamente,
- 5 o una variante funcional de estas.

En otras palabras, un aspecto de la descripción proporciona un método para tratar un cáncer (por ejemplo, en donde dicho cáncer comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2), el método comprende administrar a un sujeto una cantidad efectiva de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno que comprende:

- 10 i. una CDR1 de cadena pesada (HCDR1), una CDR2 de cadena pesada (HCDR2), una CDR3 de cadena pesada (HCDR3), una CDR1 de cadena ligera (LCDR1), una CDR2 de cadena ligera (LCDR2) y una CDR3 de cadena ligera (LCDR3) que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 1, la sec. con. núm. de ident.: 2, la sec. con. núm. de ident.: 3, la sec. con. núm. de ident.: 4, la sec. con. núm. de ident.: 5, y la sec. con. núm. de ident.: 6, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- 15 ii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 7, la sec. con. núm. de ident.: 8, la sec. con. núm. de ident.: 9, la sec. con. núm. de ident.: 10, la sec. con. núm. de ident.: 11, y la sec. con. núm. de ident.: 12, respectivamente, o una
- 20 variante funcional de estas;
- iii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 13, la sec. con. núm. de ident.: 14, la sec. con. núm. de ident.: 15, la sec. con. núm. de ident.:

16, la sec. con. núm. de ident.: 17, y la sec. con. núm. de ident.: 18, respectivamente, o una variante funcional de estas;

iv. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19, la sec.

5 con núm. de ident.: 20, la sec. con núm. de ident.: 21, la sec. con núm. de ident.: 22, la sec. con núm. de ident.: 23, y la sec. con núm. de ident.: 24, respectivamente, o una variante funcional de estas; o

v. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 25, la

10 sec. con. núm. de ident.: 26, la sec. con. núm. de ident.: 27, la sec. con. núm. de ident.: 28, la sec. con. núm. de ident.: 29, y la sec. con. núm. de ident.: 30, respectivamente, o una variante funcional de estas.

En otras palabras, la descripción se dirige al uso de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este en la elaboración de un medicamento para el
15 tratamiento del cáncer (por ejemplo, en donde dicho cáncer comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2), dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende:

i. una CDR1 de cadena pesada (HCDR1), una CDR2 de cadena pesada (HCDR2), una CDR3 de cadena pesada (HCDR3), una CDR1 de cadena ligera (LCDR1), una CDR2

20 de cadena ligera (LCDR2) y una CDR3 de cadena ligera (LCDR3) que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 1, la sec. con. núm. de ident.: 2, la sec. con. núm. de ident.: 3, la sec. con. núm. de ident.: 4, la sec. con. núm. de ident.: 5, y la sec. con. núm. de ident.: 6, respectivamente, o una variante funcional de estas;

- ii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 7, la sec. con. núm. de ident.: 8, la sec. con. núm. de ident.: 9, la sec. con. núm. de ident.: 10, la sec. con. núm. de ident.: 11, y la sec. con. núm. de ident.: 12, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- iii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 13, la sec. con. núm. de ident.: 14, la sec. con. núm. de ident.: 15, la sec. con. núm. de ident.: 16, la sec. con. núm. de ident.: 17, y la sec. con. núm. de ident.: 18, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- iv. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 19, la sec. con. núm. de ident.: 20, la sec. con. núm. de ident.: 21, la sec. con. núm. de ident.: 22, la sec. con. núm. de ident.: 23, y la sec. con. núm. de ident.: 24, respectivamente, o una variante funcional de estas; o
- v. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 25, la sec. con. núm. de ident.: 26, la sec. con. núm. de ident.: 27, la sec. con. núm. de ident.: 28, la sec. con. núm. de ident.: 29, y la sec. con. núm. de ident.: 30, respectivamente, o una variante funcional de estas.

Ahora se describirán ciertas definiciones y aspectos. Debe entenderse que las siguientes definiciones y aspectos pueden relacionarse con cualquier aspecto

descrito en la presente, p. ej., cualquier método, composición y/o composición para usar en la terapia descrita en la presente.

El término “epítipo” se refiere a una región proteica diana (p. ej., polipéptido) capaz de unirse a (p. ej., unirse mediante) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de la descripción.

STEAP2 es un miembro de la familia STEAP y codifica una proteína de membrana de múltiples pasos que se localiza en el complejo de Golgi, la membrana plasmática y las estructuras tubulares vesiculares en el citosol. Se entiende que STEAP2 se expresa en la superficie de las células presentadora de antígenos para interacciones con ligandos de células inmunitarias. STEAP2 también se conoce como, UNQ6507/PRO23203, STMP, IPCA1, PUMPCn, STAMP1 o PCANAP1, LOC261729, metaloreductasa STEAP2, OTTHUMP00000067572, OTTHUMP00000067573, OTTHUMP00000196964, proteína asociada al cáncer de próstata 1, proteína asociada al cáncer de próstata 1, proteína de seis transmembranas de próstata 1, proteína de Seis Transmembranas de próstata 1, proteína subregulada en cáncer de próstata metastásico, antígeno epitelial de seis transmembrana de próstata 2, antígeno epitelial de seis transmembrana de próstata 2, y cualquier equivalente gramatical.

Sin desear estar limitado por la teoría, se entiende que STEAP2 se expresa en células de diversos tipos de cáncer sugiere que esta molécula es un antígeno asociado a tumores. Como tal, la capacidad del anticuerpo reivindicado para dirigir (y opcionalmente suministrar una citotoxina a) una expresión de STEAP2 hace que dicho anticuerpo sea particularmente adecuado para usar en terapia contra el cáncer. Además,

la expresión de STEAP2 no se limita a un tipo de cáncer particular, de tal manera que puede representar un antígeno diana para tratar un amplio espectro de tipos de cáncer.

Las secuencias de ARN, ADN y aminoácidos de STEAP2 son conocidas por los expertos en la técnica y pueden encontrarse en muchas bases de datos, por ejemplo, en las bases de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés) y UniProt. Ejemplos de estas secuencias encontradas en UniProt están en Q8IUE7, Q8NFT2 para STEAP2 humano. La secuencia de nucleótidos que codifica STEAP2 humano puede ser la sec. con núm. de ident.: 56. En algunos aspectos, la secuencia de polipéptido del STEAP2 humano es sec. con núm. de ident.: 57.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 1, la sec. con. núm. de ident.: 2, la sec. con. núm. de ident.: 3, la sec. con. núm. de ident.: 4, la sec. con. núm. de ident.: 5, y la sec. con. núm. de ident.: 6, respectivamente, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 13, la sec. con. núm. de ident.: 14, la sec. con. núm. de ident.: 15, la sec. con. núm. de ident.: 16, la sec. con. núm. de ident.: 17, y la sec. con. núm. de ident.: 18, respectivamente, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una

LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 19, la sec. con. núm. de ident.: 20, la sec. con. núm. de ident.: 21, la sec. con. núm. de ident.: 22, la sec. con. núm. de ident.: 23, y la sec. con. núm. de ident.: 24, respectivamente, o una variante funcional de esta.

5 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 25, la sec. con. núm. de ident.: 26, la sec. con. núm. de ident.: 27, la sec. con. núm. de ident.: 28, la sec. con. núm. de ident.: 29, y la sec. con. núm. de ident.: 30, 10 respectivamente, o una variante funcional de esta.

 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 7, la sec. con. núm. de ident.: 8, la sec. con. núm. de ident.: 9, la sec. con. núm. de 15 ident.: 10, la sec. con. núm. de ident.: 11, y la sec. con. núm. de ident.: 12, respectivamente, o una variante funcional de esta.

 En otras palabras, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede comprender:

- una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. 20 de ident.: 7, o una variante funcional de esta;
- una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 8, o una variante funcional de esta;

- una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9, o una variante funcional de esta;
- una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10, o una variante funcional de esta;
- 5 – una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 11, o una variante funcional de esta; y
- una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 12, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este
10 comprende:

- i. una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1, o una variante funcional de esta;
- ii. una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2, o una variante funcional de esta;
- 15 iii. una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3, o una variante funcional de esta;
- iv. una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4, o una variante funcional de esta;
- v. una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5, o una variante funcional de esta; y
- 20 vi. una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 13, o una variante funcional de esta;
- 5 ii. una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 14, o una variante funcional de esta;
- iii. una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 15, o una variante funcional de esta;
- iv. una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 16, o una variante funcional de esta;
- 10 v. una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 17, o una variante funcional de esta; y
- vi. una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 18, o una variante funcional de esta.

15 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19, o una variante funcional de esta;
- ii. una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20, o una variante funcional de esta;
- 20 iii. una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 21, o una variante funcional de esta;

- iv. una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 22, o una variante funcional de esta;
- v. una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 23, o una variante funcional de esta; y
- 5 vi. una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25, o una variante funcional de esta;
- 10 ii. una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26, o una variante funcional de esta;
- iii. una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27, o una variante funcional de esta;
- 15 iv. una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28, o una variante funcional de esta;
- v. una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 29, o una variante funcional de esta; y
- vi. una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 30, o una variante funcional de esta.
- 20

Adicional o alternativamente, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente descripción puede describirse por medio de una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) de esta.

Las secuencias de cadena pesada variable (VH) adecuadas (que puede comprender el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este) se describen de manera individualizada a continuación:

- sec. con núm. de ident.: 31, o una variante funcional de esta;
- 5 – sec. con núm. de ident.: 33, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 35, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 37, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 39, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 45, o una variante funcional de esta
- 10 – sec. con núm. de ident.: 47, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 49, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 51, o una variante funcional de esta.

Las secuencias de cadena pesada variable (VH) adecuadas (que puede comprender el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este) se describen de manera individualizada a continuación:

- sec. con núm. de ident.: 31, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 33, o una variante funcional de esta

Las secuencias de cadena ligera variable (VL) adecuadas (que puede comprender el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este) se describen de manera individualizada a continuación:

- sec. con núm. de ident.: 32, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 34, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 36, o una variante funcional de esta

- sec. con núm. de ident.: 38, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 40, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 46, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 48, o una variante funcional de esta
- 5 – sec. con núm. de ident.: 50, o una variante funcional de esta
- sec. con núm. de ident.: 52, o una variante funcional de esta

Una secuencia de cadena ligera variable (VL) (que puede comprender el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este) puede comprender una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 32 (o una variante funcional de esta).

10 Por ejemplo, en un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. una cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 31, 33, 35, 37, 39, 45, 47,
15 49 o 51, o una variante funcional de esta; y
- ii. una cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, 34, 36, 38, 40, 46, 48,
50 o 52, o una variante funcional de esta.

20 Por ejemplo, en un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. una cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con

la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 31, 33, 35, 37, 39, 45, 47, 49 o 51, o una variante funcional de esta; y

ii. una cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con

5 la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, 34, 36, 38, 40, 46, 48, 50 o 52, o una variante funcional de esta.

Adecuadamente, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede comprender:

i. una cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que
10 tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 33, o una variante funcional de esta; y

ii. una cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con

15 la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 34, o una variante funcional de esta.

Más adecuadamente, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede comprender:

i. una cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que

20 tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 31, o una variante funcional de esta; y

ii. una cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 34, o una variante funcional de esta.

5 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende:

– una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 31 y la sec. con. núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas;

10 – una cadena VH y una cadena VL que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 33 y la sec. con. núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas;

– una cadena VH y una cadena VL que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 35 y la sec. con. núm. de ident.: 32, respectivamente, o
15 una variante funcional de estas;

– una cadena VH y una cadena VL que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 37 y la sec. con. núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas;

– una cadena VH y una cadena VL que comprenden la secuencia de aminoácidos
20 de la sec. con. núm. de ident.: 39 y la sec. con. núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas;

- una cadena VH y una cadena VL que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 45 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- una cadena VH y una cadena VL que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 47 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- una cadena VH y una cadena VL que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 49 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas; o
- una cadena VH y una cadena VL que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 51 y la sec. con núm. de ident.: 32, respectivamente, o una variante funcional de estas.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable (VH) comprende la secuencia de aminoácidos de las sec. con. núm. de ident.: 31, 33, 37, 39, 45, 47, 49 o 51 (o una variante funcional de estas); y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32 (o una variante funcional de esta).

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 31, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 33, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.:
5 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 35, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.:
10 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 37, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.:
15 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 39, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.:
20 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 45, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera

variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 47, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 49, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 51, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, o una variante funcional de esta.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de referencia de la sec. con núm. de ident.: 33. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 33. Por ejemplo, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede comprender una cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. ident.: 33 y una cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 34.

5 Adicional o alternativamente, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente puede describirse por medio de una cadena pesada y/o una cadena ligera de esta.

 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena ligera (p. ej., que comprende una VL y una cadena ligera constante)
10 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 32. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena ligera (p. ej., que comprende una VL una cadena ligera constante) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 32.

15 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada (p. ej., que comprende una VH y una cadena pesada constante) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de referencia de la sec. con núm. de ident.: 41. Por ejemplo, el anticuerpo
20 o el fragmento de unión al antígeno de este puede comprender una cadena pesada (p. ej., que comprende una VH y una cadena pesada constante) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 41.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada (p. ej., que comprende una VH y una cadena pesada constante) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de referencia de la sec. con núm. de ident.: 43. Por ejemplo, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede comprender una cadena pesada (p. ej., que comprende una VH y una cadena pesada constante) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 43.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada (p. ej., que comprende una VH y una cadena pesada constante) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de referencia de la sec. con núm. de ident.: 55. En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada (p. ej., que comprende una VH una cadena pesada constante) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 55.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de referencia de la sec. con núm. de ident.: 58. En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 58.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 55. En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 54.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena ligera (p. ej., que comprende una VL y una cadena ligera constante) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 42 y una cadena pesada (p. ej., que comprende una VH y una cadena pesada constante) que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 55.

En la presente se describe un anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno) de este que tiene afinidad y especificidad para una diana clínicamente relevante y ha demostrado una ventaja única (p. ej., un efecto técnico inesperado) asociada con este.

Un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente es capaz de unirse a STEAP2 como un componente integral de una célula cancerosa (p. ej., STEAP2 como un componente integral de una membrana celular de una célula cancerosa).

Un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente puede unirse a una línea celular de cáncer de próstata ilustrativa, que incluye, pero no se limita a, LNCaP, por ejemplo. Por ejemplo, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se une a un STEAP2 (p. ej., un epítipo STEAP2) de una línea celular LNCaP y/o cualquier línea celular cancerosa (p. ej., que puede carecer de un ácido nucleico exógeno que codifica STEAP2). Adecuadamente, el anticuerpo o el fragmento de unión al

antígeno de este descrito en la presente puede unirse a una línea celular LNCaP y una línea celular CHO (p. ej., que puede carecer de un ácido nucleico exógeno que codifica STEAP2.

La afinidad de unión al anticuerpo se puede medir mediante cualquier método adecuado para medir la afinidad de unión descrito en la presente o conocido
5 por una persona con experiencia en la técnica.

Adecuadamente, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de la descripción se une a la molécula STEAP2 con suficiente afinidad de manera que el anticuerpo sea útil como agente terapéutico o reactivo de diagnóstico para dirigir a STEAP2.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este
10 se une a un STEAP2 (p. ej., un STEAP2 humano) con una constante de disociación (KD) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ pM}$, $\leq 1 \text{ pM}$, o $\leq 0,1 \text{ pM}$. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se une a un STEAP2 (p. ej., un STEAP2 humano) con una KD de entre aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 40 nM, entre aproximadamente 0,5 nM a aproximadamente 30 nM,
15 entre aproximadamente 1 nM a aproximadamente 20 nM, o entre aproximadamente 1,5 nM a aproximadamente 20 nM.

Las mediciones de KD (afinidad de unión) pueden realizarse mediante cualquier ensayo adecuado conocido en la técnica. Los ensayos adecuados incluyen un ensayo de afinidad realizable a través de un sistema KinExA (p. ej., KinExA 3100, KinExA
20 3200 o KinExA 4000) (Sapidyne Instruments, Idaho), o el sistema ForteBio Octet.

En un aspecto, el grado de unión de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción a una proteína no relacionada, no STEAP2 es menor que aproximadamente 10 %, 5 %, 2 % o 1 % (p. ej., menos de

aproximadamente 10 %) de la unión del anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) a STEAP2 (p. ej., STEAP2 humano). Dicha unión puede medirse, p. ej., mediante un radioinmunoensayo (RIA), BIACORE® (usando STEAP2 recombinante como analito y anticuerpo como ligando, o viceversa), KINEXA®, sistema ForteBio
 5 Octet, u otros ensayos de unión conocidos en la técnica.

En un aspecto, el polipéptido STEAP2 está comprendido dentro de una secuencia de polipéptido STEAP2, o un fragmento de esta.

Un “polipéptido STEAP2” puede comprender la secuencia de polipéptido de longitud completa de STEAP2 (p. ej., sec. con núm. de ident.: 57) o puede comprender un
 10 fragmento de STEAP2 de cualquier longitud de la secuencia de polipéptido de longitud completa de STEAP2 (p. ej., que comprende una secuencia de polipéptido de 5 %, 15 %, 25 %, 35 %, 45 %, 55 %, 65 %, 75 %, 85 % o 95 % de la secuencia de polipéptido de longitud completa de STEAP2) que comprende un epítipo que puede unirse a (p. ej., estar
 15 unido por) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de la descripción. El polipéptido STEAP2 puede comprender una secuencia que tiene 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de sec. con. núm. de ident.: 57. El polipéptido STEAP2 puede comprender la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 57.

El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno tiene una alta afinidad para STEAP2 tanto *in vitro* como *in vivo*, y por lo tanto puede usarse ventajosamente
 20 en métodos para detectar un epítipo de STEAP2, y métodos asociados de diagnóstico.

Como se describió anteriormente, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción puede estar comprendido dentro de una composición farmacéutica. La composición farmacéutica puede comprender uno o más excipiente(s)

farmacéuticamente aceptable(s). En un aspecto, una composición farmacéutica de la descripción puede comprender un portador estéril, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina fisiológica, reguladores no tóxicos, conservantes y lo similar. Las formulaciones adecuadas para usar en los métodos terapéuticos descritos en la presente se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences, 22.^a ed., Ed. Lloyd V. Allen, Jr. (2012).

En un aspecto, una composición farmacéutica de la descripción puede estar comprendida dentro de una o más formulaciones seleccionadas de una cápsula, una tableta, una suspensión acuosa, una solución, un aerosol nasal, o una combinación de estos.

En un aspecto, la composición farmacéutica comprende más de un tipo de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la descripción. Por ejemplo, una composición farmacéutica puede comprender dos o más seleccionados de un anticuerpo, un fragmento de unión al antígeno, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este conjugado con una citotoxina, o una combinación de estos.

El término “una cantidad farmacéuticamente efectiva” de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno significa una cantidad suficiente para lograr una unión efectiva a una diana y para lograr un beneficio, p. ej., para paliar los síntomas de una enfermedad o afección o para detectar una sustancia o una célula.

En un aspecto, una composición farmacéutica puede comprender un regulador (p. ej., regulador de acetato, fosfato o citrato), un surfactante (p. ej., polisorbato), opcionalmente un agente estabilizador (p. ej., albúmina humana), etc.

“Tratar” se refiere a medidas terapéuticas que curan, ralentizan, alivian los síntomas y/o detienen la progresión de una afección o trastorno patológico diagnosticado. Por lo tanto, entre los que necesitan tratamiento se encuentran aquellos

que ya tienen el trastorno. En un aspecto, un sujeto es “tratado” con éxito para una enfermedad o trastorno (p. ej., cáncer), de acuerdo con los métodos proporcionados en la presente si el paciente muestra, p. ej., un alivio o eliminación total, parcial o transitoria de los síntomas asociados con la enfermedad o trastorno (p. ej., cáncer).

5 En un aspecto, se puede usar un método de la descripción para prevenir el inicio de un cáncer que comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2. “Prevenir” se refiere a medidas profilácticas o preventivas que previenen y/o retrasan el desarrollo de una afección o trastorno patológico dirigido. Por lo tanto, entre quienes necesitan prevención se encuentran aquellos propensos a tener o susceptibles al trastorno. En un
10 aspecto, una enfermedad o trastorno (p. ej., cáncer) se previene con éxito de acuerdo con los métodos proporcionados en la presente si el paciente desarrolla, de manera transitoria o permanente, p. ej., síntomas menos o menos graves asociados con la enfermedad o trastorno, o un inicio posterior de síntomas asociados con la enfermedad o trastorno, que un paciente que no ha estado sujeto a los métodos de la descripción.

15 Los términos “sujeto”, “individuo” y “paciente” se usan indistintamente en la presente descripción para referirse a un sujeto mamífero. En un aspecto, el “sujeto” es un humano, animales domésticos, animales de granja, animales deportivos, y animales de zoológico, p. ej., humanos, primates no humanos, perros, gatos, cobayas, conejos, ratas, ratones, caballos, ganado, etc. En un aspecto, el sujeto es un mono
20 cynomolgus (*Macaca fascicularis*). En un aspecto, el sujeto es un humano. En los métodos de la descripción, el sujeto puede no haber sido diagnosticado previamente con cáncer. Alternativamente, el sujeto puede haber sido diagnosticado previamente con cáncer. El sujeto también puede ser uno que exhibe factores de riesgo de enfermedad,

o uno que es asintomático de cáncer. El sujeto también puede ser uno que padece o está en riesgo de desarrollar cáncer. Por lo tanto, en un aspecto, se puede usar un método de la descripción para confirmar la presencia de cáncer en un sujeto. Por ejemplo, el sujeto puede haber sido diagnosticado previamente con cáncer por medios alternativos.

- 5 En un aspecto, al sujeto se le ha administrado previamente una terapia contra el cáncer.

En un aspecto, los métodos de tratamiento de la descripción comprenden una o más etapas de administración seleccionadas de la vía oral, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, rectal o vaginal, inhalación, tópica, o una combinación de estas. En un aspecto, la administración es intravenosa o
10 intraarterial (p. ej., por inyección o goteo), o una combinación de estos.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se suministra directamente al sitio de la población celular adversa (p. ej., aumentando de esta manera la exposición del tejido enfermo al agente terapéutico). En un aspecto, la administración es directamente a la vía aérea, p. ej., por inhalación o administración
15 intranasal.

En un aspecto, un cáncer al que se hace referencia en la presente es un cáncer caracterizado por la expresión (p. ej., sobreexpresión) de una molécula STEAP2. En otras palabras, un cáncer al que se hace referencia en la presente puede comprender una célula cancerosa que expresa STEAP2. Dicha célula cancerosa puede
20 estar comprendida dentro de un tumor.

En un aspecto, el cáncer es uno o más seleccionados de cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, colangiocarcinoma, NSCLC (escamoso y adenocarcinoma), cáncer de páncreas y cáncer gástrico.

En un aspecto, el cáncer es uno o más seleccionados de cáncer colorrectal, HNSCC, cáncer de próstata, cáncer de pulmón (p. ej., NSCLC o SCLC), cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, colangiocarcinoma, melanoma, cáncer de endometrio, cáncer hematológico (AML, MM, DLBCL) y cánceres que comprenden CSC.

En un aspecto, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de mama, o una combinación de estos. Por ejemplo, el cáncer puede ser cáncer de pulmón. El cáncer puede ser cáncer de mama. El cáncer puede ser cáncer de ovario. El cáncer puede ser cáncer de próstata.

En un aspecto, el cáncer es uno o más carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) seleccionado de NSCLC escamoso, adenocarcinoma NSCLC, o una combinación de estos.

Un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este también encuentra utilidad para detectar una célula cancerosa, por ejemplo como parte de un método de diagnóstico.

En un aspecto adicional, se proporciona un método para detectar la presencia o ausencia de un polipéptido STEAP2 (p. ej., un epítipo del polipéptido STEAP2) en una muestra, que comprende:

a. poner en contacto una muestra con un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, para proporcionar un complejo anticuerpo-antígeno; en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende:

- i. una CDR1 de cadena pesada (HCDR1), una CDR2 de cadena pesada (HCDR2), una CDR3 de cadena pesada (HCDR3), una CDR1 de cadena ligera (LCDR1), una CDR2 de cadena ligera (LCDR2) y una CDR3 de cadena ligera (LCDR3) que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 1, la sec. con. núm. de ident.: 2, la sec. con. núm. de ident.: 3, la sec. con. núm. de ident.: 4, la sec. con. núm. de ident.: 5, y la sec. con. núm. de ident.: 6, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- ii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 7, la sec. con. núm. de ident.: 8, la sec. con. núm. de ident.: 9, la sec. con. núm. de ident.: 10, la sec. con. núm. de ident.: 11, y la sec. con. núm. de ident.: 12, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- iii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 13, la sec. con. núm. de ident.: 14, la sec. con. núm. de ident.: 15, la sec. con. núm. de ident.: 16, la sec. con. núm. de ident.: 17, y la sec. con. núm. de ident.: 18, respectivamente, o una variante funcional de estas;
- iv. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 19, la sec. con. núm. de ident.: 20, la sec. con. núm. de ident.: 21, la sec. con. núm. de ident.: 22, la sec. con. núm. de ident.: 23, y la sec. con. núm. de ident.: 24, respectivamente, o una variante funcional de estas; o
- v. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 25, la

sec. con. núm. de ident.: 26, la sec. con. núm. de ident.: 27, la sec. con. núm. de ident.: 28, la sec. con. núm. de ident.: 29, y la sec. con. núm. de ident.: 30, respectivamente, o una variante funcional de estas.

- b. detectar la presencia o ausencia de dicho complejo anticuerpo-antígeno; y
- 5 c. en donde la presencia del complejo anticuerpo-antígeno confirma la presencia de un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2); o
- d. en donde la ausencia del complejo anticuerpo-antígeno confirma la ausencia del polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2).

En un aspecto relacionado, se proporciona un método para detectar la
 10 presencia o ausencia de una célula cancerosa que expresa un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2) en una muestra, que comprende:

- a. poner en contacto una muestra con un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, para proporcionar un complejo anticuerpo-
 15 antígeno; en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende:
 - i. una CDR1 de cadena pesada (HCDR1), una CDR2 de cadena pesada (HCDR2), una CDR3 de cadena pesada (HCDR3), una CDR1 de cadena ligera (LCDR1), una CDR2 de cadena ligera (LCDR2) y una CDR3 de cadena ligera (LCDR3) que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 1, la sec. con. núm. de ident.:
 20 2, la sec. con. núm. de ident.: 3, la sec. con. núm. de ident.: 4, la sec. con. núm. de ident.: 5, y la sec. con. núm. de ident.: 6, respectivamente, o una variante funcional de estas;
 - ii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 7, la sec.

con. núm. de ident.: 8, la sec. con. núm. de ident.: 9, la sec. con. núm. de ident.: 10, la sec. con. núm. de ident.: 11, y la sec. con. núm. de ident.: 12, respectivamente, o una variante funcional de estas;

iii. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3

5 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 13, la sec. con. núm. de ident.: 14, la sec. con. núm. de ident.: 15, la sec. con. núm. de ident.: 16, la sec. con. núm. de ident.: 17, y la sec. con. núm. de ident.: 18, respectivamente, o una variante funcional de estas;

iv. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3

10 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 19, la sec. con. núm. de ident.: 20, la sec. con. núm. de ident.: 21, la sec. con. núm. de ident.: 22, la sec. con. núm. de ident.: 23, y la sec. con. núm. de ident.: 24, respectivamente, o una variante funcional de estas; o

v. una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3

15 que comprenden la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 25, la sec. con. núm. de ident.: 26, la sec. con. núm. de ident.: 27, la sec. con. núm. de ident.: 28, la sec. con. núm. de ident.: 29, y la sec. con. núm. de ident.: 30, respectivamente, o una variante funcional de estas;

b. detectar la presencia o ausencia de dicho complejo anticuerpo-antígeno; y

20 c. en donde la presencia del complejo anticuerpo-antígeno confirma la presencia de un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2); o

d. en donde la ausencia del complejo anticuerpo-antígeno confirma la ausencia del polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2).

La descripción abarca un uso correspondiente del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este de la descripción para detectar un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2).

En un aspecto, la presencia del complejo anticuerpo-antígeno es indicativa de la presencia de una célula cancerosa, y la ausencia del complejo anticuerpo-antígeno es indicativa de la ausencia de una célula cancerosa. Por ejemplo, el método puede comprender confirmar la presencia de cáncer donde se detecta un complejo anticuerpo-antígeno, o no confirmar la presencia de cáncer donde no se detecta un complejo anticuerpo-antígeno.

En un aspecto, la célula cancerosa es una célula cancerosa que expresa un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2).

Por lo tanto, la presente descripción abarca el uso correspondiente de las etapas del método descritas en la presente en métodos de diagnóstico de un sujeto con un cáncer, en donde dicho cáncer comprende una célula cancerosa que expresa STEAP2.

En un aspecto, un método de detección o método de diagnóstico puede comprender medir el nivel de expresión de STEAP2 en una célula (o tejido) obtenible de un sujeto, y comparar el nivel de expresión medido con una expresión de STEAP2 estándar en una célula (o tejido) de control, en donde un aumento en el nivel de expresión en comparación con el control es indicativo de la presencia de cáncer. Dicha muestra de control puede comprender una célula no cancerosa (p. ej., normal).

Un “complejo anticuerpo-antígeno” significa un complejo (p. ej., complejo macromolecular) que comprende un antígeno STEAP2 que se ha unido a un anticuerpo. El

término “complejo anticuerpo-antígeno” puede usarse como sinónimo de los términos “complejo de anticuerpo STEAP2-unido” y “anticuerpo unido a un STEAP2”.

Un complejo anticuerpo-antígeno puede detectarse por cualquier medio conocido por el experto en la técnica. En un aspecto, el anticuerpo (o fragmento de unión
5 al antígeno de este) se etiqueta con una etiqueta detectable. Dicha etiqueta puede ser una etiqueta epi-fluorescente. En otro aspecto, el anticuerpo se etiqueta con 800CW.

En un aspecto, se detecta un complejo anticuerpo-antígeno por medio de un anticuerpo secundario (p. ej., detección) que se une al anticuerpo y/o complejo anticuerpo-antígeno.

10 Adecuadamente, dicho anticuerpo secundario comprende un medio de detección, tal como un rótulo/etiqueta para ayudar a la detección. Dicho medio de detección se conjuga con el anticuerpo secundario. Los ejemplos de etiquetas adecuadas incluyen etiquetas detectables tales como radioetiquetas o moléculas fluorescentes o coloreadas, marcadores enzimáticos o marcadores cromogénicos, p. ej.,
15 colorantes que proporcionan un cambio de color visible tras la unión del anticuerpo de detección a un antígeno. A manera de ejemplo, la etiqueta puede ser isotiocianato de fluoresceína (FITC, por sus siglas en inglés), R-ficoeritrina, Alexa 532, CY3 o digoxigenina. La etiqueta puede ser una molécula indicadora, que se detecta directamente, tal como detectando su señal fluorescente, o por exposición de la etiqueta
20 a película fotográfica o de rayos X. Alternativamente, la etiqueta no es directamente detectable, sino que puede detectarse, por ejemplo, en un sistema de dos fases. Un ejemplo de detección indirecta de etiqueta es la unión de un anticuerpo a la etiqueta.

En otro aspecto, dicho anticuerpo secundario comprende una etiqueta fluorescente, y se detecta un complejo anticuerpo-antígeno mediante la fluorescencia emitida desde un complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo secundario. Un “complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo secundario” significa un complejo que comprende un
5 antígeno (p. ej., STEAP2) que se ha unido a un anticuerpo, en donde dicho complejo se ha unido adicionalmente por un anticuerpo secundario que se une a dicho anticuerpo y/o complejo anticuerpo-antígeno.

Adecuadamente, se detecta un complejo anticuerpo-antígeno cuando la señal (p. ej., fluorescencia) emitida desde la etiqueta de detección es mayor que la
10 señal detectada en un control que no comprende anticuerpo (p. ej., ningún anticuerpo que se une a un STEAP2). Dicho control puede comprender alternativamente un STEAP2, pero la muestra no se aplica a dicho control.

Adecuadamente, una “muestra” es una muestra obtenida de un sujeto (p. ej., biopsia), línea celular, cultivo de tejidos u otra fuente de células que potencialmente
15 expresan STEAP2. En un aspecto, una muestra es una biopsia de un sujeto. Dicha biopsia se puede tomar de un tumor, o de un sitio en riesgo de desarrollar un tumor.

En un aspecto, la muestra es una muestra aislada que obtenible (p. ej., obtenida) de un sujeto.

En otro aspecto, el polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido
20 STEAP2) es un componente integral de una célula cancerosa, por ejemplo, un componente integral de la membrana celular de una célula cancerosa.

La presente descripción abarca los anticuerpos (p. ej., el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno) definidos en la presente que tienen las secuencias CDR

citadas o secuencias de cadena pesada variable y ligera variable (anticuerpos de referencia), así como variantes funcionales de estas. Una variante funcional se une al mismo antígeno diana que el anticuerpo de referencia, y puede exhibir la misma reactividad cruzada del antígeno que el anticuerpo de referencia. En algunos aspectos, las variantes

5 funcionales pueden tener una afinidad diferente por el antígeno diana en comparación con el anticuerpo de referencia. En otro aspecto, la variante funcional tiene la misma afinidad para el antígeno diana cuando se compara con el anticuerpo de referencia.

El término “anticuerpo de referencia” se usa para referirse convenientemente, en comparación, a un anticuerpo o antígeno de este de la

10 descripción. Por lo tanto, el término “anticuerpo de referencia” se refiere a un anticuerpo o antígeno de este de la descripción. Por ejemplo, el anticuerpo de referencia puede significar un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende una HCDR1, una HCDR2, una HCDR3, una LCDR1, una LCDR2, y una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 7, la sec. con.

15 núm. de ident.: 8, la sec. con. núm. de ident.: 9, la sec. con. núm. de ident.: 10, la sec. con. núm. de ident.: 11, y la sec. con. núm. de ident.: 12, respectivamente. El anticuerpo de referencia puede significar un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 33; y una cadena ligera variable que

20 comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 34. El anticuerpo de referencia puede significar un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende una cadena pesada variable que comprende la secuencia de

aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 31; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 32.

En un aspecto, las variantes funcionales de un anticuerpo de referencia muestran variación de secuencia en una o más CDR cuando se comparan con las
5 secuencias de CDR de referencia correspondientes. Así, una variante de anticuerpo funcional puede comprender una variante funcional de una CDR. Cuando se usa el término “variante funcional” en el contexto de una secuencia CDR, esto significa que la CDR tiene como máximo 2, como máximo 1 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente, y cuando se combina
10 con las 5 CDR restantes (o variantes de estas) permite que el anticuerpo variante se una al mismo antígeno diana que el anticuerpo de referencia, y exhiba la misma reactividad cruzada de antígeno que el anticuerpo de referencia. Una variante funcional puede denominarse “anticuerpo variante”.

En un aspecto, un anticuerpo variante (o fragmento de unión al antígeno de
15 este) comprende: una CDR1 de cadena ligera que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; una CDR2 de cadena ligera que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; una CDR3 de cadena ligera que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se
20 compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; una CDR1 de cadena pesada que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; una CDR2 de cadena pesada que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una secuencia

CDR de referencia correspondiente; y una CDR3 de cadena pesada que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; en donde el anticuerpo variante se une al mismo antígeno diana que el anticuerpo de referencia, y puede exhibir la misma reactividad cruzada del antígeno (o falta de esta) que el anticuerpo de referencia.

Un anticuerpo variante (o fragmento de unión al antígeno de este) puede comprender:

una CDR1 de cadena ligera que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; una CDR2 de cadena ligera que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; una CDR3 de cadena ligera que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; una CDR1 de cadena pesada que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; una CDR2 de cadena pesada que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; y una CDR3 de cadena pesada que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una secuencia CDR de referencia correspondiente; en donde el anticuerpo variante se une al mismo antígeno diana que el anticuerpo de referencia, y puede exhibir la misma reactividad cruzada del antígeno (o falta de esta) que el anticuerpo de referencia.

Por ejemplo, una variante del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno puede comprender: una CDR1 de cadena pesada que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 7; una

CDR2 de cadena pesada que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 8; y una CDR3 de cadena pesada que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 9; una CDR1 de cadena ligera que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 10; una CDR2 de cadena ligera que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 11; una CDR3 de cadena ligera que tiene como máximo 2 diferencias de aminoácidos cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 12; en donde el anticuerpo variante se une a un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2), y puede exhibir la misma reactividad cruzada de antígeno (o falta de esta) que el anticuerpo de referencia o fragmento de unión al antígeno.

Por ejemplo, una variante del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno puede comprender: una CDR1 de cadena pesada que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 7; una CDR2 de cadena pesada que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 8; y una CDR3 de cadena pesada que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 9; una CDR1 de cadena ligera que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 10; una CDR2 de cadena ligera que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 11; una CDR3 de cadena ligera que tiene como máximo 1 diferencia de aminoácido cuando se compara con una sec. con núm. de ident.: 12; en donde el anticuerpo variante se une a un polipéptido STEAP2 (p. ej.,

epítopo del polipéptido STEAP2), y exhibe la misma reactividad cruzada de antígeno (o falta de esta) que el anticuerpo de referencia o fragmento de unión al antígeno.

Lo anterior se puede aplicar de manera análoga a variantes de los otros anticuerpos descritos en la presente, en donde las diferencias de aminoácidos se definen con respecto a las secuencias CDR de estas, y en donde el anticuerpo variante se une al mismo antígeno diana que dichos anticuerpos, y exhibe la misma reactividad cruzada de antígeno.

En un aspecto, un anticuerpo variante puede tener como máximo 5, 4 o 3 diferencias de aminoácidos totales en las CDR de este cuando se compara con un anticuerpo de referencia correspondiente, con la condición de que haya como máximo 2 (a veces como máximo 1) diferencias de aminoácidos por CDR. Un anticuerpo variante tiene como máximo 2 (a veces como máximo 1) diferencias de aminoácidos totales en las CDR de este cuando se compara con un anticuerpo de referencia correspondiente, con la condición de que haya como máximo 2 diferencias de aminoácidos por CDR. A veces un anticuerpo variante tiene como máximo 2 (a veces como máximo 1) diferencias de aminoácidos totales en las CDR de este cuando se compara con un anticuerpo de referencia correspondiente, con la condición de que haya como máximo 1 diferencia de aminoácido por CDR.

La diferencia de aminoácidos puede ser una sustitución, inserción o delección de aminoácidos. En un aspecto, la diferencia de aminoácidos es una sustitución conservadora de aminoácidos como se describe en la presente.

En un aspecto, un anticuerpo variante tiene las mismas secuencias marco que los anticuerpos ilustrativos descritos en la presente. En otro aspecto, el anticuerpo

variante puede comprender una región marco que tiene como máximo 2, a veces como máximo 1 diferencia de aminoácido (cuando se compara con una secuencia marco de referencia correspondiente). Por lo tanto, cada región marco puede tener como máximo 2, a veces como máximo 1 diferencia de aminoácidos (cuando se compara con una
5 secuencia marco de referencia correspondiente).

En un aspecto, un anticuerpo variante puede tener como máximo 5, 4 o 3 diferencias de aminoácidos totales en las regiones marco de este cuando se compara con un anticuerpo de referencia correspondiente, con la condición de que haya como máximo 2 (a veces como máximo 1) diferencias de aminoácidos por región marco. En algunos
10 aspectos, un anticuerpo variante tiene como máximo 2 (a veces como máximo 1) diferencias de aminoácidos totales en las regiones marco de este cuando se compara con un anticuerpo de referencia correspondiente, con la condición de que haya como máximo 2 diferencias de aminoácidos por región marco. A veces, un anticuerpo variante tiene como máximo 2 (a veces como máximo 1) diferencias de aminoácidos totales en las regiones
15 marco de este cuando se compara con un anticuerpo de referencia correspondiente, con la condición de que haya como máximo 1 diferencia de aminoácido por región marco.

Por lo tanto, un anticuerpo variante puede comprender una cadena pesada variable y una cadena ligera variable como se describe en la presente, en donde:
la cadena pesada tiene como máximo 14 diferencias de aminoácidos (como máximo 2
20 diferencias de aminoácidos en cada CDR y como máximo 2 diferencias de aminoácidos en cada región marco) cuando se compara con una secuencia de cadena pesada en la presente; y

la cadena ligera tiene como máximo 14 diferencias de aminoácidos (como máximo 2 diferencias de aminoácidos en cada CDR y como máximo 2 diferencias de aminoácidos en cada región marco) cuando se compara con una secuencia de cadena ligera en la presente; en donde el anticuerpo variante se une al mismo antígeno diana que el anticuerpo de referencia, y exhibe la misma reactividad cruzada del antígeno (o falta de esta) que el anticuerpo de referencia.

Dicha variante de cadenas pesadas o ligeras podrá denominarse “equivalentes funcionales” de las cadenas pesadas o ligeras de referencia.

En un aspecto, un anticuerpo variante puede comprender una cadena pesada variable y una cadena ligera variable como se describe en la presente, en donde: la cadena pesada tiene como máximo 7 diferencias de aminoácidos (como máximo 1 diferencia de aminoácido en cada CDR y como máximo 1 diferencia de aminoácido en cada región marco) cuando se compara con una secuencia de cadena pesada en la presente; y la cadena ligera tiene como máximo 7 diferencias de aminoácidos (como máximo 1 diferencia de aminoácido en cada CDR y como máximo 1 diferencia de aminoácido en cada región marco) cuando se compara con una secuencia de cadena ligera en la presente; en donde el anticuerpo variante se une al mismo antígeno diana que el anticuerpo de referencia, y a veces exhibe la misma reactividad cruzada del antígeno (o falta de esta) que el anticuerpo de referencia.

20

Conjugados anticuerpo-fármaco (ADC)

Ventajosamente, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción puede comprender un agente heterólogo. En un aspecto, un anticuerpo

o un fragmento de unión al antígeno de la descripción se enlaza a un agente heterólogo. En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con un agente heterólogo. Adecuadamente, “conjugado” significa enlazado a través de un enlace covalente o iónico. En algunos aspectos, dicho agente heterólogo es una citotoxina.

5 El agente heterólogo puede simplemente denominarse como un “agente” o “agente activo”. Por ejemplo, en lenguaje alternativo, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción puede comprender un agente activo. En un aspecto, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de la descripción se enlaza a un agente activo. En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al
10 antígeno de este se conjuga con un agente activo.

 El agente heterólogo/activo puede ser un fármaco. En algunos aspectos, el agente heterólogo/activo es una citotoxina.

 En algunos aspectos, que un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción se enlace (p. ej., conjugue) a un agente
15 heterólogo/activo en métodos de tratamiento, como se describe a continuación.

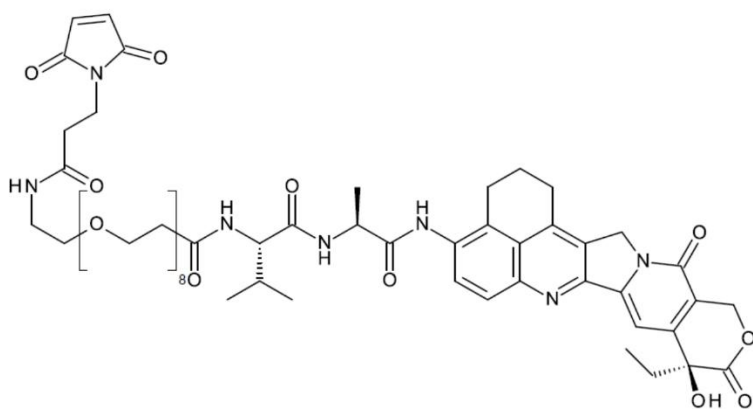
 Un agente y/o citotoxina de la descripción puede conjugarse con el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este por medio de un espaciador (p. ej., al menos un espaciador). En un aspecto, el espaciador es un espaciador peptídico. En un aspecto, el espaciador es un espaciador no peptídico (p. ej., químico).

20 El agente citotóxico o citotoxina puede ser cualquier molécula conocida en la técnica que inhibe o impide la función de las células y/o cause destrucción de células (muerte celular), y/o ejerza efectos antineoplásicos/antiproliferativos. Se sabe que varias clases de agentes citotóxicos tienen utilidad potencial en moléculas de ADC. Estos incluyen, pero no

se limitan a, inhibidores de topoisomerasa I, amanitinas, auristatinas, daunomicinas, doxorubicinas, duocarmicinas, dolastatinas, enediinas, lexitropsinas, taxanos, puromicinas, maitansinoides, alcaloides de vinca y tubulisinas. Ejemplos de tales agentes citotóxicos son AFP, MMAF, MMAE, AEB, AEVB, auristatina E, paclitaxel, docetaxel, CC-1065, SN-38, topotecán, morfolino-doxorrubicina, rizoxina, cianomorfolino-doxorrubicina, dolastatina-10, equinomicina, combretatatina, chaliceicina cina, maitansina, DM-1, vinblastina, metotrexato y netropsina, y derivados y análogos de estos. La descripción adicional con respecto a las citotoxinas adecuadas para usar en ADC se puede encontrar, por ejemplo, en las Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional núms. WO 2015/155345 y WO 2015/157592, incorporadas como referencia en la presente en su totalidad.

Por ejemplo, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno puede conjugarse con tal agente heterólogo o agente citotóxico para proporcionar un “conjugado anticuerpo-fármaco” (ADC). En algunos aspectos, el agente heterólogo o agente citotóxico es SG3932. En algunos aspectos, el agente heterólogo o agente citotóxico es LP-1.

“SG3932”, tal como se usa en la presente, se refiere a la siguiente

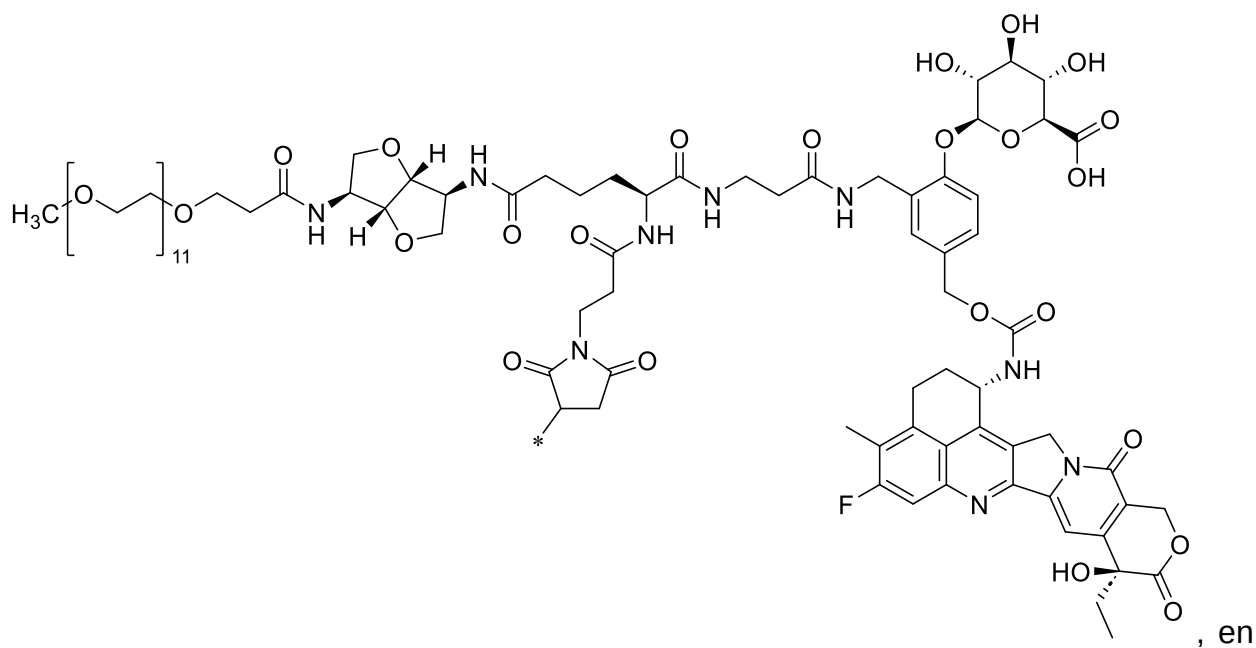


estructura:

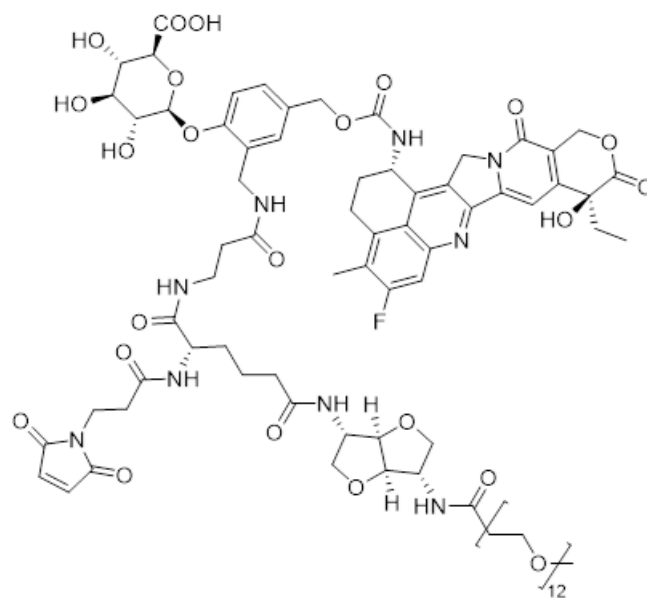
“LP-1” o “LP1”, como se usa en la presente, se refiere a la siguiente

estructura

conjugada:



donde ---^* indica el punto de acoplamiento al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. Alternativamente, “LP-1 no conjugado” o “LP1 no conjugado” se



refiere a la siguiente estructura:

- 5 El agente se enlaza típicamente a, o “se carga sobre” el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno. La carga del agente (p) es el número promedio de agente(s) por anticuerpo o fragmento de unión al antígeno (p. ej., la unidad de Ligando).

El número promedio de agentes por anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno) en preparaciones de ADC a partir de reacciones de conjugación puede caracterizarse por medios convencionales tales como UV, HPLC de fase inversa, HIC, espectroscopia de masa, ensayo ELISA y electroforesis. También se puede determinar la distribución cuantitativa del ADC en términos de p. Mediante ELISA, se puede determinar el valor promediado de p en una preparación particular de ADC (Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). En algunos casos, la separación, purificación y caracterización de ADC homogéneo donde p es un cierto valor de ADC con otras cargas de fármaco se puede lograr por medios tales como HPLC de fase inversa o electroforesis. Tales técnicas también son aplicables a otros tipos de conjugados.

Los aminoácidos de cisteína pueden diseñarse en sitios reactivos en un anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) y que no forman enlaces disulfuro intracatenarios o intermoleculares (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26 (8):925-932; Dornan et al (2009) Blood 114(13):2721-2729; EE. UU. 7521541; EE. UU. 7723485; WO2009/052249). Los tioles de cisteína diseñados pueden reaccionar con un enlazador dentro de un agente (p. ej., de la Fórmula I a continuación) que puede tener grupos electrofílicos reactivos con tiol tales como maleimida o alfa-halo amidas para formar ADC con anticuerpos diseñados con cisteína. Por lo tanto, se puede diseñar, controlar y conocer la ubicación de la unidad de fármaco. La carga de fármaco puede controlarse ya que los grupos tiol de cisteína diseñados típicamente reaccionan con reactivos enlazadores de fármaco con alto rendimiento. La ingeniería de un anticuerpo IgG para introducir un aminoácido de cisteína por sustitución en un solo sitio en la cadena pesada

o ligera da dos nuevas cisteínas en el anticuerpo simétrico. Se puede lograr una carga de fármaco cerca de 2 con casi homogeneidad del producto de conjugación ADC.

Cuando más de un grupo nucleofílico o electrofílico del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este reacciona con un agente, entonces el producto
5 resultante puede ser una mezcla de compuestos de ADC con una distribución de unidades de agente unidas a un anticuerpo, p. ej., 1, 2, 3, etc. Los métodos de cromatografía líquida tales como fase inversa polimérica (PLRP, por sus siglas en inglés) e interacción hidrófoba (HIC, por sus siglas en inglés) pueden separar compuestos en la mezcla por valor de carga del agente. Las preparaciones de ADC
10 con un único valor de carga de agente (p) pueden aislarse.

Por lo tanto, las composiciones conjugadas anticuerpo-fármaco de la descripción pueden incluir mezclas de conjugados anticuerpo-fármaco en las que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este tiene uno o más restos de agente y donde los restos de agente pueden estar unidos al anticuerpo o fragmento de unión
15 al antígeno de este en diversos residuos de aminoácidos.

En un aspecto, el número promedio de agentes por anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) está en el rango de 1 a 20. En algunos aspectos el rango se selecciona de 1 a 10, 2 a 10, 2 a 8, 2 a 6, y 4 a 10. En algunos aspectos, hay un agente por anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este). En algunos aspectos, el número
20 de agentes por anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) puede expresarse como una relación de agente (es decir, fármaco) a anticuerpo. Esta relación se conoce como la relación fármaco a anticuerpo (DAR). El DAR es el número promedio de fármacos (es decir, agentes) ligados a cada anticuerpo. En un aspecto de la presente descripción,

el DAR está en el rango de 1 a 20. En algunos aspectos el rango de DAR se selecciona de 1 a 10, 2 a 10, 2 a 8, 2 a 6, y 4 a 10. En un aspecto particular de la presente descripción, el DAR es de aproximadamente 8. En un aspecto particular de la presente descripción, el DAR es 8. En un aspecto particular de la presente descripción, el DAR es aproximadamente 4. En un aspecto particular de la presente descripción, el DAR es 4.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se conjuga con uno o más agentes heterólogos seleccionados del grupo que consiste en un inhibidor de la topoisomerasa I, un derivado de tubulisina, un agente antimicrobiano, un agente terapéutico, un profármaco, un péptido, una proteína, una enzima, un lípido, un modificador de la respuesta biológica, un agente farmacéutico, una linfoquina, un anticuerpo heterólogo, un fragmento de un anticuerpo heterólogo, una etiqueta detectable, un polietilenglicol (PEG), un radioisótopo o una combinación de estos.

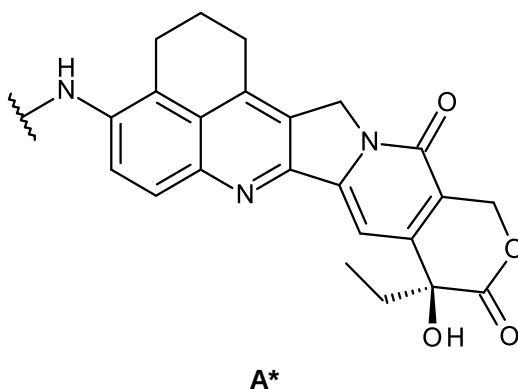
En un aspecto, el fragmento de unión al antígeno del anticuerpo se conjuga con una o más citotoxinas seleccionadas de un inhibidor de la topoisomerasa I, derivado de tubulisina, o una combinación de estos. Por ejemplo, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con una o más citotoxinas seleccionadas del grupo que consiste en el inhibidor de la topoisomerasa I SG3932, SG4010, SG4057 o SG4052 (cuyas estructuras se proporcionan a continuación); tubulisina AZ1508, o una combinación de estos. En algunos aspectos, el inhibidor de la topoisomerasa I es SG3932.

El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede conjugarse con un inhibidor de la topoisomerasa I. Los inhibidores de la topoisomerasa son compuestos químicos que bloquean la acción de la topoisomerasa (topoisomerasa I y II), que es un tipo de enzima que controla los cambios en la estructura del ADN

catalizando la ruptura y reunión de la cadena principal de enlaces fosfodiéster de las cadenas de ADN durante el ciclo celular normal.

Un ejemplo general de un inhibidor de la topoisomerasa I adecuado está representado por el siguiente compuesto:

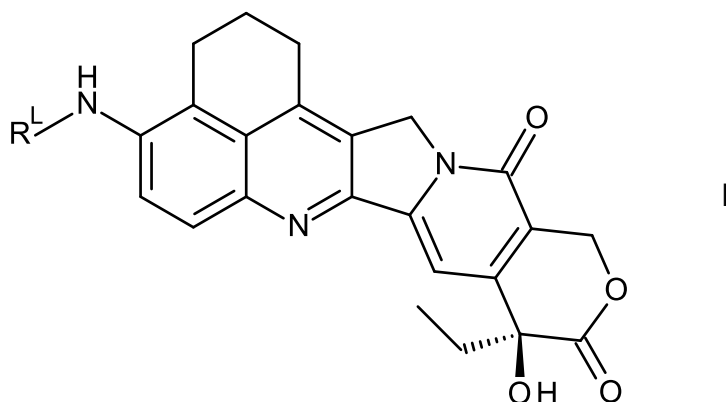
5



Dicho compuesto se denota como A*, y puede denominarse en la presente como una “Unidad de fármaco”.

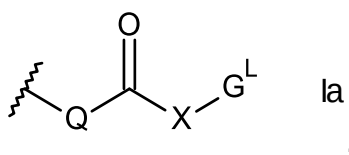
10 El compuesto (p. ej., A*) se proporciona con un enlazador para conectar (conjugar) a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno descrito en la presente (que puede denominarse “Unidad de Ligando”). Adecuadamente, el enlazador se une (p. ej., conjuga) de una manera escindible a un residuo de aminoácido, por ejemplo, un aminoácido de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno descrito en la presente.

15 Un ejemplo de un inhibidor de la topoisomerasa I adecuado está representado por el siguiente compuesto, con la Fórmula “I”:



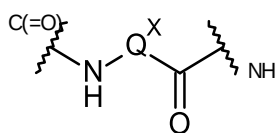
y sales y solvatos de este, en donde R^L es un enlazador para la conexión a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., la Unidad de Ligando), en donde dicho enlazador se selecciona de:

5 (ia):



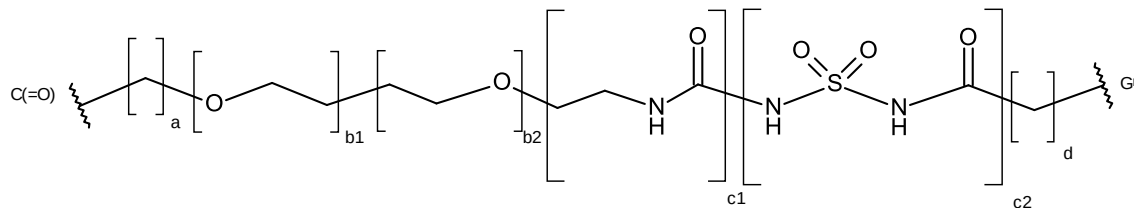
10 en donde

Q es:



, donde Q^X es tal que Q es un residuo de aminoácido, un residuo de dipéptido, un residuo de tripéptido o un residuo de tetrapéptido;

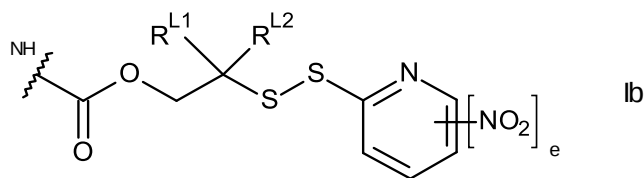
X es:



donde $a = 0$ a 5 , $b1 = 0$ a 16 , $b2 = 0$ a 16 , $c1 = 0$ o 1 , $c2 = 0$ o 1 , $d = 0$ a 5 , en donde al menos $b1$ o $b2 = 0$ (es decir, solo uno de $b1$ y $b2$ puede no ser 0) y al menos $c1$ o $c2 = 0$ (es decir, solo uno de $c1$ y $c2$ puede no ser 0);

G^L es un enlazador para conectarse a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., la Unidad de Ligando); o

(ib):



donde R^{L1} y R^{L2} se seleccionan independientemente de H y metilo, o junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un grupo ciclopropileno o ciclobutileno; y

e es 0 o 1 .

El experto en la técnica entenderá que más de uno de dichos agentes (p. ej., inhibidor de la topoisomerasa I) puede conjugarse con el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este.

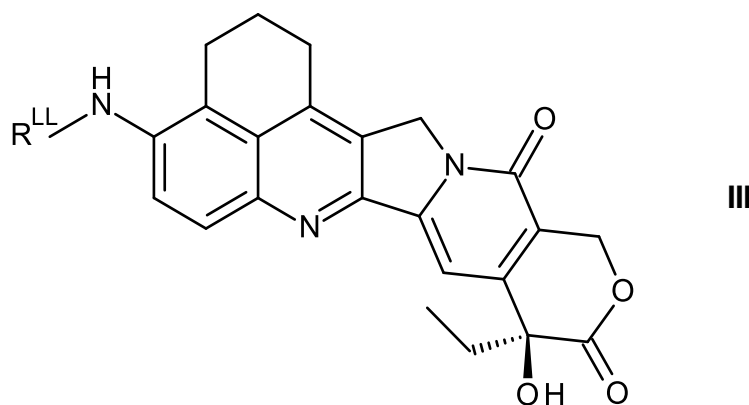
Por ejemplo, un conjugado (p. ej., conjugado anticuerpo-fármaco) de la descripción puede ser de la Fórmula general IV:



5

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, en donde L es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., la Unidad de Ligando), D^L es un inhibidor de la topoisomerasa I que tiene un enlazador (p. ej., unidad de Enlazador de Fármaco) que es de la Fórmula III:

10

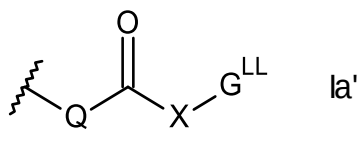


III

R^{LL} es un enlazador conectado a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., la Unidad de Ligando), en donde el enlazador se

15 selecciona de

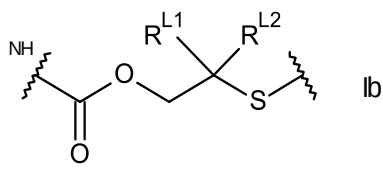
(ia'):



donde Q y X son como se definieron anteriormente y G^{LL} es un enlazador conectado a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p.

5 ej., la Unidad de Ligando); y

(ib'):



10 donde R^{L1} y R^{L2} son como se definen anteriormente; y

p es un número entero de 1 a 20.

La carga de fármaco está representada por p, el número de inhibidores de la topoisomerasa I (p. ej., unidades de fármaco) por anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., Unidad de Ligando). La carga de fármaco puede variar de 1 a 20 unidades de fármaco (D) por Unidad de Ligando. Para las composiciones, p representa la

15 carga promedio de fármaco de los conjugados en la composición, y p varía de 1 a 20.

En consecuencia, en el interior se describe un conjugado que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., la Unidad de Ligando) enlazado covalentemente a al menos un inhibidor de la

20 topoisomerasa I (p. ej., unidad de Fármaco, tal como A* ilustrado anteriormente). Dicho

inhibidor se enlaza al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este mediante un enlazador (p. ej., unidad de Enlazador), tal como un enlazador descrito anteriormente como R^L y/o R^{LL} . En otras palabras, la descripción abarca un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., la Unidad de Ligando) con uno o más inhibidores de la topoisomerasa I unidos, a través de un enlazador (p. ej., unidades Fármaco-Enlazador). El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este (que representa una unidad de Ligando), descrito más completamente anteriormente, es un agente diana que se une a una entidad diana. Esta unidad de ligando puede, por ejemplo, unirse específicamente a un STEAP2 en una célula diana, a la que se entrega por lo tanto la unidad de fármaco. En consecuencia, la presente descripción también proporciona métodos para el tratamiento de, por ejemplo, diversos cánceres y otros trastornos con un ADC (p. ej., cánceres/trastornos que están asociados con la presencia de células, tales como células cancerosas, que expresan STEAP2).

15 Otros aspectos

Ciertas características de los inhibidores de la topoisomerasa I se describen anteriormente y pueden definirse en mayor detalle como se establece a continuación. A manera de ejemplo, se describirá un aspecto de la característica Q^X (p. ej., dentro del enlazador de 1a descrito anteriormente).

20 Lo siguiente puede aplicarse a todos los aspectos de la descripción tal como se ha descrito anteriormente, puede referirse a un único aspecto, o puede combinarse en cualquier combinación.

En el encabezado “Definiciones” que se proporcionan a continuación, se proporcionan diversas definiciones que pertenecen a ciertos términos de esta sección.

Q^x

En un aspecto, Q es un residuo de aminoácido. El aminoácido puede ser un aminoácido natural o un aminoácido no natural. Por ejemplo, Q puede seleccionarse de: Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, y Trp, en donde Cit es citrulina.

En un aspecto, Q comprende un residuo de dipéptido. Los aminoácidos en el dipéptido pueden ser cualquier combinación de aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales. En algunos aspectos, el dipéptido comprende aminoácidos naturales. Donde el enlazador es un enlazador lábil de catepsina, el dipéptido es el sitio de acción para la escisión mediada por catepsina. El dipéptido entonces es un sitio de reconocimiento para catepsina.

En un aspecto, Q se selecciona de:

NH₂-Phe-Lys-C(=O),
 15 NH₂-Val-Ala-C(=O),
 NH₂-Val-Lys-C(=O),
 NH₂-Ala-Lys-C(=O),
 NH₂-Val-Cit-C(=O),
 NH₂-Phe-Cit-C(=O),
 20 NH₂-Leu-Cit-C(=O),
 NH₂-Ile-Cit-C(=O),
 NH₂-Phe-Arg-C(=O),
 NH₂-Trp-Cit-C(=O), y

$\text{NH}_2\text{-Gly-Val-COOH}$;

donde Cit es citrullina.

En uno aspecto, Q se selecciona de:

$\text{NH}_2\text{-Phe-Lys-COOH}$,

5 $\text{NH}_2\text{-Val-Ala-COOH}$,

$\text{NH}_2\text{-Val-Lys-COOH}$,

$\text{NH}_2\text{-Ala-Lys-COOH}$, y

$\text{NH}_2\text{-Val-Cit-COOH}$.

En otro aspecto, Q se selecciona de $\text{NH}_2\text{-Phe-Lys-COOH}$, $\text{NH}_2\text{-Val-Cit-COOH}$ o $\text{NH}_2\text{-$

10 Val-Ala-COOH .

Otras combinaciones de dipéptidos adecuadas incluyen:

$\text{NH}_2\text{-Gly-Gly-COOH}$,

$\text{NH}_2\text{-Gly-Val-COOH}$

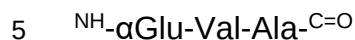
$\text{NH}_2\text{-Pro-Pro-COOH}$, y

15 $\text{NH}_2\text{-Val-Glu-COOH}$.

Se pueden usar otras combinaciones de dipéptidos, que incluyen las descritas por Dubowchik et al., *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13,855-869, que se incorpora en la presente como referencia.

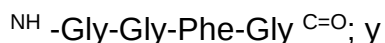
En algunos aspectos, Q es un residuo de tripéptido. Los aminoácidos en
20 el tripéptido pueden ser cualquier combinación de aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales. En algunos aspectos, el tripéptido comprende aminoácidos naturales. Donde el enlazador es un enlazador lábil de catepsina, el tripéptido es el sitio

de acción para la escisión mediada por catepsina. El tripéptido entonces es un sitio de reconocimiento para catepsina. Los enlazadores de tripéptido de particular interés son:



En algunos aspectos, Q es un residuo de tetrapéptido. Los aminoácidos en el tetrapéptido pueden ser cualquier combinación de aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales. En algunos aspectos, el tetrapéptido comprende aminoácidos naturales.

10 Donde el enlazador es un enlazador lábil de catepsina, el tetrapéptido es el sitio de acción para la escisión mediada por catepsina. El tetrapéptido entonces es un sitio de reconocimiento de catepsina. Los enlazadores de tetrapéptido de particular interés son:



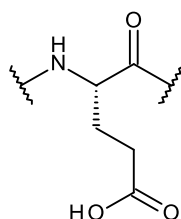
15 En algunos aspectos, el tetrapéptido es:



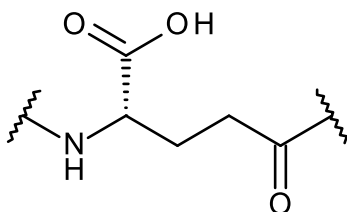
En las representaciones anteriores de residuos peptídicos, NH- representa el N-terminal, y -C=O representa el C-terminal del residuo. El C-terminal se une al NH de A*.

Glu representa el residuo de ácido glutámico, es decir:

20



α Glu representa el residuo de ácido glutámico cuando se une a través de la cadena α , es decir:



5

En un aspecto, la cadena lateral de aminoácidos está protegida químicamente, donde corresponda. El grupo protector de cadena lateral puede ser un grupo como se analizó anteriormente. Las secuencias de aminoácidos protegidas son escindibles por enzimas. Por ejemplo, una secuencia de dipéptido que comprende un residuo Lys protegido de cadena lateral Boc es escindible por catepsina.

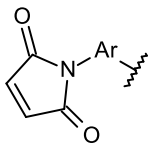
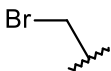
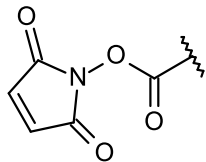
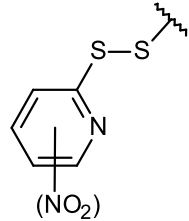
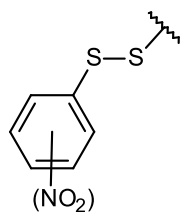
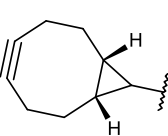
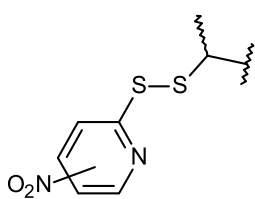
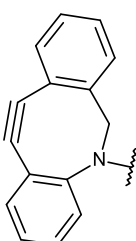
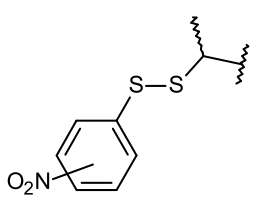
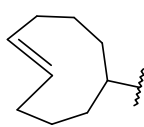
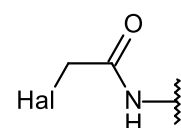
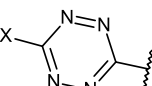
10

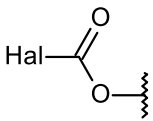
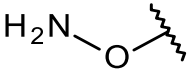
Los grupos protectores para las cadenas laterales de aminoácidos son bien conocidos en la técnica y se describen en el Catálogo Novabiochem, y como se describió anteriormente.

15 G^L

G^L puede seleccionarse de:

(G ^{L1-1})		(G ^{L6})	
----------------------	--	--------------------	--

(G ^{L1-2})		(G ^{L7})	
(G ^{L2})		(G ^{L8})	
(G ^{L3-1})	 donde el grupo NO ₂ es opcional	(G ^{L9})	
(G ^{L3-2})	 donde el grupo NO ₂ es opcional	(G ^{L10})	
(G ^{L3-3})	 donde el grupo NO ₂ es opcional	(G ^{L11})	
(G ^{L3-4})	 donde el grupo NO ₂ es opcional	(G ^{L12})	
(G ^{L4})		(G ^{L13})	

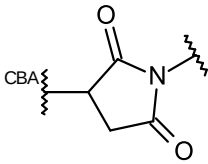
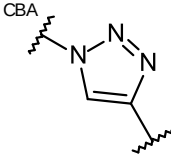
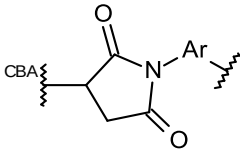
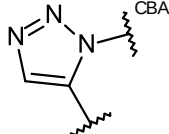
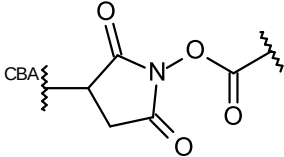
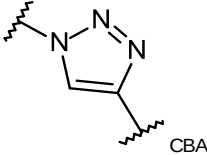
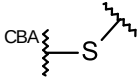
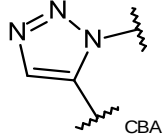
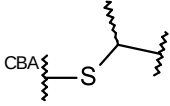
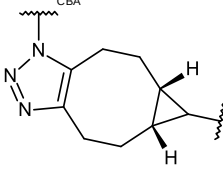
	donde Hal = I, Br, Cl		
(G ^{L5})		(G ^{L14})	

donde Ar representa un grupo arileno C₅₋₆, p. ej., fenileno, y X representa alquilo C₁₋₄.

En algunos aspectos, G^L se selecciona de G^{L1-1} y G^{L1-2}. En algunos de estos aspectos, G^L es G^{L1-1}.

5 G^{LL}

G^{LL} puede seleccionarse de:

(G ^{LL1-1})		(G ^{LL8-1})	
(G ^{LL1-2})		(G ^{LL8-2})	
(G ^{LL2})		(G ^{LL9-1})	
(G ^{LL3-1})		(G ^{LL9-2})	
(G ^{LL3-2})		(G ^{LL10})	

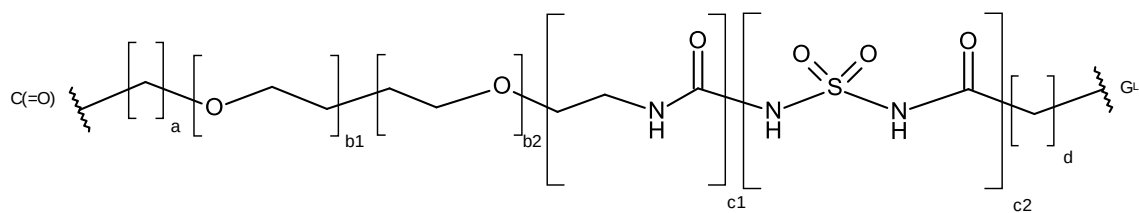
(G ^{LL-4})		(G ^{LL11})	
(G ^{LL5})		(G ^{LL12})	
(G ^{LL6})		(G ^{LL13})	
(G ^{LL7})		(G ^{LL14})	

donde Ar representa un grupo arileno C₅₋₆, p. ej., fenileno, y X representa alquilo C₁₋₄.

En algunos aspectos, G^{LL} se selecciona de G^{LL1-1} y G^{LL1-2}. En algunos de estos aspectos, G^{LL} es G^{LL1-1}.

5 X

En un aspecto, X es:



donde $a = 0$ a 5 , $b_1 = 0$ a 16 , $b_2 = 0$ a 16 , $c = 0$ o 1 , $d = 0$ a 5 , en donde al menos b_1 o $b_2 = 0$ y al menos c_1 o $c_2 = 0$.

a puede ser $0, 1, 2, 3, 4$ o 5 . En algunos aspectos, a es 0 a 3 . En algunos de estos aspectos, a es 0 o 1 . En aspectos adicionales, a es 0 .

- 5 b_1 puede ser $0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15$ o 16 . En algunos aspectos, b_1 es 0 a 12 . En algunos de estos aspectos, b_1 es 0 a 8 , y puede ser $0, 2, 3, 4, 5$ o 8 . b_2 puede ser $0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15$ o 16 . En algunos aspectos, b_2 es 0 a 12 . En algunos de estos aspectos, b_2 es 0 a 8 , y puede ser $0, 2, 3, 4, 5$ o 8 . A veces, solo uno de b_1 y b_2 puede no ser 0 .

- 10 c_1 puede ser 0 o 1 . c_2 puede ser 0 o 1 . A veces, solo uno de c_1 y c_2 puede no ser 0 . d puede ser $0, 1, 2, 3, 4$ o 5 . En algunos aspectos, d es 0 a 3 . En algunos de estos aspectos, d es 1 o 2 . En aspectos adicionales, d es 2 . En aspectos adicionales, d es 5 .

- En algunos aspectos de X , a es 0 , b_1 es 0 , c_1 es 1 , c_2 es 0 y d es 2 , y b_2 puede ser de 0 a 8 . En algunos de estos aspectos, b_2 es $0, 2, 3, 4, 5$ u 8 . En algunos aspectos de X , a es 1 , b_2 es 0 , c_1 es 0 , c_2 es 0 y d es 0 , y b_1 puede ser de 0 a 8 . En algunos de estos aspectos, b_1 es $0, 2, 3, 4, 5$ u 8 . En algunos aspectos de X , a es 0 , b_1 es 0 , c_1 es 0 , c_2 es 0 y d es 1 , y b_2 puede ser de 0 a 8 . En algunos de estos aspectos, b_2 es $0, 2, 3, 4, 5$ u 8 . En algunos aspectos de X , b_1 es 0 , b_2 es 0 , c_1 es 0 , c_2 es 0 y uno de a y d es 0 . El otro de a y d es de 1 a 5 . En algunos de estos aspectos, el otro de a y d es 1 . En algunos de estos aspectos, el otro de a y d es 5 . En algunos aspectos de X , a es 1 , b_2 es 0 , c_1 es 0 , c_2 es 1 , d es 2 , y b_1 puede ser de 0 a 8 . En algunos de estos aspectos, b_2 es $0, 2, 3, 4, 5$ u 8 .

En algunos aspectos, R^L es de la Fórmula Ib. En algunos aspectos, R^{LL} es de la Fórmula Ib'.

R^{L1} y R^{L2} pueden seleccionarse independientemente de H y metilo, o junto con el átomo de carbono al que se unen forman un grupo ciclopropileno o ciclobutileno.

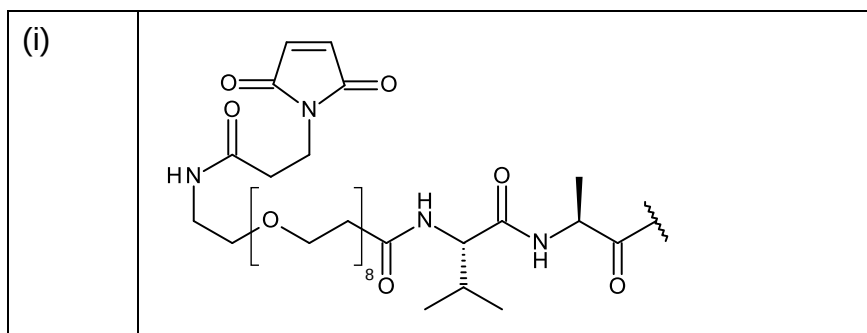
En algunos aspectos, R^{L1} y R^{L2} son ambos H. En algunos aspectos, R^{L1} es H y R^{L2} es metilo. En algunos aspectos, R^{L1} y R^{L2} son ambos metilo.

5 En algunos aspectos, R^{L1} y R^{L2} junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un grupo ciclopropileno. En algunos aspectos, R^{L1} y R^{L2} junto con el átomo de carbono al que se unen forman un grupo ciclobutileno.

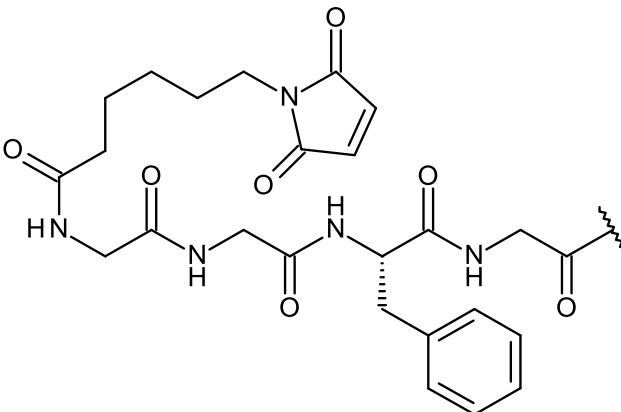
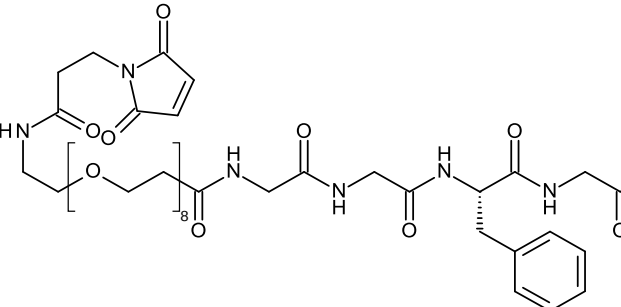
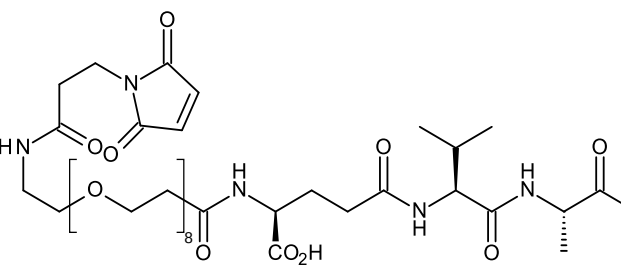
En el grupo Ib, en algunos aspectos, e es 0. En otros aspectos, e es 1 y el grupo nitro puede estar en cualquier posición disponible del anillo. En algunos de
10 estos aspectos, se encuentra en la posición orto. En algunos de estos aspectos, se encuentra en la posición para.

En algunos aspectos donde los compuestos descritos en la presente descripción se proporcionan en un enantiómero único o en una forma enantioméricamente enriquecida, la forma enantioméricamente enriquecida tiene una
15 relación enantiomérica mayor que 60:40, 70:30; 80:20 o 90:10. En aspectos adicionales, la relación enantiomérica es mayor que 95:5, 97:3 o 99:1.

En algunos aspectos, R^L se selecciona de:



(ii)	 <chem>O=C1C=CC(=O)N1CCCCCC(=O)N[C@H](C(C)C)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)C</chem>
(iii)	 <chem>N=[N+]=[N-]CCOC(=O)N[C@H](C(C)C)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)C</chem>
(iv)	 <chem>C#CCCOC(=O)N[C@H](C(C)C)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)C</chem>
(v)	 <chem>O=C1C=CC(=O)N1c2ccc(cc2)CC(=O)N[C@H](C(C)C)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)C</chem>
(vi)	 <chem>O=[N+]([O-])c1ccccc1SS[C@H](C)COCC(=O)C</chem>

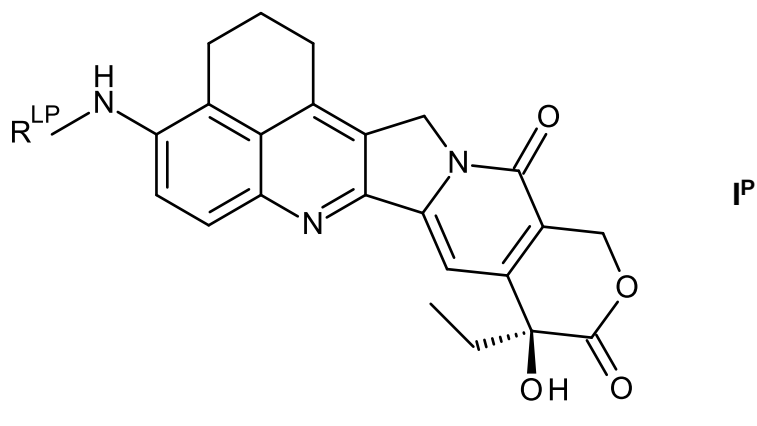
(vii)	
(viii)	
(ix)	

En algunos aspectos, R^{LL} es un grupo derivado de los grupos R^L anteriores.

Habiendo descrito dichos detalles anteriormente, ahora se describen ciertas fórmulas de enlazador I de topoisomerasa (p. ej., unidad de Enlazador de Fármacos).

5

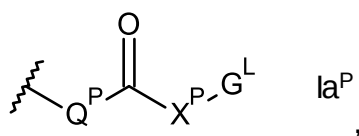
En algunos aspectos, el compuesto de la Fórmula I es de la Fórmula IP:



y sales y solvatos de este, en donde R^{LP} es un enlazador para la conexión a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente, en

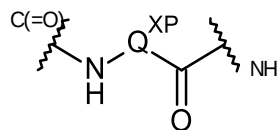
5 donde dicho enlazador se selecciona de:

(ia):



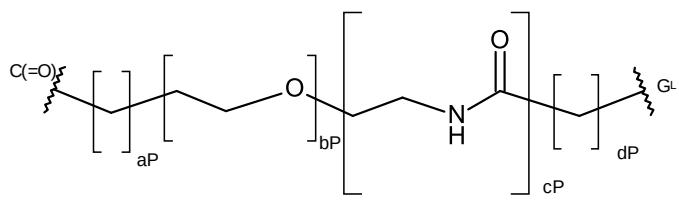
10 en donde

Q^P es:



, donde Q^{XP} es tal que Q^P es un residuo de aminoácido, un residuo de dipéptido, un residuo de tripéptido o un residuo de tetrapéptido;

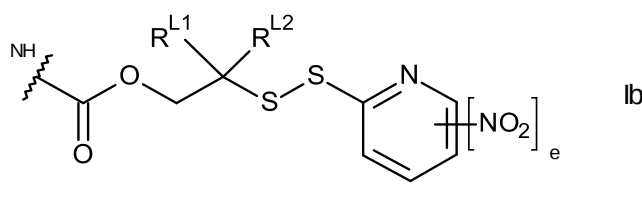
X^P es:



en donde aP = 0 a 5, bP = 0 a 16, cP = 0 o 1, dP = 0 a 5;

G^L es un enlazador para conectarse a un anticuerpo o un fragmento de unión al
 5 antígeno de este descrito en la presente (p. ej., Unidad de Ligando);

(ib):



10 donde R^{L1} y R^{L2} se seleccionan independientemente de H y metilo, o junto con el átomo
 de carbono al que están unidos forman un grupo ciclopropileno o ciclobutileno; y
 e es 0 o 1.

aP puede ser 0, 1, 2, 3, 4 o 5. En algunos aspectos, aP es 0 a 3. En algunos de estos
 aspectos, aP es 0 o 1. En aspectos adicionales, aP es 0.

15 bP puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16. En algunos aspectos,
 b es 0 a 12. En algunos de estos aspectos, bP es 0 a 8, y puede ser 0, 2, 4 o 8.

cP puede ser 0 o 1.

dP puede ser 0, 1, 2, 3, 4 o 5. En algunos aspectos, dP es 0 a 3. En algunos de estos
 aspectos, dP es 1 o 2. En aspectos adicionales, dP es 2.

En algunos aspectos de X^P , a^P es 0, c^P es 1 y d^P es 2, y b^P puede ser de 0 a 8. En algunos de estos aspectos, b^P es 0, 4 u 8.

Las preferencias para Q^X anteriores para compuestos de la Fórmula I pueden aplicarse a Q^{XP} (por ejemplo, donde corresponda).

5 Las preferencias para G^L , R^{L1} , R^{L2} y e anteriores para compuestos de la Fórmula I pueden aplicarse a compuestos de la Fórmula I^P .

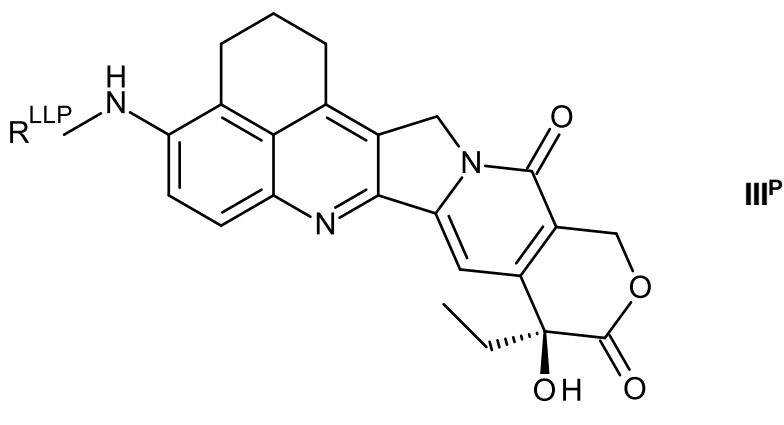
En algunos aspectos, el conjugado de la Fórmula IV es de la Fórmula IV^P :



10

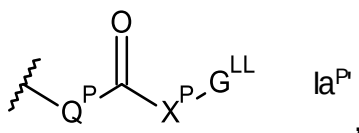
o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, en donde L es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., Unidad de Ligando), D^{LP} es un inhibidor de la topoisomerasa I (p. ej., unidad de Enlazador de Fármaco) que es de Fórmula III^P :

15



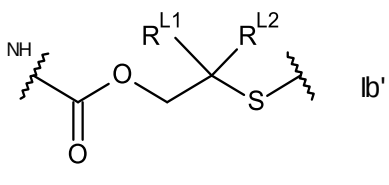
R^{LLP} es un enlazador conectado al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., Unidad de Ligando), en donde dicho enlazador se selecciona de (ia'):

5



en donde Q^P y X^P son como se definieron anteriormente y G^{LL} es un enlazador conectado a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., Unidad de Ligando); y

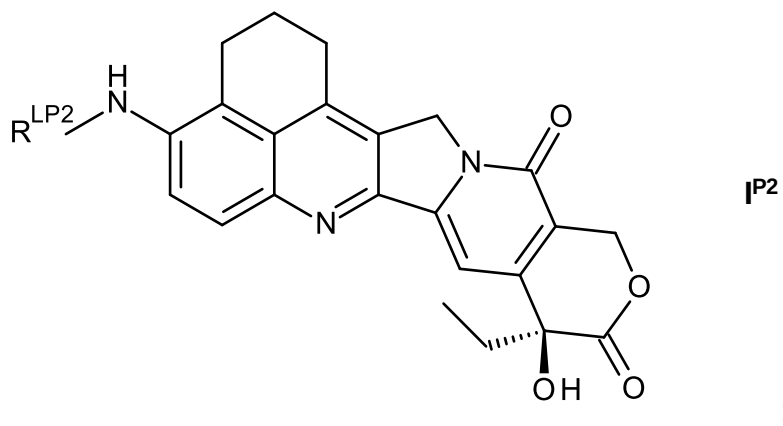
10 (ib'):



donde R^{L1} y R^{L2} son como se definen anteriormente; y

15 p es un número entero de 1 a 20.

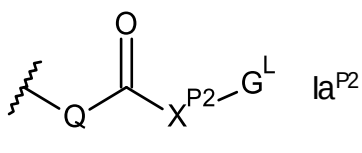
En algunos aspectos, el compuesto de la Fórmula I es de la Fórmula I^{P2}:



y sales y solvatos de este, en donde R^{LP2} es un enlazador para la conexión a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente, en

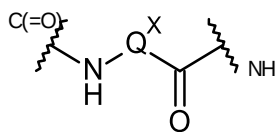
5 donde dicho enlazador se selecciona de:

(ia):



10 en donde

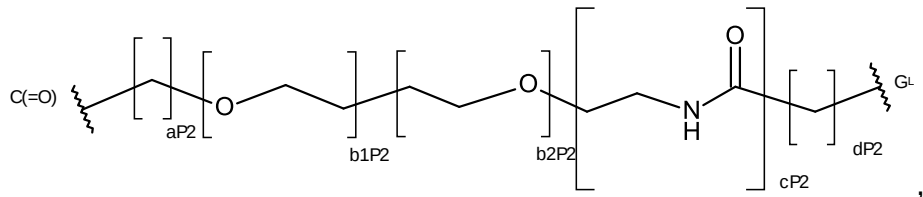
Q es:



, donde Q^X es tal que Q es un residuo de aminoácido, un residuo de

dipéptido, un residuo de tripéptido o un residuo de tetrapéptido;

X^{P2} es:

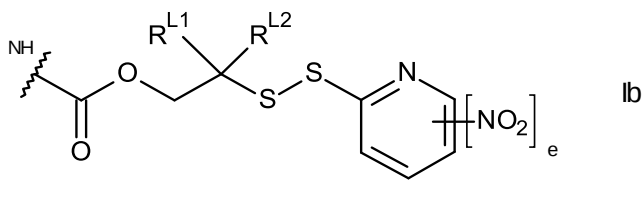


donde aP2 = 0 a 5, b1P2 = 0 a 16, b2P2 = 0 a 16, cP2 = 0 o 1, dP2 = 0 a 5, en donde

5 al menos b1P2 o b2P2 = 0 (es decir, solo uno de b1 y b2 puede no ser 0);

GL es un enlazador para conectarse a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente (p. ej., Unidad de Ligando);

(ib):



10

donde R^{L1} y R^{L2} se seleccionan independientemente de H y metilo, o junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un grupo ciclopropileno o ciclobutileno; y e es 0 o 1.

aP2 puede ser 0, 1, 2, 3, 4 o 5. En algunos aspectos, aP2 es 0 a 3. En
15 algunos de estos aspectos, aP2 es 0 o 1. En aspectos adicionales, aP2 es 0.

b1P2 puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16. En algunos aspectos, b1P2 es 0 a 12. En algunos de estos aspectos, b1P2 es 0 a 8, y puede ser 0, 2, 3, 4, 5 o 8.

b2P2 puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16. En algunos aspectos, b2P2 es 0 a 12. En algunos de estos aspectos, b2P2 es 0 a 8, y puede ser 0, 2, 3, 4, 5 o 8.

A veces, solo uno de b1P2 y b2P2 puede no ser 0.

5 cP2 puede ser 0 o 1.

dP2 puede ser 0, 1, 2, 3, 4 o 5. En algunos aspectos, dP2 es 0 a 3. En algunos de estos aspectos, dP2 es 1 o 2. En aspectos adicionales, dP2 es 2. En aspectos adicionales, dP2 es 5.

En algunos aspectos de X^{P^2} , aP2 es 0, b1P2 es 0, cP2 es 1 y dP2 es 2, y
 10 b2P2 puede ser de 0 a 8. En algunos de estos aspectos, b2P2 es 0, 2, 3, 4, 5 u 8. En algunos aspectos de X^{P^2} , aP2 es 1, b2P2 es 0, cP2 es 0 y dP2 es 0, y b1P2 puede ser de 0 a 8. En algunos de estos aspectos, b1P2 es 0, 2, 3, 4, 5 u 8. En algunos aspectos de X^{P^2} , aP2 es 0, b1P2 es 0, cP2 es 0 y dP2 es 1, y b2P2 puede ser de 0 a 8. En algunos de estos aspectos, b2P2 es 0, 2, 3, 4, 5 u 8. En algunos aspectos de X^{P^2} , b1P2 es 0, b2P2 es
 15 0, cP2 es 0 y uno de aP2 y dP2 es 0. El otro de aP2 y d es de 1 a 5. En algunos de estos aspectos, el otro de aP2 y d es 1. En algunos aspectos, el otro de aP2 y dP2 es 5.

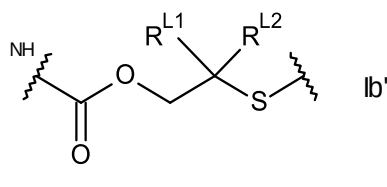
Las preferencias para Q^X anteriores para los compuestos de la Fórmula I pueden aplicarse a Q^X en la Fórmula Ia^{P2} (p. ej., donde corresponda).

Las preferencias para G^L , R^{L1} , R^{L2} y e anteriores para compuestos de la
 20 Fórmula I pueden aplicarse a compuestos de la Fórmula IP².

En algunos aspectos, el conjugado de la Fórmula IV es de la Fórmula IV^{P2}:

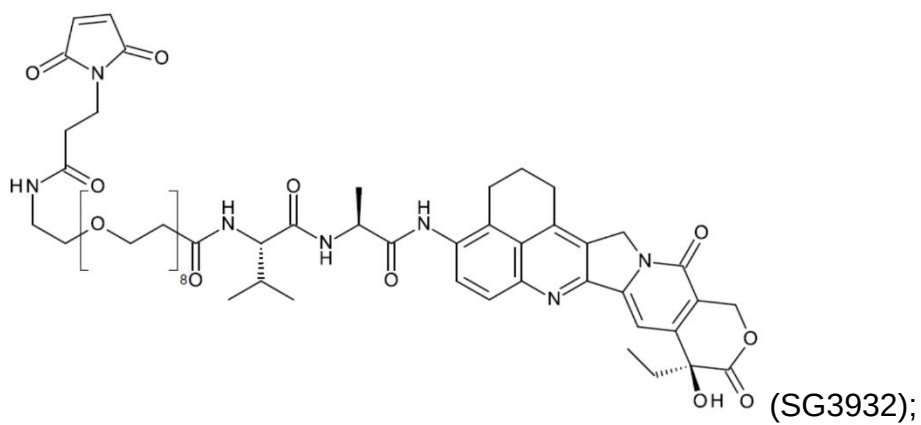


(ib'):

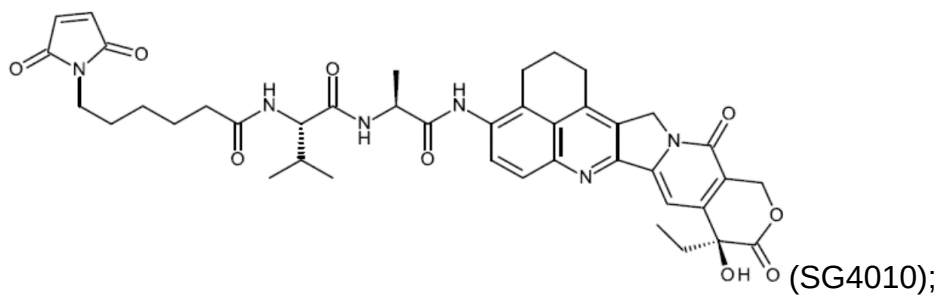


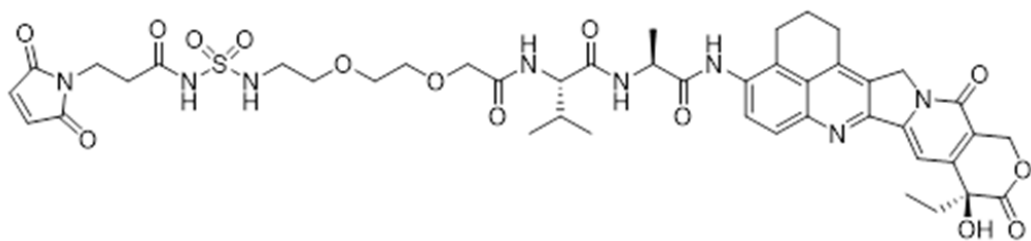
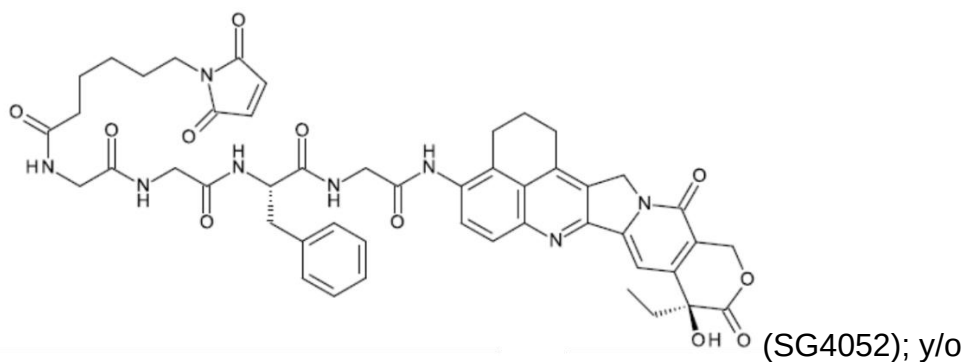
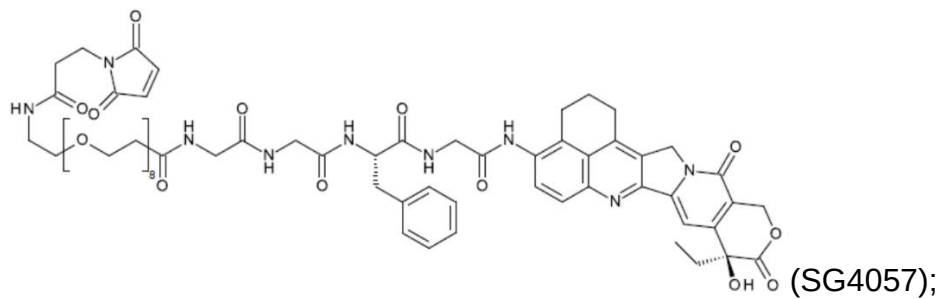
- 5 donde R^{L1} y R^{L2} son como se definen anteriormente; y
 p es un número entero de 1 a 20.

Los inhibidores de la topoisomerasa I adecuados incluyen aquellos que tienen las siguientes fórmulas:



10

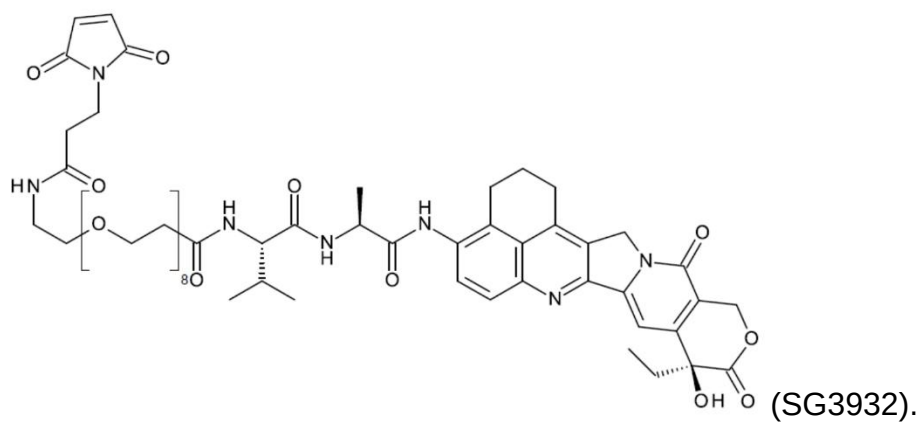




5

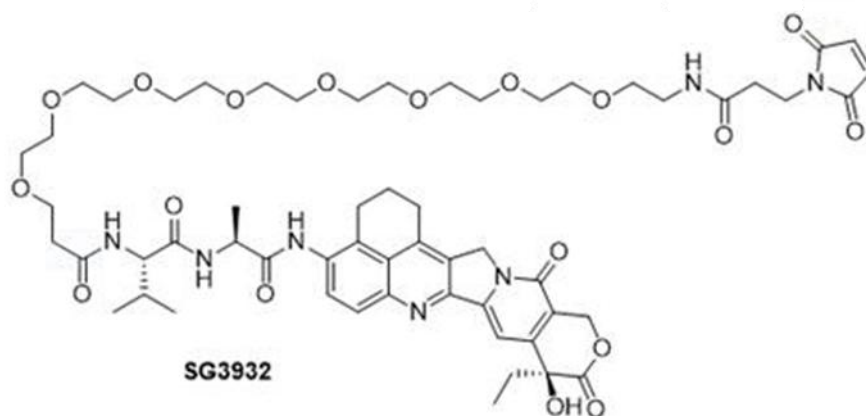
En algunos aspectos, se utiliza SG3932. Por lo tanto, en algunos aspectos, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente se conjuga con un inhibidor de la topoisomerasa I que tiene la siguiente fórmula (p. ej., SG3932):

10

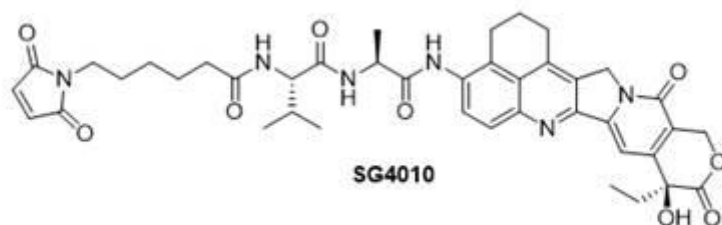


Para evitar dudas, el numeral '8' especifica que la estructura dentro de paréntesis se repite ocho veces. Por lo tanto, otra representación de SG3932 es:

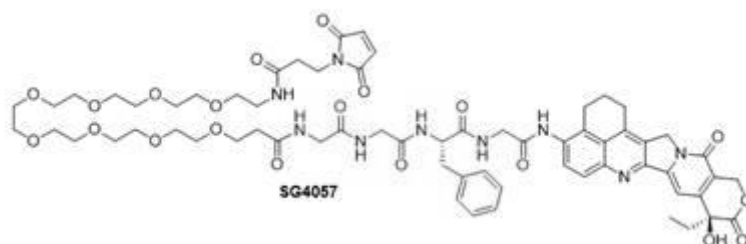
5



Otra representación de SG4010 es:

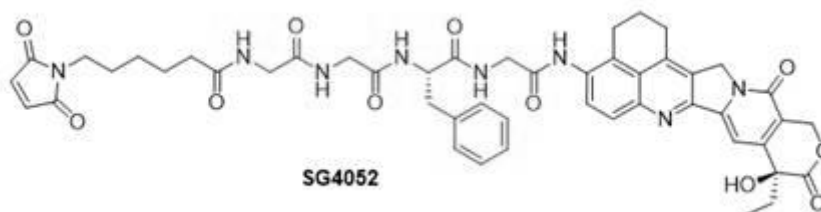


Otra representación de SG4057 es:



5

Otra representación de SG4052 es:



10

Cualquier anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente puede conjugarse con uno o más de dicho(s) inhibidor(es) de la topoisomerasa I.

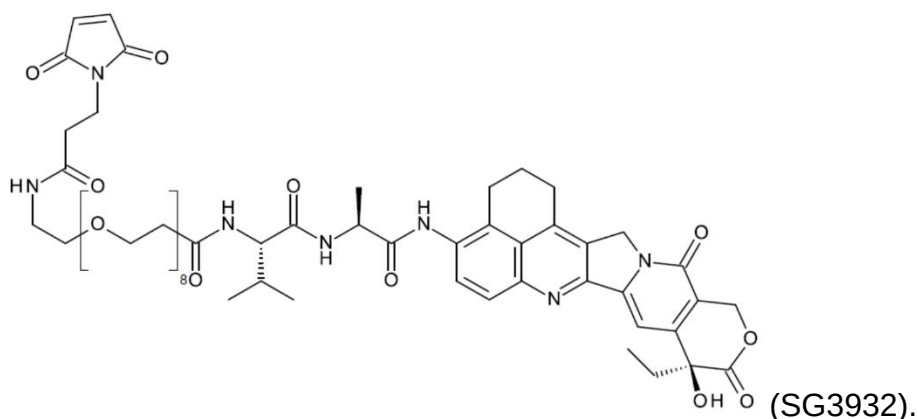
En un aspecto, se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2), que comprende:

- i. una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1, o una variante funcional de esta;
- ii. una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2, o una variante funcional de esta;
- iii. una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3, o una variante funcional de esta;
- iv. una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4, o una variante funcional de esta;
- v. una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5, o una variante funcional de esta; y
- vi. una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6, o una variante funcional de esta;
- vii. una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 7, o una variante funcional de esta;
- viii. una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 8, o una variante funcional de esta;
- ix. una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9, o una variante funcional de esta;
- x. una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10, o una variante funcional de esta;

x. una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 11, o una variante funcional de esta; y

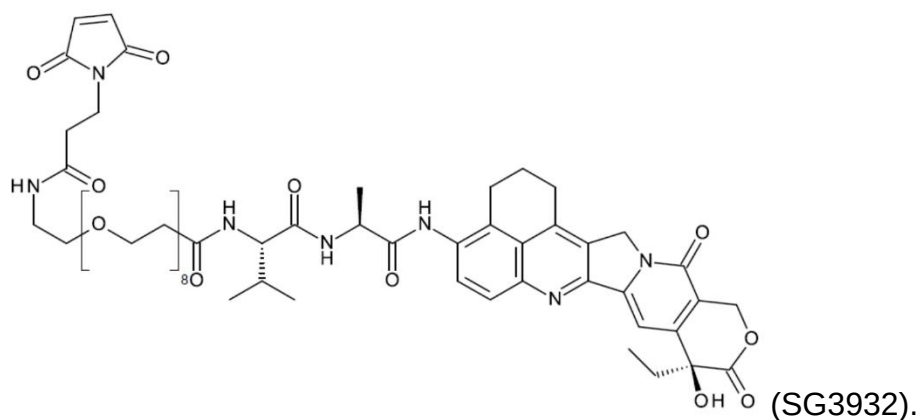
xi. una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 12, o una variante funcional de esta;

5 en donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con una SG3932:



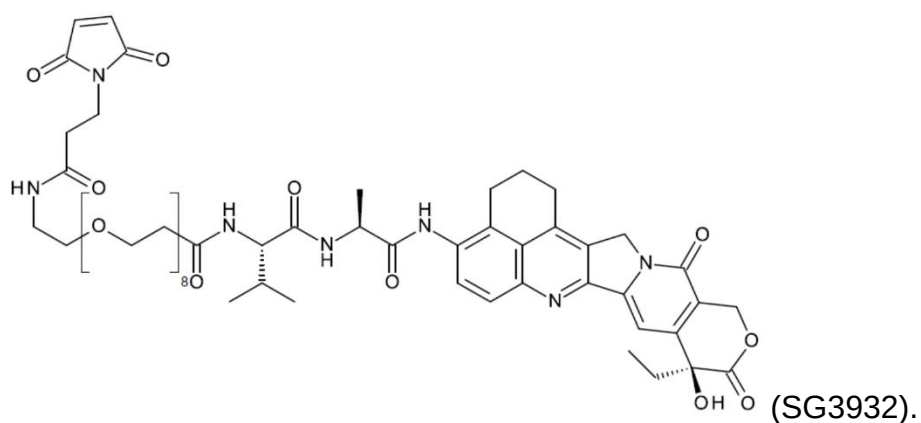
10 Otro aspecto proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende: una cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 31, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, o una variante funcional de esta;

15 en donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con una SG3932:



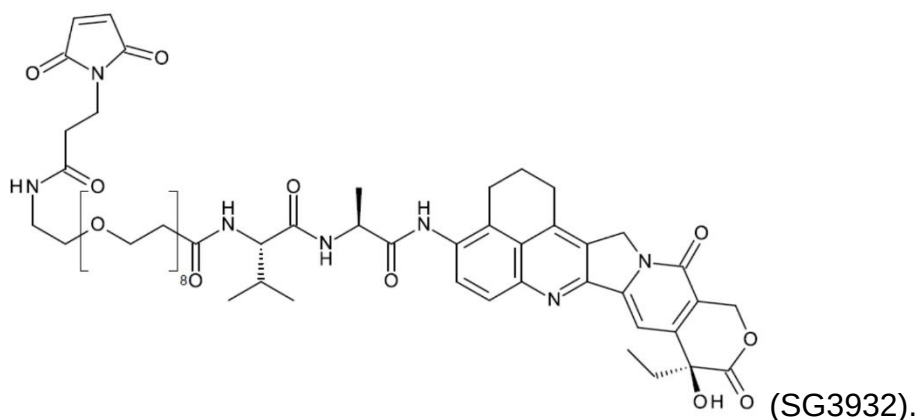
Otro aspecto proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende: una cadena pesada variable que comprende la
 5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 31, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 32, o una variante funcional de esta;
 en donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con una SG3932:

10



Otro aspecto proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende: una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 33, o una variante funcional de esta; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 34, o una variante funcional de esta;

en donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con una SG3932:



Síntesis de inhibidores de la topoisomerasa I

Los ejemplos ilustrativos de la síntesis de inhibidores de la topoisomerasa I y los intermedios clave son bien conocidos en la técnica, y se describen, por ejemplo, en WO 2020/200880, incorporado en la presente como referencia.

Grupos protectores de amina:

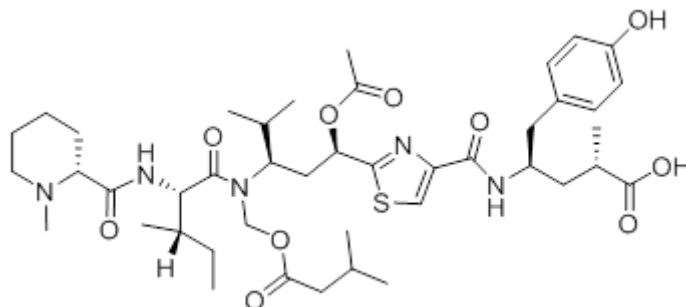
Los grupos protectores de amina son bien conocidos por los expertos en la técnica. Se hace particular referencia a la descripción de grupos protectores

adecuados en Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis, Cuarta Edición, John Wiley & Sons, 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1), páginas 696-871.

ADC adicionales

5 Aunque los inhibidores de la topoisomerasa I son como se ha descrito anteriormente, debe observarse que cualquier agente adecuado (p. ej., fármaco/citotoxina) puede unirse a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción. A continuación, se describen ejemplos de otros agentes adecuados.

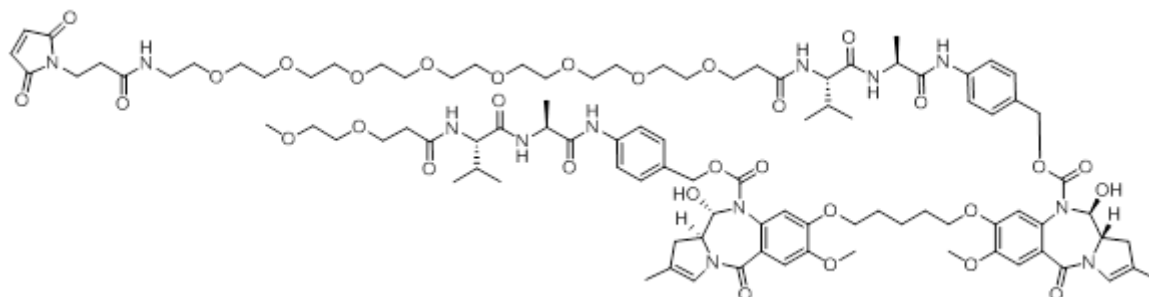
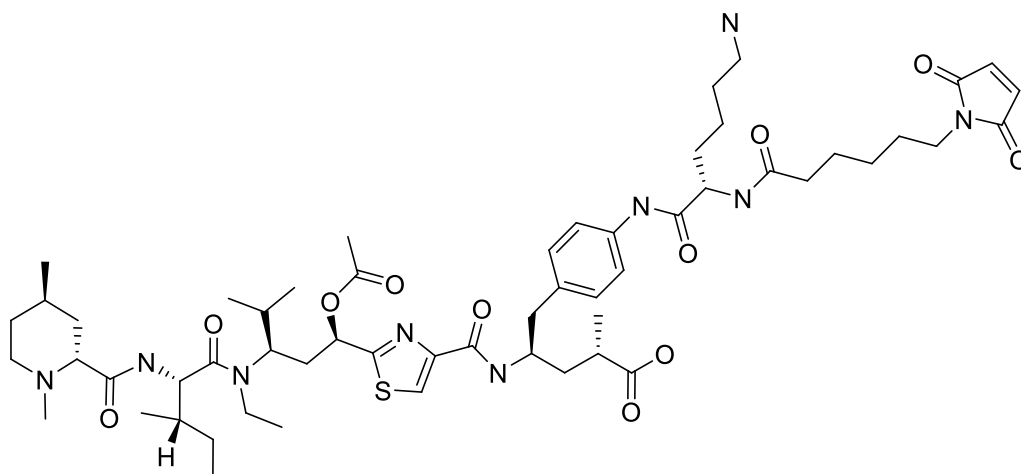
En un aspecto, la citotoxina es una tubulisina o derivado de tubulisina. En
10 un aspecto, la citotoxina es Tubulisina A, que tiene la siguiente estructura química:



Las tubulisinas son miembros de una clase de productos naturales
15 aislados de especies mixobacterias. Como agentes que interactúan con el citoesqueleto, las tubulisinas son venenos mitóticos que inhiben la polimerización de la tubulina y conducen a la detención del ciclo celular y la apoptosis. Tal como se usa en la presente, el término “tubulisina” se refiere tanto colectiva como individualmente a las tubulisinas naturales y análogos y derivados de las tubulisinas. Ejemplos ilustrativos de
20 tubulisinas se describen, por ejemplo, en WO2004005326A2, WO2012019123A1,

WO2009134279A1, WO2009055562A1, WO2004005327A1, US7776841, US7754885, US20100240701, US7816377, US20110021568, y US20110263650, incorporados en la presente como referencia. Debe entenderse que tales derivados incluyen, por ejemplo, profármacos de tubulisina o tubulisinas que incluyen uno o más grupos protectores o protectores, uno o más entidades enlazantes.

En un aspecto, la citotoxina es la tubulisina 1508, también denominada en la presente “AZ1508” y descrita en mayor detalle en WO 2015157594, incorporado en la presente como referencia, que tiene la siguiente estructura:



El anticuerpo o el fragmento de antígeno de este de la descripción puede conjugarse con agentes heterólogos (tales como una citotoxina) usando métodos de conjugación específicos de sitio o no específicos del sitio. En un aspecto, los anticuerpos y el fragmento de antígeno de estos comprenden una, dos, tres, cuatro o más entidades terapéuticas. En un aspecto, todas las entidades terapéuticas son iguales.

Las estrategias de conjugación convencionales para anticuerpos o fragmentos de unión a antígenos de estos se basan en conjugar aleatoriamente la carga útil con el anticuerpo o el fragmento a través de lisinas o cisteínas. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga aleatoriamente con un agente heterólogo (tal como una citotoxina), por ejemplo, mediante reducción parcial del anticuerpo o el fragmento, seguido de reacción con un agente deseado, con o sin una entidad enlazadora unida. El anticuerpo o el fragmento se puede reducir usando DTT o un agente reductor similar. El agente con o sin una entidad enlazadora unida puede entonces añadirse en un exceso molar al anticuerpo o fragmento reducido en presencia de DMSO. Después de la conjugación, puede añadirse cisteína libre en exceso para inactivar el agente sin reaccionar. La mezcla de reacción puede entonces purificarse e intercambiarse a regulador en PBS.

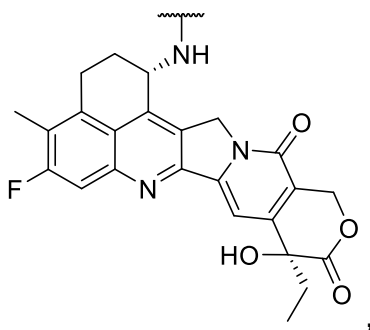
A través del perfil transcriptómico y proteómico de diversas líneas celulares de tumores sólidos, se ha identificado que la expresión de la β -glucuronidasa está regulada al alza y se localiza típicamente en el lisosoma. WO2007011968 y WO2015182984 describen ciertos conjugados anticuerpo-fármaco que comprenden enlazadores escindibles con β -glucuronidasa. Siguen siendo necesarios conjugados que tengan enlazadores escindibles con β -glucuronidasa que puedan suministrar selectivamente un fármaco a una diana biológica y que tengan propiedades

fisicoquímicas favorables, que incluye solubilidad y lipofilia. Los conjugados de la descripción pueden usarse para el tratamiento de enfermedades tales como el cáncer.

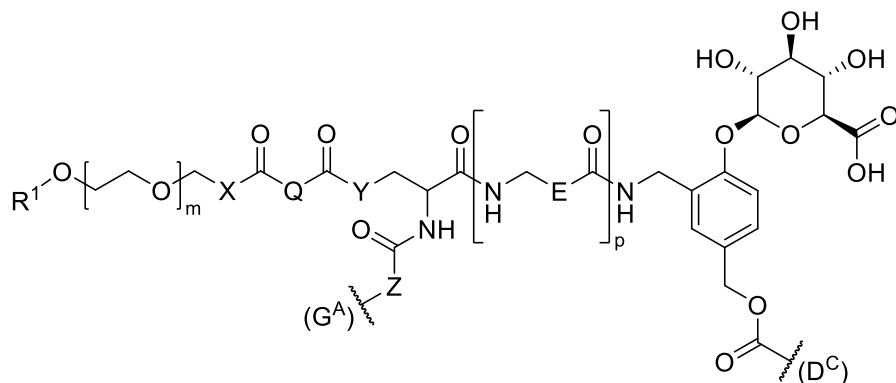
En otros aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC):



o una sal fragmento de unión al antígeno de este, en donde Ab es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, k es un número entero de 1 a 10, cada G^{A} es independientemente un grupo de conjugación conjugado con el anticuerpo o el
10 fragmento de unión al antígeno de este, cada D^{C} es



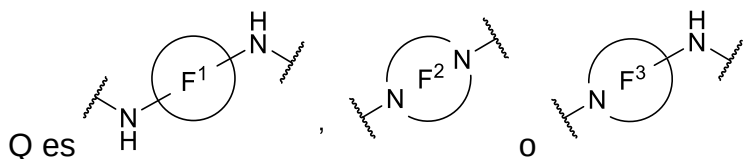
cada J^{A} es independientemente un grupo de la Fórmula (ICA)



(ICA),

E es $(CH_2)_{n1}$, en donde $n1$ es 0, 1, 2 o 3,

5



en donde el anillo F^1 es un anillo bicíclico saturado que tiene 6, 7, u 8 átomos de carbono y opcionalmente 1 o 2 átomos de oxígeno, el anillo F^2 es un anillo bicíclico saturado que tiene los 2 átomos de nitrógeno mostrados, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono y opcionalmente 1 átomo de oxígeno, y el anillo F^3 es un anillo bicíclico saturado que tiene el 1 átomo de nitrógeno mostrado, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono y opcionalmente 1 átomo de oxígeno, R^1 es alquilo C_{1-4} ,

X es $(CH_2)_{n2}$, en donde $n2$ es 0, 1, 2 o 3,

15 Y es $(CH_2)_{n3}$, en donde $n3$ es 0, 1, 2, 3 o 4,

Z es $(CH_2)_{n4}$, en donde $n4$ es 1, 2, 3, 4 o 5,

m es un número entero de 5 a 17,

p es 1 o 0,

(G^A) indica el punto de acoplamiento a G^A, y

(D^C) indica el punto de acoplamiento a D^C.

En un aspecto adicional, se proporciona una composición farmacéutica
5 que comprende un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente
aceptable de este y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, se proporciona un conjugado de la Fórmula
(IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para usar en terapia.

En un aspecto adicional se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC) o
10 una sal farmacéuticamente aceptable de este, para usar en el tratamiento de cáncer.

En un aspecto adicional, se proporciona el uso de un conjugado de la
Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en la elaboración de un
medicamento.

En un aspecto adicional se proporciona el uso de un conjugado de la
15 Fórmula (IC) o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en la elaboración de un
medicamento para el tratamiento de cáncer.

En un aspecto adicional se proporciona un método para tratar el cáncer
en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de un
conjugado de la Fórmula (IC) o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

20 Un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente
aceptable de este, puede someterse a escisión enzimática para liberar un fármaco
libre (exatecan). Los conjugados de la Fórmula (IC) pueden tener eficacia mejorada
y/o propiedades físicas ventajosas (por ejemplo, mayor estabilidad, menor lipofilia,

mayor solubilidad acuosa, mayor permeabilidad y/o menor unión a las proteínas plasmáticas), y/o perfiles de toxicidad favorables (por ejemplo, menor toxicidad fuera de la diana), y/o perfiles metabólicos o farmacocinéticos favorables, en comparación con otros conjugados. Como tales, los conjugados de la Fórmula (IC) pueden ser especialmente adecuados para usarse en terapia, tal como el tratamiento del cáncer.

Para que la presente memoria descriptiva pueda entenderse más fácilmente, ciertos términos se definen explícitamente a continuación. Además, las definiciones se exponen según corresponda a lo largo de la descripción detallada. Cuando se proporcionan ejemplos de una definición, estos no son limitantes.

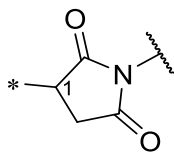
El prefijo C_{x-y}, donde x e y son números enteros, indica el rango numérico de átomos de carbono que están presentes en un grupo.

Como se usa en la presente, el término “alquilo” se refiere a un radical hidrocarburo saturado, lineal o ramificado que tiene el número especificado de átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo C₁₋₄ incluyen metilo (Me), etilo (Et), n-propilo (ⁿPr), i-propilo (ⁱPr), n-butilo (ⁿBu), i-butilo (ⁱBu), s-butilo (^sBu), y t-butilo (^tBu). Los ejemplos de grupos alquilo C₁₋₆ incluyen metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo, s-butilo, t-butilo, n-pentilo y n-hexilo.

Como se usa en la presente, el término “anillo bicíclico” se refiere a un anillo bicíclico fusionado, en puente o espirocíclico.

Como se usa en la presente, el término “grupo de conjugación para la conjugación a un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno de este” se refiere a un átomo o grupo de átomos capaz de formar un enlace covalente a un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno de este, a través de una reacción química.

El uso de “” en las fórmulas de esta memoria descriptiva indica el punto de acoplamiento al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. A manera de



ilustración, indica que existe un enlace covalente que conecta el anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno de este, al átomo de carbono marcado con 1.

5 Para evitar dudas, el uso de “” en las fórmulas de esta memoria descriptiva denota el punto de acoplamiento covalente a un grupo, donde el grupo es distinto del anticuerpo o del fragmento de unión al antígeno de este.

Ciertas modalidades de esta memoria descriptiva incluyen un grupo que se dice que está “opcionalmente sustituido”. En modalidades adicionales, dicho grupo
10 no está sustituido.

Como se usa en la presente,  es el anillo F¹,  es el anillo F², y

 es el anillo F³.

Las unidades, prefijos y símbolos se denotan en su forma aceptada del Sistema Internacional de Unidades (SI). Los rangos numéricos incluyen los números
15 que definen el rango.

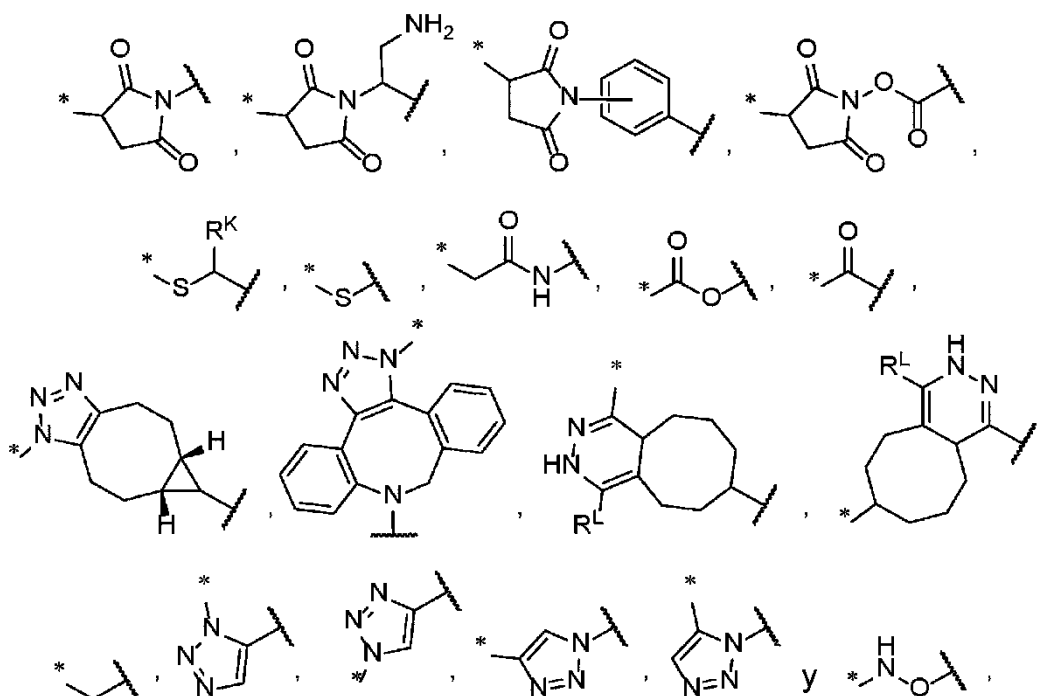
A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que se refiere esta descripción. Por ejemplo, el Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show,
20 2.^a ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3.^a ed., 1999,

Academic Press; y el Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revisada, 2000, Oxford University Press, proporcionan a un experto en la técnica un diccionario general de muchos de los términos usados en esta descripción.

En un aspecto, esta memoria descriptiva proporciona un conjugado de la
 5 Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, como se definió anteriormente.

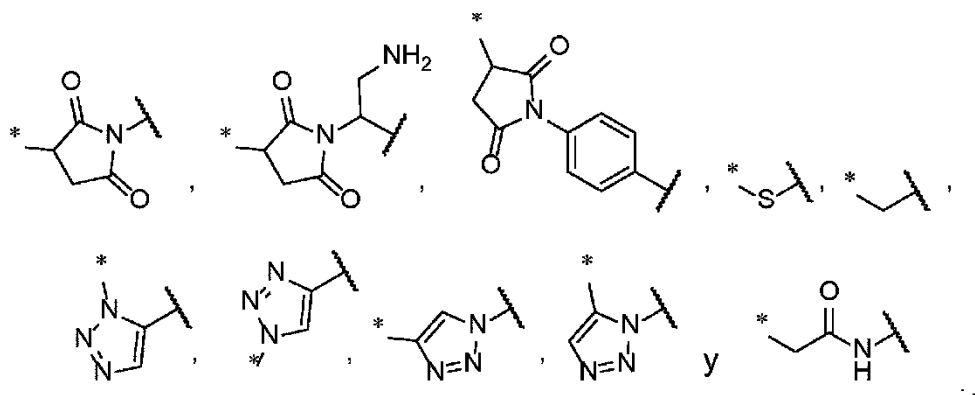
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde k es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En aspectos adicionales, k es un número entero de 2 a 10. En aspectos adicionales, k es un número
 10 entero de 2 a 8. En aspectos adicionales, k es aproximadamente 4. En aspectos adicionales, k es aproximadamente 8. En aspectos adicionales, k es 4. En aspectos adicionales, k es 8.

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde G^A se selecciona de

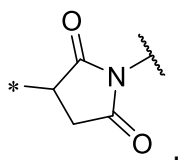


en donde R^K es H o CH_3 , R^L es alquilo C_{1-6} , y ---^* indica el punto de acoplamiento al anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno de este.

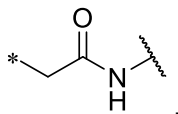
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde G^A se selecciona de



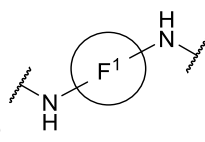
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde G^A es



En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde G^A es

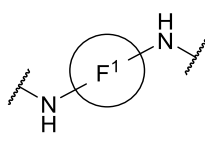


En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es , y en donde el

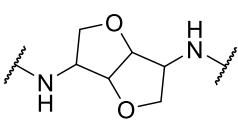
5 anillo F¹ es un anillo bicíclico saturado que tiene 6, 7 u 8 átomos de carbono y opcionalmente 1 o 2 átomos de oxígeno. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico fusionado.

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

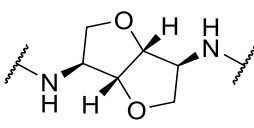
farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es , y el anillo F¹ es

10 un anillo bicíclico saturado que tiene 6, 7 u 8 átomos de carbono y 1 o 2 átomos de oxígeno. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico fusionado.

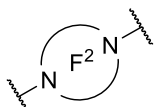
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es .

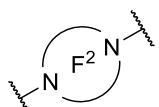
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

15 farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es .

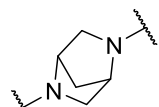
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es , y en donde el anillo F² es un anillo bicíclico saturado que tiene los 2 átomos de nitrógeno mostrados, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono y opcionalmente 1 átomo de oxígeno. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico espirocíclico. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico en puente.

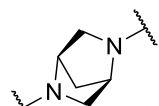
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es , y en donde el anillo F² es un anillo bicíclico saturado que tiene los 2 átomos de nitrógeno mostrados y 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico espirocíclico. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico en puente.

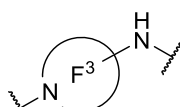
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es .

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

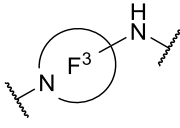
farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es .

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es , y en donde el anillo

F³ es un anillo bicíclico saturado que tiene el 1 átomo de nitrógeno mostrado, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono y opcionalmente 1 átomo de oxígeno. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico espirocíclico. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico en puente.

5 En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal

farmacéuticamente aceptable de este, en donde Q es , en donde el anillo F³ es un anillo bicíclico saturado que tiene el 1 átomo de nitrógeno mostrado y 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico espirocíclico. En aspectos adicionales, el anillo bicíclico es un anillo bicíclico en puente.

10 En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde E es (CH₂)_{n1}, en donde n1 es 0, 1, 2 o 3. En aspectos adicionales, E es un enlace covalente. En aspectos adicionales, E es CH₂. En aspectos adicionales, E es (CH₂)₂. En aspectos adicionales, E es (CH₂)₃.

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal
15 farmacéuticamente aceptable de este, en donde X es (CH₂)_{n2}, en donde n2 es 0, 1, 2 o 3. En aspectos adicionales, X es un enlace covalente. En aspectos adicionales, X es CH₂. En aspectos adicionales, X es (CH₂)₂. En aspectos adicionales, X es (CH₂)₃.

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal
farmacéuticamente aceptable de este, en donde Y es (CH₂)_{n3}, en donde n3 es 0, 1, 2,
20 3 o 4. En aspectos adicionales, Y es un enlace covalente. En aspectos adicionales, Y es CH₂. En aspectos adicionales, Y es (CH₂)₂. En aspectos adicionales, Y es (CH₂)₃. En aspectos adicionales, Y es (CH₂)₄.

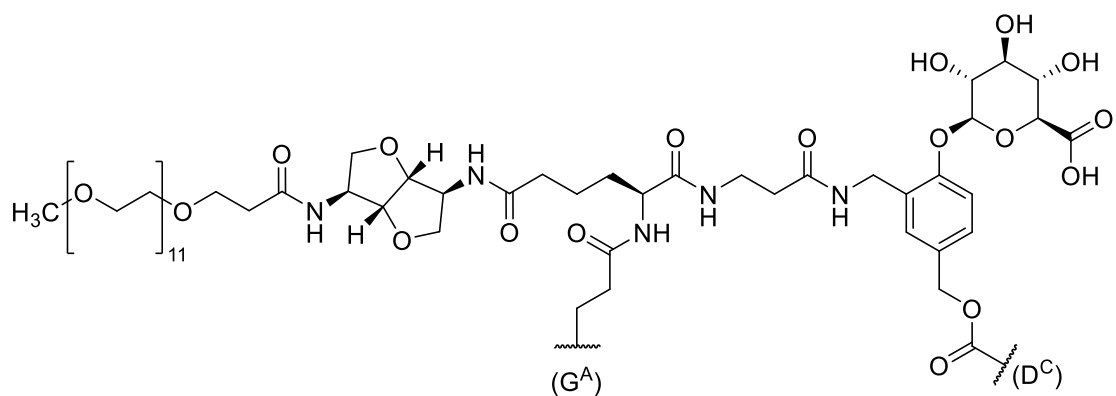
En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde Z es $(CH_2)_{n4}$, en donde $n4$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En aspectos adicionales, Z es CH_2 . En aspectos adicionales, Z es $(CH_2)_2$. En aspectos adicionales, Z es $(CH_2)_3$. En aspectos adicionales, Z es $(CH_2)_4$. En aspectos
5 adicionales, Z es $(CH_2)_5$.

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde m es 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17. En aspectos adicionales, m es un número entero de 6 a 16. En aspectos
10 adicionales, m es un número entero de 7 a 15. En aspectos adicionales, m es un número entero de 8 a 14. En aspectos adicionales, m es un número entero de 9 a 13. En aspectos adicionales, m es un número entero de 10 a 12. En aspectos adicionales, m es 11.

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde R^1 es alquilo C_{1-4} . En aspectos
adicionales, R^1 es CH_3 .

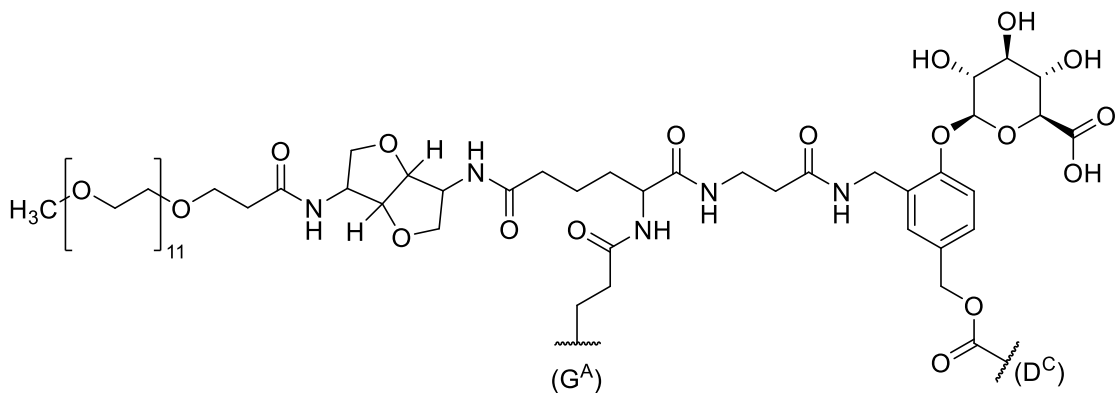
15 En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde p es 1.

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde cada J^A es un grupo de la Fórmula (ICB')



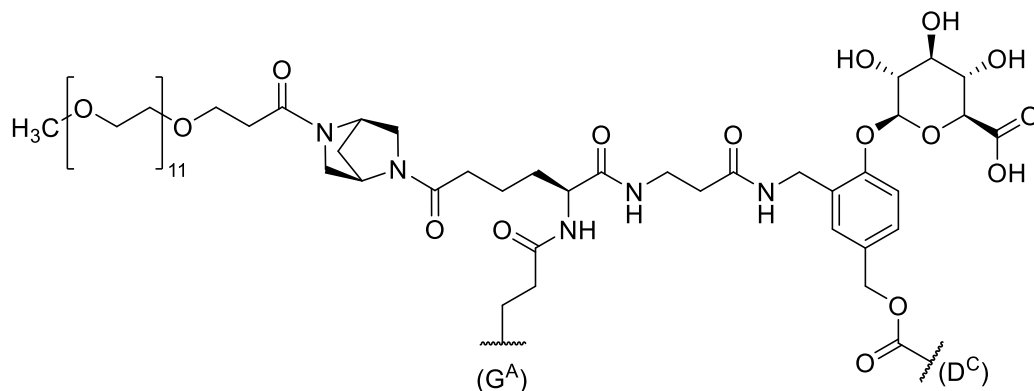
(ICB).

En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal
 5 farmacéuticamente aceptable de este, en donde cada J^A es un grupo de la Fórmula (ICB')



(ICB').

10 En aspectos, se proporciona un conjugado de la Fórmula (IC), o una sal
 farmacéuticamente aceptable de este, en donde cada J^A es un grupo de la Fórmula (ICB2)



(ICB2).

La presente memoria descriptiva pretende incluir todos los isótopos de átomos que se encuentran en los presentes compuestos y conjugados. Se entenderá que los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico, pero diferentes números de masa. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. Los isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . Los isótopos de nitrógeno incluyen ^{15}N .

Los compuestos descritos en la presente descripción pueden contener uno o más centros quirales. Por consiguiente, si se desea, tales compuestos pueden prepararse o aislarse como estereoisómeros puros, es decir, como enantiómeros individuales, diastereoisómeros o como una mezcla enriquecida de manera estereoisomérica. Todas estas mezclas de estereoisómeros (y enriquecidas) se incluyen dentro del alcance de los aspectos, a menos que se indique de cualquier otra manera. Los estereoisómeros (o mezclas enriquecidas) puros pueden prepararse usando, por ejemplo, materiales de partida ópticamente activos o reactivos estereoselectivos bien conocidos en la técnica. Alternativamente, las mezclas racémicas de tales compuestos pueden separarse usando, por ejemplo, cromatografía en columna quiral, agentes de resolución quiral y lo similar.

A menos que se indique explícitamente la estereoquímica en una estructura química o nombre químico, la estructura química o nombre químico pretende abarcar todos los estereoisómeros, diastereoisómeros, conformeros, rotámeros y tautómeros posibles del compuesto representado. Por ejemplo, un compuesto que contiene un átomo de carbono quiral está destinado a abarcar tanto el enantiómero (R) como el enantiómero (S), así como mezclas de los enantiómeros, que incluye mezclas racémicas; y un compuesto que contiene dos carbonos quirales está destinado a abarcar todos los enantiómeros y diastereoisómeros que incluye (R,R), (S,S), (R,S) y (S,R).

En un aspecto, un agente (p. ej., citotoxina) se conjuga con un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este mediante conjugación específica de sitio. En un aspecto, la conjugación específica de sitio de entidades terapéuticas a anticuerpos usando residuos de aminoácidos reactivos en posiciones específicas produce preparaciones de ADC homogéneas con estequiometría uniforme.

La conjugación específica de sitio puede ser a través de una cisteína, residuo o un aminoácido no natural. En un aspecto, el agente heterólogo (tal como una citotoxina) se conjuga con el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este a través de al menos un residuo de cisteína.

En un aspecto, el agente heterólogo (tal como una citotoxina) se conjuga químicamente con la cadena lateral de un aminoácido (p. ej., en una posición de Kabat específica en la región Fc). En un aspecto, el agente (p. ej., el agente citotóxico o de formación de imágenes) se conjuga con el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este a través de una sustitución por cisteína de al menos una de las posiciones 239, 248, 254, 273, 279, 282, 284, 286, 287, 289, 297, 298, 312, 324, 326,

330, 335, 337, 339, 350, 355, 356, 359, 360, 361, 375, 383, 384, 389, 398, 400, 413, 415, 418, 422, 440, 441, 442, 443 y 446, en donde la numeración corresponde al índice EU en Kabat. En un aspecto, las posiciones específicas de Kabat son 239, 442, o ambas. En un aspecto, las posiciones específicas son la posición de Kabat 442, una
5 inserción de aminoácidos entre las posiciones 239 y 240 de Kabat, o ambas. En un aspecto, el agente heterólogo (tal como una citotoxina) se conjuga con el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este a través de un enlace tiol-maleimida. En algunos aspectos, la cadena lateral de aminoácidos es una cadena lateral de sulfhidrilo.

La referencia en la presente a un anticuerpo o un fragmento de unión al
10 antígeno conjugado con una citotoxina es sinónimo del término “conjugado anticuerpo-fármaco (ADC)”, o “ADC anti-STEAP2”.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., ADC anti-STEAP2) suministra una carga útil citotóxica a una célula (tal como una célula que expresa STEAP2) e inhibe o suprime la proliferación (p. ej., de un tumor) en
15 al menos 10 %, o al menos 20 %, o al menos 30 %, o al menos 40 %, o al menos 50 %, o al menos 60 %, o al menos 70 %, o al menos 80 %, al menos 90 % o aproximadamente 100 % (al menos 40 %) en relación con un nivel de inhibición o supresión en ausencia del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., ADC anti-STEAP2). La proliferación celular se puede evaluar usando técnicas reconocidas en la técnica que
20 miden la tasa de división celular, y/o la fracción de células dentro de una población celular que sufre división celular, y/o la tasa de pérdida celular de una población celular debido a la diferenciación terminal o muerte celular (p. ej., incorporación de timidina).

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de antígeno de este (p. ej., ADC anti-STEAP2) de la descripción se une a STEAP2 en la superficie de una célula, y se internaliza en la célula. En un aspecto, el antígeno o fragmento de anticuerpo de este se internaliza en una célula (tal como una célula que expresa STEAP2) con una IC50 a 10 minutos de aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 250 ng/ml, aproximadamente 250 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, aproximadamente 350 ng/ml a aproximadamente 450 ng/ml, aproximadamente 500 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 500 ng/ml a aproximadamente 750 ng/ml, aproximadamente 750 ng/ml a aproximadamente 850 ng/ml, o aproximadamente 900 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de antígeno de este (p. ej., ADC anti-STEAP2) se internaliza en una célula (tal como una célula que expresa STEAP2) con una IC50 a 30 minutos de aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 250 ng/ml, aproximadamente 250 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, aproximadamente 250 ng/ml a aproximadamente 350 ng/ml, aproximadamente 350 ng/ml a aproximadamente 450 ng/ml, aproximadamente 500 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 500 ng/ml a aproximadamente 750 ng/ml, aproximadamente 750 ng/ml a aproximadamente 850 ng/ml, o aproximadamente 900 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de antígeno de este (p. ej., ADC anti-STEAP2) se internaliza en una célula (tal como una célula que expresa STEAP2) con una IC50 a 120 minutos de aproximadamente 50 ng/ml a aproximadamente

500 ng/ml, aproximadamente 50 ng/ml a aproximadamente 100 ng/ml, aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 200 ng/ml a aproximadamente 300 ng/ml, aproximadamente 300 ng/ml a aproximadamente 400 ng/ml, o aproximadamente 400 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml.

5 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de antígeno de este (p. ej., ADC anti-STEAP2) se internaliza en una célula (tal como una célula que expresa STEAP2) con una IC₅₀ a 8 horas de aproximadamente 5 ng/ml a aproximadamente 250 ng/ml, aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 25 ng/ml, aproximadamente 25 ng/ml a aproximadamente 50 ng/ml, aproximadamente 50 ng/ml a aproximadamente 100 ng/ml, 10 aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 150 ng/ml, aproximadamente 150 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, o aproximadamente 200 ng/ml a aproximadamente 250 ng/ml.

Para evitar dudas, la referencia a un “conjugado” en la presente significa un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno conjugado con un agente heterólogo (tal como una citotoxina) que incluye cualquiera de tales agentes descritos anteriormente.

15 Además de las aplicaciones terapéuticas de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de la descripción descrita anteriormente, los “conjugados” de la presente descripción también pueden usarse en un método de terapia. Por lo tanto, también se proporciona un método de tratamiento, que comprende administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un conjugado descrito 20 en la presente (p. ej., conjugado de la Fórmula IV). El término “cantidad terapéuticamente efectiva” es una cantidad suficiente para mostrar beneficio a un paciente. Tal beneficio puede ser al menos un alivio de al menos un síntoma. La cantidad real administrada, y la velocidad y el curso de administración, dependerán de la naturaleza y gravedad de lo que

se esté tratando. La prescripción del tratamiento, p. ej., las decisiones sobre la dosificación, está dentro de la responsabilidad de los médicos generales y otros médicos.

Un conjugado debe administrarse solo o en combinación con otros tratamientos, ya sea simultánea o secuencialmente dependiendo de la afección que se tratará. Los ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero no se limitan a, quimioterapia (la administración de agentes activos, que incluyen, p. ej., fármacos); cirugía; y radioterapia.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente descripción, y para usar de acuerdo con la presente descripción, pueden comprender, además del ingrediente activo, es decir, un conjugado/ADC de la descripción (p. ej., Fórmula IV), un excipiente, portador, regulador, estabilizador u otros materiales farmacéuticos farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica. Tales materiales deben ser no tóxicos y no deben interferir con la eficacia del ingrediente activo. La naturaleza precisa del portador u otro material dependerá de la vía de administración, que puede ser oral, o mediante inyección, p. ej., cutánea, subcutánea, o intravenosa.

Las composiciones farmacéuticas para administración oral pueden estar en forma de tableta, cápsula, polvo o líquido. Una tableta puede comprender un portador sólido o un adyuvante. Las composiciones farmacéuticas líquidas comprenden generalmente un portador líquido tal como agua, petróleo, aceites animales o vegetales, aceite mineral o aceite sintético. Puede incluirse solución salina fisiológica, dextrosa u otra solución de sacáridos o glicoles tales como etilenglicol, propilenglicol o polietilenglicol. Una cápsula puede comprender un portador sólido tal como gelatina.

Para inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, o inyección en el lugar de la afección, el ingrediente activo estará en la forma de una solución acuosa

parenteralmente aceptable libre de pirógenos y con un pH, isotonicidad y estabilidad adecuados. Los expertos en la técnica son capaces de preparar soluciones adecuadas usando, por ejemplo, vehículos isotónicos tales como inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de lactato de Ringer. Pueden incluirse conservantes, estabilizadores, reguladores, antioxidantes y/u otros aditivos, según sea necesario.

En algunos aspectos, los conjugados pueden usarse para tratar enfermedades proliferativas. El término “enfermedad proliferativa” se refiere a una proliferación celular no deseada o no controlada de células excesivas o anormales que es indeseable, como el crecimiento neoplásico o hiperplásico, ya sea *in vitro* o *in vivo*.

El término “enfermedad proliferativa” puede denominarse alternativamente “cáncer”.

Una enfermedad proliferativa adecuada (p. ej., cáncer) puede caracterizarse por la presencia de células cancerosas que expresan STEAP2.

Los ejemplos de afecciones proliferativas incluyen, pero no se limitan a, proliferación celular benigna, premaligna y maligna, que incluyen, pero no se limitan a, neoplasias y tumores (p. ej., histiocitoma, glioma, astrocitoma, osteoma), cánceres (p. ej., cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer gastrointestinal, cáncer de colon, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer cerebral, sarcoma, osteosarcoma, sarcoma de Kaposi, melanoma), leucemias, psoriasis, hueso enfermedades, trastornos fibroproliferativos (p. ej., de tejidos conectivos) y aterosclerosis.

Otros cánceres de interés incluyen, pero no se limitan a, hematológicos; tumores malignos como leucemias y linfomas, como linfoma no Hodgkin, y subtipos como DLBCL, zona marginal, zona del manto, y folicular, linfoma de Hodgkin, AML y otros cánceres de origen

de células B o T. Se puede tratar cualquier tipo de célula, que incluyen, pero sin limitarse a, pulmón, gastrointestinal (que incluyen, p. ej., intestino, colon), mama (mamaria), ovario, próstata, hígado (hepática), riñón (renal), vejiga, páncreas, cerebro y piel.

El conjugado anticuerpo-fármaco puede etiquetarse, por ejemplo para
5 ayudar a la detección de la unión celular (*in vitro* o *in vivo*). La etiqueta puede ser una etiqueta de biotina. En otro aspecto, la etiqueta puede ser un radioisótopo.

En otro aspecto, se proporciona un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción.

10 En un aspecto, el polinucleótido puede ser un polinucleótido aislado.

La(s) secuencia(s) (p. ej., secuencia(s) de polinucleótido(s)) de la presente descripción incluyen secuencias que se han eliminado de su entorno natural, aislados recombinantes o clonados (p. ej., ADN), y análogos sintetizados químicamente o análogos sintetizados biológicamente por sistemas heterólogos.

15 La(s) secuencia(s) (p. ej., secuencia(s) de polinucleótido(s)) de la presente descripción pueden prepararse mediante cualquier medio conocido en la técnica. Por ejemplo, pueden producirse grandes cantidades de las secuencia(s) mediante replicación y/o expresión en una célula huésped adecuada. Los fragmentos de ADN natural o sintético que codifican un fragmento deseado se incorporarán
20 típicamente en constructos de ácido nucleico recombinante, típicamente constructos de ADN, capaces de introducirse y replicarse en una célula procariota o eucariota. Usualmente, los constructos de ADN serán adecuados para la replicación autónoma en un huésped unicelular, tal como levadura o bacteria, pero también pueden estar

destinados a la introducción e integración dentro del genoma de una bacteria cultivada, insecto, mamífero, planta u otras líneas celulares eucariotas.

La(s) secuencia(s) (p. ej., secuencia(s) de polinucleótido(s)) de la presente descripción también pueden producirse mediante síntesis química, p. ej., un
5 polinucleótido mediante el método de fosforamidita o el método de triéster y pueden realizarse en sintetizadores de oligonucleótidos automatizados comerciales. Puede obtenerse un fragmento bicatenario (p. ej., ADN) a partir del producto monocatenario de síntesis química ya sea sintetizando la cadena complementaria y apareando la cadena en condiciones apropiadas o añadiendo la cadena complementaria usando
10 ADN polimerasa con una secuencia de cebador apropiada.

Cuando se aplica a una secuencia (p. ej., secuencia de polinucleótido) de la descripción, el término “aislado” denota que la secuencia se ha eliminado de su medio genético natural y, por lo tanto, está libre de otras secuencias codificantes extrañas o no deseadas (pero puede incluir regiones 5' y 3' no trasladadas de origen
15 natural tales como promotores y terminadores), y está en una forma adecuada para usar dentro de sistemas de producción de proteínas modificados genéticamente. Tales moléculas aisladas son aquellas que están separadas de su entorno natural.

Otro aspecto proporcionado en la presente es una célula huésped que comprende un polinucleótido, dicho polinucleótido comprende una secuencia de ácido
20 nucleico que codifica un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción.

En un aspecto, el polinucleótido codifica una cadena VH de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este. En un aspecto, un polinucleótido de la

descripción puede codificar una cadena VL de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este. En un aspecto, el polinucleótido puede codificar una cadena VH y una VL de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este. En un aspecto, el polinucleótido puede codificar además una secuencia líder (p. ej., que funciona como una secuencia secretora para controlar el transporte de un polipéptido desde la célula).

En otro aspecto, se proporciona un vector (p. ej., plásmido) que comprende el polinucleótido de la descripción.

Las variantes de un polinucleótido descrito anteriormente son abarcadas por la descripción. Las variantes de polinucleótido pueden contener alteraciones en las regiones codificantes, regiones no codificantes, o ambas. En un aspecto, una variante polinucleotídica comprende una alteración que produce sustituciones silenciosas, adiciones o deleciones, pero que no alteran las propiedades o actividades del polipéptido codificado. En un aspecto, una variante de polinucleótido se produce por una sustitución silenciosa debido a la degeneración del código genético. Se puede producir una variante de polinucleótido por una variedad de razones, p. ej., para optimizar la expresión de codones para un huésped particular (cambiar los codones en el ARNm humano a los preferidos por un huésped bacteriano tal como E. coli). También se proporcionan vectores y células que comprenden dicha variante de polinucleótido.

La presente descripción abarca métodos para producir un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2), que comprende expresar un polinucleótido en una célula huésped, dicho polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción.

La presente descripción abarca además un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este obtenible mediante dichos métodos para producir un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une a un polipéptido STEAP2 (p. ej., epítipo del polipéptido STEAP2).

5 En un aspecto, el método para producir un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este comprende (a) el cultivo de la célula huésped y (b) aislar el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este expresado a partir de la célula.

Las células huésped adecuadas para la expresión de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción incluyen células procariotas, 10 levaduras, insectos o eucariotas superiores (p. ej., en donde el polinucleótido está bajo el control de promotores apropiados). Los procariotas incluyen organismos gram negativos o grampositivos, por ejemplo E. coli o bacilos. Las células eucariotas superiores incluyen líneas celulares establecidas de origen mamífero como se describe en la presente. También se pueden usar sistemas de traslación libres de células.

15 En un aspecto, se proporciona un kit que comprende un antígeno o fragmento de unión a anticuerpo descrito en la presente. Además, se ha incluido el uso de dicho kit en los métodos de la presente descripción.

En un aspecto, un kit comprende un antígeno aislado (p. ej., purificado) o fragmento de unión a anticuerpo de la descripción. En un aspecto, un kit comprende un 20 antígeno aislado (p. ej., purificado) o fragmento de unión a anticuerpo de la descripción, en donde el antígeno o fragmento de unión a anticuerpo comprende un agente (p. ej., citotoxina conjugada) descrito en la presente. En un aspecto, el kit comprende uno o más recipientes. El kit puede proporcionar el fragmento de unión al antígeno o anticuerpo y el

agente individualmente (p. ej., el agente no se conjuga con el antígeno o fragmento de unión al anticuerpo, sino que está en una forma adecuada para la conjugación con este); opcionalmente, en donde el kit se proporciona además con instrucciones y/o reactivos para conjugar el agente con el antígeno o fragmento de unión al anticuerpo. En un aspecto, el kit comprende todos los componentes necesarios y/o suficientes para realizar un ensayo de detección, que incluyen todos los controles, instrucciones para realizar ensayos y cualquier software necesario para el análisis y presentación de resultados.

Un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción se puede usar en ensayos de unión inmuno-específica por cualquier método conocido en la técnica. Los inmunoensayos que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, sistemas de ensayo competitivos y no competitivos que usan técnicas tales como transferencia Western, RIA, ELISA, ELISPOT, inmunoensayos de “intercalación”, ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de difusión en gel de precipitina, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación de complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, y proteínas A inmunoensayos.

Un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción puede usarse histológicamente, como en inmunofluorescencia, microscopía inmunoelectrónica, o ensayos no inmunológicos, por ejemplo, para la detección *in situ* de STEAP2 o variantes conservadas o fragmentos peptídicos de este. La detección *in situ* se puede lograr retirando una muestra histológica de un paciente, y aplicándole a la misma un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno etiquetado de este de la descripción, p. ej., aplicado superponiendo el anticuerpo etiquetado o fragmento de unión al antígeno de este sobre una muestra biológica. Mediante el uso de tal procedimiento, es posible determinar no

solo la presencia de STEAP2, o variantes conservadas o fragmentos peptídicos, sino también su distribución en el tejido examinado. Usando la presente descripción, los expertos percibirán fácilmente que cualquiera de una amplia variedad de métodos histológicos (tales como procedimientos de tinción) puede modificarse para lograr tal detección *in situ*.

5

Anticuerpos

El término “anticuerpo” abarca anticuerpos monoclonales y fragmentos de estos (p. ej., que exhiben la actividad biológica deseada). En un aspecto, un anticuerpo de la presente descripción es un anticuerpo monoclonal. En otro aspecto, el anticuerpo
10 es un anticuerpo monoclonal completamente humano. En un aspecto, los métodos de la descripción pueden usar anticuerpos policlonales.

Un anticuerpo es una proteína que incluye al menos una o dos regiones variables de cadena pesada (H) (abreviadas en la presente como VHC), y al menos una o dos regiones variables de cadena ligera (L) (abreviadas en la presente como
15 VLC). Las regiones VHC y VLC pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas “regiones determinantes de complementariedad” (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas “regiones marco” (FR, por sus siglas en inglés). Se ha definido con precisión la extensión de la región marco y las CDR (ver, Kabat, E.A., et al. Sequences of Proteins of Immunological
20 Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, 1991, y Chothia, C. et al, J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987). Cada VHC y VLC está compuesto por tres CDR y cuatro FR, dispuestos desde el amino-terminal al carboxi-terminal en el siguiente orden: FR1, CDRI, FR2, DR2, FR3, CDR3, FR4. La

cadena VHC o VLC del anticuerpo puede incluir además toda o parte de una región constante de cadena pesada o ligera. En un aspecto, el anticuerpo es un tetrámero de dos cadenas pesadas de inmunoglobulina y dos cadenas ligeras de inmunoglobulina, en donde las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina se interconectan mediante, p. ej., enlaces de disulfuro. La región constante de la cadena pesada incluye tres dominios, CH1, CH2 y CH3. La región constante de la cadena ligera se compone de un dominio, CL. La región variable de las cadenas pesada y ligera contiene un dominio de unión que interactúa con un antígeno. El término “anticuerpo” incluye inmunoglobulinas intactas de tipos IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (así como subtipos de estas), en donde las cadenas ligeras de la inmunoglobulina pueden ser de tipos kappa o lambda. El término anticuerpo, como se usa en la presente descripción, también se refiere a una porción de un anticuerpo que se une a uno de los marcadores mencionados anteriormente, p. ej., una molécula en la que una o más cadenas de inmunoglobulina no son de longitud completa, sino que se une a un marcador. Los ejemplos de porciones de unión incluidas dentro del término anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VLC, VHC, CL, y CH1; (ii) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fc que consiste en los dominios VHC y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VLC y VHC de un brazo único de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al, Nature 341:544-546, 1989), que consiste de un dominio VHC; y (vi) una región determinante de complementariedad (CDR) aislada que tiene suficiente marco para unirse, p. ej., una porción de unión al antígeno de una región variable. Una porción de unión al antígeno de una región variable de

cadena ligera y una porción de unión al antígeno de una región variable de cadena pesada, p. ej., los dos dominios del fragmento Fv, VLC y VHC, pueden unirse, usando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que les permita fabricarlos como una única cadena proteica en la que las regiones VLC y VHC se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenario (scFv); ver, p. ej., Bird et al. (1988) Science 161:1202-1205; y Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Tales anticuerpos monocatenarios también se engloban dentro del término anticuerpo. Estos pueden obtenerse usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, y las porciones se tamizan para determinar la utilidad de la misma manera que los anticuerpos intactos.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno es uno o más seleccionados de un anticuerpo murino, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo multiespecífico, o una combinación de estos.

En un aspecto, el fragmento de unión al antígeno es uno o más seleccionados de un fragmento Fv, un fragmento Fab, un fragmento F (ab')₂, un fragmento Fab', un fragmento dsFv, un fragmento scFv, un fragmento sc(Fv)₂, o una combinación de estos.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este es un anticuerpo monoclonal (mAb).

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., mAb) de la descripción es un scFV.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede unirse a moléculas STEAP2 a través de especies, p. ej., el anticuerpo o el

fragmento puede unirse a STEAP2 de ratón, STEAP2 de rata, conejo, STEAP2 humano y/o mono cynomolgus STEAP2. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento puede unirse a STEAP2 humano y al mono cynomolgus STEAP2. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno también puede unirse a STEAP2 de ratón.

5 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede unirse específicamente a STEAP2, p. ej., STEAP2 humano y mono cynomolgus STEAP2.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede incluir, además de una VH y una VL, una región constante de cadena pesada o fragmento de esta. En un aspecto, la región constante de la cadena pesada es una región
10 constante de la cadena pesada humana, p. ej., una región constante IgG humana, p. ej., una región constante IgG1, IgG2 o IgG4 humana. En un aspecto (en donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se conjuga con un agente, tal como un agente citotóxico), se inserta un residuo de cisteína entre el aminoácido S239 y V240 en la región CH2 de IgG1. Esta cisteína se conoce como “una inserción 239” o “239i”.

15 En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede comprender una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 60. En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede comprender una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 54.

20 En un aspecto, una región constante de cadena pesada o fragmento de esta, p. ej., una región constante IgG humana o fragmento de esta, puede incluir una o más sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio constante de IgG silvestre en donde la IgG modificada tiene una vida media aumentada en comparación con la vida media

de una IgG que tiene el dominio constante IgG silvestre. Por ejemplo, el dominio constante de IgG puede contener una o más sustituciones de aminoácidos de residuos de aminoácidos en las posiciones 234-257, 285-290, 308-331, 385-389 y 428-436, en donde la numeración de posición de aminoácido es de acuerdo con el índice EU como se establece en Kabat. En

5 un aspecto, el dominio constante de IgG puede contener una o más de una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 234 con fenilalanina (F), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 235 con ácido glutámico (E), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 252 con tirosina (Y), fenilalanina (F), triptófano (W) o treonina (T), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 254 con treonina (T), una sustitución del

10 aminoácido en la posición Kabat 256 con serina (S), arginina (R), glutamina (Q), ácido glutámico (E), ácido aspártico (D), o treonina (T), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 257 por Leucina (L), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 309 con prolina (P), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 311 con serina (S), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 331 con serina (S), una

15 sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 428 con treonina (T), leucina (L), fenilalanina (F) o serina (S), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 433 por arginina (R), serina (S), isoleucina (I), prolina (P) o glutamina (Q), o a sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 434 con triptófano (W), metionina (M), serina (S), histidina (H), fenilalanina (F), o tirosina. En un aspecto, el dominio constante de IgG puede

20 contener sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio constante de IgG humano silvestre que incluye como sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 252 con tirosina (Y), una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 254 con treonina (T), y una sustitución del aminoácido en la posición de Kabat 256 con ácido glutámico (E). En un

aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada, en donde la cadena pesada es un mutante IgG1 YTE humano.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede incluir, además de una VH y una VL, y opcionalmente una región constante de
5 cadena pesada o fragmento de esta, una región constante de cadena ligera o fragmento de esta. En un aspecto, la región constante de la cadena ligera es una región constante de cadena ligera kappa lambda, p. ej., una región constante kappa humana o una región constante lambda humana.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este
10 comprende una región constante de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 42.

En un aspecto, una secuencia de aminoácidos VH y/o VL puede tener 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de similitud con una secuencia establecida en la presente. En un aspecto, una secuencia de aminoácidos VH y/o VL puede comprender 1,
15 2, 3, 4, 5 o más sustituciones, p. ej., sustituciones conservativas con respecto a una secuencia establecida en la presente. Un anticuerpo STEAP2 que tiene regiones VH y VL que tienen un cierto porcentaje de similitud con una región VH o región VL, o que tiene una o más sustituciones, p. ej., las sustituciones conservadoras se pueden obtener mediante mutagénesis (p. ej., mutagénesis dirigida al sitio o mediada por PCR) de moléculas de
20 ácido nucleico que codifican regiones VH y/o VL descritas en la presente, seguido de pruebas del anticuerpo alterado codificado para la unión a STEAP2 y opcionalmente pruebas de la función retenida usando los ensayos funcionales descritos en la presente.

La afinidad o avidez de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este por un antígeno se puede determinar experimentalmente usando cualquier método adecuado bien conocido en la técnica, p. ej., citometría de flujo, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), o radioinmunoensayo (RIA), o cinética (p. ej., análisis KINEXA® o BIACORE™). Se pueden usar fácilmente ensayos de unión directa así como formatos de ensayo de unión competitiva. (Ver, p. ej., Berzofsky et al., *Antibody-Antigen Interactions*, In *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, N.Y. (1984); Kuby, *Immunology*, W. H. Freeman and Company: New York, N.Y. (1992); y los métodos descritos en la presente.) La afinidad medida de una interacción anticuerpo-antígeno particular puede variar si se mide bajo diferentes condiciones (p. ej., concentración de sal, pH, temperatura). Por lo tanto, las mediciones de afinidad y otros parámetros de unión al antígeno (p. ej., KD o Kd, Kon, Koff) se realizan con soluciones estandarizadas de anticuerpo y antígeno, y un regulador estandarizado, como se conoce en la técnica.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este, puede unirse a células que expresan STEAP2 con una IC50 menor que aproximadamente 500 nM, menor que aproximadamente 350 nM, menor que aproximadamente 250 nM, menor que aproximadamente 150 nM, menor que aproximadamente 100 nM, menor que aproximadamente 75 nM, menor que aproximadamente 60 nM, menor que aproximadamente 50 nM, menor que aproximadamente 40 nM, menor que aproximadamente 30 nM, menor que aproximadamente 20 nM, menor que aproximadamente 15 nM, menor que aproximadamente 10 nM, menor que aproximadamente 5 nM, menor que aproximadamente 1 nM, menor que aproximadamente 500 pM, menor que aproximadamente 350 pM, menor que aproximadamente 250 pM,

menor que aproximadamente 150 pM, menor que aproximadamente 100 pM, menor que aproximadamente 75 pM, menor que aproximadamente 60 pM, menor que aproximadamente 50 pM, menor que aproximadamente 40 pM, menor que aproximadamente 30 pM, menor que aproximadamente 20 pM, menor que
5 aproximadamente 15 pM, menor que aproximadamente 10 pM, o menor que aproximadamente 5 pM. En un aspecto, dicho IC₅₀ se mide por citometría de flujo.

Un “anticuerpo monoclonal” (mAb, por sus siglas en inglés) se refiere a una población homogénea de anticuerpos implicada en el reconocimiento y unión altamente específicos de un único determinante antigénico, o epítipo. Esto contrasta
10 con los anticuerpos policlonales que incluyen típicamente diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes antigénicos. El término “anticuerpo monoclonal” abarca tanto los anticuerpos monoclonales intactos y de longitud completa como los fragmentos de anticuerpos (tales como Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), mutantes de cadena única (scFv), proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo,
15 y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprenda un sitio de reconocimiento del antígeno. Además, “anticuerpo monoclonal” se refiere a tales anticuerpos producidos en cualquier número de maneras que incluye, pero sin limitarse a, hibridoma, selección de fagos, expresión recombinante, y animales transgénicos.

En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este
20 (p. ej., mAb) de la descripción es un anticuerpo humanizado o fragmento de unión al antígeno de este. Adecuadamente, dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es una IgG.

El término “anticuerpo humanizado” se refiere a un anticuerpo derivado de una inmunoglobulina no humana (p. ej., murina), que se ha diseñado para contener secuencias mínimas no humanas (p. ej., murinas). Típicamente, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas en las que los residuos de la región determinante de complementariedad (CDR) son reemplazados para residuos de la CDR de una especie no humana (p. ej., ratón, rata, conejo, hámster) que tienen la especificidad, afinidad y capacidad deseadas (Jones et al., 1986, *Nature*, 321:522-525; Riechmann et al., 1988, *Nature*, 332:323-327; Verhoeyen et al., 1988, *Science*, 239:1534-1536). En algunos casos, los residuos de la región marco (FW) Fv de una inmunoglobulina humana se reemplazan con los residuos correspondientes en un anticuerpo de una especie no humana que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas.

Los anticuerpos humanizados pueden modificarse adicionalmente mediante la sustitución de residuos adicionales ya sea en la región marco Fv y/o dentro de los residuos no humanos reemplazados para refinar y optimizar la especificidad, afinidad y/o capacidad del anticuerpo. Generalmente, los anticuerpos humanizados comprenderán sustancialmente la totalidad de al menos uno, y típicamente dos o tres, dominios variables que contienen todas o sustancialmente todas las regiones CDR que corresponden a la inmunoglobulina no humana, mientras que todas o sustancialmente todas las regiones FR son las de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado también puede comprender al menos una porción de una región o dominio constante (Fc) de inmunoglobulina, típicamente el de una inmunoglobulina humana. Se describen ejemplos de métodos usados para generar anticuerpos humanizados en la Patente de los Estados Unidos núms. 5.225.539 o 5.639.641.

Una “región variable” de un anticuerpo se refiere a la región variable de la cadena ligera del anticuerpo o la región variable de la cadena pesada del anticuerpo, bien sea sola o en combinación. Las regiones variables de la cadena pesada y ligera constan cada una de cuatro regiones marco (FW) conectadas por tres regiones determinantes de complementariedad (CDR), también conocidas como regiones hipervariables. Las CDR de cada cadena se mantienen juntas en estrecha proximidad por las regiones FW y, con las CDR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos. Existen al menos dos técnicas para determinar las CDR: (1) un enfoque basado en la variabilidad de secuencia entre especies (es decir, Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5.^a ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda Md.)); y (2) un enfoque basado en estudios cristalográficos de complejos antígeno-anticuerpo (Al-lazikani et al. (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948)). Además, a veces se usan combinaciones de estos dos enfoques en la técnica para determinar las CDR.

El “sistema de numeración Kabat” se usa generalmente cuando se refiere a un residuo en el dominio variable (aproximadamente los residuos 1-107 de la cadena ligera y los residuos 1-113 de la cadena pesada) (p. ej., Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)).

La numeración de posición de aminoácidos como en Kabat, se refiere al sistema de numeración usado para dominios variables de cadena pesada o dominios variables de cadena ligera de la compilación de anticuerpos en Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991). Usando este sistema de numeración, la secuencia de aminoácidos lineal real puede contener menos o adicionales aminoácidos

correspondientes a un acortamiento de, o inserción en, un FW o CDR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio variable de cadena pesada puede incluir un único inserto de aminoácido (residuo 52a de acuerdo con Kabat) después del residuo 52 de H2 y residuos insertados (p. ej., residuos 82a, 82b y 82c, etc. de acuerdo con Kabat) después del residuo 82 de FW de cadena pesada.

La numeración Kabat de residuos puede determinarse para un anticuerpo dado mediante alineación en regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada Kabat “estándar”. Chothia se refiere en cambio a la ubicación de los bucles estructurales (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). El final del bucle CDR-H1 de Chothia cuando se numera usando la convención de numeración de Kabat varía entre H32 y H34 dependiendo de la longitud del bucle (esto se debe a que el esquema de numeración de Kabat coloca las inserciones en H35A y H35B; si ni 35A ni 35B está presente, el bucle termina en 32; si solo 35A está presente, el bucle termina en 33; si tanto 35A como 35B están presentes, el bucle termina en 34). Las regiones hipervariables AbM representan un compromiso entre las CDR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y son usadas por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular. La siguiente tabla enumera las posiciones de los aminoácidos que comprenden las regiones variables de los anticuerpos en cada sistema.

Región	Kabat	AbM	Chothia
LCDR1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
LCDR2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
LCDR3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
HCDR1 ¹	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34
HCDR1 ²	H31-H35	H26-H35	H26-H32
HCDR2	H50-H65	H50-H58	H52-H56

HCDR3	H95-H102	H95-H102	H95-H102
-------	----------	----------	----------

¹Numeración de Kabat

²Numeración de Chothia

ImMunoGeneTics (IMGT) también proporciona un sistema de numeración para las regiones variables de inmunoglobulina, que incluyen las CDR. Ver, p. ej., Lefranc, M.P. et al., Dev. Comp. Immunol. 27: 55-77(2003). El sistema de numeración

5 IMGT se basa en una alineación de más de 5000 secuencias, datos estructurales y caracterización de bucles hipervariables y permite una fácil comparación de las regiones variables y CDR para todas las especies. De acuerdo con el esquema de numeración IMGT, VH-CDR1 está en las posiciones 26 a 35, VH-CDR2 está en las posiciones 51 a 57, VH-CDR3 está en las posiciones 93 a 102, VL-CDR1 está en las posiciones 27 a 32,

10 VL-CDR2 está en las posiciones 50 a 52, y VL-CDR3 está en las posiciones 89 a 97.

Como se usa a lo largo de la memoria descriptiva, las secuencias de CDR de VH descritas corresponden a las ubicaciones de numeración de Kabat clásicas, a saber, VH-CDR1 de Kabat está en las posiciones 31-35, VH-CDR2 es una posición 50-65, y VH-CDR3 está en las posiciones 95-102. VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3

15 también corresponden a ubicaciones clásicas de numeración de Kabat, a saber las posiciones 24-34, 50-56 y 89-97, respectivamente.

En un aspecto, un anticuerpo de la descripción es un anticuerpo humano.

El término “anticuerpo humano” significa un anticuerpo producido en un humano o un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a un

20 anticuerpo producido en un humano producido usando cualquier técnica conocida en la técnica. Esta definición de un anticuerpo humano incluye anticuerpos intactos o de

longitud completa, fragmentos de estos y/o anticuerpos que comprenden al menos un polipéptido de cadena pesada y/o ligera humana tal como, por ejemplo, un anticuerpo que comprende polipéptidos de cadena ligera murina y cadena pesada humana.

En un aspecto, un anticuerpo de la presente descripción es un anticuerpo
5 quimérico.

El término “anticuerpos quiméricos” se refiere a anticuerpos en los que la secuencia de aminoácidos de la molécula de inmunoglobulina se deriva de dos o más especies. Típicamente, la región variable de las cadenas tanto ligera como pesada corresponde a la región variable de anticuerpos derivados de una especie de
10 mamíferos (p. ej., ratón, rata, conejo, etc.) con la especificidad, afinidad y capacidad deseadas mientras que las regiones constantes son homólogas a las secuencias en anticuerpos derivados de otra (generalmente humana) para evitar que se provoque una respuesta inmune en esa especie.

Los términos “YTE” o “YTE mutante” se refieren a una mutación en IgG1 Fc
15 que da como resultado un aumento en la unión a FcRn humano y mejora la vida media sérica del anticuerpo que tiene la mutación. Un mutante YTE comprende una combinación de tres mutaciones, M252Y/S254T/T256E (EU numbering Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Public Health Service, National Institutes of Health, Washington, D.C.), introducidas en la cadena pesada de una IgG1. Ver la Patente de
20 Estados Unidos núm. 7.658.921, que se incorpora en la presente como referencia. Se ha demostrado que el mutante YTE aumenta la vida media sérica de los anticuerpos aproximadamente cuatro veces en comparación con las versiones silvestre del mismo anticuerpo (Dall'Acqua et al., J. Biol. Chem. 281:23514-24 (2006); Robbie et al., (2013)

Antimicrob. Agents Chemother. 57, 6147-6153). Ver también la Patente de Estados Unidos núm. 7.083.784, que se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

“Afinidad de unión” generalmente se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (p. ej., un anticuerpo) y su compañero de unión (p. ej., un antígeno). A menos que se indique de cualquier otra manera, como se usa en la presente, “afinidad de unión” se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (p. ej., anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X para su pareja Y generalmente puede representarse mediante la constante de disociación (K_D). La afinidad se puede medir mediante métodos comunes conocidos en la técnica, que incluyen los descritos en la presente. Los anticuerpos de baja afinidad generalmente se unen al antígeno lentamente y tienden a disociarse fácilmente, mientras que los anticuerpos de alta afinidad generalmente se unen al antígeno más rápido y tienden a permanecer unidos por más tiempo. En la técnica se conocen una variedad de métodos para medir la afinidad de unión, cualquiera de los cuales puede usarse para los fines de la presente descripción.

La potencia del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se expresa normalmente como un valor de IC_{50} , en ng/ml a menos que se indique de cualquier otra manera. La IC_{50} es la concentración inhibitoria mediana de una molécula de anticuerpo. En ensayos funcionales, la IC_{50} es la concentración que reduce una respuesta biológica en 50 % de su máximo. En estudios de unión a ligando, la IC_{50} es la concentración que reduce la unión al receptor en 50 % del nivel máximo de unión específica. La IC_{50} puede calcularse por cualquier número de medios conocidos en la técnica.

La mejora de veces en la potencia para el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este de la descripción en comparación con un anticuerpo de referencia puede ser de al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 10 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 30 veces, al menos aproximadamente 40 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 60 veces, al menos aproximadamente 70 veces, al menos aproximadamente 80 veces, al menos aproximadamente 90 veces, al menos aproximadamente 100 veces, al menos aproximadamente 110 veces, al menos aproximadamente 120 veces, al menos aproximadamente 130 veces, al menos aproximadamente 140 veces, al menos aproximadamente 150 veces, al menos aproximadamente 160 veces, al menos aproximadamente 170 veces, o al menos aproximadamente 180 veces o más.

La potencia de unión de un anticuerpo se expresa normalmente como un valor de CE50, en nM o pM a menos que se indique de cualquier otra manera. La CE50 es la concentración de un fármaco que induce una respuesta mediana entre el valor de referencia y el máximo después de un tiempo de exposición especificado. La CE50 puede calcularse por cualquier número de medios conocidos en la técnica.

20 Preparación de anticuerpos

Los anticuerpos de la presente descripción pueden obtenerse usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica y su utilidad confirmada por estudios de unión convencionales. A manera de ejemplo, un ensayo de unión simple es

incubar la célula que expresa un antígeno con el anticuerpo. Si el anticuerpo se etiqueta con un fluoróforo, la unión del anticuerpo al antígeno se puede detectar mediante análisis FACS.

Los anticuerpos de la presente descripción pueden criarse en diversos animales que incluyen ratones, ratas, conejos, cabras, ovejas, monos o caballos. Los anticuerpos se pueden generar después de la inmunización con polisacáridos capsulares individuales, o con una pluralidad de polisacáridos capsulares. La sangre aislada de estos animales contiene anticuerpos policlonales - múltiples anticuerpos que se unen al mismo antígeno. También se pueden inyectar antígenos en pollos para la generación de anticuerpos policlonales en la yema de huevo. Para obtener un anticuerpo monoclonal que sea específico para un solo epítipo de un antígeno, se aíslan linfocitos secretoras de anticuerpos de un animal y se immortalizan fusionándolos con una línea celular cancerosa. Las células fusionadas se denominan hibridomas, y crecerán continuamente y secretarán anticuerpos en cultivo. Las células de hibridoma individuales se aíslan mediante clonación por dilución para generar clones celulares que todos producen el mismo anticuerpo; estos anticuerpos se denominan anticuerpos monoclonales. Los métodos para producir anticuerpos monoclonales son técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica (ver, p. ej., *Making and Using Antibodies: A Practical Handbook*. GC Howard. CRC Books. 2006. ISBN 0849335280). Los anticuerpos policlonales y monoclonales frecuentemente se purifican usando proteína A/G o cromatografía de afinidad de antígeno.

El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este de la descripción se puede preparar como un anticuerpo monoclonal anti-STEAP2, que puede prepararse usando métodos de hibridoma, tales como los descritos por Kohler and Milstein, *Nature* 256:495 (1975). Usando el método de hibridoma, un ratón, hámster u otro animal huésped

apropiado, se inmuniza como se describió anteriormente para obtener la producción por linfocitos de anticuerpos que se unirán específicamente a un antígeno inmunizante. Los linfocitos también se pueden inmunizar in vitro. Después de la inmunización, los linfocitos se aíslan y fusionan con una línea celular de mieloma adecuada usando, por ejemplo, polietilenglicol, para formar células de hibridoma que después pueden seleccionarse lejos de linfocitos no fusionados y células de mieloma. Los hibridomas que producen anticuerpos monoclonales dirigidos específicamente contra un antígeno elegido determinado por inmunoprecipitación, inmunolectrotransferencia o un ensayo de unión in vitro, p. ej., radioinmunoensayo (RIA) o ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), pueden propagarse entonces ya sea en cultivo in vitro usando métodos estándar (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986) o in vivo como tumores de ascitis en un animal. Después, los anticuerpos monoclonales pueden purificarse a partir del medio de cultivo o del fluido de ascitis usando métodos conocidos.

Alternativamente, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., como anticuerpos monoclonales) también se puede hacer usando métodos de ADN recombinante como se describe en la Patente de Estados Unidos núm. 4.816.567. Los polinucleótidos que codifican un anticuerpo monoclonal se aíslan a partir de células B maduras o células de hibridoma, tal como mediante RT-PCR usando cebadores oligonucleotídicos que amplifican específicamente los genes que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo, y su secuencia se determina usando procedimientos convencionales. Los polinucleótidos aislados que codifican las cadenas pesada y ligera se clonan después en vectores de expresión adecuados, que cuando se transfectan en células huésped tales como células de E. coli, células COS simias,

células de ovario de hámster chino (CHO), o células de mieloma que de cualquier otra manera no producen proteína inmunoglobulina, las células huésped generan anticuerpos monoclonales. Además, los anticuerpos monoclonales recombinantes o fragmentos de unión a antígeno de estos de las especies deseadas pueden aislarse a partir de bibliotecas de presentación de fagos que expresan CDR de la especie deseada como se describe en McCafferty et al., *Nature* 348:552-554 (1990); Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991); y Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991).

El(los) polinucleótido(s) que codifica(n) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción pueden modificarse adicionalmente de varias maneras diferentes usando tecnología de ADN recombinante para generar anticuerpos alternativos. En algunos aspectos, los dominios constantes de las cadenas ligera y pesada de, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal de ratón pueden sustituirse (1) por aquellas regiones de, por ejemplo, un anticuerpo humano para generar un anticuerpo quimérico o (2) por un polipéptido no inmunoglobulina para generar un anticuerpo de fusión. En algunos aspectos, las regiones constantes se truncan o se eliminan para generar el fragmento de anticuerpo deseado de un anticuerpo monoclonal. La mutagénesis dirigida al sitio o de alta densidad de la región variable se puede usar para optimizar la especificidad, afinidad, etc. de un anticuerpo monoclonal.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este es un anticuerpo humano o fragmento de unión al antígeno de este. Los anticuerpos humanos pueden prepararse directamente usando diversas técnicas conocidas en la técnica. Pueden generarse linfocitos B humanos inmortalizados inmunizados in vitro o aislados de un individuo inmunizado que producen un anticuerpo dirigido contra un antígeno diana.

Ver, p. ej., Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boemer et al., *J. Immunol.* 147 (1):86-95 (1991); Patente de los EE. UU. 5.750.373.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede seleccionarse de una biblioteca de fagos, donde esa biblioteca de fagos expresa anticuerpos humanos, como se describe, por ejemplo, en Vaughan et al., *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996); Sheets et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:6157-6162 (1998); Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.* 227:381 (1991); y Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581 (1991). Las técnicas para la generación y uso de bibliotecas de fagos de anticuerpos también se describen en las patentes de los EE. UU. núms. 5.969.108, 6.172.197, 5.885.793, 6.521.404; 6.544.731; 6.555.313; 6.582.915; 6.593.081; 6.300.064; 6.653.068; 6.706.484; y 7.264.963; y Rothe et al., *J. Molec. Biol.* 376:1182-1200 (2008), cada uno de los cuales se incorpora como referencia en la presente en su totalidad.

Las estrategias de maduración por afinidad y las estrategias de reordenación de cadenas son conocidas en la técnica y pueden usarse para generar anticuerpos humanos de alta afinidad o fragmentos de unión a antígenos de estos. Ver Marks et al., *Biotechnology* 10:779-783 (1992), incorporado como referencia en su totalidad.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., un anticuerpo monoclonal) puede ser un anticuerpo humanizado. También se pueden usar métodos para la ingeniería, humanización o rejuvenecimiento de anticuerpos no humanos o humanos y son bien conocidos en la técnica. Un anticuerpo humanizado, resurgido o diseñado similarmente puede tener uno o más residuos de aminoácidos de una fuente que no es humana, p. ej., pero no se limita a, ratón, rata, conejo, primate no humano u otro mamífero. Estos residuos de aminoácidos no humanos son reemplazados

por residuos que frecuentemente se denominan residuos de “importación”, que normalmente se toman de una variable “importación”, constante u otro dominio de una secuencia humana conocida. Tales secuencias importadas pueden usarse para reducir la inmunogenicidad o reducir, mejorar o modificar la unión, afinidad, velocidad de desconexión, avidéz, especificidad, vida media, o cualquier otra característica adecuada, como se conoce en la técnica. Adecuadamente, los residuos de CDR pueden estar directamente y más sustancialmente implicados en influir en la unión de STEAP2. En consecuencia, parte o la totalidad de las secuencias CDR no humanas o humanas pueden mantenerse mientras que las secuencias no humanas de las regiones variables y constantes pueden reemplazarse con aminoácidos humanos u otros.

Los anticuerpos también pueden ser opcionalmente anticuerpos humanizados, repavimentados, diseñados por ingeniería genética o humanos con retención de alta afinidad por el antígeno STEAP2 y otras propiedades biológicas favorables. Para lograr este objetivo, los anticuerpos anti-STEAP2 humanizados (o humanos) o diseñados por ingeniería genética y los anticuerpos repavimentados pueden prepararse opcionalmente mediante un proceso de análisis de las secuencias parentales y diversos productos conceptuales humanizados y diseñados usando modelos tridimensionales de las secuencias parentales, diseñadas y humanizadas. Los modelos tridimensionales de inmunoglobulina están comúnmente disponibles y son familiares para los expertos en la técnica. Están disponibles programas de computador que ilustran y muestran probables estructuras conformacionales tridimensionales de secuencias de inmunoglobulina candidatas seleccionadas. La inspección de estas pantallas permite analizar el papel probable de los residuos en el funcionamiento de la secuencia de

inmunoglobulina candidata, es decir, el análisis de residuos que influyen en la capacidad de la inmunoglobulina candidata para unirse a su antígeno, tal como STEAP2. De esta manera, los residuos de FW pueden seleccionarse y combinarse a partir de las secuencias de consenso e importación para que se logre la característica deseada del anticuerpo, tal como una mayor afinidad por el (los) antígeno(s) diana.

La humanización, el resurgimiento o el diseño de anticuerpos anti-STEAP2 o fragmentos de unión a antígenos de estos de la presente se puede realizar usando cualquier método conocido, tal como, pero no se limita a, los descritos en, Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988); Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987); Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993); U.S. Pat. núms. 5.639.641, 5.723.323; 5.976.862; 5.824.514; 5.817.483; 5.814.476; 5.763.192; 5.723.323; 5.766.886; 5.714.352; 6.204.023; 6.180.370; 5.693.762; 5.530.101; 5.585.089; 5.225.539; 4.816.567, 7.557.189; 7.538.195; y 7.342.110; solicitud internacional núms. PCT/US98/16280; PCT/US96/18978; PCT/US91/09630; PCT/US91/05939; PCT/US94/01234; PCT/GB89/01334; PCT/GB91/01134; PCT/GB92/01755; publicación de solicitud de patente internacional núms. WO90/14443; WO90/14424; WO90/14430; y la publicación de patente europea núm. EP 229246; cada uno de los cuales se incorpora en la presente como referencia en su totalidad, que incluyen las referencias citadas en este.

Los anticuerpos humanizados anti-STEAP2 y fragmentos de unión a antígenos de estos también se pueden producir en ratones transgénicos que contienen loci de inmunoglobulina humana que son capaces, tras la inmunización, de producir el

repertorio completo de anticuerpos humanos en ausencia de producción de inmunoglobulina endógena. Este enfoque se describe en las patentes de los EE. UU. núms. 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016.

En un aspecto, se proporciona un fragmento (p. ej., fragmento de anticuerpo) del anticuerpo (p. ej., anticuerpo anti-STEAP2). Se conocen diversas técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpos. Tradicionalmente, estos fragmentos se derivan vía digestión proteolítica de anticuerpos intactos, como describe, por ejemplo, Morimoto et al., J. Biochem. Biophys. Meth. 24:107-117 (1993) y Brennan et al., Science 229:81 (1985). En un aspecto, los fragmentos de anticuerpo anti-STEAP2 se producen recombinantemente. Todos los fragmentos de anticuerpos Fab, Fv y scFv pueden expresarse y ser secretados a partir de *E. coli* u otras células huésped, permitiendo por lo tanto la producción de grandes cantidades de estos fragmentos. Tales fragmentos de anticuerpo anti-STEAP2 también pueden aislarse a partir de las bibliotecas de fagos de anticuerpos discutidas anteriormente. Los fragmentos de anticuerpo anti-STEAP2 también pueden ser anticuerpos lineales como se describe en la Patente de Estados Unidos núm. 5.641.870. Otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo serán evidentes para el experto en la técnica.

De acuerdo con la presente descripción, se pueden adaptar técnicas para la producción de anticuerpos monocatenarios específicos para STEAP2. Ver, p. ej., la Patente de los EE. UU. núm. 4.946.778). Además, se pueden adaptar métodos para la construcción de bibliotecas de expresión Fab para permitir la identificación rápida y efectiva de fragmentos Fab monoclonales con la especificidad deseada para STEAP2, o derivados, fragmentos, análogos u homólogos de estos. Ver, p. ej., Huse et al., Science 246:1275-1281 (1989). Los fragmentos de anticuerpo se pueden producir mediante técnicas conocidas en la técnica que

incluyen, pero no se limitan a: Fragmento F(ab')₂ producido por digestión con pepsina de una molécula de anticuerpo; fragmento Fab generado por la reducción de los puentes disulfuro de un fragmento F(ab')₂; fragmento Fab generado por el tratamiento de la molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor; o fragmentos Fv.

5 En un aspecto, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este de la descripción puede modificarse para aumentar su vida media sérica. Esto puede lograrse, por ejemplo, mediante la incorporación de un epítipo de unión al receptor de salvamento en el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo, mediante mutación de la región apropiada en el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo o incorporando el
10 epítipo en una etiqueta peptídica que después se fusiona con el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo en cualquier extremo o en el medio (p. ej., mediante ADN o síntesis peptídica), o mediante mutación YTE. Otros métodos para aumentar la vida media sérica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., conjugación con una molécula heteróloga, tal como PEG, son conocidos en la técnica.

15 Un anticuerpo modificado o fragmento de unión al antígeno de este como se proporciona en la presente puede comprender cualquier tipo de región variable que proporcione la asociación del anticuerpo o polipéptido con STEAP2. Al respecto, la región variable puede comprender o derivarse de cualquier tipo de mamífero que pueda inducirse a montar una respuesta humoral y generar inmunoglobulinas contra el
20 antígeno deseado. Como tal, la región variable de un anticuerpo anti-STEAP2 o fragmento de unión al antígeno de este puede ser, por ejemplo, de primates humanos, murinos, no humanos (p. ej., monos cynomolgus, macacos, etc.) o de origen altramuz. En un aspecto, tanto las regiones variables como constantes del anticuerpo modificado

o fragmento de unión al antígeno de este son humanas. En un aspecto, las regiones variables de un anticuerpo compatible (usualmente derivado de una fuente no humana) pueden diseñarse o adaptarse específicamente para mejorar las propiedades de unión o reducir la inmunogenicidad de la molécula. A este respecto, las regiones variables
5 útiles en la presente descripción pueden ser humanizadas o alteradas de cualquier otra manera mediante la inclusión de secuencias de aminoácidos importadas.

En un aspecto, los dominios variables tanto en las cadenas pesada como ligera de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este se alteran por reemplazo al menos parcial de una o más CDR y/o por reemplazo parcial de la región
10 marco y cambio de secuencia. Aunque las CDR pueden derivarse de un anticuerpo de la misma clase o incluso subclase que el anticuerpo del que se derivan las regiones marco, se prevé que las CDR se deriven de un anticuerpo de diferente clase y en ciertos aspectos de un anticuerpo de una especie diferente. No es necesario reemplazar todas las CDR con las CDR completas de la región variable donante para transferir la
15 capacidad de unión a antígenos de un dominio variable a otro. Más bien, solo es necesario transferir aquellos residuos que son necesarios para mantener la actividad del sitio de unión al antígenos. Dadas las explicaciones expuestas en la Patente de los Estados Unidos núms. 5.585.089, 5.693.761 y 5.693.762, estará bien dentro de la competencia de los expertos en la técnica para realizar experimentación rutinaria para
20 obtener un anticuerpo funcional con inmunogenicidad reducida.

A pesar de las alteraciones en la región variable, los expertos en la técnica apreciarán que un anticuerpo modificado o fragmento de unión al antígeno de este de esta descripción comprenderá un anticuerpo (p. ej., anticuerpo de longitud completa o fragmento

de unión al antígeno de este) en el que al menos una fracción de uno o más de los dominios de región constante se ha eliminado o alterado de cualquier otra manera para proporcionar características bioquímicas deseadas tales como una localización tumoral aumentada o una vida media sérica reducida cuando se compara con un anticuerpo de aproximadamente la misma inmunogenicidad que comprende una región constante nativa o inalterada. En un aspecto, la región constante del anticuerpo modificado comprenderá una región constante humana. Las modificaciones a la región constante compatible con esta descripción comprenden adiciones, deleciones o sustituciones de uno o más aminoácidos en uno o más dominios. Es decir, el anticuerpo modificado descrito en la presente puede comprender alteraciones o modificaciones en uno o más de los tres dominios constantes de cadena pesada (CH1, CH2 o CH3) y/o en el dominio constante de la cadena ligera (CL). En un aspecto, se contempla una región constante modificada en la que uno o más dominios están parcial o completamente eliminados. En un aspecto, un anticuerpo modificado comprenderá constructos o variantes con supresión de dominio en donde se ha eliminado todo el dominio CH2 (constructos Δ CH2). En un aspecto, el dominio de región constante omitido puede reemplazarse por un espaciador corto de aminoácidos (p. ej., 10 residuos) que proporciona parte de la flexibilidad molecular impartido típicamente por la región constante ausente.

Además de su configuración, se sabe en la técnica que la región constante media varias funciones efectoras. Por ejemplo, los anticuerpos se unen a las células a través de la región Fc, con un sitio receptor Fc en la región Fc del anticuerpo que se une a un receptor Fc (FcR) en una célula. Hay una serie de receptores Fc que son específicos para diferentes clases de anticuerpos, que incluyen IgG (receptores gamma), IgE (receptores eta), IgA (receptores alfa) e IgM (receptores mu). La unión del anticuerpo a los

receptores Fc en las superficies celulares desencadena una serie de respuestas biológicas importantes y diversas que incluyen fagocitosis y destrucción de partículas recubiertas de anticuerpos, eliminación de complejos inmunes, lisis de células diana recubiertas de anticuerpos por células asesinas (denominada citotoxicidad mediada por células
5 dependientes de anticuerpos, o ADCC, por sus siglas en inglés), liberación de mediadores inflamatorios, transferencia placentaria y control de la producción de inmunoglobulinas.

En un aspecto, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este proporciona funciones efectoras alteradas que, a su vez, afectan al perfil biológico del anticuerpo administrado o fragmento de unión al antígeno de este. Por ejemplo, la
10 delección o inactivación (a través de mutaciones puntuales u otros medios) de un dominio de región constante puede reducir la unión al receptor Fc del anticuerpo modificado circulante. En otros casos puede ser que las modificaciones constantes de la región, consistentes con esta descripción, moderen la unión del complemento y por lo tanto reduzcan la vida media sérica y la asociación inespecífica de una citotoxina
15 conjugada. Sin embargo, se pueden usar otras modificaciones de la región constante para eliminar enlaces disulfuro o entidades oligosacáridas que permiten una localización mejorada debido a una mayor especificidad del antígeno o flexibilidad de anticuerpos. Similarmente, las modificaciones a la región constante de acuerdo con esta descripción pueden realizarse fácilmente usando técnicas bioquímicas o de
20 ingeniería molecular bien conocidas dentro del ámbito del experto en la técnica.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este no tiene una o más funciones efectoras. Por ejemplo, en un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este no tiene actividad de citotoxicidad celular

dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o ninguna actividad de citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este no se une a un receptor Fc y/o factores del complemento. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este no tiene función efectora. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende una región Fc que comprende una triple mutación (TM) que tiene citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida en comparación con un anticuerpo que tiene una región Fc silvestre. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este tiene una región Fc que comprende una mutación triple (TM) L234F/L235E/P331S. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una región Fc que comprende una mutación triple (TM) L234F/L235E/P331S de acuerdo con la sec. con núm. de ident.: 59.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede diseñarse para fusionar el dominio CH3 directamente con la región bisagra de los anticuerpos modificados respectivos o fragmentos de estos. En otros constructos, se puede insertar un espaciador peptídico entre la región bisagra y los dominios CH2 y/o CH3 modificados. Por ejemplo, se pueden expresar constructos compatibles en las que el dominio CH2 se ha eliminado y el dominio CH3 restante (modificado o no modificado) se une a la región bisagra con un espaciador de 5-20 aminoácidos. Un espaciador de este tipo puede añadirse, por ejemplo, para asegurar que los elementos reguladores del dominio constante permanezcan libres y accesibles o que la región bisagra permanezca flexible. Los espaciadores de aminoácidos pueden, en algunos casos, demostrar ser inmunogénicos y desencadenar una respuesta inmune no deseada contra el constructo. En un aspecto, cualquier espaciador añadido al

constructo puede ser relativamente no inmunogénico, o incluso omitirse por completo, para mantener las cualidades bioquímicas deseadas de los anticuerpos modificados.

Además de la delección de dominios completos de región constante, un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este proporcionado en la presente puede modificarse mediante la delección parcial o sustitución de unos pocos o incluso un solo aminoácido en una región constante. Por ejemplo, la mutación de un solo aminoácido en áreas seleccionadas del dominio CH2 puede ser suficiente para reducir sustancialmente la unión de Fc y de esta manera aumentar la localización del tumor. Similarmente, uno o más dominios de región constante que controlan la función efectora (p. ej., la unión del complemento C1Q) pueden suprimirse total o parcialmente. Tales delecciones parciales de las regiones constantes pueden mejorar las características seleccionadas del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., vida media sérica) mientras que dejan intactas otras funciones deseables asociadas con el dominio de región constante del sujeto. Además, las regiones constantes del anticuerpo y el fragmento de unión al antígeno de este pueden modificarse mediante la mutación o sustitución de uno o más aminoácidos que potencian el perfil de la construcción resultante. A este respecto, es posible interrumpir la actividad proporcionada por un sitio de unión conservado (p. ej., unión a Fc) mientras se mantiene sustancialmente la configuración y el perfil inmunogénico del anticuerpo modificado o fragmento de unión al antígeno de este. En un aspecto, puede haber una adición de uno o más aminoácidos a la región constante para potenciar características deseables tales como disminuir o aumentar la función efectora o proporcionar más citotoxina o unión de carbohidratos. En un aspecto, puede ser deseable insertar o replicar secuencias específicas derivadas de dominios de región constante seleccionados.

La presente descripción abarca además variantes y equivalentes que son sustancialmente homólogos de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de la descripción (p. ej., anticuerpo murino, quimérico, humanizado o humano, o fragmentos de unión a antígeno de este). Estas pueden contener, por ejemplo, mutaciones de sustitución conservadoras, es decir, la sustitución de uno o más aminoácidos por aminoácidos similares. Por ejemplo, la sustitución conservadora se refiere a la sustitución de un aminoácido por otro dentro de la misma clase general tal como, por ejemplo, un aminoácido ácido con otro aminoácido ácido, un aminoácido básico con otro aminoácido básico o un aminoácido neutro por otro aminoácido neutro. Lo que se pretende con una sustitución conservadora de aminoácidos es bien conocido en la técnica.

En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede modificarse además para que contenga entidades químicas adicionales que no forman parte normalmente de la proteína. Esas entidades derivatizadas pueden mejorar la solubilidad, la vida media biológica o la absorción de la proteína. Las entidades también pueden reducir o eliminar cualquier efecto secundario deseable de las proteínas y lo similar. Puede hallarse una descripción general de esas entidades en Remington's Pharmaceutical Sciences, 22.^a ed., Ed. Lloyd V. Allen, Jr. (2012).

Definiciones

Las siguientes definiciones pertenecen a la descripción de los inhibidores de la topoisomerasa I anterior.

Arileno C₅₋₆: El término “arileno C₅₋₆”, como se usa en la presente, pertenece a una entidad divalente obtenida mediante la eliminación de dos átomos de hidrógeno de un átomo de anillo aromático de un compuesto aromático.

En este contexto, los prefijos (p. ej., C₅₋₆) denotan el número de átomos del anillo, o rango de número de átomos del anillo, ya sean átomos de carbono o heteroátomos.

Los átomos del anillo pueden ser todos átomos de carbono, como en los “grupos carboarileno”, en cuyo caso el grupo es fenileno (C₆).

Alternativamente, los átomos del anillo pueden incluir uno o más heteroátomos, como en “grupos heteroarileno”. Los ejemplos de grupos heteroarileno incluyen, pero no se limitan a, los derivados de:

N₁: pirrol (azol) (C₅), piridina (azina) (C₆);

O₁: furano (oxol) (C₅);

S₁: tiofeno (tiol) (C₅);

N₁O₁: oxazol (C₅), isoxazol (C₅), isoxazina (C₆);

N₂O₁: oxadiazol (furazan) (C₅);

N₃O₁: oxatriazol (C₅);

N₁S₁: tiazol (C₅), isotiazol (C₅);

N₂: imidazol (1,3-diazol) (C₅), pirazol (1,2-diazol) (C₅), piridazina (1,2-diazina) (C₆), pirimidina (1,3-diazina) (C₆) (p. ej., citosina, timina, uracilo), pirazina (1,4-diazina) (C₆); y

N₃: triazol (C₅), triazina (C₆).

Alquilo C₁₋₄: El término “alquilo C₁₋₄” como se usa en la presente corresponde a una entidad monovalente obtenida mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono de un compuesto de hidrocarburo que tiene de 1

a 4 átomos de carbono, y que puede ser alifático o alicíclico, que puede estar saturado o insaturado (p. ej., parcialmente insaturado, completamente insaturado). El término “alquilo C_{1-n} ” como se usa en la presente corresponde a una entidad monovalente obtenida mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono de un compuesto de hidrocarburo que tiene de 1 a n átomos de carbono, que puede ser alifático o alicíclico, y que puede estar saturado o insaturado (p. ej., parcialmente insaturado, completamente insaturado). Por lo tanto, el término “alquilo” incluye las subclases alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, etc., que se analizan a continuación.

Los ejemplos de grupos alquilo saturados incluyen, pero no se limitan a, metilo (C_1), etilo (C_2), propilo (C_3) y butilo (C_4).

Los ejemplos de grupos alquilo lineales saturados incluyen, pero no se limitan a, metilo (C_1), etilo (C_2), n -propilo (C_3) y n -butilo (C_4).

Los ejemplos de grupos alquilo ramificados saturados incluyen isopropilo (C_3), isobutilo (C_4), sec -butilo (C_4) y $terc$ -butilo (C_4).

Alquenilo C_{2-4} : El término “alquenilo C_{2-4} ” como se usa en la presente, corresponde a un grupo alquilo que tiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono.

Los ejemplos de grupos alquenilo insaturados incluyen, pero no se limitan a, etenilo (vinilo, $-CH=CH_2$), 1-propenilo ($-CH=CH-CH_3$), 2-propenilo (alilo, $-CH=CH-CH_2$), isopropenilo (1-metilvinilo, $-C(CH_3)=CH_2$) y butenilo (C_4).

Alquinilo C_{2-4} : El término “alquinilo C_{2-4} ”, como se usa en la presente, corresponde a un grupo alquilo que tiene uno o más triples enlaces carbono-carbono.

Los ejemplos de grupos alquinilo insaturados incluyen, pero no se limitan a, etinilo ($-C\equiv CH$) y 2-propinilo (propargilo, $-CH_2-C\equiv CH$).

Cicloalquilo C₃₋₄: El término “cicloalquilo C₃₋₄”, como se usa en la presente, corresponde a un grupo alquilo que también es un grupo ciclilo; es decir, una entidad monovalente obtenida mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de anillo alicíclico de un compuesto de hidrocarburo cíclico (carbocíclico), cuya entidad
 5 tiene de 3 a 7 átomos de carbono, que incluye de 3 a 7 átomos de anillo.

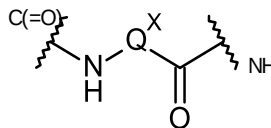
Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, los derivados de:

compuestos de hidrocarburos monocíclicos saturados:

ciclopropano (C₃) y ciclobutano (C₄); y

10 compuestos de hidrocarburos monocíclicos insaturados:

ciclopropeno (C₃) y ciclobuteno (C₄).



Etiquetas de conexión: En la fórmula , las etiquetas con superíndices ^{C(=O)} y ^{NH} indican el grupo al que se unen los átomos. Por ejemplo, el grupo NH se muestra como unido a un carbonilo (que no es parte de la entidad ilustrada), y el
 15 carbonilo se muestra como unido a un grupo NH (que no es parte de la entidad ilustrada).

Sales

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular una sal correspondiente del compuesto/agente activo, por ejemplo, una sal
 20 farmacéuticamente aceptable. Se analizan ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables en Berge, *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1-19 (1977).

Por ejemplo, si el compuesto es aniónico, o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (p. ej., -COOH puede ser -COO^-), entonces se puede formar una sal con un catión adecuado. Los ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, iones de metales alcalinos tales como Na^+ y K^+ , cationes alcalinotérreos tales como Ca^{2+} y Mg^{2+} , y otros cationes tales como Al^{3+} . Los ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ion amonio (es decir, NH_4^+) e iones amonio sustituidos (p. ej., NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+). Ejemplos de algunos iones de amonio sustituidos adecuados son los derivados de: etilamina, dietilamina, diciclohexilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietilamina, piperazina, bencilamina, fenilbencilamina, colina, meglumina y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina. Un ejemplo de un ion amonio cuaternario común es $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

Si el compuesto es catiónico, o tiene un grupo funcional que puede ser catiónico (p. ej., -NH_2 puede ser -NH_3^+), entonces se puede formar una sal con un anión adecuado. Los ejemplos de aniones inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos inorgánicos: clorhídrico, bromhídrico, yoduro, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico y fosforoso.

Los ejemplos de aniones orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos orgánicos: 2-acetioxibenzoico, acético, ascórbico, aspártico, benzoico, canforsulfónico, cinámico, cítrico, edético, etanosulfónico, etanosulfónico, fumárico, glucaptónico, glucónico, glutámico, glicólico, hidroximaleico, hidroxinaftaleno carboxílico, isetiónico, láctico, lactobiónico, láurico, maleico, málico, anessulfónico, mucico, oleico, oxálico, palmítico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fenilsulfónico, propiónico, pirúvico, salicílico, esteárico,

succínico, sulfanílico, tartárico, toluenosulfónico, ácido trifluoroacético y valérico. Los ejemplos de aniones orgánicos poliméricos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos poliméricos: ácido tánico, carboximetilcelulosa.

5 Solvatos

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar, y/o manejar un solvato correspondiente del compuesto activo. El término “solvato” se usa en la presente en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (p. ej., compuesto activo, sal de compuesto activo) y solvente. Si el solvente es agua, el solvato puede denominarse
10 convenientemente un hidrato, por ejemplo, un monohidrato, un dihidrato, un trihidrato, etc.

Isómeros

Ciertos compuestos/agentes de la descripción pueden existir en una o más formas geométricas, ópticas, enantioméricas, diastereoméricas, epiméricas, atrópicas,
15 estereoisoméricas, tautoméricas, conformacionales o anoméricas, que incluyen, pero no se limitan a, formas cis y trans; formas E y Z; formas c, t y r; formas endo y exo; formas R, S y meso; formas D y L; formas d y l; formas (+) y (-); formas ceto, enol y enolato; formas sin y anti; formas sinclinales y anticlinales; formas α y β ; formas axiales y ecuatoriales; formas de bote, silla, torcida, sobre y media silla; y combinaciones de estos,
20 en lo sucesivo denominados colectivamente “isómeros” (o “formas isoméricas”).

El término “quiral” se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superponerse con su par de imagen especular, mientras que el término “aquiral” se refiere a moléculas que se superponen con su par de imagen especular.

El término “estereoisómeros” se refiere a compuestos que tienen idéntica constitución química, pero difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

5 “Diastereómero” se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes espectrales entre sí. Los diastereómeros tienen diferentes propiedades físicas, p. ej., puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse bajo procedimientos analíticos de alta resolución como electroforesis y cromatografía.

10 “Enantiómeros” se refieren a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes espectrales que no se superponen entre sí.

Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en la presente generalmente siguen a S. P. Parker, Ed., *McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; y Eliel, E. and Wilen, S., “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994.

15 Los compuestos de la descripción pueden contener centros asimétricos o quirales, y por lo tanto existen en diferentes formas estereoisoméricas. Se pretende que todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de la descripción, que incluyen pero no se limitan a, diastereómeros, enantiómeros y atropisómeros, así como mezclas de estos tales como mezclas racémicas, formen parte de la presente descripción. Muchos

20 compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de luz polarizada en plano. Al describir un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L, o *R* y *S*, se usan para denotar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su(s) centro(s) quiral(es). Los prefijos d y l o (+) y

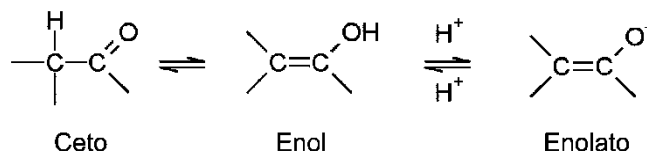
(-) se usan para designar el signo de rotación de la luz polarizada plana por el compuesto, con (-) o l que significa que el compuesto es levógiro. Un compuesto prefijado con (+) o d es dextrógiro. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos excepto que son imágenes especular entre sí. Un
5 estereoisómero específico también puede denominarse enantiómero, y una mezcla de tales isómeros frecuentemente se denomina mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica o racemato, que puede ocurrir cuando no ha habido estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico. Los términos “mezcla racémica” y “racemato” se refieren a una mezcla
10 equimolar de dos especies enantioméricas, desprovista de actividad óptica.

“Forma enantioméricamente enriquecida” se refiere a una muestra de una sustancia quiral cuya relación enantiomérica es mayor que 50:50 pero menor que 100:0.

Tenga en cuenta que, excepto como se analiza más adelante para las formas tautoméricas, específicamente excluidas del término “isómeros”, como se usa
15 en la presente, son isómeros estructurales (o constitucionales) (es decir, isómeros que difieren en las conexiones entre átomos en lugar de simplemente por la posición de los átomos en el espacio). Por ejemplo, una referencia a un grupo metoxi, -OCH₃, no debe interpretarse como una referencia a su isómero estructural, un grupo hidroximetilo, -CH₂OH. Similarmente, una referencia a orto-clorofenilo no debe interpretarse como una
20 referencia a su isómero estructural, meta-clorofenilo. Sin embargo, una referencia a una clase de estructuras bien puede incluir formas estructuralmente isoméricas que caen dentro de esa clase (p. ej., alquilo C₁₋₇ incluye n-propilo e iso-propilo; butilo incluye n-, iso-, sec- y terc-butilo; metoxifenilo incluye orto-, meta- y para-metoxifenilo).

La exclusión anterior no se aplica a formas tautoméricas, por ejemplo, formas ceto, enol y enolato, como en, por ejemplo, los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (ilustrado a continuación), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/enediamina, nitroso/oxima, tiocetona/enetiol, N-nitroso/hiroxiazó, y nitro/aci-nitro.

5



El término “tautómero” o “forma tautomérica” se refiere a isómeros estructurales de diferentes energías que son interconvertibles a través de una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protones (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones vía migración de un protón, tal como las isomerizaciones de ceto-enol e imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones por reorganización de algunos de los electrones de enlace.

Tenga en cuenta que específicamente incluidos en el término “isómero” están los compuestos con una o más sustituciones isotópicas. Por ejemplo, H puede estar en cualquier forma isotópica, que incluye ^1H , ^2H (D), y ^3H (T); C puede estar en cualquier forma isotópica, que incluye ^{12}C , ^{13}C , y ^{14}C ; O puede estar en cualquier forma isotópica, que incluye ^{16}O y ^{18}O ; y lo similar.

Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la descripción incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, cloro y yodo, tales como, pero no se limitan a, ^2H (deuterio, D), ^3H (tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , y ^{125}I . Diversos compuestos etiquetados isotópicamente de la presente

descripción, por ejemplo aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos tales como ^3H , ^{13}C y ^{14}C . Tales compuestos etiquetados isotópicamente pueden ser útiles en estudios metabólicos, estudios cinéticos de reacción, técnicas de detección o de imagen, tales como tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés) o tomografía

5 computarizada por emisión de fotón único (SPECT, por sus siglas en inglés) que incluyen ensayos de distribución de tejido de fármacos o sustratos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. Los compuestos terapéuticos etiquetados con deuterio o sustituidos de la descripción pueden tener propiedades mejoradas de DMPK (metabolismo y farmacocinética de fármacos), relacionadas con la distribución, el metabolismo y la excreción (ADME, por

10 sus siglas en inglés). La sustitución con isótopos más pesados tal como deuterio puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una vida media in vivo aumentada o requerimientos de dosificación reducidos. Un compuesto etiquetado con ^{18}F puede ser útil para estudios PET o SPECT. Los compuestos etiquetados isotópicamente de la descripción y profármacos de estos pueden

15 prepararse generalmente realizando los procedimientos descritos en los esquemas y/o en los ejemplos y preparaciones descritos a continuación, sustituyendo un reactivo etiquetado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo etiquetado no isotópicamente. Además, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (es decir, ^2H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica,

20 por ejemplo una vida media in vivo aumentada o requerimientos de dosificación reducidos o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente. La concentración de un isótopo tan pesado, específicamente deuterio, puede definirse por un factor de enriquecimiento isotópico. En los

compuestos de esta descripción cualquier átomo no designado específicamente como un isótopo particular está destinado a representar cualquier isótopo estable de ese átomo.

A menos que se especifique de cualquier otra manera, una referencia a un compuesto particular incluye todas tales formas isoméricas, (total o parcialmente) incluidas las mezclas racémicas y otras de estas. Los métodos para la preparación (p. ej., síntesis asimétrica) y separación (p. ej., cristalización fraccionada y medios cromatográficos) de tales formas isoméricas son conocidos en la técnica o se obtienen fácilmente adaptando los métodos enseñados en la presente, o métodos conocidos, de una manera conocida.

10 HOMOLOGÍA DE SECUENCIA

Se puede usar cualquiera de una variedad de métodos de alineación de secuencias para determinar el porcentaje de identidad, que incluye, sin limitación, métodos globales, métodos locales y métodos híbridos, tales como, p. ej., métodos de enfoque de segmento. Los protocolos para determinar el porcentaje de identidad son procedimientos rutinarios dentro del alcance de un experto en la técnica. Los métodos globales alinean secuencias desde el principio hasta el final de la molécula y determinan la mejor alineación sumando puntuaciones de pares de residuos individuales e imponiendo penalizaciones por brecha. Los métodos no limitantes incluyen, p. ej., CLUSTAL W, ver, p. ej., Julie D. Thompson et al., CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting, Position- Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice, 22(22) Nucleic Acids Research 4673-4680 (1994); y refinamiento iterativo, ver, p. ej., Osamu Gotoh, Significant Improvement in Accuracy of Multiple Protein. Sequence

Alignments by Iterative Refinement as Assessed by Reference to Structural Alignments, 264(4) J. Mol. Biol. 823-838 (1996). os métodos locales alinean secuencias identificando uno o más motivos conservados compartidos por todas las secuencias de entrada. Los métodos no limitantes incluyen, p. ej., Match-Box, ver, p. ej., Eric
 5 Depiereux y Ernest Feytmans, Match-Box: A Fundamentally New Algorithm for the Simultaneous Alignment of Several Protein Sequences, 8(5) CABIOS 501 -509 (1992); Gibbs sampling, see, e.g., C. E. Lawrence et al., Detecting Subtle Sequence Signals: A Gibbs Sampling Strategy for Multiple Alignment, 262(5131) Science 208-214 (1993); Align-M, ver, p. ej., Ivo Van Walle et al., Align-M - A New Algorithm for Multiple
 10 Alignment of Highly Divergent Sequences, 20(9) Bioinformatics:1428-1435 (2004).

Por lo tanto, el porcentaje de identidad de secuencia se determina mediante métodos convencionales. Ver, por ejemplo, Altschul et al., Bull. Math. Bio. 48: 603-16, 1986 y Henikoff and Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-19, 1992. Brevemente, dos secuencias de aminoácidos se alinean para optimizar las
 15 puntuaciones de alineación usando una penalización de abertura de brecha de 10, una penalización por extensión de brecha de 1, y la matriz de puntuación “blosum 62” de Henikoff y Henikoff (ibid.) como se muestra a continuación (los aminoácidos se indican mediante los códigos estándar de una letra).

El “porcentaje de identidad de secuencia” entre dos o más secuencias de
 20 ácidos nucleicos o aminoácidos es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias. Por lo tanto, el % de identidad puede calcularse como el número de nucleótidos/aminoácidos idénticos dividido por el número total de nucleótidos/aminoácidos, multiplicado por 100. Los cálculos del % de identidad de

secuencia también pueden tener en cuenta el número de huecos, y la longitud de cada brecha que se necesita introducir para optimizar la alineación de dos o más secuencias.

Las comparaciones de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos o más secuencias pueden realizarse usando algoritmos matemáticos específicos,

5 como BLAST, que serán familiares para un experto en la técnica.

PUNTUACIÓN DE ALINEACIÓN PARA DETERMINAR LA IDENTIDAD DE SECUENCIA

A R N D C Q E G H I L K M F P S T W Y V

A 4

10 R -1 5

N -2 0 6

D -2 -2 1 6

C 0 -3 -3 -3 9

Q -1 1 0 0 -3 5

15 E -1 0 0 2 -4 2 5

G 0 -2 0 -1 -3 -2 -2 6

H -2 0 1 -1 -3 0 0 -2 8

I -1 -3 -3 -3 -1 -3 -3 -4 -3 4

L -1 -2 -3 -4 -1 -2 -3 -4 -3 2 4

20 K -1 2 0 -1 -3 1 1 -2 -1 -3 -2 5

M -1 -1 -2 -3 -1 0 -2 -3 -2 1 2 -1 5

F -2 -3 -3 -3 -2 -3 -3 -3 -1 0 0 -3 0 6

P -1 -2 -2 -1 -3 -1 -1 -2 -2 -3 -3 -1 -2 -4 7

S 1 -1 1 0 -1 0 0 0 -1 -2 -2 0 -1 -2 -1 4

T 0 -1 0 -1 -1 -1 -1 -2 -2 -1 -1 -1 -1 -2 -1 1 5

W -3 -3 -4 -4 -2 -2 -3 -2 -2 -3 -2 -3 -1 1 -4 -3 -2 11

Y -2 -2 -2 -3 -2 -1 -2 -3 2 -1 -1 -2 -1 3 -3 -2 -2 2 7

5 V 0 -3 -3 -3 -1 -2 -2 -3 -3 3 1 -2 1 -1 -2 -2 0 -3 -1 4

El porcentaje de identidad se calcula entonces como:

$$10 \frac{\text{Número total de coincidencias idénticas}}{\text{[longitud de la secuencia más larga más el número de brechas introducidas en la secuencia más larga para alinear las dos secuencias]}} \times 100$$

15 Los polipéptidos sustancialmente homólogos se caracterizan por tener una o más sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos. Estos cambios son de naturaleza menor, es decir sustituciones conservadoras de aminoácidos (ver a continuación) y otras sustituciones que no afectan significativamente el plegado o actividad del polipéptido; pequeñas deleciones, típicamente de uno a aproximadamente 20 30 aminoácidos; y pequeñas extensiones amino o carboxilo terminales, tales como un residuo de metionina amino-terminal, un péptido enlazador pequeño de hasta aproximadamente 20-25 residuos, o una etiqueta de afinidad.

SUSTITUCIONES CONSERVADORAS DE AMINOÁCIDOS

Básico: arginina; lisina; histidina

Acídico: ácido glutámico; ácido aspártico

Polar: glutamina; asparagina

5 Hidrófobo: leucina; isoleucina; valina

Aromático: fenilalanina; triptófano; tirosina

Pequeño: glicina; alanina; serina; treonina; metionina

Además de los 20 aminoácidos estándar, los aminoácidos no estándar (tales como 4-hidroxiprolina, 6-N-metil lisina, ácido 2-aminoisobutírico, isovalina y α -metilserina) pueden sustituirse por residuos de aminoácidos de los polipéptidos de la presente descripción. Un número limitado de aminoácidos no conservadores, aminoácidos que no están codificados por el código genético y aminoácidos no naturales pueden sustituirse por residuos de aminoácidos polipeptídicas. Los polipéptidos de la presente descripción también pueden comprender residuos de aminoácidos de origen no natural.

15 Los aminoácidos no naturales incluyen, sin limitación, trans-3-metilprolina, 2,4-metano-prolina, cis-4-hidroxiprolina, trans-4-hidroxiprolina, N-metilglicina, alotreonina, metiltreonina, hidroxietilcisteína, hidroxietilhomocisteína, nitro-glutamina, homoglutamina, ácido pipecólico, terc-leucina, norvalina, 2-azafenilalanina, 3-azafenil-alanina, 4-azafenil-alanina y 4-fluorofenilalanina. Se conocen varios métodos en la técnica para incorporar
20 residuos de aminoácidos de origen no natural en proteínas. Por ejemplo, se puede usar un sistema in vitro en donde se suprimen mutaciones sin sentido usando los ARNt supresores químicamente aminoacilados. Los métodos para sintetizar aminoácidos y aminoacilar ARNt son conocidos en la técnica. La transcripción y traslación de plásmidos

que contienen mutaciones sin sentido se realiza en un sistema libre de células que comprende un extracto de *E. coli* S30 y enzimas disponibles comercialmente y otros reactivos. Las proteínas se purifican mediante cromatografía. Ver, por ejemplo, Robertson et al., *J. Am. Chem. Soc.* 113:2722, 1991; Ellman et al., *Methods Enzymol.* 202:301, 1991; 5 Chung et al., *Science* 259:806-9, 1993; y Chung et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:10145-9, 1993). En un segundo método, la traslación se realiza en ovocitos *Xenopus* mediante microinyección de ARNm mutado y ARNt supresor químicamente aminoacilado (Turcatti et al., *J. Biol. Chem.* 271:19991-8, 1996). Dentro de un tercer método, las células de *E. coli* se cultivan en ausencia de un aminoácido natural que se va a reemplazar (p. ej., 10 fenilalanina) y en presencia del aminoácido(s) de origen no natural (p. ej., 2-azafenilalanina, 3-azafenilalanina, 4-azafenilalanina o 4-fluorofenilalanina). El aminoácido de origen no natural se incorpora al polipéptido en lugar de su contraparte natural. Ver, Koide et al., *Biochem.* 33:7470-6, 1994. Los residuos de aminoácidos de origen natural pueden convertirse en especies no naturales mediante modificación química *in vitro*. La 15 modificación química se puede combinar con mutagénesis dirigida al sitio para expandir aún más el rango de sustituciones (Wynn y Richards, *Protein Sci.* 2:395-403, 1993).

Un número limitado de aminoácidos no conservadores, aminoácidos que no están codificados por el código genético, aminoácidos de origen no natural y aminoácidos no naturales pueden sustituirse por residuos de aminoácidos de 20 polipéptidos de la presente descripción.

Los aminoácidos esenciales en los polipéptidos de la presente descripción pueden identificarse de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis por escaneo de alanina (Cunningham

y Wells, Science 244: 1081-5, 1989). Los sitios de interacción biológica también pueden determinarse mediante análisis físico de estructura, según lo determinado por técnicas tales como resonancia magnética nuclear, cristalografía, difracción de electrones o etiquetado de fotoafinidad, en conjunción con mutación de aminoácidos putativos del sitio de contacto. Ver, por ejemplo, de Vos et al., Science 255:306-12, 1992; Smith et al., J. Mol. Biol. 224:899-904, 1992; Wlodaver et al., FEBS Lett. 309:59-64, 1992. Las identidades de los aminoácidos esenciales también pueden inferirse a partir del análisis de homologías con componentes relacionados (p. ej., los componentes de translocación o proteasa) de los polipéptidos de la presente descripción.

Pueden hacerse y ensayarse múltiples sustituciones de aminoácidos usando métodos conocidos de mutagénesis y escaneo, tales como los descritos por Reidhaar-Olson and Sauer (Science 241:53-7, 1988) o Bowie and Sauer (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2152-6, 1989). Brevemente, estos autores describen métodos para aleatorizar simultáneamente dos o más posiciones en un polipéptido, seleccionar el polipéptido funcional, y después secuenciar los polipéptidos mutagenizados para determinar el espectro de sustituciones permisibles en cada posición. Otros métodos que pueden usarse incluyen la presentación en fagos (p. ej., Lowman et al., Biochem. 30:10832-7, 1991; Ladner et al., patente de los EE. UU. núm. 5.223.409; Huse, publicación WIPO WO 92/06204) y mutagénesis dirigida por regiones (Derbyshire et al., Gene 46:145, 1986; Ner et al., DNA 7:127, 1988).

Pueden hacerse y ensayarse múltiples sustituciones de aminoácidos usando métodos conocidos de mutagénesis y escaneo, tales como los descritos por Reidhaar-Olson and Sauer (Science 241:53-7, 1988) o Bowie and Sauer (Proc. Natl.

Acad. Sci. USA 86:2152-6, 1989). Brevemente, estos autores describen métodos para aleatorizar simultáneamente dos o más posiciones en un polipéptido, seleccionar el polipéptido funcional, y después secuenciar los polipéptidos mutagenizados para determinar el espectro de sustituciones permisibles en cada posición. Otros métodos
5 que pueden usarse incluyen la presentación en fagos (p. ej., Lowman et al., Biochem. 30:10832-7, 1991; Ladner et al., patente de los EE. UU. No. 5.223.409; Huse, publicación WIPO WO 92/06204) y mutagénesis dirigida por regiones (Derbyshire et al., Gene 46:145, 1986; Ner et al., DNA 7:127, 1988).

A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos
10 y científicos usados en la presente descripción tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que se relaciona esta descripción. Singleton, et al., DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY, 20 ED., John Wiley and Sons, New York (1994), and Hale & Marham, THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY, Harper Perennial, NY (1991) proporcionan a la persona experta un diccionario
15 general de muchos de los términos usados en esta descripción.

Esta descripción no está limitada por los métodos y materiales ilustrativos descritos en la presente, y cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente puede usarse en la práctica o prueba de aspectos de esta descripción. Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango. A menos
20 que se indique de cualquier otra manera, cualquier secuencia de ácido nucleico se escriben de izquierda a derecha en orientación 5' a 3'; las secuencias de aminoácidos se escriben de izquierda a derecha en orientación amino a carboxi, respectivamente.

Los encabezados proporcionados en la presente no son limitaciones de los diversos aspectos o aspectos de esta descripción.

En la presente se hace referencia a los aminoácidos usando el nombre del aminoácido, la abreviatura de tres letras o la abreviatura de una sola letra. El término “proteína”, como se usa en la presente, incluye proteínas, polipéptidos y péptidos. Como se usa en la presente, el término “secuencia de aminoácidos” es sinónimo del término “polipéptido” y/o el término “proteína”. En algunos casos, el término “secuencia de aminoácidos” es sinónimo del término “péptido”. En algunos casos, el término “secuencia de aminoácidos” es sinónimo del término “enzima”. Los términos “proteína” y “polipéptido” se usan indistintamente en la presente. En la presente descripción y reivindicaciones, se pueden usar los códigos convencionales de una letra y tres letras para residuos de aminoácidos. El código de 3 letras para los aminoácidos tal como se define de conformidad con la Comisión Conjunta de Nomenclatura Bioquímica de la IUPACIUB (JCBN, por sus siglas en inglés). También se entiende que un polipéptido puede estar codificado por más de una secuencia de nucleótidos debido a la degeneración del código genético.

Los términos “polipéptido”, “péptido” y “proteína” se usan indistintamente en la presente para referirse a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados, y puede ser interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácido que ha sido modificado de forma natural o por intervención; por ejemplo, formación de enlace disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación, o cualquier otra manipulación o modificación, tal como la conjugación con un componente de etiquetado. También se incluyen dentro de la definición, por ejemplo, polipéptidos que

contienen uno o más análogos de un aminoácido (que incluyen, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica.

Otras definiciones de términos pueden aparecer a lo largo de la especificación.

Antes de que los aspectos ilustrativos se describan en mayor detalle, debe entenderse que

5 esta descripción no se limita a aspectos particulares descritos, y como tales pueden variar.

También se debe entender que la terminología usada en la presente tiene el propósito de describir únicamente aspectos particulares, y no pretende ser limitante, dado que el alcance de la presente descripción se definirá únicamente por las reivindicaciones anexas.

Cuando se proporciona un rango de valores, se entiende que cada valor

10 intermedio, a la décima de la unidad del límite inferior a menos que el contexto dicte

claramente de cualquier otra manera, entre los límites superior e inferior de ese rango

también se describe específicamente. Cada rango más pequeño entre cualquier valor

establecido o valor intermedio en un rango establecido y cualquier otro valor establecido o

intermedio en ese rango establecido está abarcado dentro de esta descripción. Los límites

15 superior e inferior de estos rangos más pequeños pueden incluirse o excluirse

independientemente en el rango, y cada rango en el que cualquiera, ninguno o ambos límites

están incluidos en los rangos más pequeños también está abarcado dentro de esta

descripción, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el rango establecido.

Cuando el rango establecido incluye uno o ambos de los límites, los rangos que excluyen

20 cualquiera o ambos de esos límites incluidos también se incluyen en esta descripción.

Cabe señalar que como se usa en la presente y en las reivindicaciones

anexas, las formas singulares “un”, “una” y “la” incluyen referentes plurales a menos

que el contexto dicte claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a

“un agente” incluye una pluralidad de tales agentes y la referencia a “el agente” incluye la referencia a uno o más agentes y equivalentes de estos conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

Las publicaciones analizadas en la presente se proporcionan únicamente
5 para su descripción antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en la presente debe interpretarse como una admisión de que tales publicaciones constituyen un estado de la técnica anterior a las reivindicaciones que se anexan al presente.

Todas las publicaciones mencionadas en la memoria descriptiva se incorporan en la presente como referencia. Diversas modificaciones y variaciones de los métodos y
10 sistema descritos de la presente descripción serán evidentes para los expertos en la técnica sin apartarse del alcance y el espíritu de la presente descripción. Aunque la presente descripción se ha descrito en relación con aspectos específicos, debe entenderse que la descripción tal como se reivindica no debe limitarse indebidamente a tales aspectos específicos. De hecho, se pretende que diversas modificaciones de los modos descritos
15 para realizar la descripción que son obvias para los expertos en bioquímica y biotecnología o campos relacionados estén dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

EJEMPLOS

20

EJEMPLO 1

STEAP2 se sobreexpresa en el cáncer de próstata

STEAP2 es una metaloreductasa que reduce el hierro y el cobre para facilitar la captación celular, el metabolismo, y la proliferación, que se expresa predominantemente en el cáncer de próstata, con poca expresión en tejido sano fuera de la próstata (**Figura 1**). Una consulta con Human Protein Atlas confirma que muestra menos expresión de ARN en órganos vitales que PSMA y STEAP1. STEAP2 tiene una expresión de superficie celular alta y homogénea en todas las etapas de la enfermedad del cáncer de próstata, incluida metástasis y cáncer de próstata resistente a la castración (CRPC) (**Figura 2**).

El perfil de expresión de STEAP2 se evaluó usando un protocolo IHC validado para demostrar la expresión de STEAP2 en tejidos humanos y tejidos tumorales humanos (**Figura 2**). La inmunohistoquímica se realizó a partir de una serie de secciones de tumores tomados de sujetos humanos con metástasis primarias (n=36), CRPC (n=78), ganglio linfático (n=30), o óseas (n=18). La expresión a través de la colección de tumores humanos fue igualmente alta.

EJEMPLO 2

Generación de anticuerpos anti-STEAP2

Descubrimiento de dominio variable STEAP2

STEAP2 es miembro de la familia STEAP de metaloreductasas, que reducen las moléculas de cobre y hierro a formas que pueden ser usadas por las células con fines metabólicos. Se ha demostrado que STEAP2 se expresa ampliamente en tumores de próstata a lo largo de todas las etapas de la enfermedad mientras que muestra una expresión tisular normal limitada.

40A3 es un anticuerpo IgG1 κ humano que se une a los dominios extracelulares (ECD, por sus siglas en inglés) de STEAP2, descubierto usando tecnología de ratón transgénico humanizado Del-1. mAb 40A3, se optimizó aún más, se alineó con gérmenes y maduró por afinidad para producir 40A3GL-LO14. El mAb anti-STEAP2 parental, 40A3, se aisló de una campaña de hibridoma tras la inmunización de ratones Del-1 transgénicos con células que expresan STEAP2. Se creó una línea celular quimérica injertando los bucles extracelulares STEAP2 en la columna vertebral de la proteína STEAP3 para explotar la localización de la superficie celular de STEAP3.

Se inmunizaron ratones Del-1 hembra transgénicos de cuatro a seis semanas de edad (fondo C57BL/6) con células Ad293 que sobreexpresan STEAP3-2. Tres días después del refuerzo de prefusión, se recolectaron esplenocitos y células de ganglio linfático. Las células B se aislaron usando un kit de enriquecimiento de células B pan de Miltenyi. Las células B aisladas se enriquecieron además mediante paneo en la línea celular de eliminación STEAP2 irradiada. Después, las células B enriquecidas con antígeno se fusionaron a P3X63Ag8.653 (CRL-1580-ATCC) y se sembraron en placas de 96 pocillos en medio de selección HAT. Los sobrenadantes de placas de 96 pocillos se cribaron usando citometría de flujo de alta entrada a través de la puesta. También se probaron hibridomas específicos de Ad293 OE STEAP2 para la unión a líneas celulares de cáncer primario (LNCaP, LNCaP-STEAP2-KO) y miembros adicionales de la familia STEAP. Se movieron hibridomas específicos de STEAP2 a clonación de dilución limitada. Los genes V se rescataron de todos los clones que retuvieron la unión específica a LNCaP. Se generaron anticuerpos recombinantes y se usaron para la caracterización aguas abajo.

El clon 40A3 se seleccionó como un líder para un mayor desarrollo basado en su afinidad de unión celular, selectividad de miembros de la familia STEAP y reactividad cruzada humana/murina. El mAb parental se optimizó entonces con la introducción de un residuo de leucina de línea germinal en el marco tres (FW3) del dominio VH y se eliminaron dos posibles pasivos de desamidación de las CDR L1 y H3, para convertir el mAb 40A3. Para asegurar que la unión no se vio comprometida como resultado de las modificaciones de mutación de revestimiento germinal y de reducción del riesgo, se evaluó la unión 40A3-LO7 en células de cáncer de próstata que expresan STEAP2 LNCaP. El experimento de citometría de flujo arrojó un valor de CE50 de unión a la célula de 43,33 nM.

Para mejorar la afinidad de 40A3-LO7, el clon se sometió a mutagénesis por saturación de sitio y cribado basado en células. Posteriormente, se identificaron tres variantes maduras por afinidad con unión de fondo limitada, 40A3-LO11 (CDRL1_S30A CDRH2_V61P), 40A3-LO12 (CDRL1_S30A CDRH3_L97R) y 40A3-LO14 (CDRL1_S30A CDRH2_V61P CDRH3_L97R). Las mutaciones de sustitución CDRH2_V61P CDRH3_L97R combinadas en 40A3-LO14 exhibieron una unión mejorada 26 veces en relación con el anticuerpo de partida, 40A3-LO7.

Caracterización in vitro

Se evaluaron las afinidades de unión para 40A3-LO7 parental y sus derivados madurados por afinidad en células LNCaP. 40A3-LO14 demostró la unión más fuerte con una CE50 de 1,67 nM. Las variantes 40A3-LO11 y LO12 tuvieron valores de CE50 ligeramente más pobres de 2,38 y 1,72 nM, respectivamente. Ninguna de las variantes probadas mostró unión a células KO LNCaP STEAP2. Nuestros datos demostraron una clara correlación entre la unión de variantes 40A3 a proteínas

STEAP3-2 quiméricas humanas y murinas, siendo 40A3-LO14 la más fuerte con CE50 de 1,67 y 0,97 a quimeras humanas y murinas, respectivamente.

Ensayo de unión FACS en líneas celulares humanas

Se prepararon diluciones seriales 3 veces de siete puntos de anticuerpos 5X (mAb) en regulador FACS (5 % de suero Fetal inactivado por calor (GibCo Ref núm. 10082-147; Lote núm. 2370845P) en PBS pH 7,4 (Sigma cat. núm. 806552-500ML); Estéril filtrado (Thermo Scientific cat. núm. 09 -740-64B)). Después, se añadieron 10 ul de diluciones en serie de mAb, en duplicados, en pocillos designados en una placa transparente de fondo en U de 96 pocillos (Costar cat. núm. 07 -200-95). Se añadieron 10 ul de regulador FACS a 2 pocillos por línea celular como un control “no tratado”. Se preparó una placa por línea celular. Las placas se colocaron en hielo hasta que se necesitaron. Los mAb 5X probados y las concentraciones iniciales del ensayo final fueron las siguientes:

mAb	ug/ml	
	5X	1X
40A3-LO7	315	63
40A3-LO11	105	21
40A3-LO12	105	21
40A3-LO14	35	7

15

Se cultivaron células LNCaP con alto contenido de Steap2 y LNCaP STEAP2 isogénico no expresante CRSPR 2X KO de cáncer de Próstata (CaP) en matraces T175 (Greiner 660160), pretratados con Poli-L-Lisina (P4707-50ML; SIGMA-ALDRICH) según los proveedores. Ambas líneas se mantuvieron en RPMI 10 % de FBS 1X Glutamax

(ATCC modificado RPMI R7388-500ML Sigma; FBS inactivado por calor de GibCo Ref núm. 10082-147; lote núm. 2370845P; Glutamax de GibCo Ref núm. 35050-061)

Las células CaP humanas se recolectaron para FACS lavándolas una vez con PBS pH 7,4, añadiendo 0,25 % de tripsina EDTA fría, y se dejaron a temperatura ambiente (TA) durante aproximadamente 5 min. Después de la incubación TA, los matraces se sacudieron suavemente de lado a lado para asegurar que las células se desasociaran del plástico. Se añadieron 10 ml de medio de mantenimiento al matraz para recoger las células y se transfirieron a un tubo cónico de 50 ml filtrando a través de un colador celular de 40 μ m (Falcon cat. núm. 352340). Las células se centrifugaron a 1200 RPM durante 3 minutos a 4 °C en una centrífuga Allegra X-15R (Beckman Culture), se aspiró el sobrenadante y se resuspendieron los gránulos celulares en 10 ml de regulador FACS enfriado con hielo. Se usó una pequeña alícuota (200 μ l) para contar las células y evaluar el porcentaje (%) de viabilidad en un Analizador de Viabilidad Celular (V-Cell BLU). La densidad celular se ajustó a 2e6 células/ml en 12 ml de regulador FACS enfriado con hielo.

Se sembraron cuarenta microlitros de líneas celulares LNCaP y LNCaP STEAP2 CRSPR 2X KO, en sus respectivas placas, encima de las placas de fondo en U de 96 pocillos previamente enfriadas que contenían los mAb. Las células se mezclaron suavemente en pocillos que contenían anticuerpos para asegurar la distribución (se usaron 200 μ l multicanal ajustado a 30 μ l). Después de cubrir las placas con tapas y papel aluminio, las placas se incubaron en hielo durante 30 minutos en la oscuridad.

Después de la incubación, las células se lavaron dos veces con regulador FACS enfriado con hielo centrifugando las placas a 1200 RPM durante 2 min, a 4 °C, se arrojaron sobre un recipiente de riesgo biológico con almohadillas absorbentes, y

después se resuspendieron en 100 ul/pocillo con una solución que contenía anticuerpo secundario 1:400 (Goat anti-Human AF647, 2 mg/ml, Invitrogen núm. A21445) y 1:1000 DAPI (1000x DAPI, Cell Signaling Technology cat. núm. 4083S) en el regulador FACS enfriado con hielo. Las placas se cubrieron con una tapa y papel aluminio y se incubaron en hielo durante 30 min en la oscuridad. Después de la incubación de tinción secundaria y de núcleos, las células se lavaron como se describió previamente y se resuspendieron en 80 ul de regulador FACS enfriado con hielo. Las placas se mantuvieron en hielo y se cubrieron hasta ser procesadas por el instrumento FACS.

10 EJEMPLO 3

Unión *in vitro* basada en células de anticuerpos anti-STEAP2

Los ensayos de unión celular se diseñaron para evaluar las afinidades de unión para el 40A3-LO7 parental y sus derivados madurados por afinidad tanto a STEAP2 humano como murino. La unión de los anticuerpos anti-STEAP2 se detectó usando un anticuerpo secundario antihumano etiquetado fluorescentemente y métodos estándar de citometría de flujo.

Brevemente, se prepararon diluciones seriales triples de siete puntos de anticuerpos 5X (mAb) en regulador FACS filtrado estéril (5 % de suero bovino fetal inactivado por calor en PBS pH 7,4). Se añadieron diez microlitros de las diluciones de anticuerpos en pocillos designados en una placa transparente de fondo en U de 96 pocillos. Las líneas celulares evaluadas se recolectaron usando 0,25 % de tripsina EDTA fría, se

resuspendieron en medios de mantenimiento, se granularon y se contaron. La densidad celular se ajustó a 2×10^6 células/ml y se sembraron cuarenta microlitros de células encima de las diluciones de anticuerpos y se incubaron durante 30 minutos. Las células se lavaron y se obtuvo una solución que contenía una dilución 1:400 de anticuerpo secundario antihumano y una dilución 1:1000 de DAPI. Después de otros 30 minutos de incubación, las células se lavaron, y después se transfirieron al instrumento FACS para su análisis.

El anticuerpo anti-STEAP2 40A3-LO14 también mostró la afinidad de unión más fuerte a las células LNCaP, con una CE50 de 1,67 nM (**Figura 3A, izquierda**). La variante 40A3-LO11 exhibió un valor de CE50 ligeramente más pobre de 2,38 nM. Ninguna de las variantes probadas mostró unión a células LNCaP STEAP2 CRISPR KO, lo que significa que la unión celular era específica para la expresión superficial de STEAP2 (**Figura 3A, derecha**). 40A3-LO14 también demostró la unión más fuerte a las células AD293 muSTEAP3-2, confirmando por lo tanto la reactividad cruzada del mAb LO14 con STEAP murino (**Figura 3B**). Las características de afinidad de unión, reactividad cruzada y capacidad de desarrollo para cada uno de los mAb LO11 y LO14 se resumen en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1

ID de clon (hIgG1-TM)	Afinidad de unión (LNCaP)	Mu Reactividad X (AD293 STEAP3-2)	Estrés por calor (% de aumento agregado)	Estrés fotográfico (% de aumento agregado)
40A3-LO14	1,67 nM	0,97 nM	0,27 %	1,75 %
40A3-LO11	2,38 nM	5,78 nM	0,24 %	0,8 %

Evaluación de internalización de anticuerpos anti-STEAP2

Los ensayos de internalización se diseñaron para determinar la tasa a la que el 40A3-LO7 parental y sus derivados madurados por afinidad podrían ingresar a la célula después del acoplamiento diana. El ensayo se basa en el etiquetado de los anticuerpos de prueba que contienen Fc con un fluoróforo sensible al Ph conjugado con fragmentos Fab (Sartorius/Essen BioScience) y la capacidad inherente del receptor STEAP2 para internalizarse cuando se une al anticuerpo. Se detectó la internalización de los anticuerpos anti-STEAP2 con métodos estándar de obtención de imágenes de células vivas usando el Incucyte SX5.

Brevemente, 24 h antes de iniciar el ensayo, las líneas celulares que se están evaluando se recolectaron usando 0,25 % de tripsina-EDTA fría, se resuspendieron en medios de mantenimiento, se granularon y se contaron. La densidad celular se ajustó a $0,15 \times 10^6$ células/ml en medio RPMI1640 sin rojo fenol. Se añadieron cien microlitros de células a cada pocillo y se incubaron durante la noche a 37 °C, 5 % de CO₂. El día del ensayo, se combinó una solución de reserva de 0,5 mg/ml de Red Fab-Fluor con anticuerpos anti-STEAP2 o anticuerpo de control de isotipo en una relación molar de prueba 1:3 mAb a Fab (solución de etiquetado 3x). Después de una incubación de 20 min, se añadieron 50 microlitros de solución de etiquetado 3x a las células. Las imágenes comenzaron inmediatamente después de la adición de la solución de etiquetado y continuaron cada 30 minutos durante 6 horas usando un objetivo 20x, los canales de imagen “Phase/Brightfield” y “Orange”, y la configuración estándar de escaneo. Los datos se normalizaron y analizaron

dividiendo la “Intensidad Integrada Total (TII = RCU x $\mu\text{m}^2/\text{imagen}$)” por el “% de Confluencia”, después multiplicando por un factor de escala apropiado. El dato normalizado se grafica en función del tiempo, y se calculó la pendiente para determinar la tasa de internalización (Δ intensidad/min). El punto temporal más temprano en el que se detectó

5 señal fluorescente por encima del fondo fue a las 2 horas (**Figura 4A-4B, arriba**), por lo que la cinética de internalización se calculó entre 2,5 – 6 horas.

Las células C42 son células de cáncer de próstata humano que expresan endógenamente altos niveles de STEAP2 silvestre. Cuando se une a estas células, 40A3-LO14 mostró la tasa de internalización más rápida, con un aumento de 85 TII/min

10 (**Figura 4A-4B, parte inferior**). La variante 40A3-LO11 tuvo una tasa de internalización ligeramente más lenta con un aumento de 66 TII/min. No se detectó señal fluorescente en el grupo de control de isotipo, lo que sugiere que la internalización de anticuerpos en estas células es una función de la unión al receptor STEAP2.

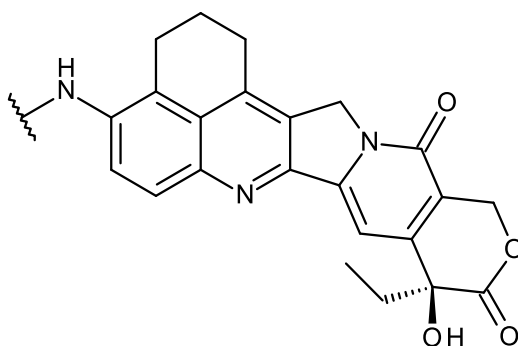
15 EJEMPLO 5

Potencia de los ADC STEAP2 TOP1i y LP-1 en líneas celulares de cáncer de próstata humano

20 Los anticuerpos monoclonales anti-STEAP2 humanos IgG1k madurados por afinidad 40A3-LO14 (conocidos en la presente como LO14) y 40A3-LO11 (conocido en la presente como LO11) se conjugaron mediante un enlazador de maleimida-PEG8-valina-alanina escindible (enlazador mal-PEG8-val-ala escindible) a una ojiva TOP1i.

Entrada	Anticuerpo	Carga útil	DAR	Concentración (mg/mL)	Volumen (ml)	mAb de partida (g)	ADC recuperado (g)	% de rendimiento	% de monómero	Endotoxina (UE/mg)
1	L014	TOPO1i (SG3932)	8	11,74	59	1	0,693	69,3	99,3	0,135
2	L014	TOPO1i (SG3932)	8	10,43	800	10	8,3	83	99,3	0,459

La ojiva TOP1i liberada de SG3932 a la que se hace referencia en la



presente puede ser:

A*

El fármaco TOP1i se une covalentemente a cisteínas nativas en el anticuerpo a través de un enlace de tiosuccinimida, con aproximadamente 4 a 8 fármacos unidos por anticuerpo (es decir, DAR de aproximadamente 4 a aproximadamente 8). En la **Figura 5**, se muestra un esquema de las versiones DAR8 y DAR4 de los ADC STEAP2.

Los ensayos de citotoxicidad se diseñaron para determinar si los ADC TOP1i LO11 y LO14 podrían reducir la viabilidad celular de las líneas celulares de cáncer de próstata que expresan STEAP2. El ensayo se basa en el principio de que las células moribundas producirán menos trifosfato de adenosina (ATP). Al usar un reactivo que exhibe bioluminiscencia en presencia de ATP (CellTiter-GLO 2.0), las disminuciones dependientes de la dosis en la viabilidad celular se reflejan en la disminución de la señal bioluminiscente. La señal bioluminiscente se detectó usando métodos estándar de lectura de placas (SpectraMax M5).

Brevemente, 24 horas antes de comenzar el ensayo, se recolectaron células de cáncer de próstata humano y se contaron descritas anteriormente. La densidad celular se ajustó a $0,05 \times 10^6$ células/ml para 22Rv1, LNCAP, y LNCAP STEAP2 CRSPR 2X KO, y $0,03 \times 10^6$ células/ml para C42 en la célula el medio de cultivo apropiado. Se añadieron cien
 5 ul de células a cada pocillo y las células se incubaron durante la noche a 37 °C, 5 % de CO₂. Al día siguiente, se preparó una dilución en serie de 9 puntos y 4 veces de 3X de ADC de materia prima (STEAP2 o control de isotipo TOP1i DAR8), en medios de mantenimiento celular. Se añadieron cincuenta microlitros de cada dilución a los pocillos designados y las células se incubaron durante 5. Después de eliminar los medios de
 10 tratamiento, se añadieron 50 microlitros de medio RPMI1640 sin rojo de fenol y 50 microlitros de CTG2.0 (Promega) a cada pocillo. Las placas se incubaron durante 20 minutos y después se transfirieron al SpectraMax M5 para la detección de luminiscencia.

Los resultados del cribado de potencia de los ADC TOP1i LO14 y LO11 y LP1 DAR8 se muestran en la **Figura 6A-6D**. El tratamiento de las células LNCaP con ADC LO14
 15 o LO11 mostró una disminución dependiente de la dosis en la viabilidad celular (IC₅₀ 0,30 y 2,78 nm respectivamente) que no se observó cuando se trató con el ADC TOP1i del isotipo. La falta de efecto citotóxico de los ADC LO14 y LO11 en la línea celular isogénica KO para STEAP2 confirma que la actividad de muerte celular es específica de STEAP2. Aunque las células C42 y 22Rv1 tienen niveles variables de expresión de STEAP2, tanto las
 20 ADC LO14 como LO11 fueron capaces de reducir la viabilidad de estas líneas celulares. expresión. En todas las líneas celulares, ADC LO14 TOP1i mostró un efecto más potente que ADC LO11 TOP1i. Las IC₅₀ para ambos ADC se muestran en la Tabla 2 a continuación:

Tabla 2

ID de clon (IgG1-TM)	Potencia in vitro (LNCaP)	Potencia in vitro (C4-2)	Potencia in vitro (22Rv1)
40A3-LO14	0,22 nM	2,23 nM	4,53 nM
40A3-LO11	1,70 nM	16,53 nM	32,08 nM

EJEMPLO 6

5 *Evaluación farmacocinética de ADC LO14 TOP1i*

Se diseñó un estudio para caracterizar las propiedades farmacocinéticas (PK) del anticuerpo no conjugado LO14, ADC TOP1i DAR4 y DAR8 en ratones. A ratones inmunodeficientes masculinos de cuatro a seis semanas de edad (atímico desnudo, NOD Scid Gamma) o humanizados (FcRn) se les administró una dosis única de 5 miligramos por kilogramo (mpk) inyección intravenosa de reactivo de prueba. Se monitorearon los animales y se recogieron 100-200 microlitros de sangre en cada punto temporal (n=9 puntos temporales entre 0 a 21 días después de la inyección). Los ratones para cada grupo de prueba (n=9) se distribuyeron entre tres cohortes para permitir 6 sangrados de supervivencia y 3 sangrados terminales en el transcurso del estudio. Se usaron los métodos estándar ELISA y espectrometría de masas para cuantificar la concentración plasmática (ug/ml) de cada artículo de prueba a lo largo del tiempo. Se ajustó un modelo estándar de 2 compartimentos a los datos agrupados de todos los ratones en estudio. Se utilizan todos los puntos de datos individuales pero asumiendo que no hay variabilidad interanimal en ninguno de los parámetros (enfoque agrupado ingenuo). Se usó el modelo

de 2 compartimentos para calcular la depuración del fármaco (CI), el volumen aparente de distribución en estado estacionario (V_{ss}), y la vida media ($T_{1/2}$).

Los resultados de cada estudio de PK se muestran en las **Figuras 7A-7B**.

Para confirmar que la síntesis de ADC no afectaba las propiedades PK de LO14, a los animales se les inyectó anticuerpo LO14 hlgG1-TM no conjugado (LO14 mAb) o ADC LO14 DAR8. En ratones NSG, la tasa de depuración de mAb LO14 y ADC DAR8 fueron similares a 5,2 y 6 ml.día⁻¹.kg⁻¹ respectivamente (**Figura 7A, izquierda**). El modelo de ratón humanizado FcRn se usa para confirmar que los parámetros PK se retienen en un huésped inmune competente. La tasa de depuración de ADC LO14 TOP1i DAR8 fue ligeramente mayor en ratones FcRn (10,7 ml.día⁻¹.kg⁻¹) que en ratones NSG inmunodeprimidos y atímicos desnudos (6 y 7,6 ml.día⁻¹.kg⁻¹ respectivamente) dando como resultado una vida media más corta de la molécula en este modelo animal (8,8 días) (**Figura 7A, derecha**). Adicionalmente, en ratones NSG hubo una diferencia mínima entre la depuración de LO14 TOP1i DAR 4 en comparación con LO14 TOP1i DAR8 (6,4 y 6 ml.día⁻¹.kg⁻¹ respectivamente) (**Figura 7B**). Los resultados PK se resumen en la Tabla 3 a continuación:

Tabla 3

	Cepa animal					
	NSG	NSG	NSG*	Atímico desnudo	FcRn	
	LO14 hlgG1 TM	LO14 TOP1i DAR4	LO14 TOP1i DAR8			
CI	5,2	6,4	6	7,6	10,7	ml.día ⁻¹ .kg ⁻¹
V _{ss}	110	146	104	126	126	ml.kg ⁻¹

T_{1/2}	15	16,8	12,6	12,2	8,8	días
------------------------	----	------	------	------	-----	------

**Parámetros PK de LO14 TOP1i DAR8 en ratones NSG promediados a partir de n=2 experimentos independientes*

EJEMPLO 7

5

Eficacia *in vivo* de los ADC LO14 TOP1i y LP-1

Para determinar si los ADC LO14 TOP1i DAR4 y DAR8 mostraron efectos antitumorales dependientes de la dosis *in vivo*, se evaluaron niveles de dosis que varían

10 de 1,0 mg/kg a 4 mg/kg en modelos de tumores de cáncer de próstata humano. Se implantaron líneas celulares o fragmentos de tejido tumoral por vía subcutánea en ratones NSG machos entre las 6 a 8 semanas de edad. Cuando los tumores alcanzaron el rango apropiado de volumen tumoral (150-300 mm³), los animales se aleatorizaron en grupos de tratamiento y control (n=5 animales/grupo) y se inició la dosificación. Se

15 administró una dosis única de artículo de prueba a los ratones portantes del tumor mediante inyección intravenosa. Se observaron animales diariamente, y se midieron las dimensiones del tumor y el peso corporal y se registraron dos veces por semana. Los volúmenes tumorales se midieron mediante calibre digital y los volúmenes de tumores se calcularon usando la siguiente fórmula: volumen tumoral = [longitud (mm) x ancho

20 (mm)² x 0,52, donde la longitud y ancho son los diámetros más largo y más corto del tumor, respectivamente. Los resultados mostrados en las **Figuras 8A-8B** demuestran que el tratamiento con LO14 TOP1i DAR4 o DAR8 da como resultado una inhibición del crecimiento dependiente de la dosis de los xenogramas tumorales de próstata.

Se demostró actividad antitumoral de los ADC TOP1i LO14 en líneas celulares de cáncer de próstata (C42 y 22Rv1) y xenografías derivadas de pacientes (LUCAP147 y LUCAP70). En todos los modelos DAR4 presentaba una potencia ligeramente reducida en comparación con DAR8 a la dosis de carga útil igualada. Los ADC TOP1i DAR4 y DAR8 del control de isotipo no causaron regresión tumoral en ninguno de los modelos analizados.

En el modelo C42 se observó regresión tumoral significativa a dosis tan bajas como 4 mpk y 1 mpk de LO14 TOP1i DAR4 y DAR8 respectivamente (Figura 8A, top). En el modelo 22Rv1, que tiene menor expresión de STEAP2, se requirieron dosis más altas tanto de DAR4 como de DAR8 para lograr una regresión tumoral significativa (10 y 3 mpk respectivamente, **Figura 8A, parte inferior**). Aunque los modelos LUCAP147 y LUCAP70 PDX también tienen baja expresión endógena de STEAP2, estos modelos fueron altamente sensibles al tratamiento con ADC dirigidos a STEAP2. En ambos modelos se observaron regresiones tumorales significativas a dosis tan bajas como 2 mpk y 1 mpk de LO14 TOP1i DAR4 y DAR8 respectivamente (**Figura 8B**).

En el modelo C42 se observó regresión tumoral significativa a dosis tan bajas como 0,25 mpk y 0,5 mpk de LO14 LP-1 DAR8 (Figura. 8C, **parte superior**). En el modelo 22Rv1, que tiene menor expresión de STEAP2, se logró una regresión tumoral significativa a dosis de 3-6 mpk (Figura 8C, **parte inferior**). Aunque los modelos LUCAP147 y LUCAP70 PDX también tienen baja expresión endógena de STEAP2, estos modelos fueron altamente sensibles al tratamiento con ADC dirigidos a STEAP2. En ambos modelos se observaron regresiones tumorales significativas a dosis tan bajas como 0,25 mpk y 1 mpk de LO14 LP-1 DAR8 (**Figura 8D**).

Las curvas de estría monotónicas (siempre decrecientes) del modelo aditivo generalizado (GAM, por sus siglas en inglés) se ajustaron a los datos de respuesta a la dosis para ilustrar la diferencia estadística entre los efectos de los ADC LO14 TOP1i DAR4 y DAR8 en los modelos CDX y PDX probados (**Figura 8E**). Los resultados confirman que el tumor 22Rv1, C42 y LUCAP147 tratado con ADC LO14 TOP1i DAR8 tuvo una tasa de crecimiento significativamente más lenta que los mismos modelos tumorales tratados con ADC LO14 TOP1i DAR4. Los datos adicionales se muestran en la Tabla 4 a continuación:

Tabla 4.

Estudio*	Rango de días	DAR4.lx50	DAR8.lx50	Dif	SE	Pval
014-22Rv1	0-21	9,83	5,34	-4,49	0,88	0,000
015-C42	0-40	1,49	0,93	-0,56	0,17	0,000
017-147LuCaP		0,32	0,27	-0,05	0,14	0,002
018-73LuCaP		0,17	0,12	-0,05	0,07	0,086
019-70LuCaP		0,19	0,15	-0,05	0,09	0,736

*El estudio se refiere a los modelos CDX y PDX; la comparación de potencia para 22Rv1 solo se pudo realizar a 21 días, ya que no se disponía de datos para todos los grupos en el punto de tiempo de 40 días

- DAR4.lx50/DAR8.lx50 se refiere al mejor valor de ajuste de la lambda, donde lo mejor se basa en el valor r-cuadrado.
- Dif. es la diferencia en la tasa de crecimiento relativo entre DAR4 y DAR8.
- SE = Error estándar

EJEMPLO 8

Actividad terapéutica de ADC LO14 TOP1i DAR8

Para determinar si los ADC LO14 TOP1i DAR8 demuestran un potencial terapéutico en el cáncer de próstata, 19 xenoinjertos derivados de pacientes se trataron con 2,5 o 5 mpk de ADC. Se implantaron fragmentos de tejido tumoral por vía subcutánea en ratones NSG machos entre las 6 a 8 semanas de edad. Cuando los tumores alcanzaron el rango apropiado de volumen tumoral, los tumores se resecaron y se expandieron a una cohorte de animales de estudio. Cuando los tumores en los animales de estudio alcanzaron el volumen tumoral apropiado (150-300 mm³), los animales se aleatorizaron en grupos de tratamiento y control (n=3 animales/grupo) y se inició la dosificación. Se administró una dosis única del artículo de prueba y se registraron los pesos corporales de los animales y los volúmenes tumorales como se describió anteriormente. Los resultados mostrados en las **Figuras 9A-9B** se clasifican en orden descendente de respuesta mediana a partir del valor de referencia.

Los modelos PDX evaluados en las **Figuras 9A-9B** representan material tumoral de 19 pacientes claramente diferentes. La tasa de respuesta general (ORR, por sus siglas en inglés) se define como el porcentaje de modelos tumorales que mostraron una respuesta mediana desde el valor de referencia de -30 % o menor (también descrito como una inhibición significativa del crecimiento tumoral del 130 %). Cuando se administra a 5 mpk, ADC LO14 TOP1i DAR8 tiene una ORR de 57,9 % (11/19) en comparación con 5 % (1/19) de ORR con ADC del isotipo administrado a una dosis equivalente (**Figura 9A**). Cuando se administra a 2,5 mpk, ADC LO14 TOP1i DAR8 tiene una ORR de 47,4 % (9/19)

en comparación con 5 % (1/19) de ORR con ADC del isotipo administrado a una dosis equivalente (**Figura 9B**). En general, estos resultados demuestran que el tratamiento con ADC LO14 TOP1i DAR8 es ampliamente eficaz en el cáncer de próstata humano.

5 EJEMPLO 9

Síntesis de LP-1 y conjugación ADC

Información general

La cromatografía ultrarrápida se realizó usando una BIOTAGE ISOLERA y se
10 comprobó la pureza de las fracciones mediante cromatografía de capa fina (TLC, por sus siglas en inglés). La TLC se realizó usando gel de sílice MERCK KIESELGEL 60 F254, con indicador fluorescente en placas de aluminio. La visualización de TLC se realizó con luz UV.

Los solventes de extracción y cromatografía se adquirieron de VWR U.K. y se usaron sin purificación adicional.

15 Todas las sustancias químicas finas se adquirieron de SIGMA-ALDRICH a menos que se indique de cualquier otra manera.

Los reactivos pegilados se obtuvieron de QUANTA BIODESIGN US a través de STRATECH UK.

Condiciones de LC/MS

20 La espectrometría de masas por electropulverización en modo positivo se realizó usando un WATERS ACQUITY H-CLASS SQD2 usando uno de los siguientes métodos.

(a) La HPLC (WATERS ALLIANCE 2695) se ejecutó usando una fase móvil de agua (A) (ácido fórmico al 0,1 %) y acetonitrilo (B) (ácido fórmico al 0,1 %).

LCMS 3 min: La composición inicial de 5 % de B se mantuvo durante 25 segundos, se aumentó después de 5 % de B a 100 % de B durante un período de 1 minuto
 5 35 segundos. La composición se mantuvo durante 50 segundos a 100 % de B, se regresó después a 5 % de B en 5 segundos y se mantuvo allí durante 5 segundos. La duración total del gradiente fue 3,0 minutos. La velocidad de flujo fue 0,8 ml/minuto. Rango de detección de longitud de onda: 190 a 800 nm. Columnas: WATERS ACQUITY UPLC BEH SHIELD RP18 1,7 μ m 2,1 x 50 mm a 50 °C equipada con precolumna WATERS ACQUITY
 10 UPLC BEH SHIELD RP18 VANGUARD, 130 A, 1,7 μ m, 2,1 mm x 5 mm.

LCMS 15 min: la composición inicial de 5 % de B se mantuvo durante 1 min, se aumentó después de 5 % de B a 100 % de B durante un período de 9 minutos. La composición se mantuvo durante 2 min a 100 % de B, se regresó después a 5 % de B en 0,10 minutos y se mantuvo allí durante 3 min. El tiempo total de ejecución del
 15 gradiente es igual a 15 min. Velocidad de flujo 0,6 ml/min. Rango de detección de longitud de onda: 190 a 800 nm. Temperatura del horno: 50 °C. Columna: WATERS ACQUITY UPLC CSH C18 1,7 μ m 2,1 x 100 mm equipada con precolumna WATERS ACQUITY UPLC CSH C18 VANGUARD, 1,7 μ m, 2,1 mm x 5 mm.

(b) La HPLC (Agilent 1290) se ejecutó usando una fase móvil de agua (A)
 20 (TFA al 0,03 %) y acetonitrilo (B) (TFA al 0,03 %), o agua (A) (TFA al 0,05 %) y acetonitrilo (B) (TFA al 0,05 %). La composición inicial fue (a) 100 % de A que se mantuvo durante 2-4 minutos y se aumentó después a 90 % de B durante 2-5 minutos, o (b) 5 %-20 % de B que se aumentó a 90 %-98 % de B durante 3-17 minutos. La velocidad de

flujo fue 0,3-1,5 ml/minuto. La columna fue (1) ATLANTIS T3 3 μ m 4,6*150 mm a 40 °C (detector ELSD o rango de detección de longitud de onda: 210 nm), (2) ACQUITY UPLC BEH C18 2,1*100 mm 1,7 μ m a 40 °C (rango de detección de longitud de onda: 210 nm o 220 nm), (3) UPLC BEH C18 1,7 μ m, 2,1*100 mm a 40 °C (rango de detección de longitud de onda: 223 nm), (4) XBRIDGE C18 (4,6*150,3,5 μ m) a 40 °C, (5) ACQUITY UPLC HSS PFP 2,1*150 mm 1,8 μ m a 40 °C (rango de detección de longitud de onda: 220 nm), (6) UPLC BEH fenilo 1,7 μ m, 2,1*150 mm a 40 °C (rango de detección de longitud de onda: 210 nm), (7) EC-C18 2,7 μ m, 3,0* 50 mm a 40 °C (rango de detección de longitud de onda: 210 nm), u (8) YMC-Triart C18 50*3,0 mm S-3 μ m, 12 nm a 45 °C (detector ELSD). Volumen de inyección 2 μ l.

Condiciones de HPLC

La cromatografía de líquidos ultrarrápida (UFLC, por sus siglas en inglés) de alto rendimiento en fase inversa se llevó a cabo en una máquina SHIMADZU PROMINENCE usando una columna PHENOMENEX GEMINI NX 5 μ C18 (a 50 °C) de dimensiones: 150 x 21,2 mm. Los eluyentes usados fueron el solvente A (H₂O con 0,1 % de ácido fórmico) y el solvente B (CH₃CN con 0,1 % de ácido fórmico). Todos los experimentos de UFLC se realizaron con condiciones de gradiente: la composición inicial de 13 % de B aumentó a 30 % de B durante un período de 3 minutos, aumentó después a 45 % de B durante 8 minutos y nuevamente a 100 % durante 6 minutos antes de regresar a 13 % durante 2 min y mantenerse durante 1 min. La duración total del gradiente fue 20,0 minutos. La velocidad de flujo fue 20,0 ml/minuto y la detección fue a 254 y 223 nm.

Método de NMR

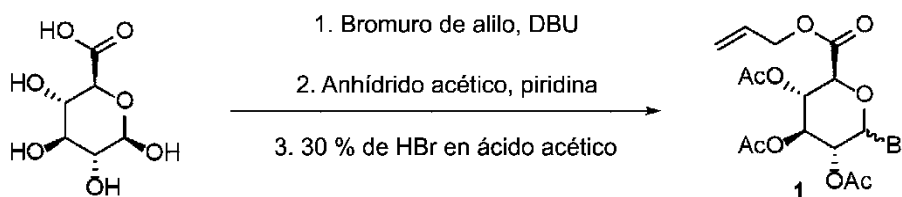
Los valores de desplazamiento químico de NMR de protones se midieron en la escala delta a 400 MHz usando un BRUKER AV400. Se han usado las siguientes abreviaturas: s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto; quin, quinteto; m, múltiplo; br, amplio. Las constantes de acoplamiento se reportan en Hz.

Abreviaturas

TLC	Cromatografía de capa fina
UV	Ultravioleta
LCMS	Cromatografía de líquidos espectrometría de masas
CSH	Híbrido de superficie cargada
UPLC	Cromatografía de líquidos de ultra rendimiento
RP	Fase inversa
NMR	Resonancia magnética nuclear
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DMF	Dimetilformamida
DCM	Diclorometano
TBS	Terc-butildimetilsilano
MS	Tamices moleculares
TFA	Ácido trifluoroacético
DMSO	Sulfóxido de dimetilo
ESI	Ionización por electropulverización
DIPEA	Diisopropiletilamina
THF	Tetrahidrofurano
HATU	Hexafluorofosfato de azabenzotriazol tetrametil uronio
TEA	Trietilamina
HOPO	1-Hidroxi-2-piridona
RT	Tiempo de retención
ADC	Conjugado anticuerpo-fármaco
UHPLC	Cromatografía de líquidos de ultra alto rendimiento
mAb	Anticuerpo monoclonal

SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño
DAR	Relación fármaco a anticuerpo
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
ND	No detectable
IC ₅₀	Concentración inhibitoria 50 %
Fmoc	fluorenilmetoxycarbonilo

Intermedio 1



5

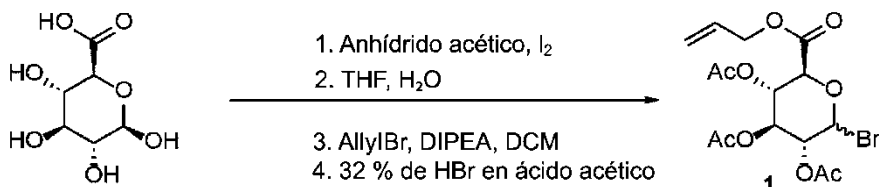
Se añadió gota a gota 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidropirimido[1,2-a]azepina (26,5 ml, 177,35 mmol) a un matraz de fondo redondo de 1 l que contenía ácido (2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetrahidroxitetrahydro-2H-piran-2-carboxílico (31,3 g, 161,22 mmol) en DMF (100 ml) a 21 °C. A continuación, se añadió 3-bromoprop-1-eno (16,72 ml, 193,47 mmol) a la mezcla de reacción gota a gota durante 10 minutos y la reacción se agitó a 21 °C durante 24 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se trató con piridina (104 ml, 1289,60 mmol). Se añadió después anhídrido acético (244 ml, 2579,20 mmol) a la mezcla de reacción. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se ejecutó durante 2 horas a 21 °C. La mezcla de reacción se concentró a vacío reducido y la piridina restante se eliminó azeotrópicamente con tolueno (1 x 100 ml). El material crudo se diluyó con DCM (65 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió después ácido bromhídrico al 30 % en ácido acético (175 ml, 3226,03 mmol) a la mezcla de reacción a

15

0 °C. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se ejecutó durante 2 horas 30 minutos a 21 °C. Se evaporó el solvente, el compuesto se purificó después mediante cromatografía ultrarrápida en columna en fase normal para obtener el Intermedio 1 triacetato de (2S,3S,4S,5R,6R)-2-((aliloxi)carbonil)-6-bromotetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil (33 g, 48 % de rendimiento) como un material translúcido beige. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6,67 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 5,92 (ddt, J = 16,6, 10,3, 6,0 Hz, 1H), 5,64 (t, J = 9,7 Hz, 1H), 5,42 – 5,23 (m, 3H), 4,88 (dd, J = 10,0, 4,0 Hz, 1H), 4,71 – 4,58 (m, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,05 (s, 3H); LCMS (ESI) m/z 445,0 (M + Na)⁺.

Síntesis alternativa del Intermedio 1

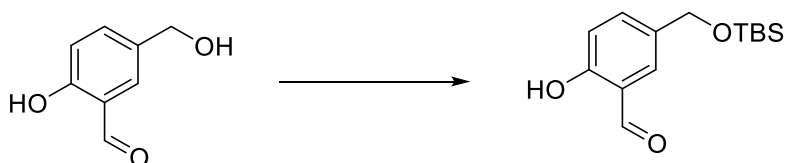
10



Se añadió yodo (1,19 kg, 4,69 mol) a anhídrido acético (3500 ml) agitado a 0-10 °C bajo nitrógeno. La mezcla resultante se ajustó a 20-30 °C y se añadió ácido glucurónico (7 kg, 36,06 mol) en porciones, manteniendo la temperatura en 25-30 °C. La reacción se agitó a esta temperatura durante 1 hora bajo nitrógeno y se enfrió después a 0 °C. Se añadió una solución de tiosulfato de sodio pentahidratado (2,33 kg) en agua (35,2 l) a la mezcla agitada a 0-10 °C, y se agitó después a 2 horas a 20-30 °C. Se añadió agua (35,2 l) a la mezcla agitada, se extrajo con acetato de isopropilo (3 x 35,2 L), y la capa orgánica se concentró a sequedad para obtener ácido 1,2,3,4-tetra-O-acetil-β-D-glucurónico crudo (16,08 kg, ensayo a 61 % p/p, 75 %). LCMS m/z (ES⁺), [M+Na]⁺ = 384,6

El ácido 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucurónico crudo, 61 % p/p (16 kg; 27,05 mol) se disolvió en acetato de isopropilo (42,83 kg) y se agitó a 20-30 °C. Se añadió N,N-diisopropiletilamina (12,25 kg, 94,68 mol) a la reacción a 20-30 °C durante 11 minutos seguida de 3-bromopropeno (9,8 kg, 81,15 mol) añadido gota a gota a 20-30 °C durante 5 minutos. La mezcla resultante se agitó durante 48 horas a 20-30 °C. Se añadieron acetato de isopropilo (42,83 kg) y agua (49 kg) a la mezcla agitada. La capa orgánica se separó y se ajustó a pH 4 -5 a 20-30 °C mediante la adición de ácido clorhídrico acuoso (0,6 N, 43,71 kg). La capa orgánica separada se lavó con salmuera (solución acuosa al 25 %, 49 l), y se concentró a sequedad para obtener éster alílico de ácido 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucurónico crudo como un sólido marrón (12,0 kg, ensayo a 87,5 % p/p, 86,6 %). LCMS m/z (ES+), $[M+Na]^+ = 424,833$ % Se añadió ácido bromhídrico en ácido acético (534 ml, 2,982 mol) gota a gota a una mezcla agitada de éster alílico de ácido 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucurónico crudo (200 g, 0,497 mol) en acetato de isopropilo (500 ml) a 0 °C. La reacción se ajustó a 20-30 °C y se agitó durante 8 horas. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de isopropilo (2400 ml), el extracto se lavó con salmuera (25 % acuosa, 3 x 2000 ml) y se concentró a sequedad para obtener el producto crudo como un aceite negro (231,3 g, 80,5 %). LCMS (ES+), $[M+Na]^+ = 445,2$ y 447, ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,65 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 5,59-5,84 (m, 1H), 5,62 (t, $J = 9,6$ Hz, 1H), 5,40-5,23 (m, 3H), 4,87 (dd, $J = 9,9, 3,9$ Hz, 1H), 4,66-4,59 (m, 3H), 2,21-2,03 (m, 9H)

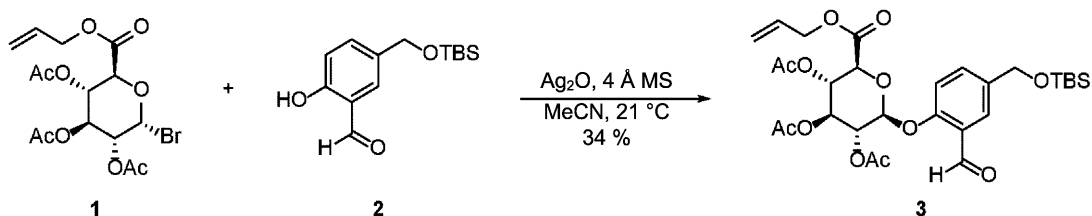
20 Intermedio 2



Se añadió TBS-Cl (20,80 g, 138,02 mmol) en DCM (25 ml) gota a gota a 1H-imidazol (17,90 g, 262,90 mmol) y 2-hidroxi-5-(hidroximetil)benzaldehído (20 g, 131,45 mmol) en DCM (500 ml) a 0 °C durante un período de 2 horas bajo nitrógeno.

- 5 La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se inactivó con agua (500 ml), se extrajo con DCM (2 x 300 ml), la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó para proporcionar el Intermedio 2 5-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-2-hidroxibenzaldehído (35,0 g, 100 %) como un material incoloro. m/z (ES⁺), [M+Na]⁺ = 289; NH₄HCO₃, HPLC t.r. = 1,505 min

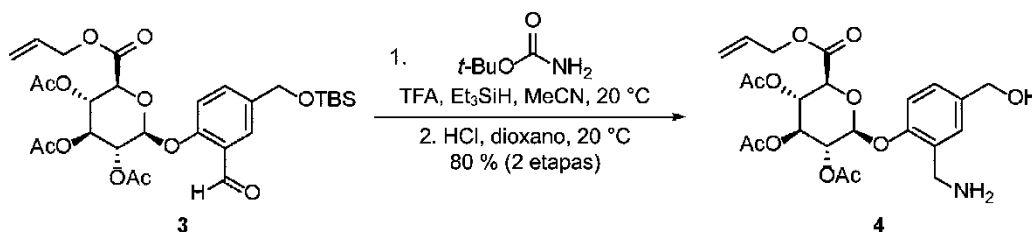
10 Intermedio 3



- A un matraz de fondo redondo de 500 ml secado al vacío se le añadieron tamices moleculares (microesferas de 4 Å, 5,0 g), óxido de plata (29,2 g, 125,8 mmol) y acetronitrilo (150 ml), produciendo una suspensión negra. A esta suspensión se le añadió una solución del Intermedio 1 (10,7 g, 25,2 mmol) en acetronitrilo (50 ml) durante 20 min seguido de la adición de 5-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-2-hidroxibenzaldehído (Intermedio 2, 13,6 g, 51,1 mmol) en acetronitrilo (50 ml) en una porción. La mezcla resultante se agitó vigorosamente a 20 °C durante 16 h. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de 5 cm de Celite y se enjuagó con diclorometano (3 x 25 ml). El

solvente se evaporó y el compuesto se purificó después mediante cromatografía ultrarrápida en columna en fase normal para proporcionar el Intermedio 3 triacetato de (2S,3S,4S,5R,6S)-2-((aliloxi)carbonil)-6-(4-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-2-formilfenoxi)tetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil como un material blanco (5,2 g, 34 % de rendimiento). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 10,34 (s, 1H), 7,77 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,58 (dd, $J = 8,6, 2,1$ Hz, 1H), 7,14 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 5,81-5,92 (m, 1H), 5,39-5,35 (m, 4H), 5,28-5,22 (m, 2H), 4,71 (s, 2H), 4,58-4,67 (m, 2H), 4,20-4,28 (m, 1H), 2,073 (s, 3H), 2,069 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,11 (s, 6H); LCMS (ESI) m/z 626,3 ($\text{M} + \text{NH}_4$) $^+$.

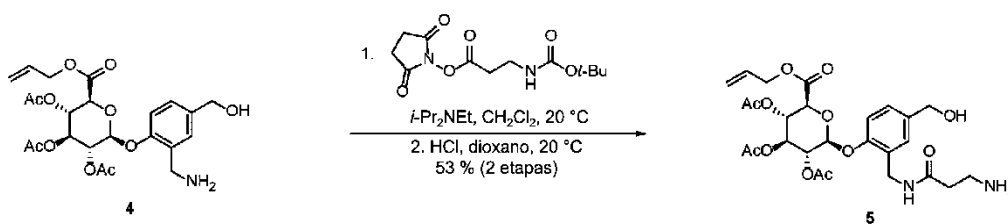
Intermedio 4



A una solución del Intermedio 3 (5,2 g, 8,6 mmol) en acetonitrilo (40 ml) se le añadió carbamato de *terc*-butilo (3,8 g, 32,3 mmol), ácido trifluoroacético (2,0 ml, 25,9 mmol), y trietilsilano (4,1 ml, 25,8 mmol). Se agitó durante 2 h a 20 °C, el solvente se evaporó después. Al aceite incoloro resultante se le añadió 1,4-dioxano (8 ml) y HCl (4,0 M en 1,4-dioxano, 50 ml, 200 mmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min, se evaporó el solvente. El polvo blanco resultante se disolvió en DMSO (3 ml) se pasó después a través de resina de intercambio catiónico pretratada con metanol (WATERS PORAPAK CX). El compuesto deseado se eluyó de la resina con metanol para proporcionar el Intermedio 4 triacetato de (2S,3S,4S,5R,6S)-2-((aliloxi)carbonil)-6-(2-(aminometil)-4-

(hidroximetil)fenoxi)tetrahidro-2*H*-piran-3,4,5-triil como un material blanco (2,5 g, 80 % en 2 etapas). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,26 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 7,21 (dd, *J* = 8,3, 2,2 Hz, 1H), 7,01 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 5,90-5,82 (m, 1H), 5,42 – 5,24 (m, 6H), 5,16 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,64 – 4,55 (m, 4H), 4,19 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 3,84 (d, *J* = 14,0 Hz, 1H), 3,67 (d, *J* = 14,0 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,03 (s, 3H). LCMS (ESI) *m/z* 496,5 (*M* + *H*)⁺.

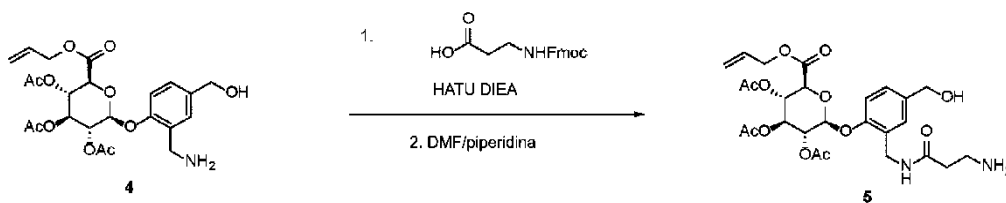
Intermedio 5



A una suspensión del **Intermedio 4** (2,5 g, 5,0 mmol) en diclorometano (20 ml) se le añadió *N*-etil-*N*-isopropilpropan-2-amina (1,8 ml, 10,1 mmol) y 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-il (1,3 g, 4,4 mmol). Se agitó a 20 °C durante 10 minutos, se añadió después agua (50 ml). La capa orgánica se separó, la capa acuosa se extrajo después con diclorometano (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, el solvente se evaporó. A una solución de triacetato de (2*S*,3*S*,4*S*,5*R*,6*S*)-2-((aliloxi)carbonil)-6-(2-((3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propanamido)metil)-4-(hidroximetil)fenoxi)tetrahidro-2*H*-piran-3,4,5-triil (2,8 g, 4,2 mmol) en diclorometano (20 ml) se le añadió ácido clorhídrico (4,0 M en 1,4-dioxano, 2,6 ml, 83,9 mmol). Se agitó a 20 °C durante 2 h, el solvente se evaporó después. El compuesto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna en fase inversa para obtener el **Intermedio 5** triacetato de (2*S*,3*S*,4*S*,5*R*,6*S*)-2-((aliloxi)carbonil)-6-(2-((3-

aminopropanamido)metil)-4-(hidroximetil)fenoxi)tetrahidro-2*H*-piran-3,4,5-triil como un material incoloro (1,3 g, 53 % en 2 etapas). ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7,22 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,84 (ddt, *J* = 16,6, 10,5, 6,0 Hz, 1H), 5,44 (t, *J* = 9,2 Hz, 1H), 5,38 (dd, *J* = 7,6, 3,3 Hz, 1H), 5,35 – 5,23 (m, 4H), 4,62 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,26 (q, *J* = 15,3 Hz, 2H), 3,23 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,68 (td, *J* = 6,8, 1,9 Hz, 2H), 2,06 (d, *J* = 10,4 Hz, 9H). LCMS (ESI) *m/z* 567,2 (*M* + *H*)⁺.

Síntesis alternativa del Intermedio 5



10

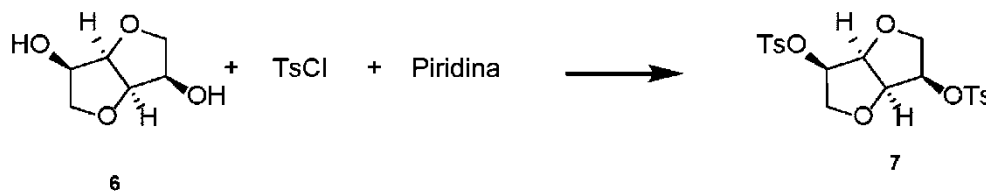
A un reactor agitado que contenía el Intermedio 4 (2,1 kg, 90,5 % p/p, 3,57 mol) y acetonitrilo (19 l) se le añadió Fmoc-β-alanina (1,11 kg, 3,57 mol). La mezcla agitada se enfrió a 0 °C. A esto se le añadió hexafluorofosfato de azabenzotriazol tetrametil uronio (1,36 kg, 3,57 mol) y N,N-diisopropiletilamina (0,92 kg, 7,14 mol), y se agitó durante 4 horas, manteniendo la temperatura en 0 °C. Se añadió agua (19 l) y acetato de etilo (19 l) a la mezcla agitada. La fase orgánica se separó y se concentró a ~19 l al vacío. Se añadió acetato de etilo (28,5 l) a la solución concentrada y se agitó a 20-25 °C durante 18 horas. La suspensión resultante se filtró, la torta se lavó con acetato de etilo (3,87 l), y se secó al vacío hasta triacetato de (2*S*,3*R*,4*S*,5*S*,6*S*)-2-(2-
((3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanamido)metil)-4-

20

(hidroximetil)fenoxi)-6-((aliloxi)carbonil)tetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil (1,6 kg, 99 % p/p, 56 %). LCMS m/z 789 [M+H]⁺

A un reactor agitado que contenía triacetato de (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(((3-
 (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanamido)metil)-4-(hidroximetil)fenoxi)-6-
 5 ((aliloxi)carbonil)tetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil (1 kg, 1,27 mol) y tetrahidrofurano (10 l) a -
 45 °C bajo nitrógeno se le añadió 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidropirimido[1,2-a]azepina
 (385,98 g, 2,54 mol). La mezcla se agitó a -45 °C durante cuatro horas, se diluyó después
 con acetonitrilo (5 l) y se inactivó mediante la adición de cloruro de hidrógeno en solución de
 éter terc-butilmetílico (2,54 l, 2,0 M, 5,07 mol). La mezcla se concentró a ~5 l al vacío, y se
 10 diluyó con n-heptano (5 l). Se recolectó la capa de acetonitrilo que contenía el Intermedio 8
 (3,88 kg de solución de MeCN, área de 89,97 %, supuesto 100 %). LCMS m/z 566,6 [M+H]⁺

Intermedio 7

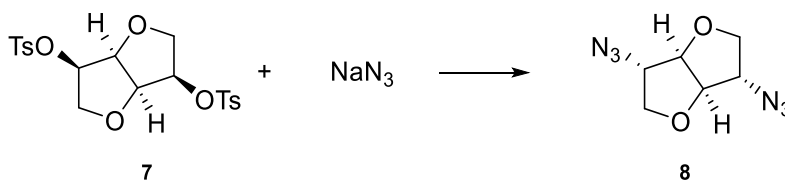


15

A un matraz de fondo redondo de 250 ml se le añadió el **Intermedio 6** (5,0 g, 34,21 mmol) en DCM seco (100 ml) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió piridina (13,84 ml, 171,07 mmol) seguida de tosilo-Cl (16,31 g, 85,53 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano
 20 (200). La capa orgánica se separó, y el compuesto se extrajo en 200 ml de diclorometano.

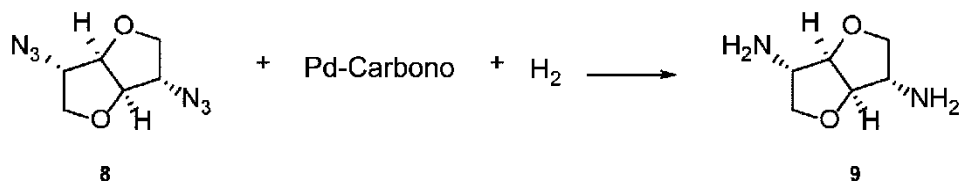
La capa orgánica combinada se lavó con solución de HCl (1M-300 ml), salmuera (200 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener los productos crudos. El compuesto se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el **Intermedio 7** bis(4-metilbencenosulfonato) de (3R,3aS,6R,6aS)-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3,6-diil (14,90 g, 96 %). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,90 – 7,76 (m, 4H), 7,45 – 7,33 (m, 4H), 4,94 – 4,80 (m, 2H), 4,55 – 4,44 (m, 2H), 3,94 (dd, J = 9,6, 6,7 Hz, 2H), 3,75 (dd, J = 9,6, 7,6 Hz, 2H), 2,48 (s, 6H). LCMS (ESI) m/z 455,21 (M + H)⁺.

Intermedio 8



A un matraz de fondo redondo de 50 ml se le añadió el **Intermedio 7** (6,0 g, 13,20 mmol) en DMF seca (15 ml) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió azida de sodio (2,146 g, 33,00 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo a 140 °C durante 3 h. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (200 x 2 ml), y la capa orgánica se separó, se lavó con agua (200 ml), salmuera (200 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el **Intermedio 8** (3S,3aR,6S,6aR)-3,6-diazidohexahidrofuro[3,2-b]furano (2,050 g, 79 %). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4,61 (d, J = 1,9 Hz, 2H), 4,05 (d, J = 4,0 Hz, 2H), 3,97 – 3,82 (m, 4H). LCMS (ESI) m/z 197,1 (M + H)⁺.

Intermedio 9



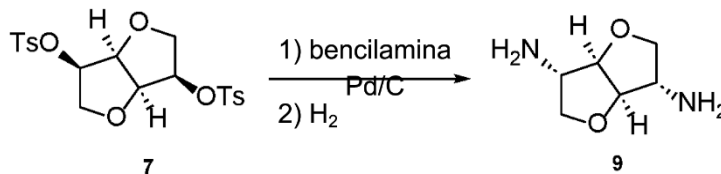
5 A un matraz de fondo redondo de 250 ml se le añadió el **Intermedio 8** (1 g, 5,10 mmol) en THF seco (20 ml) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió carbonato de paladio(II) y bario (0,618 g, 0,51 mmol). La mezcla de reacción se lavó con gas de hidrógeno (1,028 g, 509,76 mmol) y se agitó a 23 °C durante 3 h bajo gas de H₂. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la

10 reacción. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (20 ml), se filtró a través de almohadilla de celite. La almohadilla de celite se lavó con metanol (50 ml). El filtrado se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el

Intermedio 9 (3S,3aR,6S,6aR)-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3,6-diamina (0,590 g, 80 %). ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 4,23 (s, 2H), 3,68 (dd, *J* = 8,7, 4,5 Hz, 2H), 3,41 (dd, *J* = 8,7, 1,9 Hz, 2H), 3,23 (dd, *J* = 4,5, 1,9 Hz, 2H), 1,54 (s, 4H). LCMS (ESI) *m/z* 145,2 (*M* + *H*)⁺.

15

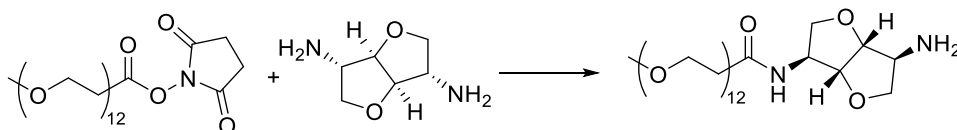
Síntesis alternativa del Intermedio 9



Al reactor se le añadió el intermedio 6 (4 kg, 8,8 mol) y bencilamina (12 l) bajo nitrógeno. La mezcla agitada se calentó a 160 °C durante 24 horas, se enfrió después a 20-25 °C, se diluyó con éter terc-butilmetílico (80 l) y se enfrió aún más a 10 °C. A esto se le añadió ácido *para*-toluenosulfónico (12,11 kg, 70,44 mol), la mezcla se agitó durante 2,5 horas a 20-25 °C y se filtró después. La torta se lavó con éter terc-butilmetílico (8 l) y los filtrados combinados se lavaron con solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (20 l). La fase orgánica se evaporó a sequedad, se disolvió en etanol (20 l) y se evaporó a sequedad para obtener el intermedio 7 crudo (3,05 kg, 80,5 % p/p, 85,9 %) LCMS m/z (ES+), $[M+H]^+ = 325,1$

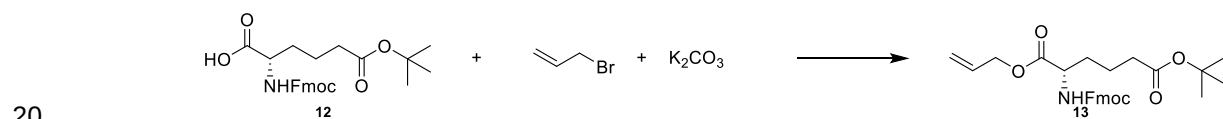
A un reactor se le añadió el Intermedio 7 (1,5 kg, 3,08 mol) y etanol (12,12 l) bajo una atmósfera seca bajo nitrógeno. A la solución se le añadió 10 % en peso de paladio sobre carbono (120,8, 10 % p/p). La mezcla de reacción se lavó con gas de hidrógeno y se agitó a 80 °C durante 16 horas bajo hidrógeno. La mezcla se enfrió a 20-25 °C y se filtró a través de celulosa (2,42 kg). La torta se lavó con etanol (2,44 l) y los filtrados combinados se concentraron a sequedad. El residuo se disolvió en acetonitrilo (6,04 l) y se concentró a sequedad para obtener el Intermedio 9 (509 g, 84 % p/p, 80,2 %). LCMS m/z (ES+), $[M+H]^+ = 145$

Intermedio 11



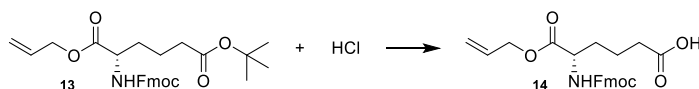
A un matraz de fondo redondo de 250 ml se le añadió el **Intermedio 9** (1,50 g, 10,40 mmol) en THF seco (25 ml) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió hidrogenocarbonato de sodio (1,748 g, 20,81 mmol) y el **Intermedio 10** 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-oato de 2,5-dioxopirrolidin-1-il (7,13 g, 10,40 mmol) en porciones bajo gas de nitrógeno y se agitó a 20 °C durante 6 h. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de metanol (10 ml). La mezcla de reacción se diluyó con metanol (20 ml), se filtró a través de almohadilla de celite. La almohadilla de celite se lavó con metanol (50 ml). El filtrado se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el **Intermedio 11** *N*-((3*S*,3*aR*,6*S*,6*aR*)-6-aminohexahidrofuro[3,2-*b*]furan-3-il)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amida (4,00 g, 53,8 %). ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 4,64 – 4,59 (m, 1H), 4,45 (dd, *J* = 4,1, 1,3 Hz, 1H), 4,29 (dt, *J* = 4,1, 1,9 Hz, 1H), 3,96 (ddd, *J* = 10,2, 9,3, 4,9 Hz, 2H), 3,81 – 3,74 (m, 3H), 3,73 – 3,62 (m, 45H), 3,61 – 3,56 (m, 2H), 3,45 (dt, *J* = 3,8, 1,8 Hz, 1H), 3,40 (s, 3H), 2,52 – 2,47 (m, 2H). LCMS (ESI) *m/z* 715,6 (*M* + *H*)⁺.

Intermedio 13



A un matraz de fondo redondo de 250 ml se le añadió el **Intermedio 12** ácido (S)-2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-(terc-butoxi)-6-oxohexanoico (5 g, 11,38 mmol) en DMF seca (20 ml) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió carbonato de potasio (3,14 g, 22,75 mmol) y 3-bromoprop-1-eno (1,485 ml, 17,06 mmol) en porciones bajo gas de nitrógeno y se agitó a 20 °C durante 16 h. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con agua (500 ml) y la capa orgánica se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 ml), se lavó con agua (300 ml), salmuera (200 ml) y se secó sobre sulfato de sodio (20 g). El solvente se eliminó para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el **Intermedio 13** 1-alilo 6-(terc-butil) (S)-2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)hexanodioato (5,10 g, 93 %). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,79 – 7,73 (m, 2H), 7,61 (q, J = 3,9 Hz, 2H), 7,40 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,32 (tt, J = 7,4, 1,2 Hz, 2H), 5,91 (ddt, J = 16,5, 10,9, 5,8 Hz, 1H), 5,42 – 5,23 (m, 3H), 4,66 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 4,40 (q, J = 4,8 Hz, 3H), 4,23 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 2,26 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,96 – 1,82 (m, 1H), 1,72 (dq, J = 13,5, 6,1 Hz, 3H), 1,60 – 1,47 (m, 1H), 1,45 (s, 9H). LCMS (ESI) m/z 480,2 (M + H)⁺.

Intermedio 14

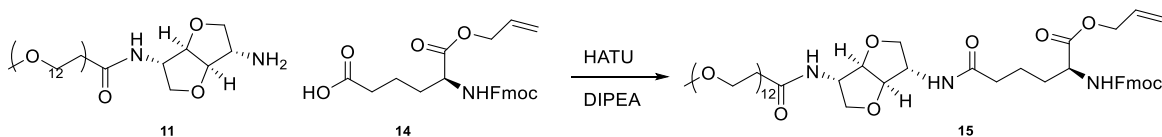


A un matraz de fondo redondo de 100 ml se le añadió el **Intermedio 13** (5 g, 10,43 mmol) en THF seco (20 ml) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió HCl (13,03 ml, 52,13 mmol), 4 molar en dioxano bajo gas de nitrógeno y se agitó a

20 °C durante 6 h. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con agua (200 ml) y la capa orgánica se extrajo con diclorometano (2 x 300 ml), se lavó con salmuera (200 ml) y se secó sobre sulfato de sodio (20 g). El solvente se eliminó para obtener el

5 **Intermedio 14** ácido (S)-5-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-(aliloxi)-6-oxohexanoico (4,20 g, 95 %). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,75 (dq, $J = 7,6, 1,0$ Hz, 2H), 7,62 – 7,52 (m, 2H), 7,42 – 7,35 (m, 2H), 7,30 (tt, $J = 7,4, 1,2$ Hz, 2H), 5,90 (ddt, $J = 16,4, 10,8, 5,8$ Hz, 1H), 5,48 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,37 – 5,20 (m, 2H), 4,64 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H), 4,40 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H), 4,22 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H), 2,45 – 2,24 (m, 2H), 1,93
10 (p, $J = 5,6$ Hz, 1H), 1,72 (td, $J = 13,9, 6,8$ Hz, 3H). (ESI) m/z 424,5 ($M - H$) $^-$.

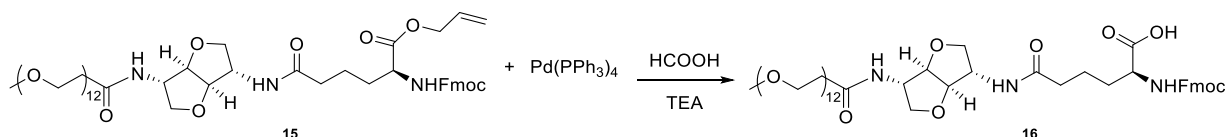
Intermedio 15



15 A un matraz de fondo redondo de 100 ml se le añadió el **Intermedio 14** (1,925 g, 4,55 mmol) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió HATU (1,862 g, 4,90 mmol) seguido de DIPEA (1,222 ml, 6,99 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, se le añadió después el **Intermedio 11** (2,5 g, 3,50 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a 23 °C durante 3 h. El análisis por LC-MS
20 mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (300 ml), se lavó con agua (200 ml), se extrajo la capa orgánica (2 x 100 ml), se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre sulfato de sodio (5 g). El solvente

se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el **Intermedio 15** (S)-6-(((3S,3aR,6S,6aR)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amido)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-oxohexanoato de alilo (3,40 g, 87 %) ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7,86 (dd, $J = 7,6, 1,2$ Hz, 2H), 7,74 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,46 (td, $J = 7,5, 1,4$ Hz, 2H), 7,38 (tt, $J = 7,5, 1,3$ Hz, 2H), 6,05 – 5,93 (m, 1H), 5,39 (dq, $J = 17,2, 1,6$ Hz, 1H), 5,28 (dq, $J = 10,5, 1,4$ Hz, 1H), 4,73 – 4,65 (m, 2H), 4,58 (qd, $J = 4,1, 1,0$ Hz, 2H), 4,46 (dd, $J = 10,6, 7,0$ Hz, 1H), 4,40 (dd, $J = 10,6, 7,0$ Hz, 1H), 4,36 – 4,31 (m, 2H), 4,31 – 4,24 (m, 2H), 4,01 (ddd, $J = 9,6, 5,0, 1,1$ Hz, 2H), 3,84 – 3,73 (m, 5H), 3,72 – 3,60 (m, 44H), 3,60 – 3,56 (m, 2H), 3,41 (s, 3H), 2,49 (td, $J = 6,0, 1,9$ Hz, 2H), 2,31 (hept, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,96 – 1,85 (m, 1H), 1,85 – 1,68 (m, 3H). LCMS (ESI) m/z 1121,3 ($M + H$)⁺.

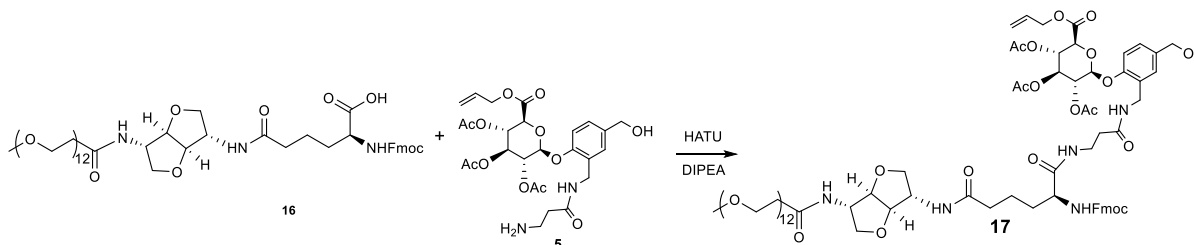
Intermedio 16



A un matraz de fondo redondo de 50 ml se le añadió el **Intermedio 15** (4,3 g, 3,84 mmol) en DCM seco (10 ml) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió trietilamina (0,535 ml, 3,84 mmol) seguida de trifenilfosfina (0,101 g, 0,38 mmol). A la mezcla de reacción se le añadió $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0,444 g, 0,38 mmol), se añadió después ácido fórmico (0,147 ml, 3,84 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 23 °C durante 6 h. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener los productos crudos. El producto crudo se

purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el **Intermedio 16** ácido ((S)-6-(((3S,3aR,6S,6aR)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amido)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-oxohexanoico (3,50 g, 84 %). ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8,12 (dd, $J = 10,2, 7,0$ Hz, 2H), 7,90 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,74 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,63 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,46 – 7,38 (m, 2H), 7,34 (td, $J = 7,4, 1,2$ Hz, 2H), 4,38 (s, 2H), 4,32 – 4,20 (m, 3H), 4,11 (ddt, $J = 7,2, 4,8, 2,1$ Hz, 2H), 3,93 (td, $J = 8,4, 4,6$ Hz, 1H), 3,85 (dd, $J = 9,3, 5,1$ Hz, 2H), 3,63 – 3,57 (m, 4H), 3,54 – 3,45 (m, 42H), 3,45 – 3,40 (m, 2H), 3,24 (s, 3H), 2,33 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,68 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 1,64 – 1,48 (m, 3H). LCMS (ESI) m/z 1080,6 ($M + H$) $^+$.

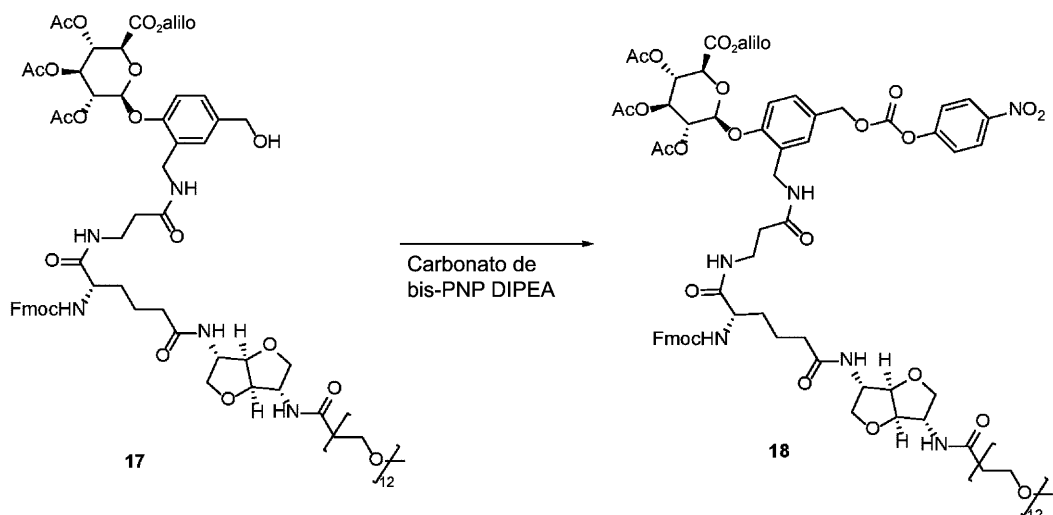
Intermedio 17



A un matraz de fondo redondo de 100 ml se le añadió el **Intermedio 16** (0,8 g, 0,74 mmol) bajo gas de nitrógeno. A la solución se le añadió HATU (0,366 g, 0,96 mmol) seguido de DIPEA (0,388 ml, 2,22 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, se añadió después el **Intermedio 5** (0,670 g, 1,11 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a 23 °C durante 3 h. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (100 ml), se lavó con agua (100 ml), se extrajo la capa orgánica (2 x 100 ml), se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio (15

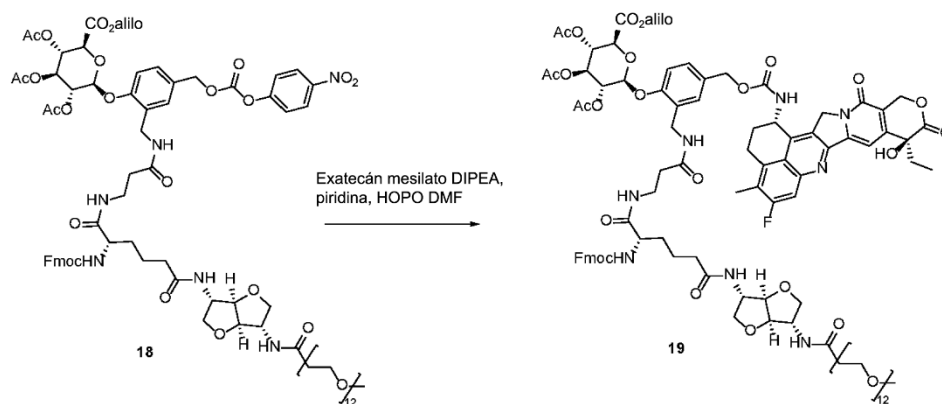
g). El solvente se eliminó a presión reducida y se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el **Intermedio 17** triacetato de (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-5-(4-(((3S,3aR,6S,6aR)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amido)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-4-oxobutil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,6,10-trioxo-2-oxa-4,7,11-triazadodecan-12-il)-4-(hidroximetil)fenoxi)-6-((aliloxi)carbonil)tetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil (0,640 g, 53,1 %). ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8,21 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 8,11 (dd, *J* = 19,5, 6,9 Hz, 2H), 7,94 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 7,89 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,73 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 7,49 – 7,39 (m, 3H), 7,33 (td, *J* = 7,5, 1,2 Hz, 2H), 7,17 (dd, *J* = 8,4, 2,2 Hz, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,01 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,89 (ddt, *J* = 17,3, 10,5, 5,7 Hz, 1H), 5,56 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 5,48 (t, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,33 (dq, *J* = 17,2, 1,6 Hz, 1H), 5,26 (dq, *J* = 10,5, 1,4 Hz, 1H), 5,19 – 5,07 (m, 3H), 4,76 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,62 (ddt, *J* = 13,3, 5,6, 1,4 Hz, 1H), 4,54 (ddt, *J* = 13,3, 5,8, 1,4 Hz, 1H), 4,44 – 4,36 (m, 4H), 4,31 – 4,18 (m, 4H), 4,11 (d, *J* = 5,9 Hz, 3H), 3,93 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,88 – 3,81 (m, 2H), 3,66 – 3,56 (m, 5H), 3,56 – 3,45 (m, 42H), 3,45 – 3,39 (m, 3H), 3,29 – 3,27 (m, 1H), 3,24 (s, 3H), 3,18 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 2,33 (ddt, *J* = 14,6, 10,0, 7,6 Hz, 4H), 2,10 – 2,05 (m, 2H), 2,04 (s, 3H), 1,99 (d, *J* = 4,6 Hz, 6H), 1,54 (dt, *J* = 43,7, 8,9 Hz, 4H). LCMS (ESI) *m/z* 1629,8 (*M* + *H*)⁺.

Intermedio 18



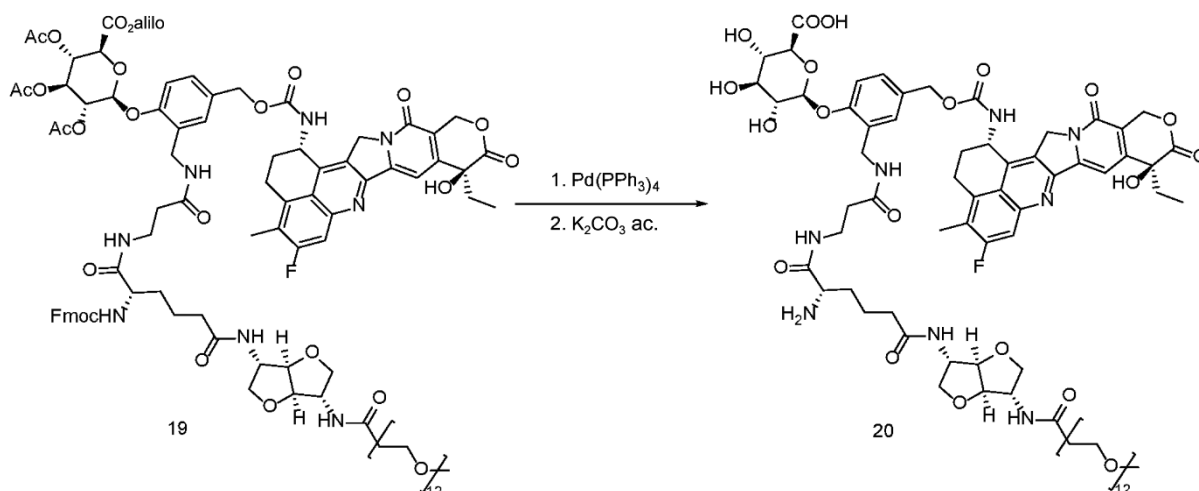
A una solución del **Intermedio 17** (25,00 mg, 0,02 mmol, 1,0 eq) en DMF se le añadió carbonato de bis(4-nitrofenilo) (28,0 mg, 0,09 mmol, 4,5 eq) y DIPEA (0,013 ml, 0,08 mmol, 4,0 eq). La mezcla se agitó a 23 °C durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se sometió a ultrasonido en DCM (200 µl) y dietil éter (2 ml). La suspensión resultante se secó en filtro de vacío y se repitió el proceso. El residuo se secó para obtener el **Intermedio 18** triacetato de (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-5-(4-(((3S,3aR,6S,6aR)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amido)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-4-oxobutil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,6,10-trioxo-2-oxa-4,7,11-triazadodecan-12-il)-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil)fenoxi)-6-((aliloxi)carbonil)tetrahydro-2H-piran-3,4,5-triil (32 mg, 0,02 mmol, 91 %) como un material amarillo. RT 7,74 min. LCMS (ESI) m/z 1794,7 [M+H]⁺.

Intermedio 19



A una solución de exatecán mesilato (7,41 mg, 0,01 mmol, 1,0 eq) en DCM (1 ml) y DMF (1,000 ml) se le añadió DIPEA (7,28 µl, 0,04 mmol, 4,0 eq), el **Intermedio 18** (25,00 mg, 0,01 mmol, 1,0 eq) y HOPO (1,703 mg, 0,02 mmol, 2,0 eq) y la mezcla resultante se agitó a 23 °C durante 18 horas. Después de este tiempo, la mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna en fase inversa (columna preempaquetada C18 BIOTAGE, 40-60 % de MeCN [0,1 % de ácido fórmico]/agua [0,1 % de ácido fórmico]) para obtener el **Intermedio 19** triacetato de (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-5-(4-(((3S,3aR,6S,6aR)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amido)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-4-oxobutil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,6,10-trioxo-2-oxa-4,7,11-triazadodecan-12-il)-4-((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)fenoxi)-6-((aliloxi)carbonil)tetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil (13 mg, 0,01 mmol, 63 %) como un material amarillo. RT 7,66 min. LCMS (ESI) 2090,3 [M+H]⁺.

Intermedio 20



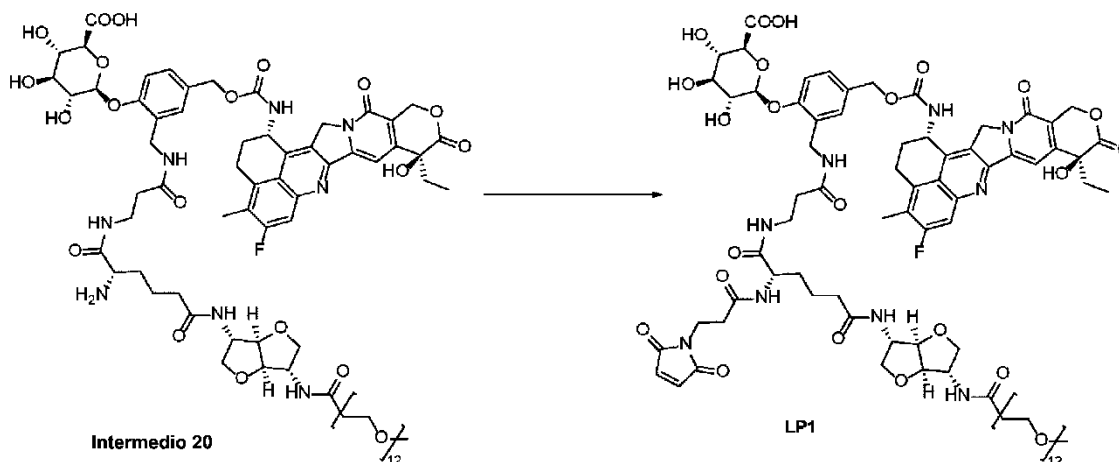
A una solución del **Intermedio 19** (15,00 mg, 7,18 μ mol, 1,0 eq) en DCM (1 ml) se le añadió trietilamina (2,00 μ l, 0,01 mmol, 1,4 eq), Pd(PPh₃)₄ (1,00 mg, 0,87 μ mol, 12 % mol) y ácido fórmico (0,541 μ l, 0,01 mmol, 1,4 eq) y la mezcla se agitó a 23 °C durante 18 horas la mezcla. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se concentró y el residuo crudo se disolvió en metanol (0,25 ml) y THF (0,25 ml). A esta solución se le añadió carbonato de potasio (9,44 mg, 0,07 mmol, 10 eq) en agua (0,5 ml) y la mezcla se agitó a 23 °C durante 3 horas. Después de este tiempo, la mezcla se concentró *in vacuo* para eliminar los orgánicos. La solución acuosa restante se acidificó con ácido cítrico (1 N) hasta alcanzar un pH 4 y la mezcla se agitó durante 1 hora a 23 °C. Después de este tiempo, la mezcla se filtró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna en fase inversa (columna preempaquetada C18 BIOTAGE, 20-40 % de MeCN [0,1 % de ácido fórmico]/agua [0,1 % de ácido fórmico]) para obtener el **Intermedio 20** ácido

(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-((3-((S)-6-(((3S,3aR,6S,6aR)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amido)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-2-amino-6-oxohexanamido)propanamido)metil)-4-((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-

dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)fenoxi)-3,4,5-trihidroxitetrahidro-2H-piran-2-carboxílico (8,6 mg, 5,03 μ mol, 70 %) como un material amarillo. RT 5,08 min. LCMS (ESI) 1702,6 [M+H]⁺.

Enlazador-Carga útil LP-1

5



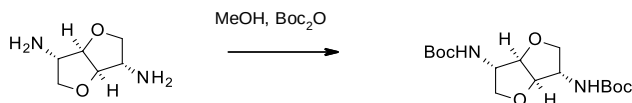
A una solución del **Intermedio 20** (6,20 mg, 3,64 μ mol, 1,0 eq) en DMF (0,5 ml) se le añadió piridina (0,7 μ l, 5,5 μ mol, 1,5 eq) y 3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-il (0,970 mg, 3,64 μ mol, 1,0 eq). La mezcla se agitó a 23 °C durante 3 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y el residuo se purificó mediante HPLC en fase inversa (CSH 35 % de MeCN [0,1 % de ácido fórmico]/agua [0,1 % de ácido fórmico] durante 7 min) para obtener **LP-1** ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-(((3-(((S)-6-(((3S,3aR,6S,6aR)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amido)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)propanamido)-6-oxohexanamido)propanamido)metil)-4-(((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)fenoxi)-3,4,5-

trihidroxitetrahydro-2H-piran-2-carboxílico (2,7 mg, 1,46 μ mol, 40 %) como un material blanco. RT 5,87 min. LCMS (ESI) 1853,5 [M+H]⁺.

Síntesis alternativa de LP-1

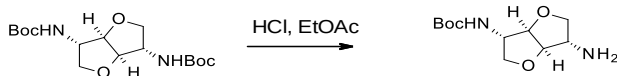
Intermedio A

5



Al intermedio **9** (22,0 g, 152,6 mmol) en metanol (440 ml) se le añadió anhídrido de boc (83,3 g, 381,5 mmol, 2,5 eq) y la reacción se agitó durante 2 horas a 20 °C. El análisis por ELSD mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se suspendió con MTBE (200 ml), se filtró, se lavó con MTBE (40 ml) y se secó para obtener el **Intermedio A** N-[(3S,3aR,6S,6aR)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2,3,3a,5,6,6a-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il]carbamato de terc-butilo (44,0 g, 84,3 %). LCMS m/z 366,8 [M+Na]⁺

Intermedio B

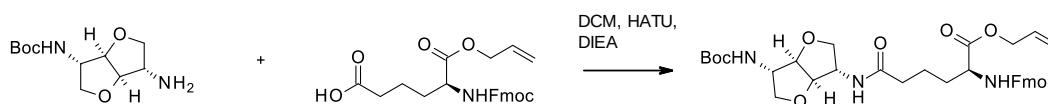


Al intermedio **A** (2,0 g, 5,81 mmol, 1,0 eq) en acetato de etilo (40 ml) se le añadió HCl en acetato de etilo (4 M, 8,0 ml) y la reacción se agitó durante 6 horas a 20 °C. El análisis por ELSD mostró la formación del producto deseado y la finalización

de la reacción. La reacción se inactivó con solución de fosfato de potasio (2 M, 20 ml), se separaron las capas y se conservó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (10 ml) y se combinaron las capas orgánicas. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el **Intermedio B** *N*-[(3*S*,3*aR*,6*S*,6*aR*)-3-amino-2,3,3*a*,5,6,6*a*-hexahidrofuro[3,2-*b*]furan-6-il]carbamato de terc-butilo (800 mg, 57,1 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 4,32 (m, 1H), 3,93 (m, 1H), 3,85 (m, 2H), 3,6 (m, 2H), 3,28 (m, 1H), 1,47 (s, 9H). LCMS *m/z* 145 [M+H-Boc]⁺

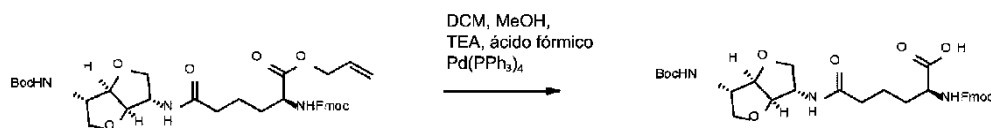
Intermedio C

10



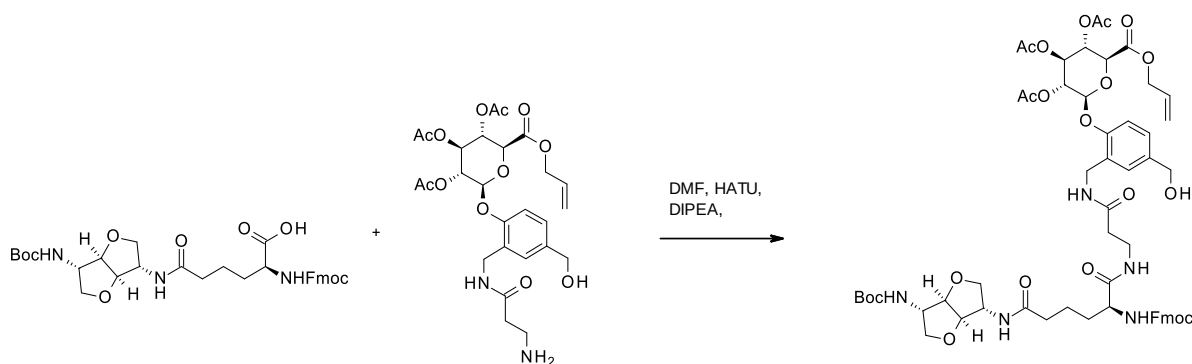
A una solución del **Intermedio 14** (17,16 g, 40,5 mmol, 1,1 eq) en DCM (180 ml) a 25 °C, se le añadió HATU (16,8 g, 44,2 mmol, 1,2 eq) y DIPEA (10,9 ml, 62,6 mmol, 1,7 eq). La mezcla de reacción se agitó durante 15 min. A la solución de reacción se le añadió el **Intermedio B** (9,0 g, 36,8 mmol, 1,0 eq) en DCM 90 ml)). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se lavó dos veces con NaCl (15 % ac, 90 ml) y se desecharon las capas acuosas. El solvente se eliminó a presión reducida para dar (2*S*)-6-[[[(3*S*,3*aR*,6*S*,6*aR*)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2,3,3*a*,5,6,6*a*-hexahidrofuro[3,2-*b*]furan-3-il]amino]-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-6-oxo-hexanoato de alilo **Intermedio C** (9,0 g, 65,2 %). LCMS *m/z* 671,6 [M+Na]⁺

Intermedio D



A una solución del **Intermedio C** (9,0 g, 13,9 mmol, 1,0 eq) en DCM/MeOH
 5 (20:1, 128,6 ml: 6,4 ml) se le añadió ácido fórmico (1,05 ml, 27,7 mmol, 2,0 eq), trietilamina
 (5,79 ml, 41,6 mmol, 3,0 eq) y Pd(PPh₃)₄ (1,6 g, 1,39 mmol, 0,1 eq). La mezcla de reacción
 se agitó durante 3 horas a 20-25 °C. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto
 deseado y la finalización de la reacción. El solvente se eliminó a presión reducida para
 obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice
 10 (DCM a DCM: MeOH 4:1) para obtener el **Intermedio D** ácido (2S)-6-[[[(3S,3aR,6S,6aR)-6-
 (terc-butoxicarbonilamino)-2,3,3a,5,6,6a-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il]amino]-2-(9H-
 fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-6-oxo-hexanoico (7,0 g, 82,9 %). LCMS m/z 610,1 [M+H]⁺

Intermedio E

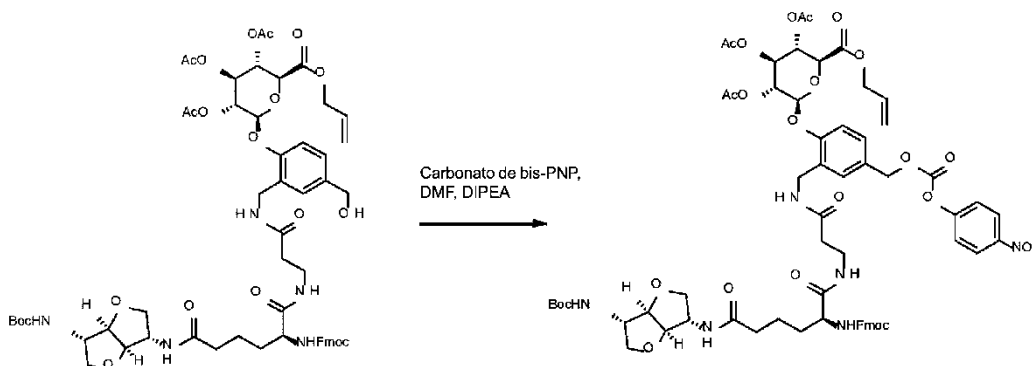


15

A una solución del **Intermedio D** (4,0 g, 6,56 mmol, 1,0 eq) en DMF (80 ml)
 a 0-5 °C se le añadió el **Intermedio 5** (11,2 g, 19,7 mmol, 3,0 eq), HATU (3,74 g,

9,84 mmol, 1,5 eq), y DIPEA (3,43 ml, 19,7 mmol, 3,0 eq). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 0-5 °C. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (80 ml) y se lavó dos veces con NaCl (15 % ac, 40 ml). Las capas acuosas se desecharon y el solvente se eliminó de la capa orgánica a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice (EtOAc a 20 % de MeOH) para obtener el **Intermedio E** (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-[[[3-[[[(2S)-6-[[[(3S,3aR,6S,6aR)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2,3,3a,5,6,6a-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il]amino]-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-6-oxo-hexanoil]amino]propanoilamino]metil]-4-(hidroximetil)fenoxi]-3,4,5-triacetoxi-tetrahidropiran-2-carboxilato de alilo (3,6 g, 47,4 %) LCMS m/z 1158,2 [M+H]⁺

Intermedio F

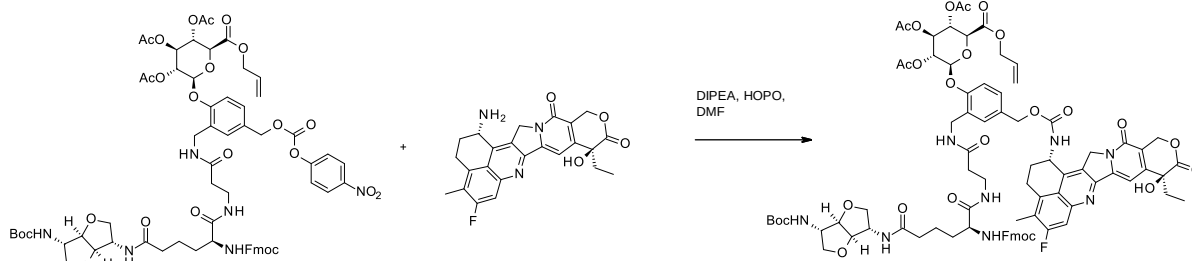


15

A una solución del **Intermedio E** (800 mg, 691 μmol, 1,0 eq) en DMF (8 ml) se le añadió carbonato de bis(4-nitrofenilo) (840 mg, 2,76 mmol, 4,0 eq) y DIPEA (481 μl, 2,76 mmol, 4,0 eq). La mezcla se agitó a 20-25 °C durante 2 horas. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. El solvente se

eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice (5 %-50 % de MeCN en agua, 0,1 % de ácido fórmico) para obtener el **Intermedio F** (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-[[3-[[[(2S)-6-[[[(3S,3aR,6S,6aR)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2,3,3a,5,6,6a-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il]amino]-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-6-oxo-hexanoil]amino]propanoilamino]metil]-4-[(4-nitrofenoxi)carboniloximetil]fenoxi]-3,4,5-triacetoxi-tetrahidropiran-2-carboxilato de alilo (400 mg, 43,8 %) ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,14 - 1,29 (m, 3 H) 1,38 (s, 9 H) 1,53 (br dd, J=18,52, 8,25 Hz, 4 H) 1,98 - 2,09 (m, 12 H) 2,13 (d, J=2,93 Hz, 1 H) 2,32 - 2,45 (m, 2 H) 3,35 (s, 11 H) 3,58 (br d, J=6,42 Hz, 2 H) 3,71 (s, 12 H) 3,78 - 3,88 (m, 3 H) 3,90 - 4,17 (m, 4 H) 4,18 - 4,42 (m, 6 H) 4,50 - 4,67 (m, 2 H) 4,80 (d, J=10,09 Hz, 1 H) 5,09 - 5,38 (m, 6 H) 5,47 - 5,55 (m, 1 H) 5,65 (d, J=7,89 Hz, 1 H) 5,82 - 5,96 (m, 1 H) 6,10 (s, 4 H) 7,11 (d, J=8,44 Hz, 1 H) 7,21 (br d, J=5,50 Hz, 1 H) 7,28 - 7,37 (m, 4 H) 7,37 - 7,44 (m, 3 H) 7,46 - 7,61 (m, 3 H) 7,65 - 7,76 (m, 2 H) 7,89 (d, J=7,34 Hz, 2 H) 7,99 (br t, J=5,50 Hz, 1 H) 8,09 (d, J=6,97 Hz, 1 H) 8,27 - 8,34 (m, 3 H) LCMS m/z 1323,1 [M+H]⁺

Intermedio G

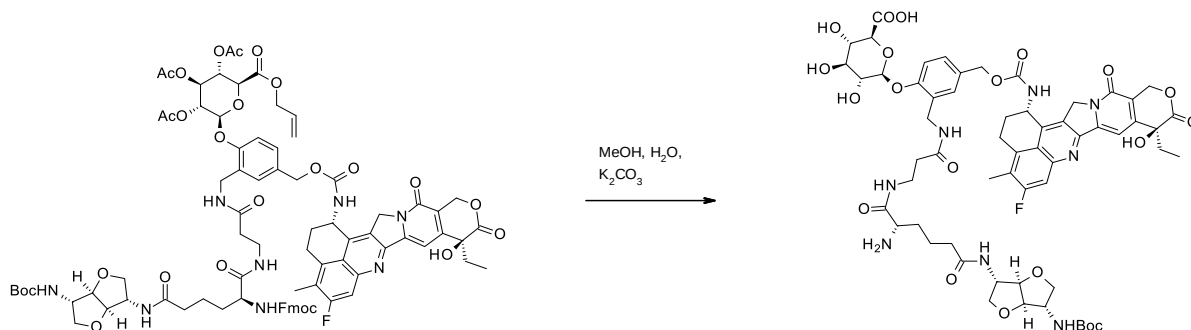


A una solución de exatecán mesilato (1,12 g, 2,12 mmol, 4,0 eq) en DMF

(7 ml) se le añadió DIPEA (369 µl, 2,12 mmol, 4,0 eq), el **Intermedio F** (700 mg,

529 μmol , 1,0 eq) y HOPO (117,5 mg, 1,06 mmol, 2,0 eq) y la mezcla resultante se agitó a 20-25 °C durante 1 hora. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (9 ml) y se lavó con NaCl (15 % ac, 12 ml). El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se suspendió con acetato de etilo/MTBE (1:1, 5 ml), se filtró y se secó para obtener el **Intermedio G** (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-[[3-[[[(2S)-6-[[[(3S,3aR,6S,6aR)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2,3,3a,5,6,6a-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il]amino]-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-6-oxo-hexanoil]amino]propanoilamino]metil]-4-[[[(10S,23S)-10-etil-18-fluoro-10-hidroxi-19-metil-5,9-dioxo-8-oxa-4,15-diazahexaciclo[14.7.1.02,14.04,13.06,11.020,24]tetracosa-1,6(11),12,14,16(24),17,19-heptaen-23-il]carbamoiloximetil]fenoxi]-3,4,5-triacetoxi-tetrahidropiran-2-carboxilato de alilo (360 mg, 73,5 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,81 - 0,94 (m, 2 H) 1,11 - 1,26 (m, 3 H) 1,37 (s, 6 H) 1,42 - 1,59 (m, 3 H) 1,81 - 1,92 (m, 1 H) 1,95 - 2,15 (m, 9 H) 2,29 - 2,44 (m, 3 H) 2,73 (s, 1 H) 2,89 (s, 1 H) 3,49 - 3,61 (m, 2 H) 3,71 (s, 16 H) 3,81 (br d, $J=6,36$ Hz, 2 H) 3,85 - 3,95 (m, 1 H) 3,99 - 4,12 (m, 2 H) 4,12 - 4,28 (m, 2 H) 4,33 (br d, $J=3,91$ Hz, 1 H) 4,39 (br d, $J=4,16$ Hz, 1 H) 4,48 - 4,64 (m, 1 H) 4,78 (br d, $J=10,27$ Hz, 1 H) 5,06 - 5,34 (m, 5 H) 5,41 - 5,53 (m, 2 H) 5,60 (br d, $J=7,58$ Hz, 1 H) 5,81 - 5,93 (m, 1 H) 6,09 (s, 5 H) 6,92 (d, $J=8,26$ Hz, 2 H) 7,09 (br d, $J=8,56$ Hz, 1 H) 7,17 - 7,42 (m, 5 H) 7,64 - 7,79 (m, 2 H) 7,80 - 7,90 (m, 1 H) 7,93 - 7,99 (m, 1 H) 8,00 - 8,14 (m, 3 H) LCMS m/z 810,3 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$

Intermedio H



A una solución del **Intermedio G** (1,5 g 80 %, 741 μmol , 1,0 eq) en MeOH (2,6 ml) se le añadió K_2CO_3 (1,02 g, 7,41 mmol, 10,0 eq) y agua (260 μl). La mezcla

5 resultante se agitó a 20-25 $^\circ\text{C}$ durante 1 hora. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice (5 %-50 % de MeCN en agua, 0,1 % de ácido fórmico) para obtener el

Intermedio H ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-[[3-[[[(2S)-6-[[[(3S,3aR,6S,6aR)-6-(terc-

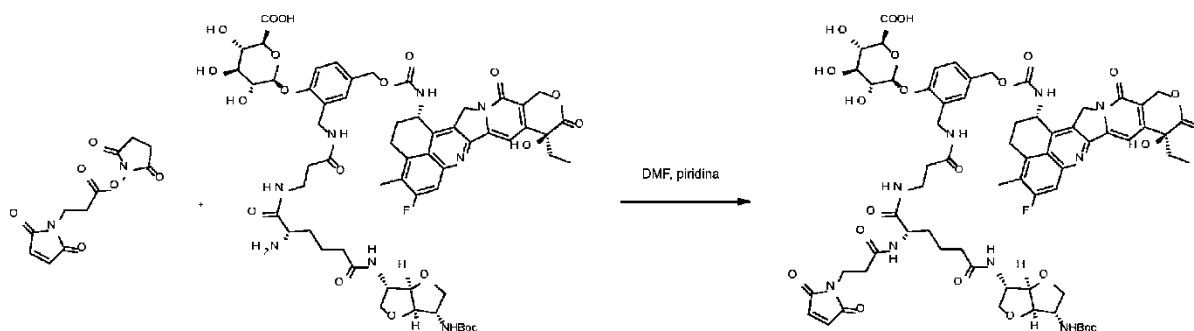
10 butoxycarbonilamino)-2,3,3a,5,6,6a-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il]amino]-2-amino-6-oxo-hexanoil]amino]propanoilamino]metil]-4-[[[(10S,23S)-10-etil-18-fluoro-10-hidroxi-19-metil-5,9-dioxo-8-oxa-4,15-diazahexaciclo[14.7.1.02,14.04,13.06,11.020,24]tetracosa-

1,6(11),12,14,16(24),17,19-heptaen-23-il]carbamoiloximetil]fenoxi]-3,4,5-trihidroxi-tetrahidropiran-2-carboxílico (450 mg, 67 %) ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,84

15 - 0,92 (m, 3 H) 1,24 (br s, 4 H) 1,29 (br d, $J=7,32$ Hz, 1 H) 1,38 (s, 8 H) 1,43 - 1,53 (m, 2 H) 1,60 (br s, 2 H) 1,81 - 2,11 (m, 5 H) 2,14 - 2,24 (m, 2 H) 2,29 - 2,36 (m, 1 H) 2,39 (s, 3 H) 2,40 - 2,44 (m, 1 H) 3,13 - 3,23 (m, 7 H) 3,23 - 3,32 (m, 14 H) 3,35 (br s, 12 H) 3,50 - 3,60 (m, 8 H) 3,77 - 3,85 (m, 3 H) 4,05 (br s, 1 H) 4,17 (br dd, $J=13,43$, 3,97 Hz, 1 H) 4,34 (br d, $J=3,36$ Hz, 1 H) 4,39 (d, $J=3,97$ Hz, 1 H) 4,49 (br dd, $J=13,28$, 7,78 Hz, 1 H) 4,60

(br d, J=6,71 Hz, 1 H) 5,03 (br d, J=12,21 Hz, 1 H) 5,10 (br d, J=12,21 Hz, 1 H) 5,28 (br s, 3 H) 5,45 (s, 2 H) 6,52 (br s, 1 H) 7,12 (d, J=8,24 Hz, 1 H) 7,20 (br s, 1 H) 7,32 (s, 1 H) 7,32 - 7,34 (m, 1 H) 7,40 (s, 1 H) 7,78 (d, J=10,68 Hz, 1 H) 8,03 - 8,15 (m, 1 H) 8,17 (s, 2 H) 8,24 (br d, J=6,10 Hz, 1 H) 8,47 (br s, 1 H) 9,30 (br s, 1 H). LCMS m/z 616,2 [M+2H]²⁺

5 Intermedio I



A una solución del **Intermedio H** (450 mg, 365 μ mol, 1,0 eq) en DMF (4,5 ml)

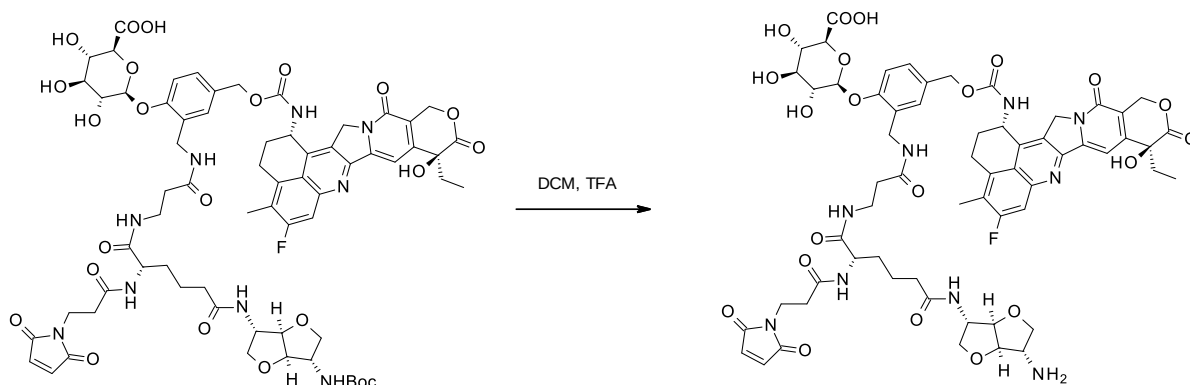
10 a 20-25 °C se le añadió piridina (225 μ l) y 3-maleimidopropionato de N-succinimidilo (195 mg, 731 μ mol, 2,0 eq) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice (5 %-50 % de MeCN en agua, 0,1 % de ácido

15 fórmico) para dar el **Intermedio I** ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-((3-((S)-6-(((3S,3aR,6S,6aR)-6-((terc-butoxicarbonil)amino)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)propanamido)-6-oxohexanamido)propanamido)metil)-4-((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-

20 b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)fenoxi)-3,4,5-trihidroxitetrahidro-2H-piran-2-carboxílico

(230 mg, 52,4 %) ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,84 - 0,91 (m, 2 H) 1,23 (br d, $J=9,77$ Hz, 5 H) 1,38 (s, 6 H) 1,81 - 1,94 (m, 1 H) 1,96 - 2,07 (m, 2 H) 2,13 - 2,24 (m, 1 H) 2,25 - 2,36 (m, 1 H) 2,50 - 2,52 (m, 7 H) 3,05 - 3,18 (m, 1 H) 3,24 (br d, $J=6,10$ Hz, 2 H) 3,29 (br s, 3 H) 3,34 (br s, 24 H) 3,51 - 3,63 (m, 4 H) 3,71 (s, 9 H) 3,75 - 3,88 (m, 3 H) 4,01 - 4,15 (m, 2 H) 4,21 (br d, $J=9,46$ Hz, 1 H) 4,34 (d, $J=3,66$ Hz, 1 H) 4,36 - 4,46 (m, 1 H) 4,72 (br s, 1 H) 5,06 - 5,15 (m, 1 H) 5,27 (br s, 2 H) 5,45 (s, 2 H) 6,09 (s, 3 H) 6,51 (s, 1 H) 6,97 (s, 1 H) 7,10 (d, $J=8,24$ Hz, 1 H) 7,19 (br d, $J=5,80$ Hz, 1 H) 7,31 (s, 1 H) 7,33 (s, 1 H) 7,77 (d, $J=10,99$ Hz, 1 H) 7,94 (br t, $J=5,34$ Hz, 1 H) 8,06 (br d, $J=8,55$ Hz, 1 H) 8,12 (br d, $J=6,71$ Hz, 1 H) 8,20 (br d, $J=8,24$ Hz, 1 H) LCMS m/z 1382,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

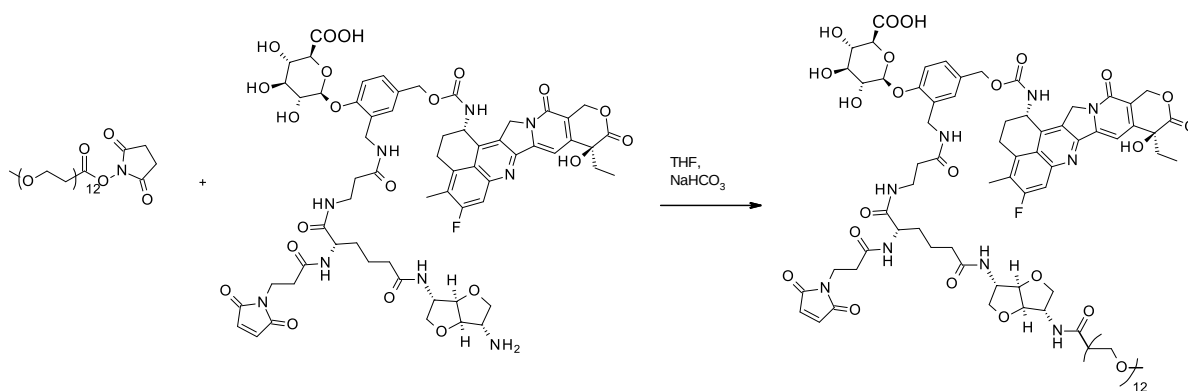
10 Intermedio J



A una solución del **Intermedio I** (230 mg, 166 μmol , 1,0 eq) en DCM (2,6 ml) se le añadió TFA (1,3 ml), y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 25 $^{\circ}\text{C}$. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice (5 %-50 % de MeCN en agua, 0,1 % de ácido fórmico) para obtener el **Intermedio J** ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-

[2-[[3-[[[(2S)-6-[[[(3S,3aR,6S,6aR)-3-amino-2,3,3a,5,6,6a-hexahidrofuro[3,2-b]furan-6-il]amino]-2-[3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propanoilamino]-6-oxo-hexanoil]amino]propanoilamino]metil]-4-[[[(10S,23S)-10-etil-18-fluoro-10-hidroxi-19-metil-5,9-dioxo-8-oxa-4,15-diazahexaciclo[14.7.1.02,14.04,13.06,11.020,24]tetracosa-1,6(11),12,14,16(24),17,19-heptaen-23-il]carbamoiloximetil]fenoxi]-3,4,5-trihidroxi-tetrahidropiran-2-carboxílico (120 mg, 54,5 %). LCMS m/z 641,5 [M+H]⁺

Enlazador-Carga útil LP-1



10

A una solución del **Intermedio J** (100 mg, 78,0 μmol , 1,0 eq) en THF (1 ml) se le añadió NaHCO_3 (13,1 mg, 156 μmol , 2,0 eq) y el **Intermedio 10** 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-oato de 2,5-dioxopirrolidin-1-il (64,2 mg, 93,6 μmol , 1,2 eq). La mezcla de reacción se agitó a 20 – 25 $^{\circ}\text{C}$ durante 16 h. El análisis por LC-MS mostró la formación del producto deseado y la finalización de la reacción. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna de gel de sílice (5 %-50 % de MeCN en agua, 0,1 % de ácido fórmico) para dar LP-1 ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-((3-((S)-6-

15

(((3S,3aR,6S,6aR)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-amido)hexahidrofuro[3,2-b]furan-3-il)amino)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)propanamido)-6-oxohexanamido)propanamido)metil)-4-((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-

5 benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)fenoxi)-3,4,5-trihidroxitetrahydro-2H-piran-2-carboxílico (60 mg, 40 %). LCMS m/z 927,2 [M+2H]²⁺

Conjugación anticuerpo-fármaco

ADC-1: Herceptin-WT-LP-1 (DAR 8)

Se añadió LP-1 como una solución en DMSO (16 equivalentes
10 molares/anticuerpo, 0,64 µmol, en 0,128 ml de DMSO) a 1,82 ml de la solución de Herceptin-wt anticuerpo en PBS, 1 mM de EDTA, pH 7,4 (6,0 mg, 40,0 nanomoles) para una concentración final de DMSO de 10 % (v/v). La solución se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora con agitación suave. La conjugación se inactivó después mediante la adición de *N*-acetil cisteína (3,2 micromoles, 32,03 µl a 100 mM), después se purificó y se
15 formuló en PBS pH 7,4 mediante filtración por centrifugación usando un filtro de centrifugación AMICON ULTRACELL 30 kDa MWCO de 15 ml, se filtró estéril y se analizó.

El análisis por UHPLC en un sistema SHIMADZU PROMINENCE usando una columna THERMO SCIENTIFIC MAbPac de 50 mm x 2,1 mm eluyendo con un gradiente de agua y acetonitrilo sobre una muestra reducida de ADC a 214 nm y 330 nm
20 muestra una mezcla de cadena ligera conjugada a 1 molécula de LP-1, y cadena pesada conjugada a 3,0 moléculas de LP-1, consistente con una relación fármaco-anticuerpo (DAR) de 7,9 moléculas de LP-1 por anticuerpo.

El análisis por UHPLC en un sistema SHIMADZU PROMINENCE usando una columna TOSOH BIOSCIENCE TSKgel SuperSW mAb HTP de 4 μ m 4,6 x 150 mm (con una columna de protección de 4 μ m 3,0 x 20 mm) eluyendo con 0,3 ml/minuto de regulador SEC filtrado estéril que contenía 200 mM de fosfato de potasio pH 6,95, 250 mM de cloruro de potasio y 10 % de isopropanol (v/v) sobre una muestra de ADC a 280 nm muestra una pureza del monómero de 97,9 %. El análisis por UHPLC SEC da una concentración de ADC final a 2,86 mg/ml en 1,6 ml, con una masa obtenida de 4,5 mg (75 % de rendimiento).

El análisis por LC-MS en un espectrómetro de masas EXACTIVE PLUS EMR conectado a un equipo de HPLC DIONEX 3000 usando una columna THERMO SCIENTIFIC MAbPac de 50 mm x 2,1 mm eluyendo con un gradiente de agua y acetonitrilo sobre una muestra desglicosilada y reducida de ADC a 214 nm muestra una mezcla de cadena ligera conjugada a 1 molécula de LP-1, y cadena pesada conjugada a 3,0 moléculas de LP-1, consistente con una relación fármaco-anticuerpo (DAR) de 7,9 moléculas de LP-1 por anticuerpo.

El análisis por UHPLC en un sistema SHIMADZU PROMINENCE usando una columna PROTEOMIX HIC butil-NP5, 5 μ m, no porosa, 4,6 x 35 mm (SEPAX) eluyendo con un gradiente de 1,5 M de sulfato de amonio, 25 mM de acetato de sodio, pH 7,4 y 25 mM de acetato de sodio, pH 7,4 con 20 % de acetonitrilo (v/v) sobre una muestra pura de ADC a 214 nm muestra LP-1 conjugado individualmente, consistente con una relación fármaco-anticuerpo (DAR) de 8 moléculas de LP-1 por anticuerpo.

SECUENCIAS

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
Sec. con núm. de ident.: 1	CDR 1 de VH de 40A3GL-LO14	RNSAVWN
Sec. con núm. de ident.: 2	CDR 2 de VH de 40A3GL-LO14	RTYYRSKWYNDYAPSVKS
Sec. con núm. de ident.: 3	CDR 3 de VH de 40A3GL-LO14	GLRQNNQFYYYMDV
Sec. con núm. de ident.: 4	CDR 1 de VL de 40A3GL-LO14	RASQSVASNLA
Sec. con núm. de ident.: 5	CDR 2 de VL de 40A3GL-LO14	GASTRAT
Sec. con núm. de ident.: 6	CDR 3 de VL de 40A3GL-LO14	QQYNNWPFT
Sec. con núm. de ident.: 7	CDR 1 de VH de 40A3GL-LO11	RNSAVWN
Sec. con núm. de ident.: 8	CDR 2 de VH de 40A3GL-LO11	RTYYRSKWYNDYAPSVKS
Sec. con núm. de ident.: 9	CDR 3 de VH de 40A3GL-LO11	GLLQNNQFYYYMDV
Sec. con núm. de ident.: 10	CDR 1 de VL de 40A3GL-LO11	RASQSVASNLA
Sec. con núm. de ident.: 11	CDR 2 de VL de 40A3GL-LO11	GASTRAT
Sec. con núm. de ident.: 12	CDR 3 de VL de 40A3GL-LO11	QQYNNWPFT
Sec. con núm. de ident.: 13	CDR1 de VH de STEAP2	RNSAVWN
Sec. con núm. de ident.: 14	CDR2 de VH de STEAP2	RTYYRSKWYNDYAVSVKS
Sec. con núm. de ident.: 15	CDR3 de VH de STEAP2	GLLQNNFYYYMDV
Sec. con núm. de ident.: 16	CDR1 de VL de STEAP2 (40A3)	RASQSVNSNLA
Sec. con núm. de ident.: 17	CDR2 de VL de STEAP2	GASTRAT

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
Sec. con núm. de ident.: 18	CDR3 de VL de STEAP2	QQYNNWPFT
Sec. con núm. de ident.: 19	CDR1 de VH de STEAP2-3	RNSAVWN
Sec. con núm. de ident.: 20	CDR2 de VH de STEAP2-3	RTYYRSKWYNDYAVSVKS
Sec. con núm. de ident.: 21	CDR3 de VH de STEAP2-3	GLLQNQFYYYMDV
Sec. con núm. de ident.: 22	CDR1 de VL de STEAP2-3 (40A3GL-LO7)	RASQSVSSNLA
Sec. con núm. de ident.: 23	CDR2 de VL de STEAP2-3	GASTRAT
Sec. con núm. de ident.: 24	CDR3 de VL de STEAP2-3	QQYNNWPFT
Sec. con núm. de ident.: 25	CDR1 de VH de STEAP2-2 humanizado	SYGMS
Sec. con núm. de ident.: 26	CDR2 de VH de STEAP2-2 humanizado	TISSGGSYTFYPDIMKG
Sec. con núm. de ident.: 27	CDR3 de VH de STEAP2-2 humanizado	RGYGTIYTFSFDA
Sec. con núm. de ident.: 28	CDR1 de VL de STEAP2-2 humanizado	RSSQSVVHSNANTYLE
Sec. con núm. de ident.: 29	CDR2 de VL de STEAP2-2 humanizado	KVSNRFS
Sec. con núm. de ident.: 30	CDR3 de VL de STEAP2-2 humanizado	FQGSHVPYT
Sec. con núm. de ident.: 31	VH de 40A3GL-LO14	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCA ISGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKWYNDYAPSVK SRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPE DTAVYYCARGLRQNQFYYYMDV WGKGTTVTVSS
Sec. con núm. de ident.: 32	VL de 40A3GL-LO14	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVASNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISLQSEDFAVYYCQQYNN WPFTFGPGTKVDIK

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
Sec. con núm. de ident.: 33	VH de 40A3GL-LO11	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCA ISGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKQWYNDYAPSVK SRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPE DTAVYYCARGLLQNQFYYMDV WGKGTTVTVSS
Sec. con núm. de ident.: 34	VL de 40A3GL-LO11	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVASNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISLQSEDFAVYYCQQYNN WPFTFGPGTKVDIK
Sec. con núm. de ident.: 35	VH de STEAP2	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCA ISGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKQWYNDYAVSVK SRITINPDTSKNQFSLQVNSVTPE DTAVYYCARGLLQNNFYMDV WGKGTTVTVSS
Sec. con núm. de ident.: 36	VL de STEAP2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVNSNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISLQSEDFAVYYCQQYNN WPFTFGPGTKVDIK
Sec. con núm. de ident.: 37	VH de STEAP2-3	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCA ISGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKQWYNDYAVSVK SRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPE DTAVYYCARGLLQNQFYYMDV WGKGTTVTVSS
Sec. con núm. de ident.: 38	VL de STEAP2-3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISLQSEDFAVYYCQQYNN WPFTFGPGTKVDIK
Sec. con núm. de ident.: 39	VH de STEAP2-2 humanizado	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSC AASGFTFSSYGMSWVRQAPGKR LEWVATISSGGSYTFYPDIMKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARRGYGTIYTFSDAWG QGTTTLTVSS

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
Sec. con núm. de ident.: 40	VL de STEAP2-2 humanizado	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC RSSQSVVHSNANTYLEWYLQKP GQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VY YCFQGSHVPYTFGQGKLEIK
Sec. con núm. de ident.: 41	Cadena pesada 40A3GL-LO14 (L234F/L235E/P331S)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCA ISGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRG LEWLGRYYRSKQWYNDYAPSVK SRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPE DTAVYYCARGLRQNQFYFYYMDV WGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDK THTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPASIEKISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
Sec. con núm. de ident.: 42	Cadena ligera 40A3GL-LO14	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVASNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISLQSEDFAVYYCQQYNN WPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
Sec. con núm. de ident.: 43	Cadena pesada 40A3GL-LO11 (L234F/L235E/P331S)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAI SGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRGL EWLGRTYYRSKQWYNDYAPSVKSR ITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTA VYYCARGLLQNQFYFYYMDVWGK GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPASIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
Sec. con núm. de ident.: 44	Cadena ligera 40A3GL-LO11	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVASNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNN WPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
Sec. con núm. de ident.: 45	VH de STEAP2-4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSSFAMTWVRQAPGKG LEWVSVITYSGGRTYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYFCAKDRIAAGVPFDYWGQ GTLVTVSS
Sec. con núm. de ident.: 46	VL de STEAP2-4	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITICR ASQGIVSYLAWYQQEPGKAPKLLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEF TLTISLQPEDFATYYCQQLNSYP RTFGQGTKVEIK
Sec. con núm. de ident.: 47	VH de STEAP2-5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISGYTGNTNYAQKLQG RVTMTADTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCARGGSYFDYWGGQTL VTVSS

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
Sec. con núm. de ident.: 48	VL de STEAP2-5	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCR ASQSISRWLAWYQQKPGKAPKLL IYKASSLESQVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPDFFATYYCQQFNSF SPITFGQGTRLEIK
Sec. con núm. de ident.: 49	VH de STEAP2-6	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCK ASGYTFTSYWMEWVKQRPQGGL EWIGMIHPNSGITNYNERFKNKAT LTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAV YYCARDHYYILAYWGQGTLLTVSA
Sec. con núm. de ident.: 50	VL de STEAP2-6	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCR SSQSVVHSNGNTYLEWYLQKPG QSPKLLIYKVSNNRFSQVPSRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC FQGSHVPYTFGGGTKLEIK
Sec. con núm. de ident.: 51	VH de STEAP2-7	QVQLQQPGADLVKPGASVKMSC KASGHTFTNYWVTWVKQRPQGQ LEWIGNFYPGSGIIKYNENFRSKA TLTVDISSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARSKLGDSFYFDYWGQGT TLTVSS
Sec. con núm. de ident.: 52	VL de STEAP2-7	DVVMQTPLSLPVSLGNQASISC RSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKP GQSPKLLIYKVSNNRFSQVPSRF SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYF CSQSTHVPLTFGAGTKLEIK
Sec. con núm. de ident.: 53	Región constante silvestre	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
Sec. con núm. de ident.: 54	Región constante (L234F/L235E/P331S) variante IgG1 de triple mutación (TM)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Sec. con núm. de ident.: 55	VH de 40A3GL-LO14 con IgG1 Fc silvestre	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAI SGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRGL EWLGRITYYRSKWYNDYAPSVKSR ITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTA VYYCARGLRQNQFYFYYMDVWGK GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
Sec. con núm. de ident.: 56	Secuencia de nucleótidos STEAP2	AGTCAGCGTTCCTCGGGCCCTC GGCGCCACGAGCTGTCCGGGCA CGCAGCCCCTAGCGGCGCGTCG CTGCCAAGCCGGCCTCCGCGCG CCTCCCTCCTTCCTTCTCCCCTG GCTGTTTCGCGATCCAGCTTGGGT AGGCGGGGAAGCAGCTGGAGTG CGACCGCCGCGGCAGCCACCCT GCAACCGCCAGTCGGAGAGCTA

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		AGGGCAAGTCCTGAGGTTGGGC CCAGGAGAAAGAAGGCAAGGAG ACATTGTCCCAGGATATTCTTGG TGATCTTGGAAGTGTCCGTATCA TGGAATCAATCTCTATGATGGGA AGCCCTAAGAGCCTTAGTGAAAC TTTTTTACCTAATGGCATAAATGG TATCAAAGATGCAAGGAAGGTCA CTGTAGGTGTGATTGGAAGTGGA GATTTTGCCAAATCCTTGACCATT CGACTTATTAGATGCGGCTATCA TGTGGTCATAGGAAGTAGAAATC CTAAGTTTGCTTCTGAATTTTTTC CTCATGTGGTAGATGTCACTCAT CATGAAGATGCTCTCACAAAAAC AAATATAATATTTGTTGCTATACA CAGAGAACATTATACCTCCCTGT GGGACCTGAGACATCTGCTTGTG GGTAAAATCCTGATTGATGTGAG CAATAACATGAGGATAAACCAGT ACCCAGAATCCAATGCTGAATAT TTGGCTTCATTATTCCCAGATTCT TTGATTGTCAAAGGATTTAATGTT GTCTCAGCTTGGGCACTTCAGTT AGGACCTAAGGATGCCAGCCGG CAGGTTTATATATGCAGCAACAA TATTCAAGCGCGACAACAGGTTA TTGAACTTGCCCGCCAGTTGAAT TTCATTCCCATTGACTTGGGATC CTTATCATCAGCCAGAGAGATTG AAAATTTACCCCTACGACTCTTTA CTCTCTGGAGAGGGCCAGTGGT GGTAGCTATAAGCTTGGCCACAT TTTTTTTCCTTTATTCCTTTGTCA GAGATGTGATTCATCCATATGCT AGAAACCAACAGAGTGACTTTTA CAAAATTCCTATAGAGATTGTGA ATAAAACCTTACCTATAGTTGCCA TACTTTGCTCTCCCTAGTATACC TCGCAGGTCTTCTGGCAGCTGCT TATCAACTTTATTACGGCACCAA GTATAGGAGATTTCCACCTTGGT TGGAACCTGGTTACAGTGTAGA AAACAGCTTGGATTACTAAGTTTT

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		TTCTTCGCTATGGTCCATGTTGC CTACAGCCTCTGCTTACCGATGA GAAGGTCAGAGAGATATTTGTTT CTCAACATGGCTTATCAGCAGGT TCATGCAAATATTGAAAACCTTG GAATGAGGAAGAAGTTTGGAGAA TTGAAATGTATATCTCCTTTGGCA TAATGAGCCTTGGCTTACTTTCC CTCCTGGCAGTCACTTCTATCCC TTCAGTGAGCAATGCTTTAACT GGAGAGAATTCAGTTTTATTCAG TCTACACTTGGATATGTCGCTCT GCTCATAAGTACTTTCCATGTTTT AATTTATGGATGGAAACGAGCTT TTGAGGAAGAGTACTACAGATTT TATACACCACCAAACCTTTGTTCTT GCTCTTGTTTTGCCCTCAATTGTA ATTCT GGGTAAGATTATTTTATTCCTTCC ATGTATAAGCCGAAAGCTAAAC GAATTAAGGCTGGGAAAAG AGCCAATTTCTGGAAGAAGGTAT GGGAGGAACAATTCCTCATGTCT CCCCAGAGAGGGTCACAGTAAT GTGATGACAAATGGTGTTACAG CTGCCATATAAAGTTCTACTCAT GCCATTATTTTTATGACTTCTACG TTCAGTTACAAGTATGCTGTCAA ATTATCGTGGGTTGAACTTGTT AAATGAGATTTCAACTGACTTAGT GATAGAGTTTTCTTCAAGTTAATT TTCACAAATGTCATGTTTGCCAAT ATGAATTTTTCTAGTCAACATATT ATTGTAATTTAGGTATGTTTTGTT TTGTTTTGCACAACTGTAACCCT GTTGTTACTTTATATTTTATAATC AGGCAAAAATACTTACAGTTAATA ATATAGATATAATGTTAAAAACAA TTTGCAAACCAGCAGAATTTTAA GCTTTTAAAATAATTCAATGGATA TACATTTTTTTCTGAAGATTAAGA TTTTAATTATTCAACTTAAAAAGT AGAAATGCATTATTATACATTTTT TTAAGAAAGGACACGTTATGTTA

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		GCATCTAGGTAAGGCTGCATGAT AGCATTCCTATATTTCTCTCATAA AATAGGATTTGAAGGATGAAATT AATTGTATGAAGCAATGTGATTAT ATGAAGAGACACAAATTA AAAAG ACAAATTAACCTGAAATTATATT TAAAATATATTTGAGACATGAAAT ACATACTGATAATACATACCTCAT GAAAGATTTTATTCTTTATTGTGT TACAGAGCAGTTTCATTTTCATAT TAATATACTGATCAGGAAGAGGA TTCAGTAACATTTGGCTTCCAAAA CTGCTATCTCTAATACGGTACCA ATCCTAGGAACTGTATACTAGTT CCTACTTAGAACAAAAGTATCAA GTTTGCACACAAGTAATCTGCCA GCTGACCTTTGTGCGACCTTAAC CAGTCACCACTTGCTATGGTATA GGATTATACTGATGTTCTTTGAG GGATTCTGATGTGCTAGGCATGG TTCTAAGTACTTTACTTGTATTAT CCCATTTAATACTTAGAACCAACC CCGTGAGATAAGTAGTTATTATC CTCATTTTACACATGAGGGACCG AAGGATAGAAAAGTTATTTTCAA AGGTCTTGCAGTTAATAAATGGC AGAGTGAGCATTCAAGTCCAGGT AGTCATATTCCAGAGGCCACGGT TTTAACCACTAGGCTCTAGAGCT CCCGCCGCGCCCCTATGCATTAT GTTCACAATGCCAATCTAGATGC TTCCTCTTTTGTATAAAGTCACTG ACATTCTTTAGAGTGGGTTGGGT GCATCCAAAAATGTATAAAAATAT TATTATAATAAACTTATTACTGCT TGTAGGGTAATTCACAGTACTT ACCCTATTCTTGCTTGGAACATG AGCCTGGAGACCCATGGCAGTC CATATGCCTCCCTATGCAGTGAA GGGCCCTAGCAGTGTTAACAAAT TGCTGAGATCCCACGGAGTCTTT CAAAAATCTCTGTAGAGTTAGTC TTCTCCTTTTCTCTTCCTGAGAAG TTCTCCTGCCTGCATAACCATTC

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		ATTAGGGAGTACTTTACAAGCAT GAAGGATATTAGGGTAAGTGGCT AATTATAAATCTACTCTAGAGACA TATAATCATACAGATTATTCATAA AATTTTTCAGTGCTGTCCTTCCAC ATTTAATTGCATTTTGCTCAAAC GTAGAATGCCCTACATTCCCCC ACCCCAATTTGCTATTTCTTATT AAAATAGAAAATTATAGGCAAGA TACAATTATATGCGTTCCTCTTCC TGAAATTATAACATTTCTAAACTT ACCCACGTAGGTACTACTGAATC CAACTGCCAACAATAAAAAGACT TTTATTTAGTAGAGGCTACCTTTC CCACCAGTGACTCTTTTTCTACA ACTGCCTTGTCAGTTTGGTAATT CACTTATGATTTTCTAATGTTCTC TTGGTGAATTTTATTATCTTGTAC CCTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT AAAGACAGAGTCTTGCTCTGTCA CCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCA CGATCTCGGCTCACTGCAAGCTC TGCCTCCCGGGTTCACGCCATT TCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAG CTGGGACTACAGGTGCCCCGCA CCATGCCCGGCTGATTTCTTTTT GTATTTTATAGTAGAGACGGAGTT TCACCGTGTTAGCCAGGATGGTC TCGATCTCCTGACCTCGTGATCC GCCCGCCTTGGCCTCCAAAGTG CTGGGATTACAGGTGTGAGCTAC CGCGCCCGGCCTATTATCTTGTA CTTTCTAACTGAGCCCTCTATTTT CTTTATTTTAATAATATTTCTCCC CACTTGAGAATCACTTGTTAGTT CTTGGTAGGAATTCAGTTGGGCA ATGATAACTTTTATGGGCAAAAA CATTCTATTATAGTGAATAATGA AAATAACAGCGTATTTTCAATATT TTCTTATTCCTTAAATTCCACTCT TTTAACACTATGCTTAACCACTTA ATGTGATGAAATATTCCTAAAAGT TAAATGACTATTAAAGCATATATT GTTGCATGTATATATTAAGTAGC

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		CGATACTCTAAATAAAAAATACCAC TGTTACAGATAAATGGGGCCTTT AAAAATATGAAAAACAAACTTGTG AAAATGTATAAAAGATGCATCTGT TGTTTCAAATGGCACTATCTTCTT TTCAGTACTACAAAAACAGAATAA TTTTGAAGTTTTAGAATAAATGTA ATATATTTACTATAATTCTAAATG TTTAAATGCTTTTTCTAAAAATGCA AACTATGATGTTTAGTTGCTTTA TTTTACCTCTATGTGATTATTTTT CTTAATTGTTATTTTTTATAATCAT TATTTTTCTGAACCATTCTTCTGG CCTCAGAAGTAGGACTGAATTCT ACTATTGCTAGGTGTGAGAAAGT GGTGGTGAGAACCTTAGAGCAG TGGAGATTTGCTACCTGGTCTGT GTTTTGAGAAGTGCCCCCTTAGAA AGTTAAAAGAATGTAGAAAAGAT ACTCAGTCTTAATCCTATGCAAAA AAAAAATCAAGTAATTGTTTTCC TATGAGGAAAATAACCATGAGCT GTATCATGCTACTTAGCTTTTATG TAAATATTTCTTATGTCTCCTCTA TTAAGAGTATTTAAAATCATATTT AAATATGAATCTATTCATGCTAAC ATTATTTTTCAAACATACATGGA AATTTAGCCCAGATTGTCTACATA TAAGGTTTTTATTTGAATTGTAAA ATATTTAAAAGTATGAATAAAATA TATTTATAGGTATTTATCAGAGAT GATTATTTTGTGCTACATACAGGT TGGCTAATGAGCTCTAGTGTTAA ACTACCTGATTAATTTCTTATAAA GCAGCATAACCTTGGCTTGATTA AGGAATTCTACTTTCAAAAATTAA TCTGATAATAGTAACAAGGTATAT TATACTTTCATTACAATCAAATTA TAGAAATTACTTGTGTAAAAGGG CTTCAAGAATATATCCAATTTTTA AATATTTTAATATATCTCCTATCT GATAACTTAATTCTTCTAAATTAC CACTTGCCATTAAGCTATTTTCATA ATAAATTCTGTACAGTTTCCCCC

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		CAAAAAAGAGATTTATTTATGAAA TATTTAAAGTTTCTAATGTGGTAT TTAAATAAAGTATCATAAATGTA ATAAGTAAATATTTATTTAGGAAT ACTGTGAACACTGAACTAATTATT CCTGTGTCAGTCTATGAAATCCC TGTTTTGAAATACGTAAACAGCC TAAAATGTGTTGAAATTATTTTGT AAATCCATGACTTAAAACAAGATA CACACATAGTATAACACACCTCA CAGTGTTAAGATTTATATTGTGAA ATGAGACACCCTACCTTCAATTG TTCATCAGTGGGTAAAACAAATT CTGATGTACATTCAGGACAAATG ATTAGCCCTAAATGAACTGTAAT AATTCAGTGGAACTCAATCTG TTTTACCTTTAAACAGTGAATTT TACATGAATGAATGGGTTCTTCA CTTTTTTTTTAGTATGAGAAAATT ATACAGTGCTTAATTTTCAGAGAT TCTTTCCATATGTTACTAAAAAAT GTTTTGTTCAGCCTAACATACTG AGTTTTTTTTAACTTTCTAAATTAT TGAATTTCCATCATGCATTCATCC AAAATTAAGGCAGACTGTTTGGA TTCTTCCAGTGGCCAGATGAGCT AAATTAATCACAAAAGCAGATG CTTTTGTATGATCTCCAAATTGCC AACTTTAAGGAAATATTCTCTTGA AATTGTCTTTAAAGATCTTTTGCA GCTTGCAGATACCCAGACTGAG CTGGAAGTGAATTTGTCTTCCT ATTGACTCTACTTCTTTAAAAGCG GCTGCCCATTACATTCCTCAGCT GTCCTTGCAGTTAGGTGTACATG TGAAGTCTCCTCAAAGGAAGGCA GCATGTGTCCTTTTTCATCCCTTC ATCTTGCTGCTGGGATTGTGGAT ATAACAGGAGCCCTGGCAGCTG TCTCCAGAGGATCAAAGCCACAC CCAAAGAGTAAGGCAGATTAGAG ACCAGAAAGACCTTGACTACTTC CCTACTTCCACTGCTTTTTCTG

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		CATTTAAGCCATTGTAAATCTGG GTGTGTTACATGAAGTGAAAATT AATTCTTTCTGCCCTTCAGTTCTT TATCCTGATACCATTTAACACTGT CTGAATTAAGTAGACTGCAATAAT TCTTTCTTTTGAAAGCTTTTAAAG GATAATGTGCAATTCACATTAAAA TTGATTTTCCATTGTCAATTAGTT ATACTCATTTTCCTGCCTTGATCT TTCATTAGATATTTTGTATCTGCT TGGAATATATTATCTTCTTTTAA CTGTGTAATTGGTAATTACTAAAA CTCTGTAATCTCCAAAATATTGCT ATCAAATTACACACCATGTTTTCT ATCATTCTCATAGATCTGCCTTAT AAACATTTAAATAAAAAGTACTAT TTAATGATTTAACTTCTGTTTTGA AATGTTGTATACACGTGGATTTTT TTCTCATTAAATAATAATTCTAGT ATTTGA
Sec. con núm. de ident.: 57	Secuencia STEAP2	MESISMMGSPKSLSETFLPNGINGI KDARKVTVGVIGSGDFAKSLTIRLI RCGYHVVIGSRNPKFASEFFPHVV DVTHHEDALTKTNIIFVAIHREHYTS LWDLRHLLVGKILIDVSNMNRINQY PESNAEYLASLFPDSLIVKGFNVVS AWALQLGPKDASRQVYICSNNIQA RQQVIELARQLNFIPIDLGSLSSAR EIENLPLRLFTLWRGPVVAISLAT FFFLYSFVRDVIHPYARNQQSDFY KIPIEIVNKTLPVAILLLSLVLAGLL AAAYQLYYGTKYRRFPPWLETWL QCRKQLGLLSFFFAMVHVAYSLLCL PMRRSERYLFLNMAYQQVHANIE NSWNEEEVWRIEMYISFGIMSLGL LSLAVTSIPSVSNALNWREFSFIQ STLGYVALLISTFHVLIYGWKRAFE EEYYRFYTPPNFVLALVLPISIVILGK IILFLPCISRKLKRIKKGWEKSQFLE EGMGGTIPHVSPERVTVM
Sec. con núm. de ident.: 58	Región constante de la cadena ligera Kappa	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSS

Sec. con núm. de ident.:	Identificador	Secuencia
		TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNREGC
Sec. con núm. de ident.: 59	FC que comprende una mutación triple L234F/L235E/P331S (TM)	DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Sec. con núm. de ident.: 60	Fc silvestre de IgG1	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK