

COMPUESTOS DIRIGIDOS A LA STEAP2 Y USO DE ESTOS

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica prioridad sobre la solicitud provisional de los EE. UU.
5 con núm. de serie 63/495.561, presentada el 12 de abril de 2023. El contenido de esta
solicitud se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

LISTADO DE SECUENCIAS

Esta solicitud contiene un Listado de secuencias denominado 16266_6000-
10 00000_SL.xml, que se creó el 14 de marzo de 2024 y tiene un tamaño de 39.334
bytes. El Listado de secuencias se ha presentado electrónicamente en formato XML y
se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

DESCRIPCIÓN

Campo Técnico

15 Esta descripción se relaciona con compuestos o sales farmacéuticamente
aceptables de estos (p. ej., radioinmunoconjugados) que se dirigen a la STEAP2,
composiciones farmacéuticas de estos, y métodos para tratar el cáncer con el uso de tales
compuestos, sales farmacéuticamente aceptables de estos, o composiciones
farmacéuticas.

20

Antecedentes

El cáncer de próstata es una enfermedad multifactorial y el segundo cáncer más
común diagnosticado en hombres a nivel mundial. Es una de las principales causas de

muerte en hombres, con uno de cada ocho hombres diagnosticados en el Reino Unido y uno de cada cinco/seis en los Estados Unidos. La proteína antígeno prostático epitelial de seis dominios transmembrana 2 (STEAP2, por sus siglas en inglés) desempeña un rol importante en la tumorigénesis prostática, proliferación celular y metástasis. La proteína

5 STEAP2 se expresa a niveles muy bajos en las células normales, mientras que en las células de cáncer de próstata la proteína STEAP2 se expresa a niveles altos. La expresión elevada de la STEAP2 en las células de cáncer de próstata se correlaciona con la progresión del cáncer, metástasis y bajos resultados de supervivencia. Los estudios sugieren que la expresión de la STEAP2 es independiente de la expresión del receptor de

10 andrógenos y del antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA, por sus siglas en inglés), dos receptores comúnmente dirigidos de forma terapéutica, que a menudo desarrollan resistencia a tratamientos dirigidos. El STEAP2 se expresa en muestras de cáncer de próstata tanto primario como metastásico. La creciente evidencia ha implicado a la STEAP2 como posible diana terapéutica y biomarcador para el cáncer de próstata.

15 Similar a lo que ocurre en los pacientes humanos con cáncer de próstata, la sobreexpresión de la STEAP2 contribuye a la progresión de la enfermedad y a bajos resultados de supervivencia en modelos preclínicos de ratones con tumores xenoinjertados positivos a la STEAP2.

El hecho de que los tejidos normales expresen niveles insignificantes y las

20 células de cáncer de próstata muestren una expresión elevada de STEAP2 las convierte en una diana ideal para la terapia contra el cáncer.

Las opciones de tratamiento actuales para el cáncer de próstata incluyen cirugía, terapia hormonal, quimioterapia, radioterapia e inmunoterapia. Estas terapias

pueden conducir a efectos no específicos (xerostomía, efecto sobre las funciones renales) o pueden no resultar en una eficacia terapéutica a largo plazo.

Adicionalmente, los tratamientos dirigidos a dos receptores comunes (receptor de andrógenos y PSMA) frecuentemente conducen al desarrollo de formas de cáncer de próstata resistentes al tratamiento y agresivas. El tratamiento de los cánceres de próstata metastásicos sigue siendo un desafío de larga data en el campo.

Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de terapias mejoradas (p. ej., terapias contra el cáncer) que puedan dirigirse a la STEAP2 como terapias curativas específicas para la diana sin los inconvenientes antes mencionados.

10

SUMARIO

La presente descripción se relaciona con compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de estos (p. ej., radioinmunoconjugados) que se dirigen a la STEAP2, composiciones farmacéuticas de estos, y métodos para tratar el cáncer con el uso de tales compuestos, sales farmacéuticamente aceptables de estos, o composiciones farmacéuticas. Sin limitarse por la teoría, a diferencia de los anticuerpos desnudos, los radioinmunoconjugados no necesitan bloquear la función del receptor para tener eficacia terapéutica, sino que emiten partículas radiactivas (p. ej., emisores alfa) que se dirigen a las células tumorales circundantes dentro del rango limitado, evitando por lo tanto cualquier toxicidad asociada fuera de la diana. Los radioinmunoconjugados dirigidos a la STEAP2 usados para los cánceres que sobreexpresan la STEAP2 utilizan la capacidad del complejo STEAP2 de someterse a internalización desencadenada por anticuerpos para suministrar los radionúclidos dirigidos dentro de las células cancerosas.

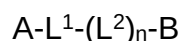
15

20

La unión monovalente del anticuerpo a cualquiera de los receptores en tejidos/células sanas normales puede no conducir a la internalización.

En ciertas modalidades, los compuestos proporcionados (p. ej., radioinmunoconjugados) exhiben una tasa de excreción aumentada (p. ej., después de ser administrados a un mamífero) en comparación con las radioterapias conocidas actualmente, a la vez que siguen manteniendo la eficacia terapéutica. En algunas modalidades, una excreción más rápida puede limitar las toxicidades fuera de la diana al limitar la cantidad de tiempo que el compuesto permanece en un sujeto. Por lo tanto, en algunas modalidades, los compuestos proporcionados exhiben toxicidades fuera de la diana reducidas.

En un aspecto, se proporcionan compuestos que comprenden la siguiente estructura, o sales farmacéuticamente aceptables de estos:



15

Fórmula I

en donde

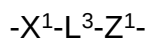
A es una entidad quelante o un complejo metálico de esta,

B es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este;

L^1 es un enlace, C=O, C=S, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido;

n es un número entero entre 1 y 5 (inclusive); y

L² tiene cada uno independientemente la estructura de la Fórmula II:



Fórmula II

5

en donde

X¹ es -C(O)NR¹-, -NR¹C(O)-, -C(S)NR¹-, -NR¹C(S)-, -OC(O)NR¹-, -NR¹C(O)O-, -NR¹C(O)NR¹-, -CH₂-Ph-C(O)NR¹-, -NR¹C(O)-Ph-CH₂-, -CH₂-Ph-NH-C(S)NR¹-, -NR¹C(S)-NH-Ph-CH₂-, -O-, o -NR¹-, en donde “*” indica el punto de acoplamiento a L³, y R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido;

10

L³ es alquilo C₁-C₅₀ opcionalmente sustituido o heteroalquilo C₁-C₅₀ opcionalmente sustituido; y

15 Z¹ es -CH₂-, -C(O)-, -C(S)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -NR²C(O)-, -C(O)NR²-, o -NR²-, en donde “#” indica el punto de acoplamiento a B, y R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido,

en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este se une al antígeno prostático epitelial de seis dominios transmembrana 2 (STEAP2) y comprende:

20

a) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 2 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la

secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 6, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 7 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 8;

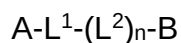
5 (b) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 11, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 12 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 13 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 que comprende, 10 tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 18;

 (c) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 22 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la 15 secuencia de la sec. con núm. de ident.: 23 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 25, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 26 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 27; o

 (d) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con 20 núm. de ident.: 31, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 32 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 33 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 35, la LCDR2 que comprende,

tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 36 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 37, o una variante funcional de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de (a)-(d).

- 5 En otro aspecto, se proporcionan compuestos que comprenden la siguiente estructura, o sales farmacéuticamente aceptables de estos:



Fórmula I

10

en donde

A es una entidad quelante o un complejo metálico de esta,

B es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este;

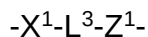
L^1 es un enlace, C=O, C=S, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo

- 15 C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido;

n es un número entero entre 1 y 5 (inclusive); y

L^2 tiene cada uno independientemente la estructura de la Fórmula II:

20



Fórmula II

en donde

X^1 es $-C(O)NR^1-$, $-NR^1C(O)-$, $-C(S)NR^1-$, $-NR^1C(S)-$, $-OC(O)NR^1-$, $-NR^1C(O)O-$, $-NR^1C(O)NR^1-$, $-CH_2-Ph-C(O)NR^1-$, $-NR^1C(O)-Ph-CH_2-$, $-CH_2-Ph-NH-C(S)NR^1-$, $-NR^1C(S)-NH-Ph-CH_2-$, $-O-$, o $-NR^1-$, en donde “*” indica el punto de acoplamiento a L^3 , y R^1 es hidrógeno, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido;

L^3 es alquilo C_1-C_{50} opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1-C_{50} opcionalmente sustituido; y

Z^1 es $-CH_2-\#$, $-C(O)-\#$, $-C(S)-\#$, $-OC(O)-\#$, $-C(O)O-\#$, $-NR^2C(O)-\#$, $-C(O)NR^2-\#$, o $-NR^2-\#$, en donde “#” indica el punto de acoplamiento a B, y R^2 es hidrógeno, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido,

en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este se une al antígeno prostático epitelial de seis dominios transmembrana 2 (STEAP2) y compete por la unión con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende

(a) la HCDR1 que comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 que comprende la sec. con núm. de ident.: 2 y la HCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3 y la LCDR1 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 6, la LCDR2 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 7 y la LCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 8;

(b) la HCDR1 que comprende la sec. con núm. de ident.: 11, la HCDR2 que comprende la sec. con núm. de ident.: 12 y la HCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 13 y la LCDR1 que comprende la secuencia de la sec. con

núm. de ident.: 16, la LCDR2 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 18;

(c) la HCDR1 que comprende la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR2 que comprende la sec. con núm. de ident.: 22 y la HCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 23 y la LCDR1 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 25, la LCDR2 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 26 y la LCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 27; o

(d) la HCDR1 que comprende la sec. con núm. de ident.: 31, la HCDR2 que comprende la sec. con núm. de ident.: 32 y la HCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 33 y la LCDR1 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 35, la LCDR2 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 36 y la LCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 37.

Tales compuestos de la Fórmula I también pueden denominarse colectivamente en la presente como “Compuestos”. Las modalidades de tales compuestos pueden incluir sales farmacéuticamente aceptables de estos a menos que se especifique de cualquier otra manera.

En algunas modalidades, la variable A en la Fórmula I es una entidad quelante seleccionada del grupo que consiste en DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético), DOTMA (ácido 1R,4R,7R,10R)- α , α' , α'' , α''' -tetrametil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético, DOTAM (1,4,7,10-tetrakis(carbamoylmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano), DOTPA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrapropiónico), DO3AM-ácido acético (2-(4,7,10-tris(2-amino-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il)ácido acético), DOTA-GA anhídrido (2,2',2''-(10-(2,6-

dioxotetrahidro-2H-piran-3-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triil)ácido triacético, DOTP (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetra(metilenfosfónico)), DOTMP (ácido 1,4,6,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrametilenfosfónico, DOTA-4AMP (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrakis(acetamido-metilenfosfónico), CB-TE2A (ácido 1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecano-4,11-diacético), NOTA (ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-triacético), NOTP (ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-tri(metilenfosfónico), TETPA (ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetrapropiónico), TETA (ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetraacético), HEHA (ácido 1,4,7,10,13,16-hexaazaciclohexadecano-1,4,7,10,13,16-hexaacético), PEPA (ácido 1,4,7,10,13-pentaazaciclopentadecano-N,N',N'',N''',N''''-pentaacético), H₄octapa (ácido N,N'-bis(6-carboxi-2-piridilmetil)-etilendiamino-N,N'-diacético), H₂dedpa (1,2-[[6-(carboxi)-piridin-2-il]-metilamino]etano), H₆fospa (N,N'-(metilenfosfonato)-N,N'-[6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]-metil-1,2-diaminoetano), TTHA (ácido trietilentetramino-N,N,N',N'',N''',N''''-hexaacético), DO₂P (ácido tetraazaciclododecano dimetanofosfónico), HP-DO₃A (ácido hidroxipropiltetraazaciclododecanotriacético), EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), deferoxamina, DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético), DTPA-BMA (ácido dietilentriaminopentaacético-bismetilamida), y porfirina.

En ciertas modalidades, la variable A en la Fórmula I es DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético) o un complejo metálico de este.

En algunas modalidades, el compuesto de la Fórmula I se representa mediante:

en donde Y^1 es H y Y^2 es L^1 -(L^2)_n-B. En ciertas modalidades, Y^1 es H.

5 En algunas modalidades, L^1 es R^L , y R^L es hidrógeno o $-CO_2H$.

de acoplamiento a L^3 , y R^1 es H .

En ciertas modalidades, Z¹ es -CH₂-.

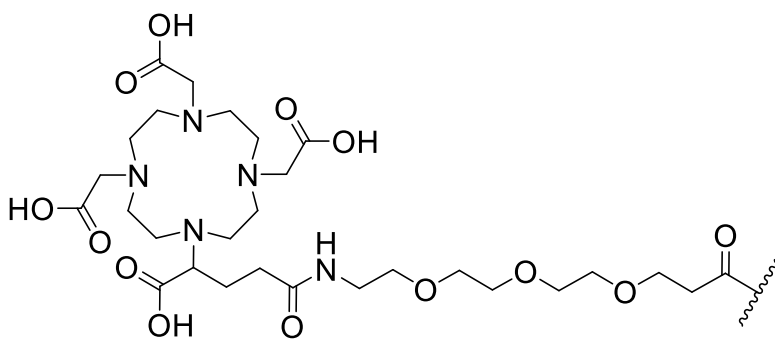
10 L³ es (CH₂CH₂O)_m(CH₂)_w, en donde m y w son cada uno independientemente un número entero entre 0 y 10 (inclusive), y al menos uno de m y w no es 0.

15 comprende un radionúclido seleccionado del grupo que consiste en ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{55}Co ,

 $^{60}\text{Cu}, ^{61}\text{Cu}, ^{62}\text{Cu}, ^{64}\text{Cu}, ^{67}\text{Cu}, ^{66}\text{Ga}, ^{67}\text{Ga}, ^{68}\text{Ga}, ^{82}\text{Rb}, ^{86}\text{Y}, ^{87}\text{Y}, ^{89}\text{Zr}, ^{90}\text{Y}, ^{97}\text{Ru}, ^{99}\text{Tc},$ $^{99\text{m}}\text{Tc}, ^{105}\text{Rh}, ^{109}\text{Pd}, ^{111}\text{In}, ^{117\text{m}}\text{Sn}, ^{149}\text{Pm}, ^{149}\text{Tb}, ^{153}\text{Sm}, ^{166}\text{Ho}, ^{177}\text{Lu}, ^{186}\text{Re}, ^{188}\text{Re}, ^{198}\text{Au},$ $^{199}\text{Au}, ^{201}\text{Tl}, ^{203}\text{Pb}, ^{211}\text{At}, ^{212}\text{Pb}, ^{212}\text{Bi}, ^{213}\text{Bi}, ^{223}\text{Ra}, ^{225}\text{Ac}, ^{227}\text{Th}, \text{ y } ^{229}\text{Th}.$

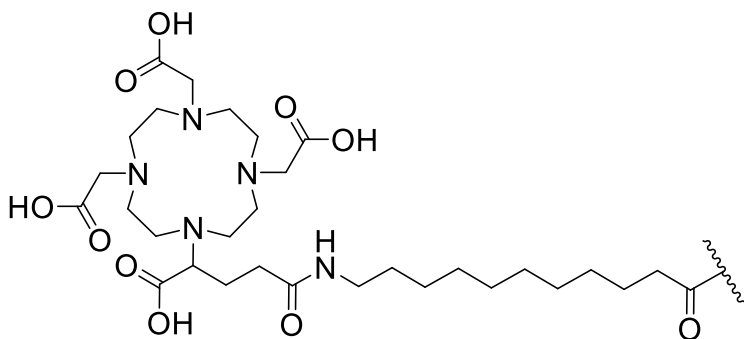
En algunas modalidades, la variable A es un complejo metálico de una entidad quelante. En algunas de tales modalidades, el complejo metálico comprende un radionúclido. En algunas modalidades, el radionúclido es un emisor alfa, p. ej., un emisor alfa seleccionado del grupo que consiste en Astatina-211 (^{211}At), Bismuto-212 (^{212}Bi), Bismuto-213 (^{213}Bi), Actinio-225 (^{225}Ac), Radio-223 (^{223}Ra), Plomo-212 (^{212}Pb), Torio-227 (^{227}Th), y Terbio-149 (^{149}Tb), o una progenie de estos. En algunas modalidades, el radionúclido es ^{68}Ga , ^{111}In , ^{177}Lu , o ^{225}Ac . En algunas modalidades, el radionúclido es ^{225}Ac o una progenie de este.

En algunas modalidades, los compuestos de la Fórmula I comprenden:



, o un complejo metálico de

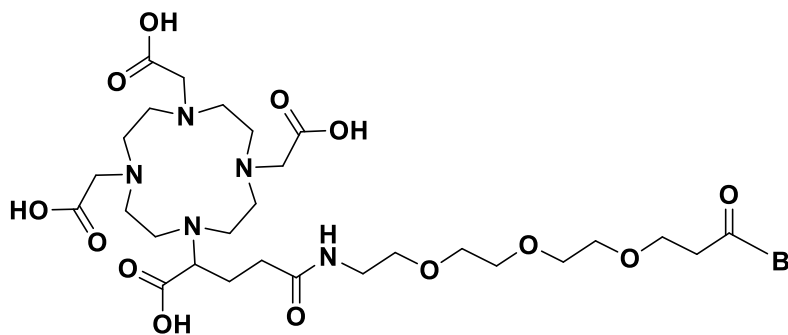
este, o comprenden



o un complejo metálico de este.

En algunas modalidades, el compuesto o una sal farmacéuticamente

aceptable de este comprende:



, o un complejo metálico de este.

En algunas modalidades, la variable A de la Fórmula I es un complejo metálico de una entidad quelante, y el complejo metálico comprende un radionúclido. En ciertas modalidades, el radionúclido es ^{68}Ga , ^{111}In , ^{177}Lu , o ^{225}Ac . En ciertas modalidades, el radionúclido es ^{225}Ac . En ciertas modalidades, el radionúclido es un emisor alfa seleccionado del grupo que consiste en Astatina-211 (^{211}At), Bismuto-212 (^{212}Bi), Bismuto-213 (^{213}Bi), Actinio-225 (^{225}Ac), Radio-223 (^{223}Ra), Plomo-212 (^{212}Pb), Torio-227 (^{227}Th), y Terbio-149 (^{149}Tb), o una progenie de estos. En ciertas modalidades, el emisor alfa es ^{225}Ac o una progenie de este.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto comprende: la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 2 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 6, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 7 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 8.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto comprende: la HCDR1 que comprende la

sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 que comprende la sec. con núm. de ident.: 2 y la HCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3 y la LCDR1 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 6, la LCDR2 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 7 y la LCDR3 que comprende la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 8.

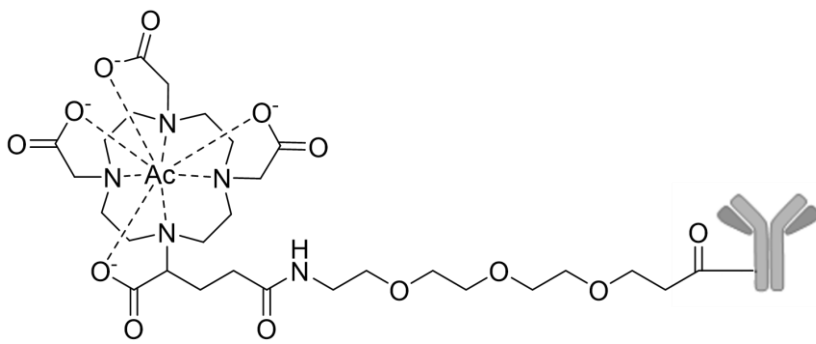
En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto comprende un dominio VH que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto comprende una cadena pesada que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de

la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto se une a la STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una afinidad de unión de entre aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 40 nM, entre aproximadamente 0,5 nM a aproximadamente 30 nM, entre aproximadamente 1 nM a aproximadamente 20 nM, o entre aproximadamente 1 nM a aproximadamente 10 nM.

En algunas modalidades, el compuesto de la Fórmula I, o la sal farmacéuticamente aceptable de este, comprende:





en donde es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se une (p. ej., se une específicamente) a la STEAP2. En algunas modalidades, el anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este se une a A-L¹-(L²)_n- a través del grupo amino de cadena lateral de un residuo de lisina.

5 En otro aspecto, la presente descripción también se relaciona con una composición farmacéutica que comprende uno de los compuestos o sal farmacéuticamente aceptable de este descritos anteriormente y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Aún dentro del alcance de esta descripción se encuentra un método para
10 tratar un cáncer en un sujeto, dicho método comprende administrar al sujeto (p. ej., un ser humano) una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este descrito anteriormente o una respectiva composición farmacéutica de este.

En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer tumoral sólido seleccionado
15 del grupo que consiste en cáncer de próstata (que incluye formas primarias, metastásicas y metastásicas resistentes a la castración), cáncer de vejiga (que incluye formas primarias y metastásicas), cáncer de mama, carcinoma colorrectal, cáncer gástrico y otros tumores sólidos múltiples donde la STEAP2 puede sobreexpresarse. Los cánceres de próstata incluyen adenocarcinoma de próstata, carcinoma de células
20 transicionales de próstata, carcinoma de células escamosas de próstata, cáncer de próstata de células pequeñas y tumores neuroendocrinos diferenciados de la próstata.

En algunas modalidades, el cáncer es uno de cáncer de próstata (p. ej., cáncer de próstata metastásico resistente a la castración o mCRPC, por sus siglas en inglés).

En algunas modalidades, el método de tratamiento de esta descripción comprende además administrar al sujeto (p. ej., un ser humano) que lo necesite un agente
 5 antiproliferativo, sensibilizador a la radiación, o un agente inmunorregulador o inmunomodulador.

Aún dentro del alcance de esta descripción se encuentra un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este o la composición farmacéutica descrita anteriormente para usar en un método de tratamiento del cáncer.

10 La presente descripción cubre además el uso de un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este o la composición farmacéutica descrita anteriormente en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer. En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer tumoral sólido seleccionado del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer de mama, carcinoma
 15 colorrectal y cáncer gástrico. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de próstata. En algunas modalidades, el tratamiento comprende además un agente antiproliferativo, un sensibilizador a la radiación o un agente inmunomodulador.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

20 La **Figura 1A** muestra la expresión del ARN de STEAP2 en tejidos normales 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 del atlas de proteínas humanas.

La **Figura 1B** muestra una expresión elevada de STEAP2 en todas las etapas del cáncer de próstata clínicamente localizado (CaP), que varían desde el diagnóstico primario, el cáncer de próstata primario resistente a la castración (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 2A** es un esquema que representa la estructura general del quelato bifuncional que comprende un quelato, un enlazador y un grupo reticulante.

La **Figura 2B** es un esquema que representa la estructura general de un conjugado bifuncional que comprende un quelato, un enlazador y una entidad de direccionamiento.

La **Figura 2C** y la **Figura 2D** son esquemas que representan las estructuras de [^{177}Lu]-STEAP2 y [^{225}Ac]-STEAP2, dos radioinmunoconjugados de STEAP2 ilustrativos descritos en la presente.

La **Figura 3** es un esquema que representa la síntesis del quelato bifuncional, ácido 4-{{[11-oxo-11-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)undecil]carbamoil}-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]butanoico (Compuesto B). La síntesis del Compuesto B se describe en el Ejemplo 4.

La **Figura 4** es un esquema que representa la síntesis del quelato bifuncional, ácido 4-{{[2-(2-{[3-oxo-3-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)propoxi]etoxi}etoxi)etil]carbamoil}-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]butanoico (Compuesto C). La síntesis del Compuesto C se describe en el Ejemplo 5.

La **Figura 5** es un esquema que representa la conjugación y el radioetiquetado para la síntesis del conjugado [^{177}Lu]-STEAP2 (p. ej., [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO11) y [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14) descritos a continuación). Ver el Ejemplo 6.

Las **Figuras 6A-6C** muestran la unión *in vitro* de [^{177}Lu]-STEAP2 a tres líneas celulares diferentes: Células LNCaP (**Figura 6A**), células C4-2 (**Figura 6B**) y células 22RV1 (**Figura 6C**) con niveles variables de expresión de STEAP2 en ausencia (unión total) o presencia (unión no específica) de anticuerpo no etiquetado de 4 μM . La unión específica se calculó restando la unión no específica de la unión total. Los valores que se muestran son la media $\pm$ SEM ($n = 3$). Ver el Ejemplo 7.

Las **Figuras 7A-7C** muestran los resultados de internalización (o residualización *in vitro*) de [^{177}Lu]-STEAP2 (10 nM) en tres líneas celulares diferentes: Células LNCaP (**Figura 7A**), células C4-2 (**Figura 7B**) y células 22RV1 (**Figura 7C**) con niveles variables de expresión de STEAP2 a las 2 h y 24 h después de la incubación. Los valores que se muestran son la media $\pm$ SEM ($n = 3$). Ver el Ejemplo 8.

Las **Figuras 8A-8B** muestran los resultados de estudios de biodistribución en varios modelos de animales inyectados con [^{177}Lu]-STEAP2 en ratones desnudos NCr atímicos machos ($n=3$) con xenoinjertos subcutáneos en el momento especificado después de la inyección intravenosa. El porcentaje de dosis inyectada por gramo de tejido (% DI/g) se representa en el eje x y se muestra para sangre, hueso, cerebro, corazón, intestinos, riñones, pulmones, hígado, páncreas, bazo, estómago, piel, orina y vejiga, y tumor a las 4, 24, 72, 96, 168 y 336 horas. Ver el Ejemplo 9.

Las **Figuras 9A-9B** muestran los resultados de un estudio de eficacia *in vivo*, que incluye peso corporal relativo, en ratones desnudos NCr atímicos machos ($n=5$)

después de la inyección intravenosa de [^{225}Ac]-STEAP2 (50-400 nCi/2 μg), anticuerpo frío y vehículo. Ver el Ejemplo 10.

La **Figura 9C** muestra los resultados de un estudio de eficacia *in vivo*, que incluye peso corporal relativo, en ratones NOD-SCID machos (n = 4) después de la inyección intravenosa de [^{225}Ac]-STEAP2 (50-100 nCi/2 μg), anticuerpo isotipo y vehículo. Ver el Ejemplo 10.

La **Figura 9D** muestra los resultados del estudio de eficacia CTG-3167 PDX, que incluye cambios en el peso corporal, en ratones NOG machos (n = 3) después de la inyección intravenosa de [^{225}Ac]-STEAP2 (50-100 nCi) o anticuerpo isotipo en comparación con la cohorte no tratada. Ver el Ejemplo 10.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los radioinmunoconjugados se diseñan para dirigirse a una proteína o receptor que se sobreexpresa en un estado de enfermedad para suministrar una carga útil radiactiva para dañar y destruir las células de interés (radioinmunoterapia).

- 5 El suministro de una carga útil radiactiva da como resultado una emisión de partículas alfa, beta, gamma o electrón Auger dirigidos que puede causar efectos directos al ADN (tales como roturas de ADN de una o dos cadenas) o efectos indirectos tales como el efecto espectador o el efecto de fuego cruzado.

- Los radioinmunoconjugados típicamente contienen una entidad de
10 direccionamiento biológico (p. ej., un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que es capaz de unirse específicamente a la STEAP2), un radionúclido (p. ej., un emisor alfa o beta) y una molécula que une los dos. Los conjugados se forman cuando un quelato bifuncional se anexa a la entidad de direccionamiento biológico de modo que las alteraciones estructurales son mínimas mientras se mantiene la afinidad
15 diana. Una vez radioetiquetado, se forma el radioinmunoconjugado final.

- Los quelatos bifuncionales contienen estructuralmente un quelato, un enlazador y un grupo reticulante (**Figura 2A**). Al desarrollar nuevos quelatos bifuncionales, la mayoría de los esfuerzos se centran en la porción quelante de la molécula. Se han descrito varios ejemplos de quelatos bifuncionales con diversas
20 estructuras cíclicas y acíclicas conjugadas con una entidad de direccionamiento.
[Bioconjugate Chem. 2000, 11, 510-519; Bioconjugate Chem. 2012, 23, 1029-1039; Mol Imaging Biol. 2011, 13, 215-221, Bioconjugate Chem. 2002, 13, 110-115.]

Uno de los factores clave para desarrollar radioinmunoconjugados seguros y efectivas es maximizar la eficacia al tiempo que se minimiza la toxicidad fuera de la diana en el tejido normal. Si bien esta afirmación es uno de los principios centrales del desarrollo de nuevos fármacos, la aplicación a la radioimmunoterapia presenta nuevos desafíos. Los radioinmunoconjugados no necesitan bloquear un receptor, como es necesario con un anticuerpo terapéutico, ni liberar la carga útil citotóxica intracelularmente, como lo requiere un conjugado de anticuerpo y fármaco (“ADC”, por sus siglas en inglés), para tener eficacia terapéutica. No obstante, la emisión de la partícula tóxica es un evento que se produce como resultado de la desintegración de primer orden (radiactiva) y puede ocurrir al azar en cualquier parte dentro del cuerpo después de la administración. Una vez que se produce la emisión, puede producirse daño a las células circundantes dentro del rango de la emisión, lo que puede provocar una toxicidad fuera de la diana. Por lo tanto, limitar la exposición del tejido normal a estas emisiones es la clave para desarrollar nuevos radioinmunoconjugados terapéuticos.

Un método potencial para reducir la exposición fuera de la diana es eliminar la radiactividad de manera más efectiva del cuerpo (p. ej., del tejido normal del cuerpo). Un mecanismo es aumentar la tasa de eliminación del agente de direccionamiento biológico. Sin limitarse por la teoría, este enfoque puede requerir identificar formas de acortar la vida media del agente de direccionamiento biológico, que no están bien descritas para los agentes de direccionamiento biológico. Independientemente del mecanismo, el aumento de la eliminación de fármaco también impactará negativamente la farmacodinámica/eficacia ya que la eliminación más rápida del fármaco del cuerpo disminuirá la concentración efectiva

en el sitio de acción, lo que, a su vez, requeriría una dosis total más alta y no lograría los resultados deseados de reducir la dosis radiactiva total al tejido normal.

Otros esfuerzos se han centrado en acelerar el metabolismo de la porción de la molécula que contiene la entidad radiactiva. Para ello, se han realizado algunos esfuerzos para aumentar la tasa de escisión de la radiactividad de los agentes de direccionamiento biológico mediante el uso de lo que se ha denominado “enlazadores escindibles”. Sin embargo, los enlazadores escindibles han tomado un significado diferente en lo que se refiere a los radioinmunoconjugados. Cornelissen, et al. han descrito los enlazadores escindibles como aquellos mediante los cuales el quelato bifuncional se une al agente de direccionamiento biológico a través de una cisteína reducida, mientras que otros han descrito el uso de sistemas escindibles con enzimas que requieren la coadministración del radioinmunoconjugado con un agente/enzima de escisión para la liberación [Mol Cancer Ther. 2013, 12(11), 2472-2482; Methods Mol Biol. 2009, 539, 191-211; Bioconjug Chem. 2003, 14(5), 927-33]. Estos métodos o bien cambian la naturaleza de la entidad de direccionamiento biológico, en el caso del enlace de cisteína, o bien no son prácticos desde una perspectiva de desarrollo de fármaco (sistemas escindibles con enzimas) ya que, en el caso de las citas proporcionadas, requieren la administración de dos agentes.

La presente descripción proporciona, entre otras cosas, compuestos, p. ej., radioinmunoconjugados, que se eliminan más efectivamente del cuerpo después del catabolismo y/o metabolismo, eliminando de esta manera de forma más efectiva la radiactividad del cuerpo a la vez que se mantiene la eficacia terapéutica. Esta superioridad inesperada se logra, al menos en parte, haciendo modificaciones a la región enlazadora del quelato bifuncional.

Los inmunoconjugados descritos pueden, en algunas modalidades, lograr una reducción de la radiactividad total en el cuerpo, por ejemplo, al aumentar el grado de excreción de los productos catabólicos/metabólicos a la vez que mantienen la farmacocinética de la molécula intacta cuando se comparan con los quelatos bifuncionales conocidos. En algunas modalidades, esta reducción de la radiactividad resulta de la eliminación de subproductos catabólicos/metabólicos sin afectar otras propiedades *in vitro* e *in vivo* tales como la especificidad de unión, retención celular y captación tumoral *in vivo*. Por lo tanto, en algunas modalidades, los compuestos proporcionados logran una radiactividad reducida en el cuerpo humano a la vez que mantienen la actividad en la diana.

En algunas modalidades, una terapia alfa dirigida (TAT, por sus siglas en inglés) radiofarmacéutica con anticuerpo anti-STEAP2 se puede usar como un tratamiento independiente o en combinación con otras terapias tales como inhibidores de punto de control, quimioterapia, inhibidores de reparación de daños del ADN u otras modalidades terapéuticas para abordar indicaciones clínicas, p. ej., aquellas que expresan STEAP2. El tratamiento activará una variedad de vías para activar los procesos antitumorales al causar la muerte de las células tumorales que son diana de la alfarradiación a través del daño del ADN, lo que lleva a la estimulación del sistema inmunitario del huésped hacia las células tumorales y, en última instancia, dará como resultado la destrucción/erradicación de las células tumorales.

La evaluación de la biodistribución del anticuerpo anti-STEAP2 conjugado con Lu-177 en ratones con tumores positivos a la STEAP2 reveló la especificidad del anticuerpo anti-STEAP2 radioconjugado y su captación en tumores positivos a la

STEAP2. Además, la terapia de dosis única con anticuerpo anti-STEAP2 conjugado con Ac-225 condujo a la regresión del tumor y al beneficio de supervivencia general, lo que sugiere la especificidad y la eficacia de la terapia alfa dirigida al anti-STEAP2.

En la presente se describen ciertos radiofármacos y su uso para tratar cánceres (p. ej., cáncer de próstata). Específicamente, en algunas modalidades, la presente descripción proporciona radiofármacos basados en el anticuerpo anti-STEAP2 (terapia alfa dirigida al anticuerpo-conjugado) con el uso de actinio-225, lutecio-177, indio-111 u otra carga útil de radioisótopo terapéutico adecuado dirigida a la STEAP2 que expresa indicaciones de cáncer.

Definiciones

Como se usa en la presente, el término “unión” o “unirse” de una entidad de direccionamiento significa una interacción o asociación al menos temporal con o a una molécula diana, p. ej., la STEAP2 humana, como se describe en la presente.

El término “quelato bifuncional”, como se usa en la presente, se refiere a un compuesto que comprende un quelato, un enlazador y un grupo reticulante. Ver la **Figura 2A**. Un “grupo reticulante” es un grupo reactivo que es capaz de unir dos o más moléculas, p. ej., unir un quelato bifuncional y una entidad de direccionamiento, mediante un enlace covalente.

El término “conjugado bifuncional”, como se usa en la presente, se refiere a un compuesto que comprende un quelato o complejo metálico de este, un enlazador y una entidad de direccionamiento, p. ej., un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. Ver la **Figura 2B**.

El término “cáncer”, como se usa en la presente, se refiere a cualquier enfermedad causada por la proliferación de células neoplásicas malignas, tales como tumores, neoplasias, carcinomas, sarcomas, leucemias y linfomas. En algunas modalidades, un cáncer de la presente descripción comprende células (p. ej., células
 5 tumorales) que expresan STEAP2, tal como, pero no limitado a, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer pancreático o cáncer de cabeza y cuello.

El término “quelato”, como se usa en la presente, se refiere a un compuesto orgánico o porción de este que puede formar un complejo con un átomo metálico o radiometálico central en dos o más puntos.

10 El término “conjugado”, como se usa en la presente, se refiere a una molécula que contiene un grupo quelante o complejo metálico de este, un grupo enlazador, y que opcionalmente contiene una entidad de direccionamiento, p. ej., un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este.

“Afinidad” se refiere a la fuerza de las interacciones no covalentes entre un
 15 único sitio de unión de una molécula (p. ej., de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este) y un único sitio de unión (p. ej., epítipo) en la pareja de unión de la molécula (p. ej., un 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
 20 incluyen los descritos en la presente. A continuación se describen modalidades ilustrativas y ejemplares específicas para medir la afinidad de unión.

“Afinidad madurada” en referencia a un anticuerpo significa un anticuerpo con una o más alteraciones en una o más regiones determinantes de

complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés), en comparación con un anticuerpo parental que no posee tales alteraciones, tales alteraciones dan como resultado una mejora en la afinidad del anticuerpo por el antígeno.

“Anticuerpo anti-STEAP2” se refiere a un anticuerpo que es capaz de unirse a la STEAP2. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-STEAP2 se une específicamente a la STEAP2. Eso significa que el grado de unión del anticuerpo anti-STEAP2 a una proteína que no es la proteína X no relacionada, es menor que aproximadamente 10 % de la unión del anticuerpo a la STEAP2.

“Anticuerpo” se usa en el sentido más amplio y abarca diversas estructuras de anticuerpo, que incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (p. ej., anticuerpos biespecíficos). Las estructuras y ubicaciones de los dominios variables de inmunoglobulina, p. ej., las CDR, pueden definirse usando esquemas de numeración bien conocidos, p. ej., el esquema de numeración de Kabat, el esquema de numeración de Chothia, o una combinación de Kabat y Chothia (ver, p. ej. Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services (1991), eds. Kabat et al.; Al Lazikani et al., (1997) J. Mol. Biol. 273:927-948); Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edit., NIH Publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services; Chothia et al., (1987) J. Mol. Biol. 196:90-191; Chothia et al., (1989) Nature 342:877-883; y Al-Lazikani et al., (1997) J. Mol. Biol. 273:927-948. En modalidades preferidas, los dominios variables, p. ej., las CDR, se definen de acuerdo con el esquema de numeración de Kabat.

“Anticuerpo que se une al mismo epítipo”, como anticuerpo de referencia, se refiere a un anticuerpo que bloquea la unión del anticuerpo de referencia a su

antígeno en un ensayo de competencia en 50 % o más, y a la inversa, el anticuerpo de referencia bloquea la unión del anticuerpo a su antígeno en un ensayo de competencia en 50 % o más. Un ensayo de competencia ilustrativo incluye un ensayo homogéneo de fluorescencia resuelta en el tiempo (HTRF, por sus siglas en inglés).

5 “Fragmento de unión al antígeno” se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo intacto que comprende una porción del anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de unión al antígeno incluyen, pero no se limitan a, Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fab'-SH, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo monocatenarias (p.
10 ej., scFv) y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de unión al antígeno. Para una revisión de ciertos fragmentos de unión al antígeno, ver Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Para una revisión de fragmentos scFv, ver, p. ej., Pluckthün, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), págs. 269-315 (1994); ver también WO 93/16185; y las
15 patentes de los EE. UU. núms. 5.571.894 y 5.587.458. Para la discusión de los fragmentos Fab y F(ab')₂ que comprenden residuos de epítipo de unión al receptor de rescate y que tienen una vida media in vivo aumentada, ver la patente de los EE. UU. núm. 5.869.046. Los diacuerpos son fragmentos de unión al antígeno con dos sitios de unión al antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Ver, p. ej., EP 404.097; WO 1993/01161;
20 Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); y Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Los triacuerpos y tetracuerpos también se describen en Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003). Los anticuerpos de dominio único son fragmentos de unión al antígeno que comprenden la totalidad o una porción del dominio variable de cadena

pesada o la totalidad o una porción del dominio variable de cadena ligera de un anticuerpo. Los fragmentos de unión al antígeno se pueden fabricar mediante diversas técnicas, que incluyen, pero no se limitan a, la digestión proteolítica de un anticuerpo intacto así como la producción por células huésped recombinantes (p. ej., E. coli o fago).

5 “Competir” o “compite” o “compite por la unión a” como se usa en la presente con respecto a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, significa que un primer dominio de unión al antígeno se une a un epítipo de una proteína (p. ej., STEAP2) de una manera suficientemente similar a la unión de un segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, de tal manera que el resultado de la unión del primer
10 anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este con su epítipo disminuye de forma detectable en presencia del segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este en comparación con la unión del primer anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este en ausencia del segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este.

“Compite de forma cruzada” significa que, al igual que el segundo anticuerpo o fragmento
15 de unión al antígeno que compite por la unión a un antígeno con un primer anticuerpo que se ha preincubado con el antígeno, el primer anticuerpo también compite por la unión al antígeno cuando el segundo anticuerpo se preincuba con dicho antígeno.

 “Regiones determinantes de complementariedad” y “CDR” se usan en la presente para referirse a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo o fragmento
20 de unión al antígeno que proporcionan los residuos de contacto primarios para la unión al antígeno.

 “Clase” de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o región constante que posee su cadena pesada. Hay cinco clases principales de anticuerpos:

IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM, y varios de estos pueden dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan a, g, e, y, y 1, respectivamente.

5 “Epítipo” incluye cualquier determinante de proteína capaz de unirse específicamente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. Los determinantes de epítipos generalmente consisten en agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de carbohidratos o azúcar y pueden tener características estructurales tridimensionales
10 específicas, así como características específicas de carga. Un epítipo puede ser “lineal” o “conformacional”. Los epítipos conformacionales y lineales se distinguen en que la unión a los primeros pero no a los segundos generalmente se pierde en presencia de disolventes desnaturalizantes.

 “Región Fc” en la presente se usa para definir una región C-terminal de una
15 cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. El término incluye regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. En algunas modalidades, una región Fc variante puede modificarse en comparación con una región constante silvestre. Es decir, la región Fc puede comprender alteraciones o modificaciones en uno o más de los tres dominios constantes de cadena
20 pesada (CH1, CH2 o CH3). Las modificaciones ilustrativas incluyen adiciones, delecciones o sustituciones de uno o más aminoácidos en uno o más dominios. Tales modificaciones también pueden estar presentes en el dominio ligero constante (CL, por sus siglas en inglés). Tales cambios pueden incluirse para optimizar la función efectora,

la vida media, etc. A menos que se especifique de cualquier otra manera en la presente, la numeración de residuos de aminoácidos en la región Fc o región constante es de acuerdo con el sistema de numeración EU, también llamado el índice EU, como se describe en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed.

5 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

“Marco” o “FW” se refiere a residuos de dominio variable distintos de los residuos de la región determinante de complementariedad (CDR). El FR de un dominio variable generalmente consiste en cuatro dominios FW: FW1, FW2, FW3 y FW4. En consecuencia, las secuencias de CDR y FW generalmente aparecen en la
 10 siguiente secuencia en VH: FW1-HCDR1-FW2-HCDR2-FW3-HCDR3-FW4, y las secuencias de CDR y FW generalmente aparecen en la siguiente secuencia en VL: FW1-LCDR1-FW2-LCDR2-FW3-LCDR3-FW4.

“De longitud completa”, “íntacto” y “entero” cuando se usan junto con el término “anticuerpo” se usan indistintamente. Se refieren a un anticuerpo que tiene
 15 una estructura sustancialmente similar a una estructura de anticuerpo nativo o que tiene cadenas pesadas que contienen una región Fc como se define en la presente.

“Célula huésped” se refiere a las células en las que se ha introducido ácido nucleico exógeno. La célula huésped incluye la progenie de tales células y células transformadas, que incluyen las células transformadas primarias y la progenie
 20 derivada de estas sin tener en cuenta el número de paso.

“Anticuerpos humanos”, como se usa en la presente, incluye anticuerpos que tienen regiones variables en las que tanto la región marco como las CDR se derivan de secuencias de origen humano. Además, si el anticuerpo contiene una región constante, la

región constante también se deriva de tales secuencias humanas, p. ej., secuencias de línea germinal humana, o versiones mutadas de secuencias de línea germinal humana o un anticuerpo que contiene secuencias marco de consenso derivadas del análisis de secuencias marco humanas, por ejemplo, como se describe en Knappik, et al. (2000. J Mol Biol296, 57-86). Los anticuerpos humanos de la descripción pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias humanas (p. ej., mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio in vitro o por mutación somática in vivo, o una sustitución conservadora para promover la estabilidad o la elaboración). Sin embargo, el término “anticuerpo humano”, como se usa en la presente, no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se han injertado en secuencias marco humanas.

Un anticuerpo “quimérico” se refiere a un anticuerpo que comprende una porción de la cadena pesada y/o ligera que es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular (p. ej., anticuerpos quiméricos humanizados de clase conmutada), mientras que el resto de la cadena o cadenas son idénticas u homólogas a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo (Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)).

Un anticuerpo “humanizado” se refiere a un anticuerpo que comprende residuos de aminoácidos de CDR no humanas y residuos de aminoácidos de FW humanos. Un anticuerpo humanizado puede comprender sustancialmente la totalidad de al menos un, y típicamente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las CDR

corresponden a las de un anticuerpo no humano, y todos o sustancialmente todos los FW corresponden a los de un anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado puede comprender opcionalmente al menos una porción de una región constante de anticuerpo derivada de un anticuerpo humano. Una “forma humanizada” de un anticuerpo, p. ej., un
5 anticuerpo no humano, se refiere a un anticuerpo que se ha sometido a humanización.

El anticuerpo “aislado” es un anticuerpo que ha sido separado de un componente de su entorno natural. En algunas modalidades, un anticuerpo se purifica a una pureza superior a 95 % o 99 % según lo determinado, por ejemplo, mediante análisis electroforético (p. ej., SDS-PAGE, enfoque isoelectrico (IEF, por sus siglas en
10 inglés), electroforesis capilar) o cromatográfico (p. ej., intercambio de iones o HPLC de fase inversa). Para la revisión de los métodos para la evaluación de la pureza del anticuerpo, ver, p. ej., Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007).

El ácido nucleico “aislado” se refiere a una molécula de ácido nucleico que se ha separado de un componente de su entorno natural. Un ácido nucleico aislado
15 incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que normalmente contienen la molécula de ácido nucleico, pero la molécula de ácido nucleico está presente de forma extracromosómica o en una ubicación cromosómica que es diferente de su ubicación cromosómica natural.

El término “sujeto” se refiere a un animal, humano o no humano, a quien se le
20 proporciona tratamiento de acuerdo con los métodos de la presente descripción. Se contemplan aplicaciones veterinarias y no veterinarias. El término incluye, pero no se limita a, mamíferos, p. ej., humanos, otros primates, cerdos, roedores tales como ratones y ratas, conejos, conejillos de indias, hámsteres, vacas, caballos, gatos, perros,

ovejas y cabras. Los sujetos típicos incluyen humanos, animales de granja y mascotas domésticas tales como gatos y perros. El sujeto preferido es un ser humano.

Como se usa en la presente, el término “compuesto” pretende incluir todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros y/o sales de estos de las

5 estructuras descritas en la presente.

Los compuestos citados o descritos en la presente pueden ser asimétricos (p. ej., que tienen uno o más estereocentros). Todos los estereoisómeros, tales como enantiómeros y diastereoisómeros, están previstos a menos que se indique de cualquier otra manera. Los compuestos descritos en la presente que contienen átomos

10 de carbono sustituidos asimétricamente pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. En la técnica se conocen métodos sobre cómo preparar formas ópticamente activas a partir de materiales de partida ópticamente activos, tales como por resolución de mezclas racémicas o por síntesis estereoselectiva.

Como se usa en la presente, “agente de detección” se refiere a una molécula

15 o átomo que es útil en el diagnóstico de una enfermedad mediante la localización de las células que contienen el antígeno. En la técnica se conocen diversos métodos de etiquetado de polipéptidos con agentes de detección. Los ejemplos de agentes de detección incluyen, pero no se limitan a, radioisótopos y radionúclidos, colorantes (tales como con el complejo biotina-estreptavidina), agentes de contraste, agentes

20 luminiscentes (p. ej., isotiocianato de fluoresceína o FITC, rodamina, lantánido, fósforo, cianina y colorantes casi IR) y agentes magnéticos, tales como quelatos de gadolinio.

Como se usa en la presente, el término “radionúclido” se refiere a un átomo capaz de sufrir desintegración radiactiva (p. ej., ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{55}Co ,

^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{89}Zr , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh ,
 ^{109}Pd , ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au ,
 ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th , ^{229}Th , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , $^{117\text{m}}\text{Sn}$,
 ^{201}Tl). Los términos núclido radiactivo, radioisótopo o isótopo radiactivo también pueden

5 usarse para describir un radionúclido. Los radionúclidos pueden usarse como agentes de detección, como se describe en la presente. En algunas modalidades, el radionúclido puede usarse como agente terapéutico, p. ej., un radionúclido emisor de alfa.

El término “cantidad efectiva” de un agente (p. ej., cualquiera de los conjugados anteriores), como se usa en la presente, es esa cantidad suficiente para causar resultados
10 beneficiosos o deseados, tales como resultados clínicos, y, como tal, una “cantidad efectiva” depende del contexto en el que se esté aplicando. Por ejemplo, en aplicaciones terapéuticas, una “cantidad efectiva” puede ser una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas del trastorno y sus complicaciones, para mejorar sustancialmente al menos un síntoma asociado con la enfermedad o una afección médica,
15 para ralentizar la progresión de los síntomas del trastorno y sus complicaciones, y/o para ralentizar la progresión de al menos un síntoma asociado con la enfermedad o una afección médica. Típicamente, una “cantidad efectiva” en el contexto de la presente descripción es una cantidad de un radioinmunoconjugado descrito en la presente, p. ej., un radioinmunoconjugado Ac-225, que produce al menos alguna respuesta terapéutica o
20 efecto deseado medible en alguna fracción del paciente al que se le administra. Por ejemplo, en el tratamiento del cáncer, un agente o compuesto que disminuye, previene, retrasa, suprime o detiene cualquier síntoma de la enfermedad o afección sería terapéuticamente efectiva. No se requiere una cantidad terapéuticamente efectiva de un

agente o compuesto para curar una enfermedad o afección, pero puede, por ejemplo, proporcionar un tratamiento para una enfermedad o afección de tal manera que el inicio de la enfermedad o afección se retrase, obstaculice o evite, de tal manera que los síntomas de la enfermedad o afección se mejoren, o de tal manera que la duración de la enfermedad o afección cambie. Por ejemplo, la enfermedad o afección puede volverse menos grave y/o la recuperación se acelera en un individuo. Se puede administrar una cantidad efectiva mediante la administración de una dosis única o múltiples dosis (p. ej., al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco o al menos seis) dosis.

El término “inmunoconjugado”, como se usa en la presente, se refiere a un conjugado que incluye una entidad de direccionamiento, tal como un anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este), nanocuerpo, aficuerpo, o una secuencia de consenso del dominio de fibronectina tipo III. En algunas modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos 0,10 conjugados por entidad de direccionamiento (p. ej., un promedio de al menos 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, u 8 conjugados por entidad de direccionamiento). En algunas modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o aproximadamente 0,20 conjugados por entidad de direccionamiento. En algunas modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o aproximadamente 0,30 conjugados por entidad de direccionamiento. En algunas modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o aproximadamente 0,40 conjugados por entidad de direccionamiento. En algunas modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o aproximadamente 0,50 conjugados por entidad de direccionamiento. En algunas

modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o aproximadamente 0,60 conjugados por entidad de direccionamiento. En algunas modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o aproximadamente 0,70 conjugados por entidad de direccionamiento. En algunas

5 modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o aproximadamente 0,80 conjugados por entidad de direccionamiento. En algunas modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o aproximadamente 0,90 conjugados por entidad de direccionamiento. En algunas modalidades, el inmunoconjugado comprende un promedio de al menos o

10 aproximadamente 1 conjugado por entidad de direccionamiento.

El término “radioconjugado”, como se usa en la presente, se refiere a cualquier conjugado que incluya un radioisótopo o radionúclido, tal como cualquiera de los radioisótopos o radionúclidos descritos en la presente.

El término “radioinmunoconjugado”, como se usa en la presente, se refiere a

15 cualquier inmunoconjugado que incluya un radioisótopo o radionúclido, tal como cualquiera de los radioisótopos o radionúclidos descritos en la presente. Un radioinmunoconjugado proporcionado en la presente típicamente se refiere a un conjugado bifuncional que comprende un complejo metálico formado a partir de un radioisótopo o radionúclido.

El término “radioinmunoterapia”, como se usa en la presente, se refiere a un

20 método de uso de un radioinmunoconjugado para producir un efecto terapéutico. En algunas modalidades, la radioinmunoterapia puede incluir la administración de un radioinmunoconjugado a un sujeto que lo necesite, en donde la administración del radioinmunoconjugado produce un efecto terapéutico en el sujeto. En algunas

modalidades, la radioinmunoterapia puede incluir la administración de un radioinmunoconjugado a una célula, en donde la administración del radioinmunoconjugado destruye la célula. En donde la radioinmunoterapia implica la destrucción selectiva de una célula, en algunas modalidades la célula es una célula cancerosa en un sujeto que tiene cáncer.

El término “composición farmacéutica”, como se usa en la presente, representa una composición que contiene un radioinmunoconjugado descrito en la presente formulado con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición farmacéutica se fabrica o vende con la aprobación de una agencia reguladora gubernamental como parte de un régimen terapéutico para el tratamiento de la enfermedad en un mamífero. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse, por ejemplo, para administración oral en forma de dosificación unitaria (p. ej., una tableta, una cápsula, un comprimido oblongo, una cápsula de gel o un jarabe); para administración tópica (p. ej., como crema, gel, loción o ungüento); para administración intravenosa (p. ej., como una solución estéril libre de embolias particuladas y en un sistema disolvente adecuado para uso intravenoso); o en cualquier otra formulación descrita en la presente.

Un “excipiente farmacéuticamente aceptable”, como se usa en la presente, se refiere a cualquier ingrediente distinto de los compuestos descritos en la presente (por ejemplo, un vehículo capaz de suspender o disolver el compuesto activo) y que tiene las propiedades de ser no tóxico y no inflamatorio en un paciente. Los excipientes pueden incluir, por ejemplo: antiadherentes, antioxidantes, aglutinantes, recubrimientos, auxiliares de compresión, desintegrantes, colorantes (colores), emolientes, emulsionantes, rellenos (diluyentes), formadores de película o

recubrimientos, sabores, fragancias, deslizantes, (potenciadores de flujo), lubricantes, conservantes, tintas de impresión, radioprotectores, sorbentes, agentes de suspensión o dispersión, edulcorantes, o aguas de hidratación. Los excipientes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a: ácido ascórbico, histidina, regulador de fosfato,

5 hidroxitolueno butilado (BHT, por sus siglas en inglés), carbonato de calcio, fosfato de calcio (dibásico), estearato de calcio, croscarmelosa, polivinilpirrolidona reticulada, ácido cítrico, crospovidona, cisteína, etilcelulosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, lactosa, estearato de magnesio, maltitol, manitol, metionina, metilcelulosa, metilparabeno, celulosa microcristalina, polietilenglicol,

10 polivinilpirrolidona, povidona, almidón pregelatinizado, propilparabeno, palmitato de retinilo, goma laca, dióxido de silicio, carboximetilcelulosa sódica, citrato de sodio, glicolato de almidón sódico, sorbitol, almidón (maíz), ácido esteárico, ácido esteárico, sacarosa, talco, dióxido de titanio, vitamina A, vitamina E, vitamina C, y xilitol.

El término “sal farmacéuticamente aceptable”, como se usa en la presente,

15 representa aquellas sales de los compuestos aquí descritos que son, dentro del alcance del criterio médico sensato, adecuadas para usar en contacto con los tejidos de humanos y animales sin toxicidad indebida, irritación o respuesta alérgica. Las sales farmacéuticamente aceptables son conocidas en la técnica. Por ejemplo, las sales farmacéuticamente aceptables se describen en: Berge et al., *J. Pharmaceutical Sciences*

20 66:1-19, 1977 y en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Eds. P.H. Stahl y C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Las sales pueden prepararse in situ durante el aislamiento y purificación final de los compuestos descritos en la presente o por separado al hacer reaccionar el grupo de base libre con un ácido orgánico adecuado.

Los compuestos de la descripción pueden tener grupos ionizables de manera que puedan prepararse como sales farmacéuticamente aceptables. Estas sales pueden ser sales de adición de ácido que implican ácidos inorgánicos u orgánicos o las sales pueden prepararse, en el caso de formas ácidas de los compuestos de la descripción, a partir de bases inorgánicas u orgánicas. Frecuentemente, los compuestos se preparan o se usan como sales farmacéuticamente aceptables preparadas como productos de adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptables. Los ácidos y bases farmacéuticamente aceptables adecuados son bien conocidos en la técnica, tales como ácido clorhídrico, sulfúrico, bromhídrico, acético, láctico, cítrico o tartárico para formar sales de adición de ácido, e hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, cafeína, diversas aminas para formar sales básicas. Los métodos para la preparación de las sales apropiadas están bien establecidos en la técnica.

Las sales de adición de ácido representativas incluyen acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, hemisulfato, heptonato, hexanoato, bromhidrato, clorhidrato, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, toluenosulfonato, undecanoato, sales de valerato, entre otros. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio y magnesio, así como cationes de amonio, amonio cuaternario y

amina no tóxicos, que incluyen, pero no se limitan a, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, y etilamina.

El término “polipéptido”, como se usa en la presente, se refiere a una cadena de al menos dos aminoácidos unidos entre sí por un enlace peptídico. En algunas modalidades, un polipéptido puede incluir al menos 3-5 aminoácidos, cada uno de los cuales se une a otros por medio de al menos un enlace peptídico. Los expertos en la técnica apreciarán que los polipéptidos pueden incluir uno o más aminoácidos “no naturales” u otras entidades que, no obstante, son capaces de integrarse en una cadena polipeptídica. En algunas modalidades, un polipéptido puede estar glicosilado, p. ej., un polipéptido puede contener una o más entidades de azúcar unidas de forma covalente. En algunas modalidades, un “polipéptido” individual (p. ej., un polipéptido de anticuerpo) puede comprender dos o más cadenas polipeptídicas individuales, que en algunos casos pueden enlazarse entre sí, por ejemplo, mediante uno o más enlaces disulfuro u otros medios.

“Identidad sustancial” o “sustancialmente idéntica” significa una secuencia polipeptídica que tiene la misma secuencia polipeptídica, respectivamente, que una secuencia de referencia, o que tiene un porcentaje especificado de residuos de aminoácidos, respectivamente, que son los mismos en la ubicación correspondiente dentro de una secuencia de referencia cuando las dos secuencias están alineadas de manera óptima. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que es “sustancialmente idéntica” a una secuencia de referencia tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de referencia. Para los polipéptidos, la longitud de las secuencias de comparación

generalmente será de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 50, 75, 90, 100, 150, 200, 250, 300, o 350 aminoácidos contiguos (p. ej., una secuencia de longitud completa). La identidad de secuencia se puede medir mediante el uso de un software de análisis de secuencias en la configuración predeterminada (p. ej., el paquete de software de análisis de secuencias del Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, WI 53705). Tal software puede hacer coincidir secuencias similares al asignar grados de homología a diversas sustituciones, deleciones y otras modificaciones.

Como se usa en la presente, y como se entiende bien en la técnica, “tratar” una afección o “tratamiento” de la afección (p. ej., las afecciones descritas en la presente tales como cáncer) es un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, tales como resultados clínicos. Los resultados beneficiosos o deseados pueden incluir, pero no se limitan a, el alivio o mejora de uno o más síntomas o afecciones; disminución de la extensión de la enfermedad, trastorno, o afección; estado estabilizado (es decir, que no empeora) de la enfermedad, trastorno, o afección; prevención de la propagación de la enfermedad, trastorno o afección; retraso o ralentización del progreso de la enfermedad, trastorno, o afección; Mejora o paliación de la enfermedad, trastorno, o afección; y remisión (ya sea parcial o total), sea detectable o indetectable. “Paliar” una enfermedad, trastorno o afección significa que el grado y/o las manifestaciones clínicas indeseables de la enfermedad, trastorno o afección se disminuyen y/o el curso de tiempo de la progresión se ralentiza o se alarga, en comparación con el grado o curso de tiempo en ausencia de tratamiento.

Como se usa en la presente, el término “alrededor de” o “aproximadamente”, cuando se usa en referencia a un valor cuantitativo, incluye el propio valor cuantitativo mencionado, a menos que se indique específicamente de cualquier otra manera. Como se usa en la presente, el término “alrededor de” o “aproximadamente” se refiere a una
5 variación de $\pm 10\%$ del valor cuantitativo mencionado a menos que se indique o se infiera de cualquier otra manera a partir del contexto.

Como se usa en la presente, el término “entidad de direccionamiento” se refiere a cualquier molécula o cualquier parte de una molécula que es capaz de unirse a una diana determinada. El término “entidad de direccionamiento a la STEAP2” se refiere a
10 una entidad de direccionamiento (p. ej., un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este) que es capaz de unirse a la STEAP2, p. ej., al anticuerpo anti-STEAP2.

Como se usa en la presente, una “variante funcional” se une al mismo antígeno diana que el anticuerpo de referencia, y exhibe la misma reactividad cruzada del antígeno que el anticuerpo de referencia. Las variantes funcionales pueden tener
15 una afinidad diferente por el antígeno diana cuando se comparan con el anticuerpo de referencia, pero se prefiere sustancialmente la misma afinidad. Una variante funcional puede denominarse “anticuerpo variante”.

Como se usa en la presente, el término “fragmento funcional”, cuando se usa para referirse a un fragmento de STEAP2, se refiere a la STEAP2 truncado en N-
20 terminal y/o C-terminal o dominios proteicos de este. A menos que se especifique de cualquier otra manera, un fragmento descrito en la presente es un fragmento funcional. A menos que se indique de cualquier otra manera, los fragmentos de STEAP2 usados de acuerdo con las modalidades descritas en la presente conservan

la capacidad de la STEAP2 de longitud completa de ser reconocido y/o unido por una entidad de direccionamiento a la STEAP2 como se describe en la presente.

El uso de los términos “un” y “una” y “el/la” y referentes similares en el contexto de describir la descripción (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) debe interpretarse en el sentido de que abarca tanto el singular como el plural, a menos que se indique de cualquier otra manera en la presente o el contexto lo contradiga claramente.

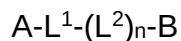
A menos que se indique específicamente o sea evidente por el contexto, como se usa en la presente, el término “o” se entiende en sentido inclusivo y cubre tanto “o” como “y”.

El término “y/o”, cuando se usa en la presente, debe tomarse como una descripción específica de cada una de las características o componentes especificados con o sin el otro.

Los términos “que comprende”, “que tiene”, “que incluye” y “que contiene” deben interpretarse como términos abiertos (es decir, que significan “que incluyen, pero no se limitan a”) a menos que se indique de cualquier otra manera. El término “que consiste en” debe interpretarse como un término cerrado.

Compuestos, p. ej., inmunoconjugados o radioinmunoconjugados

En un aspecto, esta descripción proporciona compuestos, p. ej., inmunoconjugados o radioinmunoconjugados, que comprenden la siguiente estructura, o sales farmacéuticamente aceptables de estos:



Fórmula I

en donde

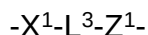
A es una entidad quelante o un complejo metálico de esta,

5 B es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que es capaz de unirse a la STEAP2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este se presenta como se describe en la presente;

L¹ es un enlace, C=O, C=S, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o
10 heteroarilo opcionalmente sustituido;

n es un número entero entre 1 y 5 (inclusive); y

L² tiene cada uno independientemente la estructura de la Fórmula II:



15

Fórmula II

en donde

X¹ es -C(O)NR¹—*, -NR¹C(O)—*, -C(S)NR¹—*, -NR¹C(S)—*, -OC(O)NR¹—*, -NR¹C(O)O—*, -NR¹C(O)NR¹—*, -CH₂-Ph-C(O)NR¹—*, -NR¹C(O)-Ph-CH₂—*, -CH₂-Ph-NH-C(S)NR¹—*, -NR¹C(S)-NH-Ph-CH₂—*, -O—*, o -NR¹—*; en donde “*” indica el punto de acoplamiento a L³, y R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, o arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

20

L^3 es alquilo C_1-C_{50} opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1-C_{50}

opcionalmente sustituido; y

Z^1 es $-CH_2-#$, $-C(O)-#$, $-C(S)-#$, $-OC(O)-#$, $-C(O)O-#$, $-NR^2C(O)-#$, $-$

$C(O)NR^2-#$, o $-NR^2-#$, en donde “#” indica el punto de acoplamiento a B, y R^2 es

- 5 hidrógeno, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido.

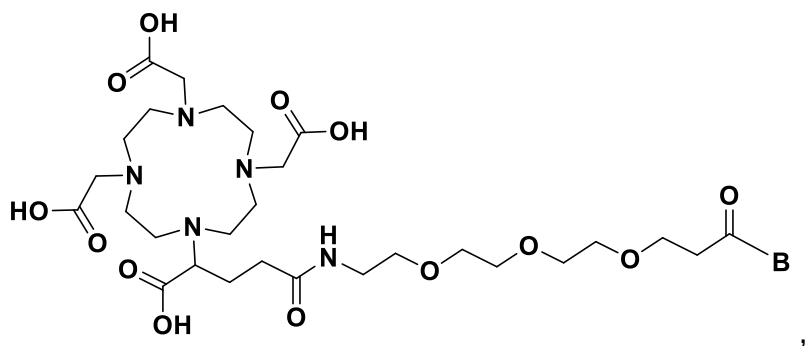
Los sustituyentes típicos de alquilo, heteroalquilo, arilo o heteroarilo incluyen,

pero no se limitan a, halo (p. ej., F, Cl, Br, I), OH, CN, nitro, amino, alquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-8} , heteroalquilo C_{1-6} , heterocicloalquilo C_{1-6} , haloalquilo (p. ej.,

- 10 CF_3), alcoxi (p. ej., OCH_3), alquilamino (p. ej., NH_2CH_3), sulfonilo, arilo y heteroarilo.

En algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable

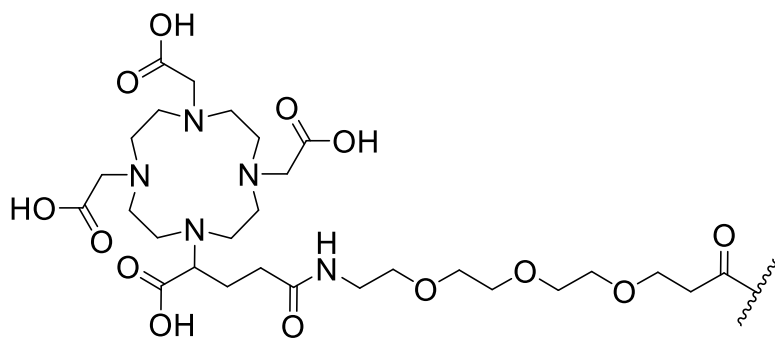
de este (p. ej., inmunoconjugado o radioinmunoconjugado) tiene o comprende:



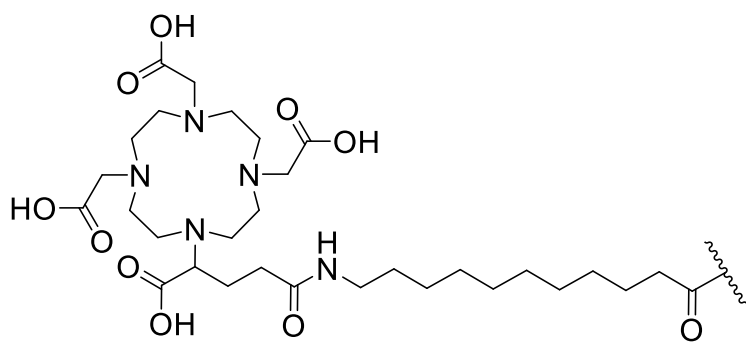
15

en donde B es un anticuerpo de STEAP2 o fragmento de unión al antígeno de este como se describe en la presente.

En algunas modalidades, el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la Fórmula I comprende:



o el compuesto comprende



En algunas modalidades, los compuestos proporcionados o sal

- 5 farmacéuticamente aceptable de estos (p. ej., inmunoconjugados o
radioinmunoconjugados) son capaces de unirse a diferentes líneas celulares con
niveles variables de expresión de STEAP2 con un valor de K_d de como máximo
aproximadamente 25 nM, como máximo aproximadamente 20 nM, como máximo
aproximadamente 15 nM, como máximo aproximadamente 12,5 nM, como máximo
10 aproximadamente 10 nM, como máximo aproximadamente 7,5 nM, como máximo
aproximadamente 7 nM, como máximo aproximadamente 6,5 nM, como máximo
aproximadamente 6 nM, como máximo aproximadamente 5 nM, como máximo
aproximadamente 4 nM, como máximo aproximadamente 3,5 nM, como máximo
aproximadamente 3 nM, o como máximo aproximadamente 2,5 nM. En algunas
15 modalidades, los compuestos proporcionados o sal farmacéuticamente aceptable de

estos (p. ej., inmunoconjugados o radioinmunoconjugados) son capaces de unirse a diferentes líneas celulares con niveles variables de expresión de STEAP2 con un valor de K_d de aproximadamente 15 nM, aproximadamente 12,5 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 7,5 nM, aproximadamente 7 nM, aproximadamente 6,5 nM, aproximadamente 6 nM, aproximadamente 5 nM, aproximadamente 4 mM, aproximadamente 3,5 nM, aproximadamente 3 nM, o aproximadamente 2,5 nM.

En algunas modalidades, como se describe adicionalmente en la presente, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., inmunoconjugado o radioinmunoconjugado) comprende una entidad quelante o un complejo metálico de esta, cuyo complejo metálico puede comprender un radionúclido. En algunos de tales compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de estos, la relación promedio o relación mediana de la entidad quelante a la entidad de direccionamiento a la STEAP2 (p. ej., anticuerpo de STEAP2) es ocho o menos, siete o menos, seis o menos, cinco o menos, cuatro o menos, tres o menos, dos o menos, o aproximadamente uno. En algunos compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de estos, la relación promedio o relación mediana de la entidad quelante a la entidad de direccionamiento a la STEAP2 (p. ej., anticuerpo de STEAP2) es aproximadamente uno.

En algunas modalidades, después de que se administra un radioinmunoconjugado a un mamífero, la proporción de radiación (de la cantidad total de radiación que se administra) que se excreta por la vía intestinal, la vía renal, o ambas es mayor que la proporción de radiación excretada por un mamífero comparable al que se le ha administrado un radioinmunoconjugado de referencia.

“Inmunoconjugado de referencia” significa un radioinmunoconjugado conocido que

difiere de un radioinmunoconjugado descrito en la presente al menos por (1) tener un enlazador diferente; (2) tener una entidad de direccionamiento de diferente tamaño y/o (3) carecer de una entidad de direccionamiento. En algunas modalidades, el radioinmunoconjugado de referencia se selecciona del grupo que consiste en [^{90}Y]-ibritumomab tiuxetan (Zevalin (^{90}Y)) y [^{111}In]-ibritumomab tiuxetan (Zevalin (^{111}In)).

En algunas modalidades, la proporción de radiación excretada por una vía determinada (o conjunto de vías) es al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, o al menos 95 % mayor que la proporción de radiación excretada por la(s) misma(s) vía(s) por un mamífero comparable al que se le ha administrado un radioinmunoconjugado de referencia. En algunas modalidades, la proporción de radiación excretada es al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 2,5 veces, al menos 3 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, al menos 9 veces, o al menos 10 veces mayor que la proporción de radiación excretada por un mamífero comparable al que se le ha administrado un radioinmunoconjugado de referencia. El grado de excreción se puede medir mediante métodos conocidos en la técnica, p. ej., al medir la radiactividad en orina y/o heces y/o al medir la radiactividad corporal total durante un período de tiempo. Ver también, p. ej., la publicación de patente internacional núm. WO 2018/024869.

En algunas modalidades, el grado de excreción se mide en un período de tiempo de al menos o aproximadamente 12 horas después de la administración, al

menos o aproximadamente 24 horas después de la administración, al menos o aproximadamente 2 días después de la administración, al menos o aproximadamente 3 días después de la administración, al menos o aproximadamente 4 días después de la administración, al menos o aproximadamente 5 días después de la administración, al menos o aproximadamente 6 días después de la administración, o al menos o aproximadamente 7 días después de la administración.

En algunas modalidades, después de que se ha administrado un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., inmunoconjugado o radioinmunoconjugado) a un mamífero, el compuesto (p. ej., inmunoconjugado o radioinmunoconjugado) exhibe efectos de unión fuera de la diana disminuidos (p. ej., toxicidades) en comparación con un compuesto de referencia (p. ej., conjugado de referencia, p. ej., un inmunoconjugado de referencia tal como un radioinmunoconjugado de referencia). En algunas modalidades, este efecto de unión fuera de la diana disminuido es una característica de un compuesto (p. ej., inmunoconjugado o radioinmunoconjugado) que también exhibe una mayor tasa de excreción como se describe en la presente.

Entidades de direccionamiento

Las entidades de direccionamiento incluyen cualquier molécula o cualquier parte de una molécula que sea capaz de unirse (p. ej., capaz de unirse específicamente, unirse específicamente a, etc.) a un diana determinado, p. ej., la STEAP2. En algunas modalidades, la entidad de direccionamiento comprende una proteína o polipéptido. En algunas modalidades, la entidad de direccionamiento se selecciona del grupo que consiste en anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de

estos, nanocuerpos, aficuerpos y secuencias de consenso de dominios de fibronectina tipo III (p. ej., centirinas o adnectinas). En algunas modalidades, una entidad es tanto una entidad de direccionamiento como una entidad terapéutica, es decir, la entidad es capaz de unirse a una diana determinada y también confiere un beneficio terapéutico.

5 En algunas modalidades, la entidad de direccionamiento tiene un peso molecular de al menos 50 kDa, al menos 75 kDa, al menos 100 kDa, al menos 125 kDa, al menos 150 kDa, al menos 175 kDa, al menos 200 kDa, al menos 225 kDa, al menos 250 kDa, al menos 275 kDa, o al menos 300 kDa.

 En algunas modalidades, la entidad de direccionamiento se une
10 específicamente al e inhibe la STEAP2. “Inhibe” significa que la entidad de direccionamiento inhibe al menos parcialmente una o más funciones de la STEAP2. En algunas modalidades, la entidad de direccionamiento afecta la señalización corriente abajo de la STEAP2, p. ej., da como resultado la supresión del crecimiento de células tumorales con niveles variables de expresión de STEAP2.

15 **Anticuerpos de STEAP2 o fragmentos de unión al antígeno de estos**

 La descripción proporciona anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno (que incluyen Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fab'-SH, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpos monocatenarias (p. ej., scFv)), que se unen a la STEAP2, p. ej., se unen específicamente a la STEAP2, que son para usar
20 con (p. ej., están comprendidos dentro de) el Compuesto descrito en la presente.

 Por consiguiente, la presente descripción proporciona Compuestos (que incluyen sales farmacéuticamente aceptables de estos) que comprenden un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a la STEAP2. Tal anticuerpo (o

fragmento de unión al antígeno) comprendido dentro del Compuesto también puede denominarse anticuerpo anti-STEAP2 o fragmento de unión al antígeno de este. Cuando no se proporciona ninguna referencia al antígeno específico en relación con un anticuerpo, eso debe considerarse que significa que ese anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se une a la STEAP2, a menos que sea obvio de cualquier otra manera que el anticuerpo particular que se describe es específico para un antígeno alternativo.

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. El 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.

Aparte de la descripción que identifica a la STEAP2 como un antígeno de direccionamiento a tumores (TAA) en una serie de cánceres, los inventores han desarrollado un enfoque altamente innovador para generar anticuerpos específicos de STEAP2. La proteína STEAP2 no se ha estudiado en gran medida debido a que sus dominios multitransmembrana plantean un desafío significativo para el desarrollo de

anticuerpos. Sin limitarse por la teoría, esto puede deberse a los bucles extracelulares limitados de la STEAP2, que muestran una conservación casi total en todas las especies y una alta homología con otros miembros de la familia de STEAP. En consecuencia, hay una carencia de anticuerpos comerciales específicos de STEAP2.

- 5 Sin embargo, los inventores idearon una innovadora estrategia de diseño de antígenos para aislar y desarrollar anticuerpos específicos de STEAP2. El enfoque se caracteriza con más detalle en los Ejemplos.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una CDR1 de cadena pesada (HCDR1), una CDR2 de cadena pesada
10 (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).

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada (HCDR1), una CDR2 de cadena pesada (HCDR2), una CDR3 de
15 cadena pesada (HCDR3), y un dominio variable de cadena ligera que comprende una CDR1 de cadena ligera (LCDR1), una CDR2 de cadena ligera (LCDR2), y una CDR3 de cadena ligera (LCDR3).

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de longitud completa y una cadena ligera de longitud completa.

- 20 En la Tabla 1 se dan a conocer anticuerpos anti-STEAP2 ilustrativos y fragmentos de unión al antígeno de estos.

Tabla 1

Ab	Identificador de secuencia	Característica de secuencia	Secuencia
----	----------------------------	-----------------------------	-----------

40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 1	HCDR1	RNSAVWN
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 2	HCDR2	RTYYRSKWYNDYAPSVKS
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 3	HCDR3	GLRQNFYYYYMDV
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 4	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAI SGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRGL EWLGRTYYRSKWYNDYAPSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARGLRQNFYYYYMDVWGKGT TVTVSS
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 5	Cadena pesada	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAI SGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRGL EWLGRTYYRSKWYNDYAPSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARGLRQNFYYYYMDVWGKGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE FEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP ASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 6	LCDR1	RASQSVASNLA
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 7	LCDR2	GASTRAT
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 8	LCDR3	QQYNNWPFT
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 9	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA SQSVASNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPFTF GPGTKVDIK
40A3(LO14)	sec. con núm. de ident.: 10	Cadena ligera	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA SQSVASNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPFTF GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVCLNNFYFPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD

			STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 11	HCDR1	RNSAVWN
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 12	HCDR2	RTYYRSKWYNDYAPSVKS
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 13	HCDR3	GLLQNGFYFYYMDV
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 14	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAI SGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRGL EWLGRTYYRSKWYNDYAPSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARGLLQNGFYFYYMDVWGKGT TVTVSS
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 15	Cadena pesada	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAI SGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRGL EWLGRTYYRSKWYNDYAPSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARGLLQNGFYFYYMDVWGKGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE FEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP ASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 16	LCDR1	RASQSVASNLA
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 17	LCDR2	GASTRAT
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 18	LCDR3	QQYNNWPFT
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 19	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA SQSVASNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPFTF GPGTKVDIK
40A3(LO11)	sec. con núm. de ident.: 20	Cadena ligera	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA SQSVASNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPFTF GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ

			WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC
40A3	sec. con núm. de ident.: 21	HCDR1	RNSAVWN
40A3	sec. con núm. de ident.: 22	HCDR2	RTYYRSKWYNDYAVSVKS
40A3	sec. con núm. de ident.: 23	HCDR3	GLLQNNFYYYMDV
40A3	sec. con núm. de ident.: 24	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAI SGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRGL EWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRI TINPDTSKNQFSLQVNSVTPEDTAV YYCARGLLQNNFYYYMDVWGKGT TVTVSS
40A3	sec. con núm. de ident.: 25	LCDR1	RASQSVNSNLA
40A3	sec. con núm. de ident.: 26	LCDR2	GASTRAT
40A3	sec. con núm. de ident.: 27	LCDR3	QQYNNWPFT
40A3	sec. con núm. de ident.: 28	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA SQSVNSNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLT ISSLQSEDAVYYCQQYNNWPFTF GPGTKVDIK
40A3(LO7)	sec. con núm. de ident.: 31	HCDR1	RNSAVWN
40A3(LO7)	sec. con núm. de ident.: 32	HCDR2	RTYYRSKWYNDYAVSVKS
40A3(LO7)	sec. con núm. de ident.: 33	HCDR3	GLLQNNFYYYMDV
40A3(LO7)	sec. con núm. de ident.: 34	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAI SGDSVSRNSAVWNWIRQSPSRGL EWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARGLLQNNFYYYMDVWGKGT TVTVSS
40A3(LO7)	sec. con núm. de ident.: 35	LCDR1	RASQSVSSNLA
40A3(LO7)	sec. con núm. de ident.: 36	LCDR2	GASTRAT
40A3(LO7)	sec. con núm. de ident.: 37	LCDR3	QQYNNWPFT
40A3(LO7)	sec. con núm. de ident.: 38	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA SQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIY

			GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAVYYCQYNNWPFTF GPGTKVDIK
--	--	--	---

Dominios variables

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que comprende (o alternatively, que consiste en) cualquiera de los dominios VH descritos en la Tabla 1.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VL que comprende (o alternatively, que consiste en) cualquiera de los dominios VL descritos en la Tabla 1.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que comprende (o alternatively, que consiste en) una cualquiera de los dominios VH descritos en la Tabla 1, en donde no más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 aminoácidos en las regiones marco se han mutado (una mutación puede ser variablemente una sustitución, delección o adición de aminoácidos).

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VL que comprende (o alternatively, que consiste en) una cualquiera de los dominios VL descritos en la Tabla 1, en donde no más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 aminoácidos en las regiones marco se han mutado (una mutación puede ser variablemente una sustitución, delección o adición de aminoácidos).

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de un dominio VH descrito en la Tabla 1.

5 En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VL que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de un dominio VL descrito en la Tabla 1.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene (a) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4; (b) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 14; (c) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24; o (d) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 34. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende un dominio VH que tiene (a) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4; (b) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 14; (c) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de

aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24; o (d) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 34.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este

5 comprende un dominio VL que tiene (a) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9; (b) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19; (c) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec.

10 con núm. de ident.: 28; o (d) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 38. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende un dominio VL que tiene (a) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9; (b) al menos 95 % de

15 identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19; (c) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28; o (d) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 38.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este

20 comprende un dominio VH que tiene (a) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de

secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9; (b) un dominio VH que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 14 y un dominio VL que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19; (c) un dominio VH que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24 y un dominio VL que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28; o (d) un dominio VH que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 34 y un dominio VL que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 38.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene (a) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9; (b) un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 14 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19; (c) un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la

secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28; o (d) un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 34 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 38.

5 En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9.

10 En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 9.

 En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este
15 comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 14 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19.

 En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este
20 comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 14 y un dominio VL que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 19.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24 y un dominio VL que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 34 y un dominio VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 38.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende un dominio VH que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 34 y un dominio VL que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 38.

20 CDR

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del compuesto de la Fórmula I (es decir, comprendido dentro del

Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este) comprende cualquiera de una, dos o tres de las HCDR descritas en la Tabla 1.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este

- 5 comprende la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 1, 11, 21 o 31, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 2, 12, 22 o 32 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3, 13, 23 o 33.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno

- 10 comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende (a) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 2, y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3; (b) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 12, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 13, y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 14; (c) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 22, y la HCDR3 que comprende, tiene o
- 15 consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 23; o (d) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 31, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 32, y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 33.
- 20

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende cualquiera de una, dos o tres de las LCDR descritas en la Tabla 1.

5 En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 6, 16, 25 o 35, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 7, 17, 26 o 36 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 8, 18, 27 o 37.

10 En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende (a) la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 6, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 7, y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con
15 núm. de ident.: 8; (b) la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 17, y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 18; (c) la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 25, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en
20 la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 26, y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 27; (d) la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 35, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 36, y la LCDR3

que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 37, o para cada anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, una variante funcional de esta.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este

- 5 comprende a) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 2 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 6, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste
- 10 en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 7 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 8; (b) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 11, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 12 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.:
- 15 13 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 18; (c) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste
- 20 en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 22 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 23 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 25, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 26 y la

LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 27; o (d) la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 31, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 32 y la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 33 y la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 35, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 36 y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 37.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende una HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 1, una HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 2 y una HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3, y una LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 6, una LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 7 y una LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 8.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende una HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 11, una HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 12 y una HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 13, y una LCDR1 que comprende, tiene o

consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 16, una LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 17 y una LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 18.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende una HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 21, una HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 22 y una HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 23, y una LCDR1 que comprende, tiene o
5
10
consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 25, una LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 26 y una LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 27.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este
15
comprende una HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 31, una HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 32 y una HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 33, y una LCDR1 que comprende, tiene o
20
consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 35, una LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 36 y una LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 37.

Cadenas completas

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende una cadena pesada que tiene (a) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5; o (b) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 15. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene (a) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5; o (b) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 15. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 5. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 15.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende una cadena ligera tiene (a) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10; o (b) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena ligera que tiene (a) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 10; o (b) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 10. En algunas modalidades,

5 el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 20.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este comprende una cadena pesada que tiene (a) al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de

10 identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10; o (b) una cadena pesada que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de

15 identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 15 y una cadena ligera que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene al menos 90 % de identidad de

20 secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec.

con núm. de ident.: 15 y una cadena ligera que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este

5 comprende una cadena pesada que tiene (a) al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10; o (b) una cadena pesada que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec.

10 con núm. de ident.: 15 y una cadena ligera que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera

15 que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 15 y una cadena ligera que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con

20 la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.

con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 10.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 15 y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20.

En algunas modalidades, la descripción también proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este que se une al mismo epítipo de la STEAP2 que un anticuerpo anti-STEAP2 descrito en la presente. Por ejemplo, la descripción proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une al mismo epítipo de la STEAP2 que un anticuerpo anti-STEAP2 que tiene un dominio VH de la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL de la sec. con núm. de ident.: 9.

La cadena pesada y/o cadena ligera de los anticuerpos descritos en la presente puede comprender una o más modificaciones, por ejemplo para abrogar o reducir las funciones efectoras de Fc, promover la formación de una molécula de anticuerpo heterodimérico, para aumentar la eficacia del emparejamiento de cadenas pesadas y ligeras afín, y/o para ayudar con la formación de conjugados como se describe con más detalle a continuación. La región constante de una cadena pesada (CH, por sus siglas en inglés) y la región constante de una cadena ligera (CL, por sus siglas en inglés) que se ha modificado pueden denominarse región CH modificada y región CL modificada, respectivamente.

La molécula de anticuerpo puede comprender una mutación en la región CH de la cadena pesada para reducir o abrogar la unión de la molécula de anticuerpo a uno o más receptores Fcγ, tales como FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIII y/o para complementar. Tales mutaciones abrogan o reducen las funciones efectoras de Fc. Se conocen mutaciones para reducir o abrogar la unión de la molécula de anticuerpo a uno o más receptores Fcγ y complemento e incluyen la “triple mutación” o “TM” de L234F/L235E/P331S descrita por ejemplo en Organesyan, V. et al., Structural characterization of human Fc fragment engineered for lack of effector functions, *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*. 64(Pt6): 700-704. 2008. Otras mutaciones que se sabe que modulan la función efectora de los anticuerpos se describen, por ejemplo, en Wang, X. et al., IgG Fc engineering, para modular las funciones efectoras de los anticuerpos, *Protein & Cell*. 9(1): 63-73. 2018.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de este es un anticuerpo monoclonal, tal como un anticuerpo quimérico, humanizado o humano.

En algunas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de unión al antígeno. En algunas modalidades, el fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este es un fragmento Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o F(ab')₂.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este es un anticuerpo de longitud completa.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este es capaz de unirse

específicamente a la STEAP2 como un componente integral de una célula cancerosa (p. ej., STEAP2 como un componente integral de una membrana celular de una célula cancerosa). Como se describe en los ejemplos, debido a la dificultad asociada con el desarrollo de anticuerpos para la STEAP2, hasta ahora se desconocía que se pudieran desarrollar en absoluto anticuerpos con tal especificidad de unión.

En una modalidad, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprendido dentro del Compuesto puede unirse a una línea celular de cáncer de próstata ilustrativa y xenoinjertos derivados de paciente, que incluye, pero no limitado a, LNCaP. Por ejemplo, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este puede unirse a una 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 por una persona con experiencia en la técnica.

Adecuadamente, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este se une a la molécula de STEAP2 con suficiente afinidad de manera que el anticuerpo es útil como agente terapéutico o reactivo de diagnóstico para el direccionamiento hacia la STEAP2.

En un aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este se une a la STEAP2

(p. ej., una STEAP2 humana) con una constante de disociación (KD) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 7,5 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 4 \text{ nM}$, $\leq 3 \text{ nM}$, o $\leq 2 \text{ nM}$. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se une a la STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una constante de disociación (KD) de $\leq 10 \text{ nM}$. En un aspecto,

5 el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se une a la STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una constante de disociación (KD) de $\leq 7 \text{ nM}$. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se une a la STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una constante de disociación (KD) de $\leq 5 \text{ nM}$. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de

10 este se une a la STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una constante de disociación (KD) de $\leq 3 \text{ nM}$. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este se une a la STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una constante de disociación (KD) de $\leq 1 \text{ nM}$.

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

15 une a una STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una KD de entre aproximadamente $0,1 \text{ nM}$ y aproximadamente 40 nM , entre aproximadamente $0,5 \text{ nM}$ y aproximadamente 30 nM , entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 20 nM , o entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 10 nM .

En una modalidad, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno

20 comprendido dentro del Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este se une a una STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una afinidad de unión de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 10 nM . En una modalidad más preferible, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este se une a una

STEAP2 (preferentemente una STEAP2 humana) con una KD de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 5 nM.

Las mediciones de 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 3200 o KinExA 4000) (Sapidyne Instruments, Idaho), o el sistema ForteBio Octet.

En una modalidad, 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 % de la unión del anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) a la STEAP2 (preferentemente STEAP2 humano). En una modalidad, 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 % de la unión del anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) a la STEAP2 (preferentemente STEAP2 humano). En una modalidad, 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 5 % de la unión del anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) a la STEAP2 (preferentemente STEAP2 humano). En una modalidad, 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 2 % de la unión del anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) a la STEAP2 (preferentemente STEAP2 humano). En una modalidad, 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 1 % de la unión del anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) a la STEAP2 (preferentemente 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 Octet, u otros ensayos de unión conocidos en la técnica.

Un “polipéptido STEAP2” puede comprender la secuencia de polipéptido de longitud completa de STEAP2 (p. ej., la sec. con núm. de ident.: 29), o puede comprender un fragmento de STEAP2 de cualquier longitud de la secuencia de polipéptido de longitud completa de STEAP2 (p. ej., que comprende una secuencia polipeptídica 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 unido por) un anticuerpo o 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.: 29. Preferentemente, el polipéptido STEAP2 comprende la secuencia de la sec. con. núm. de ident.: 29. Sec. con núm. de ident.: 29:

MESISMMGSPKSLSETFLPNGINGIKDARKVTVGVI GSGDFAKSLTIRLIRCGYHVVISGR
 NPKFASEFFPHVVDVTHHEDALTKTNIIFVAIHREHYTSLWDLRHLLVGKILIDVSNMRIN
 QYPESNAEYLASLFPDSLIVKGFNVVSAWALQLGPKDASRQVYICSNNIQARQQVIELAR
 QLNFIPIDLGSLSSAREIENLPLRLFTLWRGPVVAISLATFFFLYSFVRDVIHPYARNQQS
 DFYKIPIEIVNKTLPIVAITLLSLVYLAGLLAAAYQLYYGTKYRRFPPWLETWLQCRKQLGL
 LSFFFAMVHVAYSLCLPMRRSERYLFLNMAYQQVHANIENSWNEEEVWRIEMYISFGIM

SLGLLSLLAVTSIPSVSNALNWREFSFIQSTLGYVALLISTFHVLIYGWKRAFEETYYRFYT
PPNFVLALVLPISIVILGKIILFLPCISRKLKRIKKGWEKSQFLEEGMGGTIPHVSPERVTVM

Variantes funcionales

- 5 En algunas modalidades, el anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) comprendido dentro del Compuesto es una variante funcional de un anticuerpo caracterizado en otra parte de la presente por referencia a características de secuencia (p. ej., los anticuerpos descritos en la Tabla 1). Para ello, un anticuerpo de la Tabla 1 se denomina un “anticuerpo de referencia”.
- 10 En una modalidad, el anticuerpo variante (o fragmento de unión al antígeno de este) comprende como máximo 2 diferencias de aminoácidos en una o más de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 del anticuerpo de referencia correspondiente.
- En una modalidad, el anticuerpo variante (o fragmento de unión al antígeno de este) comprende como máximo 1 diferencia de aminoácidos en una o más de HCDR1,
- 15 HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 del anticuerpo de referencia correspondiente.
- En una modalidad, el anticuerpo variante (o fragmento de unión al antígeno de este) comprende como máximo 2 diferencias de aminoácidos en una o más de HCDR1 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 1, HCDR2 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 2, HCDR3 en comparación con la sec. con núm. de
- 20 ident.: 3, LCDR1 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 4, LCDR2 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 5 y LCDR3 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 6 del anticuerpo de referencia correspondiente.

En una modalidad, el anticuerpo variante (o fragmento de unión al antígeno de este) comprende como máximo 1 diferencia de aminoácidos en una o más de HCDR1 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 1, HCDR2 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 2, HCDR3 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 3, LCDR1 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 4, LCDR2 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 5 y LCDR3 en comparación con la sec. con núm. de ident.: 6 del anticuerpo de referencia correspondiente.

En cada modalidad, el anticuerpo variante puede exhibir la misma reactividad cruzada de antígeno que el antígeno de referencia o fragmento de unión al antígeno de este.

En una modalidad, 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 (preferentemente como máximo 1) diferencias de aminoácidos por CDR. En una modalidad, un anticuerpo variante tiene como máximo 2 (con mayor preferencia 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. En una modalidad, un anticuerpo variante tiene como máximo 2 (con mayor preferencia 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 aminoácidos por CDR.

La diferencia de aminoácidos puede ser una sustitución, inserción o delección de aminoácidos. En una modalidad, la diferencia de aminoácidos es una sustitución

conservadora de aminoácidos. 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 la Tabla 2 a continuación se proporciona una tabla de algunos aminoácidos sustituibles bien conocidos en base a características particulares:

Tabla 2

Clase	Aminoácidos sustituibles ilustrativos
Alifático	G, A, V, L, I
Que contiene hidroxilo o azufre/selenio	S, C, U, T, M
Cíclico	P
Aromático	F, Y, W
Picos	H, K, R
Acídico	D, E, N, Q

En una modalidad, un anticuerpo variante tiene las mismas secuencias marco que los anticuerpos ilustrativos descritos en la presente. En otra modalidad, el anticuerpo variante puede comprender una región marco que tiene como máximo 2, o como máximo 1 diferencia de aminoácidos, cuando se compara con una secuencia marco de anticuerpo de referencia correspondiente. En consecuencia, cada región marco puede tener como máximo 2, o como máximo 1 diferencia de aminoácidos, cuando se compara con una secuencia marco de anticuerpo de referencia correspondiente.

En una modalidad, 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 (o como máximo 1) diferencias de aminoácidos por región marco. En una modalidad, un anticuerpo variante tiene como máximo 2 (o 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. En una modalidad, un anticuerpo variante tiene como máximo 2 (o 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 1 diferencia de aminoácidos 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: (i) la cadena pesada 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 pesada de anticuerpo de referencia en la presente; y (ii) 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 de anticuerpo de referencia en la presente, en donde el anticuerpo variante se une al mismo antígeno diana que el anticuerpo de referencia, y opcionalmente exhibe la misma reactividad cruzada (o falta de ella) del antígeno que el anticuerpo de referencia.

Competencias por la unión

En algunas modalidades, la descripción proporciona un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al

antígeno de este que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con otro anticuerpo anti-STEAP2 o fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente.

Por ejemplo, en algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 6, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 7, y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 8. En algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un dominio VH que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 4 y un dominio VL que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 9. En algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende una cadena pesada que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 5 y una cadena ligera que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 10.

En algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la sec. con

5 núm. de ident.: 11, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 12, la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 13, la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 17, y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 18. En algunas modalidades,

10 el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un dominio VH que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 14 y un dominio VL que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 19. En algunas modalidades,

15 el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende una cadena pesada que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 15 y una cadena ligera que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 20.

20 En algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm.

de ident.: 21, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 22, la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 23, la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 25, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 26, y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 27. En algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un dominio VH que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 24 y un dominio VL que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 28.

En algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende la HCDR1 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 31, la HCDR2 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 32, la HCDR3 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 33, la LCDR1 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 35, la LCDR2 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 36, y la LCDR3 que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 37. En algunas modalidades, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que compite o compite de forma cruzada por la unión a la STEAP2 con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un dominio VH que

comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 34 y un dominio VL que comprende, tiene o consiste en la sec. con núm. de ident.: 38.

La unión competitiva puede determinarse mediante cualquiera de una serie de ensayos bien conocidos, que incluyen, por ejemplo, ensayos en fase sólida tales como

5 ensayos ELISA de competencia, inmunoensayos fluorescentes de lantánidos mejorados por disociación (DELFI[®], Perkin Elmer) y ensayos de unión a radioligando. En una modalidad, el experto puede determinar si un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este compete por la unión a la STEAP2 mediante el uso de un ensayo de unión competitiva in vitro, tal como una derivación del ensayo homogéneo de

10 fluorescencia resuelta en el tiempo HTRF descrito en el ejemplo 1 de WO2016/156440, incorporada en la presente como referencia. Por ejemplo, el experto puede etiquetar un anticuerpo de la Tabla 1 con un fluoróforo donante y mezclar concentraciones múltiples con muestras de concentración fija de STEAP2 etiquetado con fluoróforo aceptor de la sec. con núm. de ident.: 29 o antígeno STEAP3-2 quimérico etiquetado con fluoróforo de

15 la sec. con núm. de ident.: 30 (“STEAP3-2”). Posteriormente, se puede medir la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia entre el fluoróforo donante y el fluoróforo aceptor dentro de cada muestra para determinar las características de unión. Para dilucidar moléculas de unión competitiva, el experto en la técnica puede primero mezclar diversas concentraciones de una molécula de unión de prueba con una

20 concentración fija del anticuerpo etiquetado de la Tabla 1. Una reducción en la señal de FRET cuando la mezcla se incubaba con STEAP2 o STEAP3-2 etiquetado en comparación con un control positivo solo de anticuerpo etiquetado indica una unión competitiva a la STEAP2. Se puede decir que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este

inhibe competitivamente la unión del anticuerpo de referencia a un epítipo dado en al menos 90 %, al menos 80 %, al menos 70 %, al menos 60 %, o al menos 50 %.

Sec. con núm. de ident.: 30 (STEAP3-2 quimera - secuencias de bucle extracelular derivadas de STEAP2 subrayadas)

- 5 MSHQPAVATKMPEEMDKPLISLHLVDSDSLAKVPDEAPKVGILGSGDFARSLATRLV
GSGFKVVVGSRNPKRTARLFPSAAQVTFQEEAVSSPEVIFVAVFREHYSSLCSLSDQL
AGKILVDVSNPTEQEHLQHRESNAEYLASLFPTCTVVKAFNVISAWTLQAGPRDGNR
QVPICGDQPEAKRAVSEMALAMGFMPVDMGSLASAWVEEAMPLRLLPAWKVPTLLA
LGLFVCFYAYYSFVRDVIHPYARNQOSDFYKIPIEIVNKTLPCVAYVLLSLVYLPGLVAAA
- 10 LQLRRGTKYQRFDPDWLDHWLQHRKQIGLLSFFCAALHALYSFCLPLRRSERYLFLNM
AYQQVHANIENSWNEEEVWRIEIYLSLGV LALGTL SLLAVTSLPSIANS LN WREFSFVQ
SSLGFVALVLSTLHTLT YGWKRAFE E EYR FYTPPNFTLTLLVPCVVILAKALFLLPCIS
RRLARIRRGWERESTIKFTLPTDHALAEKTS HV

15 Entidad quelante o complejo metálico de esta

Entidades quelantes

- En algunas modalidades, la variable A en la Fórmula I es una entidad quelante seleccionada del grupo que consiste en DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético), DOTMA (ácido 1R,4R,7R,10R)- α , α' , α'' , α''' -tetrametil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético, DOTAM (1,4,7,10-tetrakis(carbamoylmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano), DOTPA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrapropiónico), DO3AM-ácido acético (2-(4,7,10-tris(2-amino-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il)ácido acético), DOTA-GA anhídrido (2,2',2''-(10-(2,6-
- 20

dioxotetrahidro-2H-piran-3-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triil)ácido triacético, DOTP (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetra(metilenfosfónico)), DOTMP (ácido 1,4,6,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrametilenfosfónico, DOTA-4AMP (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrakis(acetamido-metilenfosfónico), CB-TE2A
 5 (ácido 1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecano-4,11-diacético), NOTA (ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-triacético), NOTP (ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-tri(metilenfosfónico), TETPA (ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetrapropiónico), TETA (ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetraacético), HEHA (ácido 1,4,7,10,13,16-hexaazaciclohexadecano-1,4,7,10,13,16-hexaacético),
 10 PEPA (ácido 1,4,7,10,13-pentaazaciclopentadecano-N,N',N'',N''',N''''-pentaacético), H₄octapa (ácido N,N'-bis(6-carboxi-2-piridilmetil)-etilendiamino-N,N'-diacético), H₂dedpa (1,2-[[6-(carboxi)-piridin-2-il]-metilamino]etano), H₆fospa (N,N'-(metilenfosfonato)-N,N'-[6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]-metil-1,2-diaminoetano), TTHA (ácido trietilentetramino-N,N,N',N'',N''',N''''-hexaacético), DO2P (ácido tetraazaciclododecano
 15 dimetanofosfónico), HP-DO3A (ácido hidroxipropiltetraazaciclododecanotriacético), EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), deferoxamina, DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético), DTPA-BMA (ácido dietilentriaminopentaacético-bismetilamida), octadentato-HOPO (octadentato hidroxipiridinonas), o porfirinas.

Preferentemente, la entidad quelante se selecciona de DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético), DOTMA ácido (1R,4R,7R,10R)- α , α' , α'' , α''' -tetrametil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético, DOTAM (1,4,7,10-tetrakis(carbamoilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano), DO3AM-ácido acético (2-(4,7,10-tris(2-amino-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il)ácido acético), DOTP

(ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetra(metilenfosfónico)), DOTA-4AMP (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrakis(acetamido-metilenfosfónico), NOTA (ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-triacético), y HP-DO3A (ácido 10-(2-hidroxipropil)-1,4,7-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético).

5 En algunas modalidades, la entidad quelante es DOTA.

En algunas modalidades, los compuestos comprenden un complejo metálico de una entidad quelante. Por ejemplo, se pueden usar grupos quelantes en combinaciones de quelatos metálicos con metales, tales como manganeso, hierro y gadolinio e isótopos (p. ej., isótopos en el rango de energía general de 60 a 10.000 keV), tales como

10 cualquiera de los radioisótopos y radionúclidos descritos en la presente.

En algunas modalidades, las entidades quelantes son útiles como agentes de detección y, por lo tanto, los compuestos que comprenden tales entidades quelantes detectables pueden usarse como agentes de diagnóstico o teranósticos.

Radioisótopos y radionúclidos

15 En algunas modalidades, el complejo metálico comprende un radionúclido.

Los ejemplos de radioisótopos y radionúclidos adecuados incluyen, pero no se limitan

a, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{82}Rb , ^{89}Zr , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th y ^{229}Th .

20

En algunas modalidades, el complejo metálico comprende un radionúclido seleccionado de ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , ^{86}Y ,

^{87}Y , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th y ^{229}Th .

En ciertas modalidades, el complejo metálico comprende un radionúclido seleccionado de ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{111}In , ^{177}Lu y ^{225}Ac . En ciertas modalidades, el

5 complejo metálico comprende un radionúclido de ^{177}Lu o ^{225}Ac .

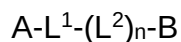
En algunas modalidades, el radionúclido es un emisor alfa, p. ej., Astatina-211 (^{211}At), Bismuto-212 (^{212}Bi), Bismuto-213 (^{213}Bi), Actinio-225 (^{225}Ac), Radio-223 (^{223}Ra), Plomo-212 (^{212}Pb), Torio-227 (^{227}Th), o Terbio-149 (^{149}Tb), o una progenie de estos. En algunas modalidades, el emisor alfa es Actinio-225 (^{225}Ac), o una progenie de este.

10 En ciertas modalidades, el complejo metálico comprende un emisor alfa de ^{225}Ac o una progenie de este.

Enlazador

Los compuestos de esta descripción comprenden la estructura de la Fórmula

15 I a continuación:



Fórmula I

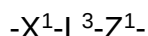
20 en donde cada una de las variables se define en la sección SUMARIO anterior.

Cada uno de los compuestos de la Fórmula I comprende una entidad enlazadora como $\text{-L}^1\text{-(L}^2\text{)}_n\text{-}$, en donde:

L^1 es un enlace, C=O, C=S, alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido;

n es un número entero entre 1 y 5 (inclusive); y

5 cada L^2 , independientemente, tiene la estructura:



Fórmula II

10 en donde:

X^1 es $-C(O)NR^1-$, $-NR^1C(O)-$, $-C(S)NR^1-$, $-NR^1C(S)-$, $-OC(O)NR^1-$, $-NR^1C(O)O-$, $-NR^1C(O)NR^1-$, $-CH_2-Ph-C(O)NR^1-$, $-NR^1C(O)-Ph-CH_2-$, $-CH_2-Ph-NH-C(S)NR^1-$, $-NR^1C(S)-NH-Ph-CH_2-$, $-O-$, o $-NR^1-$; en donde “*” indica el punto de acoplamiento a L^3 , y R^1 es hidrógeno, alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido,

15 heteroalquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido, o arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

L^3 es alquilo C_1 - C_{50} opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1 - C_{50} opcionalmente sustituido (p. ej., $(CH_2CH_2O)_{2-20}$); y

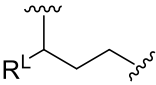
Z^1 es $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-NR^2C(O)-$, $-C(O)NR^2-$, o $-NR^2-$, en donde “#” indica el punto de acoplamiento a B, y R^2 es

20 hidrógeno, alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido.

Como se describe en la presente, la frase “X opcionalmente sustituido” (p. ej., alquilo opcionalmente sustituido) pretende ser equivalente a “X, en donde X está

opcionalmente sustituido” (p. ej., “alquilo, en donde uno o más de los carbonos de dicho alquilo están opcionalmente sustituidos”). No se pretende que signifique que la característica “X” (p. ej., alquilo) sea opcional en sí. Sin limitación, un sustituyente puede ser alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, arilo, heteroarilo, cada uno de los cuales tiene el mismo significado que se usa comúnmente en el campo. Por ejemplo, el término “arilo opcionalmente sustituido” significa un arilo que puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, arilo y heteroarilo.

En algunas modalidades, L^1 es alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido o heteroalquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido. En ciertas modalidades, L^1 es alquilo C_1 - C_6 sustituido o heteroalquilo C_1 - C_6 sustituido, el sustituyente comprende un grupo heteroarilo (p. ej., heteroarilo que contiene nitrógeno de seis miembros). En algunas modalidades, L^1 es alquilo C_1 - C_6 . Por ejemplo, L^1 es $-CH_2CH_2-$. En algunas modalidades, L^1 es un

enlace. En algunas modalidades, L^1 es , en donde R^L es hidrógeno o $-CO_2H$.

En algunas modalidades, X^1 es $-C(O)NR^1-$, $-NR^1C(O)-$, o $-NR^1-$, “*” indica el punto de acoplamiento a L^3 , y R^1 es hidrógeno, alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido. En algunas modalidades, X^1 es $-C(O)NR^1-$, “*” indica el punto de acoplamiento a L^3 , y R^1 es hidrógeno.

En algunas modalidades, L^3 es alquilo C_1 - C_{50} opcionalmente sustituido (p. ej., alquilo C_3 - C_{30} , alquilo C_3 - C_{25} , alquilo C_3 - C_{20} , alquilo C_3 - C_{15} , alquilo C_3 - C_{10} , alquilo C_5 -

C₃₀, alquilo C₅-C₂₅, alquilo C₅-C₂₀, alquilo C₅-C₁₅, y alquilo C₅-C₁₀) o heteroalquilo C₁-C₅₀ opcionalmente sustituido (p. ej., heteroalquilo C₃-C₃₀, heteroalquilo C₃-C₂₅, heteroalquilo C₃-C₂₀, heteroalquilo C₃-C₁₅, heteroalquilo C₃-C₁₀, heteroalquilo C₅-C₃₀, heteroalquilo C₅-C₂₅, heteroalquilo C₅-C₂₀, heteroalquilo C₅-C₁₅, y heteroalquilo C₅-C₁₀). Un

5 heteroalquilo C₁-C₅₀ ilustrativo es polietilenglicol C₅-C₃₀ (p. ej., polietilenglicol C₅-C₂₅, polietilenglicol C₅-C₂₀, polietilenglicol C₅-C₁₅). En ciertas modalidades, L³ es polietilenglicol C₅-C₂₅, polietilenglicol C₅-C₂₀, o polietilenglicol C₅-C₁₅.

En algunas modalidades, L³ es heteroalquilo C₁-C₅₀ opcionalmente sustituido (p. ej., heteroalquilo C₁-C₄₀, heteroalquilo C₁-C₃₀, heteroalquilo C₁-C₂₀, heteroalquilo C₂-

10 C₁₈, heteroalquilo C₃-C₁₆, heteroalquilo C₄-C₁₄, heteroalquilo C₅-C₁₂, heteroalquilo C₆-C₁₀, heteroalquilo C₆-C₁₀, heteroalquilo C₈-C₁₀, heteroalquilo C₄, heteroalquilo C₆, heteroalquilo C₈, heteroalquilo C₁₀, heteroalquilo C₁₂, heteroalquilo C₁₆, heteroalquilo C₂₀, o heteroalquilo C₂₄).

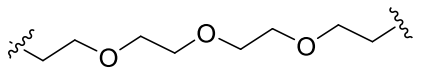
En algunas modalidades, L³ es heteroalquilo C₁-C₅₀ opcionalmente sustituido

15 que comprende una entidad polietilenglicol (PEG) que comprende 1-20 unidades de oxietileno (-O-CH₂-CH₂-), p. ej., 2 unidades de oxietileno (PEG2), 3 unidades de oxietileno (PEG3), 4 unidades de oxietileno (PEG4), 5 unidades de oxietileno (PEG5), 6 unidades de oxietileno (PEG6), 7 unidades de oxietileno (PEG7), 8 unidades de oxietileno (PEG8), 9 unidades de oxietileno (PEG9), 10 unidades de oxietileno

20 (PEG10), 12 unidades de oxietileno (PEG12), 14 unidades de oxietileno (PEG14), 16 unidades de oxietileno (PEG16), o 18 unidades de oxietileno (PEG18).

En ciertas modalidades, L³ es heteroalquilo C₁₋₅₀ opcionalmente sustituido que comprende una entidad polietilenglicol (PEG) que comprende 1-20 unidades de

oxietileno ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$) o porciones de estas. Por ejemplo, L^3 comprende PEG3 como se muestra a continuación:



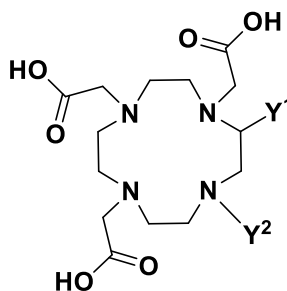
5

En algunas modalidades, L^3 es $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_w$, y m y w son cada uno independientemente un número entero entre 0 y 10 (inclusive), y al menos uno de m y w no es 0.

En algunas modalidades, L^3 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_{50}$ sustituido o heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_{50}$ sustituido, el sustituyente comprende un grupo heteroarilo (p. ej., heteroarilo que contiene nitrógeno de seis miembros).

En algunas modalidades, Z^1 es CH_2 , $\text{C}=\text{O}$, o NR^1 ; en donde R^1 es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ opcionalmente sustituido, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido.

En ciertas modalidades, $\text{A-L}^1\text{-(L}^2)_n\text{-B}$ puede representarse mediante la siguiente estructura:



en donde Y^1 es $-\text{CH}_2\text{OCH}_2(\text{L}^2)_n\text{-B}$, $\text{C}=\text{O}(\text{L}^2)_n\text{-B}$, o $\text{C}=\text{S}(\text{L}^2)_n\text{-B}$ y Y^2 es $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$; o en donde Y^1 es H y Y^2 es $\text{L}^1\text{-(L}^2)_n\text{-B}$.

Grupos reticulantes

5 En algunas modalidades, los compuestos (p. ej., radioinmunoconjugados) se sintetizan mediante el uso de quelatos bifuncionales que comprenden un quelato, un enlazador y un grupo reticulante. Una vez que se forma el compuesto (p. ej., radioinmunoconjugado), el grupo reticulante puede estar ausente del compuesto (p. ej., radioinmunoconjugado).

10 En algunas modalidades, los compuestos (p. ej., radioinmunoconjugados) comprenden un grupo reticulante en lugar de, o además de, la entidad de direccionamiento (p. ej., en algunas modalidades, B en la Fórmula I comprende un grupo reticulante).

Un grupo reticulante es un grupo reactivo que es capaz de unir dos o más moléculas mediante un enlace covalente. Se pueden usar grupos reticulantes para unir el enlazador y la entidad quelante a la entidad de direccionamiento o entidad terapéutica. También se pueden usar grupos reticulantes para unir el enlazador y la entidad quelante a una diana *in vivo*. En algunas modalidades, el grupo reticulante es un grupo reticulante reactivo al amino, reactivo a la metionina o reactivo al tiol, o comprende una secuencia de reconocimiento de sortasa (es decir, LPXTG (sec. con núm. de ident.: 39), donde X es cualquier aminoácido). En algunas modalidades, el grupo reticulante reactivo al amino o reactivo al tiol comprende un éster activado tal como un éster de hidroxisuccinimida, éster 2,3,5,6-tetrafluorofenol, éster 4-nitrofenol o un imidato, anhídrido, tiol, disulfuro, maleimida, azida, alquino, alquino tensionado, alqueno tensionado, halógeno, sulfonato,

haloacetilo, amina, hidrazida, diazirina, fosfina, tetrazina, isotiocianato u oxaziridina. En algunas modalidades, la secuencia de reconocimiento de sortasa puede comprender una secuencia de aminoácidos glicina-glicina-glicina (GGG) y/o LPTXG terminal (sec. con núm. de ident.: 40), donde X es cualquier aminoácido. Un experto en la técnica entenderá
5 que el uso de grupos reticulantes no se limita a los constructos específicos descritos en la presente, sino que más bien puede incluir otros grupos reticulantes conocidos.

Composiciones farmacéuticas

En un aspecto, la presente descripción proporciona composiciones farmacéuticas
10 que comprenden compuestos descritos en la presente. Tales composiciones farmacéuticas pueden formularse para usar en una variedad de sistemas de suministro de fármacos. También se puede incluir uno o más excipientes o portadores fisiológicamente aceptables en una composición farmacéutica para una formulación adecuada. Los ejemplos no limitantes de formulaciones adecuadas compatibles para usar con la presente descripción
15 incluyen los descritos en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Filadelfia, PA, 17^a ed., 1985. Para una breve revisión de los métodos para el suministro de fármacos, ver, p. ej., Langer (Science. 249:1527-1533, 1990).

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse para cualquiera de una variedad de vías de administración descritas en la presente (ver, p. ej., la subsección
20 “Administración y Dosificación” en la presente). Se contempla la administración de liberación sostenida, por medios tales como inyecciones de depósito o implantes o componentes erosionables. Por lo tanto, la presente descripción proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen agentes descritos en la presente (p. ej.,

radioinmunoconjugados) disueltos o suspendidos en un portador aceptable, preferentemente un portador acuoso, p. ej., agua, agua regulada, solución salina o PBS, entre otros. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas contienen sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tales como agentes de ajuste de pH y agentes reguladores, agentes de ajuste de tonicidad, agentes humectantes, o detergentes, entre otros. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas se formulan para suministro oral y pueden contener opcionalmente ingredientes inertes tales como aglutinantes o rellenos para la formulación de una forma de dosificación unitaria, tal como una tableta o una cápsula. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas se formulan para administración local y pueden contener opcionalmente ingredientes inertes tales como disolventes o emulsionantes para la formulación de una crema, una pomada, un gel, una pasta o gotas para los ojos.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas proporcionadas se esterilizan mediante técnicas de esterilización convencionales, p. ej., pueden filtrarse para que sean estériles. Las soluciones acuosas resultantes pueden envasarse para usar tal cual, o liofilizarse. Las preparaciones liofilizadas pueden combinarse, por ejemplo, con un portador acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones típicamente estará entre 3 y 11, con mayor preferencia entre 5 y 9 o entre 6 y 8, y con la máxima preferencia entre 6 y 7, tal como de 6 a 6,5. Las composiciones resultantes en forma sólida pueden envasarse, por ejemplo, en múltiples unidades de dosis única, conteniendo cada una de ellas una cantidad fija del agente o agentes mencionados anteriormente, tal como en un envase sellado de

tabletas o cápsulas. Las composiciones farmacéuticas en forma sólida también pueden envasarse en un recipiente para una cantidad flexible, tal como en un tubo que puede exprimirse diseñado para una crema o pomada aplicable de forma tópica.

5 **Métodos de tratamiento**

En un aspecto, la presente descripción proporciona métodos de tratamiento que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite un compuesto (p. ej., radioinmunoconjugado) como se describe en la presente.

10 *Sujetos*

En algunos métodos descritos, se administra una terapia (p. ej., que comprende un agente terapéutico) a un sujeto. En algunas modalidades, el sujeto es un mamífero, p. ej., un ser humano.

En algunas modalidades, el sujeto tiene cáncer o está en riesgo de desarrollar
 15 cáncer. Por ejemplo, el sujeto puede haber sido diagnosticado con cáncer. Por ejemplo, el cáncer puede ser un cáncer primario o un cáncer metastásico. Los sujetos pueden tener cualquier estadio del cáncer, p. ej., estadio I, estadio II, estadio III o estadio IV con o sin afectación de los ganglios linfáticos y con o sin metástasis. Los compuestos (p. ej., radioinmunoconjugados) y las composiciones proporcionadas pueden evitar o reducir el
 20 crecimiento adicional del cáncer y/o de otra manera aminorar el cáncer (p. ej., evitar o reducir las metástasis). En algunas modalidades, el sujeto no tiene cáncer pero se ha determinado que está en riesgo de desarrollar cáncer, p. ej., debido a la presencia de uno o más factores de riesgo tales como exposición ambiental, presencia de una o más

mutaciones o variantes genéticas, antecedentes familiares, etc. En algunas modalidades, el sujeto no ha sido diagnosticado con cáncer.

En algunas modalidades, el cáncer es cualquier cáncer que comprende células que expresan STEAP2. En ciertas modalidades, el cáncer es cáncer de
5 pulmón, cáncer colorrectal, cáncer pancreático o cáncer de cabeza y cuello.

Administración y dosificación

Los compuestos (p. ej., radioinmunoconjugados), y las composiciones farmacéuticas de estos, descritos en la presente pueden administrarse por cualquiera
10 de una variedad de vías de administración, que incluyen las vías de administración sistémicas y locales.

Las vías de administración sistémicas incluyen vías parenterales y vías enterales. En algunas modalidades, los compuestos (p. ej., radioinmunoconjugados) o las composiciones farmacéuticas de estos se administran por una vía parenteral, por
15 ejemplo, por vía intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, subcutánea, intracraneal o intradérmica. En algunas modalidades, los compuestos (p. ej., radioinmunoconjugados) o las composiciones farmacéuticas de estos se administran por vía intravenosa. En algunas modalidades, los compuestos (p. ej., radioinmunoconjugados) o las composiciones farmacéuticas de estos se administran
20 por una vía de administración enteral, por ejemplo, transgastrointestinal u oralmente.

Las vías de administración locales incluyen, pero no se limitan a, inyecciones peritumorales e inyecciones intratumorales.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse para la planificación del tratamiento de radiación, diagnóstico y/o tratamientos terapéuticos. Cuando se administra con fines de planificación de tratamiento de radiación o diagnóstico, el compuesto (p. ej., radioinmunoconjugado) puede administrarse a un sujeto en una dosis diagnósticamente efectiva y/o una cantidad efectiva para determinar la dosis terapéuticamente efectiva. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones farmacéuticas pueden administrarse a un sujeto (p. ej., un ser humano) que ya padece una afección (p. ej., cáncer) en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas del trastorno y sus complicaciones. Por ejemplo, en el tratamiento del cáncer, un agente o compuesto que disminuye, previene, retrasa, suprime o detiene cualquier síntoma de la enfermedad o afección sería terapéuticamente efectiva. No se requiere una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente o compuesto para curar una enfermedad o afección, pero puede, por ejemplo, proporcionar un tratamiento para una enfermedad o afección de tal manera que el inicio de la enfermedad o afección se retrase, obstaculice o evite, de tal manera que los síntomas de la enfermedad o afección se mejoren, o de tal manera que la duración de la enfermedad o afección cambie. Por ejemplo, la enfermedad o afección puede volverse menos grave y/o la recuperación se acelera en un individuo. En algunas modalidades, a un sujeto se le administra una primera dosis de un compuesto (p. ej., radioinmunoconjugado) o composición en una cantidad efectiva para la planificación del tratamiento con radiación, luego se le administra una segunda dosis o conjunto de dosis del compuesto (p. ej., radioinmunoconjugado) o composición en una cantidad terapéuticamente efectiva.

Para tratar el cáncer que comprende células que expresan STEAP2, el método de esta descripción típicamente comprende administrar a un sujeto (p. ej., un ser humano)

que lo necesite una primera dosis de un compuesto o composición proporcionada anteriormente en una cantidad efectiva para la planificación del tratamiento con radiación, seguido de la administración de dosis posteriores de un compuesto o composición proporcionada anteriormente en una cantidad terapéuticamente efectiva.

- 5 En algunas modalidades, el compuesto o la composición administrada en la primera dosis y el compuesto o la composición administrada en la segunda dosis son los mismos.

- En algunas modalidades, el compuesto o la composición administrada en la primera dosis y el compuesto o la composición administrada en la segunda dosis son
10 diferentes.

- Las cantidades terapéuticamente efectivas pueden depender de la gravedad de la enfermedad o afección y otras características del sujeto (p. ej., peso). El experto en la técnica puede determinar las cantidades terapéuticamente efectivas de los compuestos (p. ej., radioinmunoconjugados) y composiciones descritas para sujetos (p.
15 ej., mamíferos tales como seres humanos) teniendo en cuenta las diferencias individuales (p. ej., diferencias en edad, peso y la condición del sujeto).

- En algunas modalidades, los compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) exhiben una capacidad mejorada para dirigirse a células cancerosas. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej.,
20 radioinmunoconjugados) es menor que (p. ej., menor o igual a aproximadamente 90 %, 75 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 15 %, 12 %, 10 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % de) la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la

cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 90 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados)

5 es aproximadamente 75 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados)

es aproximadamente 50 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas

10 modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 40 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados)

es aproximadamente 30 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la

15 entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 20 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados)

20 es aproximadamente 15 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 12 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la

- entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 10 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas
- 5 modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 8 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 7 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la
- 10 entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 6 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados)
- 15 es aproximadamente 5 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 4 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas
- 20 modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 3 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados)

es aproximadamente 2 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente 1 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada. En algunas modalidades, la cantidad efectiva de compuestos descritos (p. ej., radioinmunoconjugados) es aproximadamente ≤ 1 % menor que la dosis equivalente para un efecto terapéutico de la entidad de direccionamiento no conjugada y/o no radioetiquetada.

Las administraciones únicas o múltiples de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente que incluyen una cantidad efectiva pueden llevarse a cabo con los niveles de dosis y el patrón seleccionados por el médico tratante. La dosis y el programa de administración pueden determinarse y ajustarse en función de la gravedad de la enfermedad o afección en el sujeto, que puede ser monitoreada a lo largo del curso del tratamiento de acuerdo con los métodos comúnmente practicados por los médicos o aquellos descritos en la presente.

Los siguientes ejemplos específicos deben interpretarse como meramente ilustrativos, y no limitativos del resto de la descripción de ninguna manera.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. STEAP2 se sobreexpresa en el cáncer de próstata

El 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 1A**). Una consulta con Human Protein Atlas confirma que muestra menos expresión de ARN en órganos vitales que PSMA y STEAP1 (Figura 1A). El 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

5 próstata resistente a la castración (CRPC) (**Figura 1B**).

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. La inmunohistoquímica se realizó a partir de una serie de secciones de tumores tomados de sujetos humanos con metástasis primarias (n=36),

10 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.

El 40A3GL-LO14 es un anticuerpo IgG1 κ humano con función efectora

15 reducida (IgG1-TM) que se une a los dominios extracelulares (ecds, por sus siglas en inglés) de la STEAP2, una proteína de membrana multipaso altamente expresada en las células de cáncer de próstata.

El mAb parental, 40A3, se aisló con una campaña de hibridoma para la cual ratones transgénicos se inmunizaron con células que expresan STEAP2. No fue posible

20 activar la expresión y localización de la superficie celular de la STEAP2 en un entorno de células no prostáticas, tales como células Ad293. Por lo tanto, se generó una línea celular quimérica donde los bucles extracelulares de STEAP2 se injertaron en la cadena principal de la proteína STEAP3 (STEAP3-2) para explotar la localización de la

superficie celular del 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 perfusión, 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 analizaron mediante citometría de flujo de alta capacidad de procesamiento. 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 pruebas adicionales corriente abajo.

El clon 40A3 se seleccionó como un líder para un mayor desarrollo basado en la afinidad de unión celular, selectividad de miembros de la familia STEAP y reactividad cruzada humana/murina. Después, el mAb parental se mutó mediante la introducción de un residuo de leucina de línea germinal en el marco tres (FW3) del dominio VH y se eliminaron dos motivos de desamidación de las CDR L1 y H3. Se evaluó la afinidad de unión de la variante con línea germinal, 40A3-LO7 (LO = clon principal número 7) en células de cáncer de próstata LNCaP que expresan STEAP2. Se demostró que 40A3-LO7 se une a las células LNCaP con una afinidad de unión a células de 43,33 nM.

La afinidad de 40A3-LO7 se maduró mediante mutagénesis por saturación de sitio y análisis basado en células. Posteriormente, se identificaron dos variantes maduras por afinidad con unión de fondo limitada, 40A3-LO11 (CDRL1_S30A CDRH2_V61P) y 40A3-LO14 (CDRL1_S30A CDRH2_V61P CDRH3_L97R). Las mutaciones de sustitución CDRH2_V61P CDRH3_L97R combinadas en 40A3-LO14 mejoraron la unión 26 veces en relación con el anticuerpo de partida, 40A3-LO7.

Se evaluaron las afinidades de unión para 40A3-LO7 parental y sus derivados madurados por afinidad en células LNCaP. 40A3-LO14 también mostró la afinidad de unión más fuerte a las células LNCaP, con una CE50 de 1,67 nM. La variante 40A3-LO11 tuvo un valor de CE50 ligeramente menor de 2,38 nM. Ninguna de las variantes probadas mostró unión a células KO CRISPR LNCaP STEAP2. La reactividad cruzada murina a AD293 muSTEAP3-2 se determinó en 0,97 nM y 5,78 nM, respectivamente. Las características de afinidad de unión, reactividad cruzada y capacidad de desarrollo para cada uno de LO11 y LO14 se resumen en la Tabla 3 a continuación:

Tabla 3

ID de clon (IgG1-TM)	Afinidad de unión (LNCaP)	Mu Reactividad X (AD293 STEAP3-2)	Estrés térmico (% 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 %

Ejemplo 3. Materiales y métodos generales para radiofármacos

El lutecio-177 se puede obtener de ITM Medical Isotopes como tricloruro de lutecio en una solución de ácido clorhídrico 0,05 N; el indio-111, como tricloruro de

indio en una solución de ácido clorhídrico 0,05 N, puede obtenerse de BWXT; y el actinio-225 se puede obtener como trinitrato de actinio-225 de Oak Ridge National Laboratories o como tricloruro de actinio-225 de Canadian Nuclear Laboratories.

La HPLC-MS analítica se puede realizar utilizando un sistema Waters Acquity

- 5 HPLC-MS compuesto por un gestor de solventes binario Waters Acquity, un gestor de muestras Waters Acquity (muestras enfriadas a 10 °C), un gestor de columnas Waters Acquity (temperatura de columna 30 °C), un detector de matriz de fotodiodos Waters Acquity (monitoreo a 254 nm y 214 nm), un detector triple cuadrupolo TQD Waters Acquity con ionización por electropulverización y una columna 2,1×50 (1,7 µm) de
- 10 híbrido con puente de etileno BEH C18 Waters Acquity. La HPLC preparativa se puede realizar utilizando un sistema de HPLC Waters compuesto por una bomba binaria de HPLC Waters 1525, un detector UV/visible Waters 2489 (monitoreo a 254 nm y 214 nm) y una columna 19×100 mm (5 µm) XBridge Prep de fenilo o C18 Waters.

Método 1 de elución por HPLC: columna 2,1×50 (1,7 µm) BEH C18 Waters

- 15 Acquity; fase móvil A: H₂O (0,1 % v/v TFA); fase móvil B: acetonitrilo (0,1 % v/v TFA); velocidad de flujo = 0,3 ml/min; inicial = 90 % A, 3-3,5 min = 0 % A, 4 min = 90 % A, 5 min = 90 % A.

Método 2 de elución por HPLC: columna 19×100 mm (5 µm) XBridge Prep de

- fenilo Waters; fase móvil A: H₂O (0,1 % v/v TFA); fase móvil B: acetonitrilo (0,1 % v/v
- 20 TFA); velocidad de flujo: 10 ml/min; inicial = 80 % A, 13 min = 0 % A.

Método 3 de elución por HPLC: columna 2,1×50 (1,7 µm) BEH C18 Waters

Acquity; fase móvil A: H₂O (0,1 % v/v TFA); fase móvil B: acetonitrilo (0,1 % v/v TFA);

velocidad de flujo = 0,3 ml/min; inicial = 90 % A, 8 min = 0 % A, 10 min = 0 % A, 11 min = 90 % A, 12 min = 90 % A.

Método 4 de elución por HPLC: columna 19×100 mm (5 µm) XBridge Prep C18 OBD Waters; fase móvil A: H₂O (0,1 % v/v TFA); fase móvil B: acetonitrilo (0,1 % v/v TFA); velocidad de flujo: 10 ml/min; inicial = 80 % A, 3 min = 80 % A, 13 min = 20 % A, 18 min = 0 % A.

Método 5 de elución por HPLC: columna 19×100 mm (5 µm) XBridge Prep C18 OBD Waters; fase móvil A: H₂O (0,1 % v/v TFA); fase móvil B: acetonitrilo (0,1 % v/v TFA); velocidad de flujo: 10 ml/min; inicial = 90 % A, 3 min = 90 % A, 13 min = 0 % A, 20 min = 0 % A.

Método 6 de elución por HPLC: columna 19×100 mm (5 µm) XBridge Prep C18 OBD Waters; fase móvil A: H₂O (0,1 % v/v TFA); fase móvil B: acetonitrilo (0,1 % v/v TFA); velocidad de flujo: 10 ml/min; inicial = 75 % A, 13 min = 0 % A, 15 min = 0 % A.

Método 7 de elución por HPLC: columna 19×100 mm (5 µm) XBridge Prep C18 OBD Waters; fase móvil A: H₂O (0,1 % v/v TFA); fase móvil B: acetonitrilo (0,1 % v/v TFA); velocidad de flujo: 10 ml/min; inicial = 80 % A, 12 min = 0 % A, 15 min = 0 % A.

Método 8 de elución por HPLC: columna 19×100 mm (5 µm) XBridge Prep C18 OBD Waters; fase móvil A: H₂O (0,1 % v/v TFA); fase móvil B: acetonitrilo (0,1 % v/v TFA); velocidad de flujo: 10 ml/min; inicial = 90 % A, 12 min = 0 % A, 15 min = 0 % A.

La cromatografía analítica de exclusión por tamaño (SEC, por sus siglas en inglés) se puede realizar utilizando un sistema Waters compuesto por una bomba binaria de HPLC Waters 1525, un detector UV/visible Waters 2489 (monitoreo a 280 nm), un radiodetector de conteo de flujo Bioscan (FC-3300) y una columna 7,8×300 mm TOSOH

TSKgel G3000SWxl. El método isocrático de SEC puede tener una velocidad de flujo de, p. ej., ml/min, con una fase móvil de fosfato 0,1 M, NaCl 0,6 M, azida sódica 0,025 %, pH = 7.

MALDI-MS (ion positivo) se puede realizar utilizando un espectrómetro MALDI Bruker Ultraflexreme.

- 5 La cromatografía de capa delgada por radio (radioTLC) se puede realizar con un escáner de imágenes Bioscan AR-2000, y se puede llevar a cabo en placas de papel de cromatografía de microfibra de vidrio iTLC-SG (Agilent Technologies, SGI0001) usando regulador de citrato (0,1 M, pH 5,5).

- 10 Ejemplo 4. Síntesis de ácido 4-[[11-oxo-11-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)undecil]carbamoil]-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]butanoico (Compuesto B)

- Un quelato bifuncional, el ácido 4-[[11-oxo-11-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)undecil]carbamoil]-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]butanoico (Compuesto B), se puede sintetizar de acuerdo con el esquema proporcionado en la **Figura 3**. A una solución de 5-(terc-butoxi)-5-oxo-4-(4,7,10-tris(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il)pentanoico (DOTA-GA-(tBu)₄, 50 mg, 0,07 mmol) en ACN (2,0 ml), se le añade DSC (50 mg, 0,21 mmol), seguido de piridina (0,20 ml, 2,48 mmol). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. A la mezcla de reacción se añade ácido 11-aminoundecanoico (70 mg, 0,36 mmol) seguido de solución de PBS (1,0 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agita durante 72 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtra con un filtro de jeringa y se purifica directamente mediante HPLC preparatoria con el uso del método 6 para producir el Intermedio 2-A.
- 15
- 20

A una solución de Intermedio 2-A (40 mg, 0,03 mmol), TFP (90 mg, 0,54 mmol) y EDC (40 mg, 0,27 mmol) en ACN (1,0 ml) se le añade piridina (0,05 ml, 50 mg, 0,62 mmol) a temperatura ambiente. La solución se agita a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción se purifica directamente mediante HPLC preparatoria mediante el uso del método 7 para proporcionar el Intermedio 2-B como una cera después de la concentración con el uso de un evaporador rápido Biotage V10.

El Intermedio 2-B se disuelve en DCM/TFA (1,0 ml/2,0 ml) y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción se concentra por corriente de aire y se purifica directamente mediante HPLC preparatoria mediante el uso del método 8 para producir el Compuesto B como una cera transparente después de la concentración. Se analiza una alícuota mediante el método 3 de elución por HPLC-MS.

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 7,99 – 7,88 (m, 1H), 7,82 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,78 (s ancho, 4H), 3,43 (s ancho, 12H), 3,08 (s ancho, 4H), 3,00 (m, 3H), 2,93 (s ancho, 3H), 2,77 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,30 (s ancho, 2H), 1,88 (s ancho, 2H), 1,66 (p, J = 7,3 Hz, 2H), 1,36 (m, 4H), 1,32 – 1,20 (m, 9H).

Ejemplo 5. Síntesis del ácido 4-[[2-(2-{2-[3-oxo-3-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)propoxi]etoxi]etoxi)etil]carbamoil]-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]butanoico (Compuesto C)

Un quelato bifuncional, el ácido 4-[[2-(2-{2-[3-oxo-3-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)propoxi]etoxi]etoxi)etil]carbamoil]-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]butanoico (Compuesto C), se sintetiza de acuerdo con el esquema proporcionado en la **Figura 4**.

A una solución de 5-(terc-butoxi)-5-oxo-4-(4,7,10-tris(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il)pentanoico (DOTA-GA-(tBu)₄, 100 mg, 0,143 mmol) en ACN (8,0 ml), se le añade DSC (73 mg, 0,285 mmol) y piridina (0,80 ml, 9,89 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 90 min a temperatura ambiente. Esta solución se
5 añade a una semisolución de amino-PEG3-ácido (63 mg, 0,285 mmol en 1,2 ml de DMF) en un matraz de fondo redondo de 100 ml. Después de 4 horas a temperatura ambiente, la reacción se elabora mediante concentración hasta la sequedad bajo una corriente de aire. El material crudo se purifica mediante el método 2 de elución por HPLC (se disuelve el crudo en 6 ml de ACN/H₂O al 20 %). Las fracciones que contienen el producto se
10 agrupan y se concentran al vacío y después se coevaporan con ACN (3 x 2 ml).

A un vial que contiene el Intermedio 1-A (82 mg, 60 µmol) se le agrega ACN (2 ml), NEt₃ (50 µl, 360 µmol, 6 equiv.), HBTU (23 mg, 60 µmol, 1 equiv.) y una solución de TFP (50 mg, 300 µmol, 5 equiv., disuelta en 250 µl de ACN). La solución transparente resultante se agita a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción
15 se elabora mediante concentración de la solución hasta la sequedad bajo una corriente de aire y después se diluye con ACN/H₂O (1:1, 3 ml total) y se purifica en HPLC preparativa con el uso del método 4 de elución. Las fracciones que contienen el producto se agrupan y se concentran al vacío y después se coevaporan con ACN (3 x 2 ml). El Intermedio 1-B se obtiene como un residuo transparente.

20 A un vial que contiene el Intermedio 1-B (67 mg, 64 µmol) se le añade DCM (2 ml) y TFA (2 ml). La solución resultante se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. Además, se añade TFA (2 ml), y la reacción se agita a temperatura ambiente durante 6 horas. La reacción se concentra hasta la sequedad bajo una corriente de

aire, y el producto crudo finalmente se disuelve en ACN/H₂O (1 ml de ACN/H₂O al 10 %). La solución de reacción cruda posteriormente se purifica mediante HPLC preparativa con el uso del método 5 de elución. Las fracciones que contienen el producto se agrupan, se congelan y se liofilizan. El Compuesto C se obtiene como un sólido blanco. Se analiza una alícuota mediante el método 3 de elución por HPLC-MS.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ 7,97-7,91 (m, 2H), 3,77 (t, 2H, *J* = 6,0 Hz), 3,58-3,55 (m, 2H), 3,53-3,48 (m, 8H), 3,44-3,38 (m, 10H), 3,23-3,08 (m, 11H), 3,02 (t, 2H, *J* = 6,0 Hz), 2,93 (s ancho, 4H), 2,30 (s ancho, 2H), 1,87 (s ancho, 2H).

10 Ejemplo 6. Conjugación y radioetiquetado para la síntesis de radioinmunoconjugados que comprenden el anticuerpo STEAP2

Síntesis del inmunoconjugado STEAP2

El mAb anti-STEAP2 (40A3-LO14 hIgG-TM) se obtiene en solución a una concentración de 50,0 mg/ml (60 mM de histidina, 240 mM de sacarosa, pH 6,0). El mAb se reformula en regulador de acetato (100 mM, pH 6,5) con el uso de columnas de desalación HiTrap (Cytiva). El mAb se diluye a una concentración de ~15 mg/ml con regulador de acetato y el pH se ajusta a entre 9 y 10 con regulador de carbonato. Una solución de ácido 4-[[2-(2-{2-[3-oxo-3-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)propoxi]etoxi}etoxi)etil]carbamoil]-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]butanoico (5 mg/ml en 0,001 M HCl, 6 eq) se añade a la solución de mAb y la reacción se deja reposar a temperatura ambiente durante 1 hora. El inmunoconjugado resultante puede purificarse y concentrarse mediante cromatografía de interacción hidrofóbica y reformularse en regulador de acetato (pH 6,5) con el uso de

columnas de desalación HiTrap. Las identidades de los inmunoconjugados pueden confirmarse mediante, p. ej., MALDI-TOF, donde se obtienen relaciones típicas de quelato a anticuerpo (CAR, por sus siglas en inglés) de 5-5,5.

Radiosíntesis de radioinmunoconjugado [^{111}In]-STEAP2

5 A un tubo Eppendorf de 1,5 ml se le añade el inmunoconjugado STEAP2 (20,6 μl , 7,29 mg/ml), regulador de acetato (100 mM, pH 6,5, 75,2 μl) y una solución de HCl 0,05 $\pm$ 0,01 M de [^{111}In]InCl₃ (4,2 μl , 1,85 mCi). Después de 60 minutos a temperatura ambiente, el análisis por radioTLC de la mezcla de reacción (placas iTLC-SG, metanol al 5 % en 0,02 M regulador de citrato como fase móvil) indicó una conversión radioquímica

10 (RCC, por sus siglas en inglés) de 95 %. La purificación se llevó a cabo con el uso de una columna de 1 ml empacada con resina Sephadex G50 (hidratada con regulador de acetato). Las fracciones del producto se eluyeron usando regulador de acetato y se combinaron. Se añadieron soluciones de regulador de acetato de L-ascorbato sódico e hidrato de sal trisódica cálcica de ácido dietilentetramina-pentaacético (DTPA) para

15 proporcionar una formulación final de 10 mM de ascorbato y 1 mM de DTPA. El análisis de la formulación resultante por radioTLC y SEC-HPLC al final de la síntesis (EOS, por sus siglas en inglés) indicó la formación de [^{111}In]-STEAP2 (374 μl , 0,287 mg/ml, 10,5 mCi/mg, 99 % de pureza radioquímica y > 95 % de pureza química).

Radiosíntesis de radioinmunoconjugado [^{177}Lu]-STEAP2

20 A un tubo Eppendorf de 1,5 ml se le añade el inmunoconjugado STEAP2 (20,6 μl , 7,29 mg/ml), regulador de acetato (100 mM, pH 6,5, 70,8 μl) y una solución de 0,01 M HCl de [^{177}Lu]LuCl₃ (8,6 μl , 1,93 mCi). Después de 60 minutos a temperatura ambiente, el análisis por radioTLC de la mezcla de reacción (placas iTLC-SG, metanol

al 5 % en 0,02 M regulador de citrato como fase móvil) indicó una conversión radioquímica (RCC) de 94 %. La purificación se llevó a cabo con el uso de una columna de 1 ml empacada con resina Sephadex G50 (hidratada con regulador de acetato). Las fracciones del producto se eluyeron usando regulador de acetato y se combinaron. Se

5 añadieron soluciones de regulador de acetato de L-ascorbato sódico e hidrato de sal trisódica cálcica de ácido dietilentetramina-pentaacético (DTPA) para proporcionar una formulación final de 10 mM de ascorbato y 1 mM de DTPA. El análisis de la formulación resultante por radioTLC y SEC-HPLC al final de la síntesis (EOS) indicó la formación de

10 $[^{177}\text{Lu}]$ -STEAP2 (374 μl , 0,250 mg/ml, 13,1 mCi/mg, 98 % de pureza radioquímica y > 95 % de pureza química). La estructura del $[^{177}\text{Lu}]$ -STEAP2 se muestra en la **Figura 2C** y su esquema de síntesis se representa en la **Figura 5**.

Radiosíntesis de radioinmunoconjugado $[^{225}\text{Ac}]$ -STEAP2

A un tubo Eppendorf de 1,5 ml se le añade el inmunoconjugado STEAP2 (95,1 μl , 5,89 mg/ml), regulador de acetato (100 mM, pH 6,5, 70,8 μl) y una solución de HCl

15 0,001 M de $[^{225}\text{Ac}]\text{AcCl}_3$ (31,5 μl , 32,8 μCi). Después de 120 minutos a 37 °C, el análisis por radioTLC de la mezcla de reacción (placas iTLC-SG, metanol al 5 % en 0,02 M regulador de citrato como fase móvil) indicó una conversión radioquímica (RCC) de 99 %. La purificación se llevó a cabo con el uso de una columna de 1 ml empacada con resina Sephadex G50 (hidratada con regulador de acetato). Las fracciones del producto

20 se eluyeron usando regulador de acetato y se combinaron. Se añadieron soluciones de regulador de acetato de L-ascorbato sódico e hidrato de sal trisódica cálcica de ácido dietilentetramina-pentaacético (DTPA) para proporcionar una formulación final de 10 mM de ascorbato y 1 mM de DTPA. El análisis de la formulación resultante por

radioTLC y SEC-HPLC al final de la síntesis (EOS) indicó la formación de [^{225}Ac]-STEAP2 (463 μl , 0,845 mg/ml, 0,066 mCi/mg, 99 % de pureza radioquímica y > 95 % de pureza química). La estructura de [^{225}Ac]-STEAP2 se muestra en la **Figura 2D**.

Síntesis del inmunoconjugado de isotipo hlgG

5 El mAb hlgG se obtuvo en solución a una concentración de 77,43 mg/ml (25 mM de histidina, 150 mM de sacarosa, pH 6,0). El mAb se reformuló en PBS con el uso de una columna de 1 ml empacada con resina Sephadex G50 (hidratada con PBS). Esto se diluyó a una concentración de ~7 mg/ml y el pH se ajustó a entre 9 y 10 con el uso de regulador de carbonato. Una solución de ácido 4-[[2-(2-{2-[3-oxo-3-(2,3,5,6-

10 tetrafluorofenoxi)propoxi]etoxi]etoxi)etil]carbamoil]-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]butanoico (5 mg/ml en 0,001 M HCl, 6 eq) se añade a la solución de mAb y la reacción se deja reposar a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, el anticuerpo se purifica y se reconstituye en regulador de acetato (100 mM, pH 6,5) mediante el uso de filtros centrífugos Amicon de 0,5 ml (corte de 50 kDa). Las

15 identidades de los inmunoconjugados pueden confirmarse mediante, p. ej., MALDI-TOF, donde se obtienen relaciones típicas de quelato a anticuerpo (CAR) de 3-4.

Radiosíntesis de radioinmunoconjugado [^{225}Ac]-isotipo hlgG

A un tubo Eppendorf de 1,5 ml se le añade el inmunoconjugado isotipo hlgG (55,3 μl , 5,43 mg/ml), regulador de acetato (100 mM, pH 6,5, 127,8 μl) y una solución de

20 0,001 M HCl de [^{225}Ac]AcCl₃ (17,5 μl , 17,9 μCi). Después de 120 minutos a 37 °C, el análisis por radioTLC de la mezcla de reacción (placas iTLC-SG, metanol al 5 % en regulador de citrato 0,02 M como fase móvil) indicó una conversión radioquímica (RCC) de 95 %. La purificación se llevó a cabo con el uso de una columna de 1 ml empacada con

resina Sephadex G50 (hidratada con regulador de acetato). Las fracciones del producto se eluyeron usando regulador de acetato y se combinaron. Se añadieron soluciones de regulador de acetato de L-ascorbato sódico e hidrato de sal trisódica cálcica de ácido dietilentetramina-pentaacético (DTPA) para proporcionar una formulación final de 10 mM de ascorbato y 1 mM de DTPA. El análisis de la formulación resultante por radioTLC y SEC-HPLC al final de la síntesis (EOS) indicó la formación de [^{225}Ac]-HiGg (463 μl , 0,441 mg/ml, 0,0675 mCi/mg, 98 % de pureza radioquímica y > 95 % de pureza química).

Ejemplo 7. Unión *in vitro* del conjugado [^{177}Lu]-Compuesto C-anti-STEAP2

Se realizó un estudio para evaluar la afinidad de unión al receptor del conjugado [^{177}Lu]-Compuesto C-anti-STEAP2, es decir, [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO11) y [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14), con tres líneas celulares diferentes: células C4-2, células 22RV1 y células LNCaP. Este estudio siguió los procedimientos que se describen a continuación.

El propósito de este ensayo fue asegurarse de que los radioinmunoconjugados mantuvieran las características de unión del anticuerpo nativo en líneas celulares que expresan STEAP2 que incluye C4-2, 22RV1 y LNCaP. Un día antes del experimento, las células ($1,5 \times 10^5$) se sembraron en microplacas de 48 pocillos en 500 μl de medio suplementado. Al inicio del ensayo, las células se lavaron con PBS una vez y posteriormente se trataron con regulador de unión o anticuerpo frío 5 μM [unión total (TB, por sus siglas en inglés) y unión no específica (NSB, por sus siglas en inglés) respectivamente]. Las placas se incubaron a 4 °C durante aproximadamente una hora con agitación suave. Después de la incubación, tanto las células SB como las NSB se trataron con concentraciones crecientes de [^{177}Lu]-

STEAP2 (40A3-LO11) o [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14) (0,098 nM a 50 nM) y se incubaron a 4 °C durante aproximadamente dos horas con agitación suave. Después de la incubación, las células se lavaron dos veces con PBS y después se lisaron con Triton-X-100 al 1 %. Los lisados se transfirieron a tubos de conteo gamma y se probaron junto con el estándar de [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO11) o [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14) en el contador gamma Wizard 1470 para determinar la cantidad de radiactividad en recuentos por minuto (CPM, por sus siglas en inglés) para cada lisado. El lisado restante de cada pocillo (25 μl) se usó para analizar el contenido de proteína mediante el uso de un ensayo de cuantificación de proteínas estándar.

Los valores de unión total, específica y no específica (fmol/mg) se trazaron con respecto a la concentración del conjugado como se muestra en las **Figuras 6A-6C**. La K_d y la $B_{\text{máx.}}$ se derivaron por ajuste de curva de los datos de unión específica a un modelo de hipérbola de sitio único (Graph Pad Prism Software, versión 9). Los datos de unión revelaron valores deseables para la K_d . La mayor $B_{\text{máx.}}$ (fmol/mg) para 40A3-LO11 se observó en C4-2 (199 ± 36) y 22RV1 (165 ± 18) seguido de LNCaP (100 ± 19). La mayor $B_{\text{máx.}}$ (fmol/mg) para 40A3-LO14 se observó en C4-2 (525 ± 52) y LNCaP (280 ± 73) seguido de 22RV1 (226 ± 35).

Se observó que el conjugado STEAP2, es decir, [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14), exhibió mayores afinidades de unión de aproximadamente 3,2 nM con las células 22RV1, aproximadamente 2,8 nM con las células C4-2, y aproximadamente 0,79 nM con las células LNCaP, en comparación con [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO11), que exhibió afinidades de unión de aproximadamente 6,7 nM con las células 22RV1, aproximadamente 6,9 nM con las células C4-2, y aproximadamente 1,2 nM con las células LNCaP.

Ejemplo 8. Evaluación de internalización del conjugado [^{177}Lu]-Compuesto C-anti-STEAP2

Este ensayo de internalización se diseñó para determinar el grado de retención celular de los derivados de anticuerpos enlazadores radioetiquetados. El ensayo se basa en la capacidad inherente del receptor STEAP2 de internalizar cuando se une al anticuerpo y la capacidad de rastrear compuestos radioetiquetados. Aquí, una cantidad constante de radioinmunoconjugado se incubó con tres líneas celulares diferentes durante un período de tiempo fijo y las residualizaciones se determinan calculando la cantidad de radiactividad internalizada como porcentaje de la actividad total asociada a las células.

Se realizó un estudio para evaluar la internalización de un conjugado [^{177}Lu]-Compuesto C-anti-STEAP2, es decir, [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO11) y [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14), con tres líneas celulares diferentes de células C4-2, células 22RV1, y células LNCaP, siguiendo el protocolo que se describe a continuación.

Este ensayo se diseñó para determinar el grado de retención celular del radioinmunoconjugado [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO11) y [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14). Brevemente, las líneas celulares mencionadas anteriormente se sembraron en tres placas de 24 pocillos a una concentración de $2,5 \times 10^5$ células/pocillo en medio completo (durante 0 h, 2 h y 24 h de tiempo de incubación). Al día siguiente, se decantó el medio, las células se lavaron una vez con PBS estéril y después se trataron con [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO11) o con [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14) (4 nM) durante 2 horas a 37 °C. Después de la incubación, todas las placas se colocaron inmediatamente en hielo y el medio se desechó en tubos de conteo gamma preetiquetados (no unidos). Las células se lavaron una vez con PBS estéril, se agitaron suavemente y se decantaron en

los tubos gamma (etiquetados y no unidos). Se añadió regulador de lavado ácido fuerte (pH 2,5, 500 µl) en el punto de tiempo de 0 horas durante 5 minutos a 4 °C, y después se recogió el regulador en tubos de conteo gamma preetiquetados (unidos a la membrana). A continuación, las células se lisaron con 300 µl de Triton X-100 al 1 % durante 30 minutos a temperatura ambiente con agitación suave. Se transfirieron 250 µl del lisado celular a tubos de conteo gamma y se contaron durante 10 minutos. Se añadió regulador de lavado ácido suave (pH 4,6, 500 µl) a placas de 2 horas y 24 horas durante 15 min a 4 °C. Posteriormente se recogió el regulador en tubos de conteo gamma preetiquetados (unidos a la membrana). Se añadió 1 ml de medio calentado a las placas para una incubación adicional a 37 °C durante 2 y 24 horas respectivamente. Siguiendo los tiempos de incubación prescritos, las placas se colocaron en hielo y se procesaron de la siguiente manera: Los medios se decantaron y se recogieron en tubos gamma preetiquetados (eflujo). A continuación, las placas se lavaron una vez con 1 ml de PBS frío y se añadieron a tubos de eflujo. Se añadió regulador de lavado ácido fuerte a todos los pocillos y las placas se incubaron durante 5 minutos en hielo. Después, la fracción de lavado ácido se recogió en tubos gamma preetiquetados (reciclados). Las células se lisaron con 300 µl de Triton X100 al 1 % durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se transfirieron 250 µl del lisado celular a tubos de conteo gamma preetiquetados (retenidos) y se contaron durante 10 minutos. Se transfirieron 25 µl de la fracción de lisado celular a una placa de 96 pocillos para la cuantificación de proteínas (Ensayo de Proteínas Pierce BCA).

En la **Figura 7** se muestran los resultados del estudio de internalización. El porcentaje de residualización se determinó como CPM (lisado) o CPM (eflujo +

reciclado + lisado). Para [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO11), el % de eflujo más bajo a las 24 horas posteriores a la incubación se observó en las LNCaP, seguido de las C4-2 y las 22RV1 (aproximadamente 39,55 %, 43,1 % y 66,7 %, respectivamente). Para [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14), el % de eflujo más bajo a las 24 horas posteriores a la

5 incubación se observó en las LNCaP, seguido de las C4-2 y las 22RV1 (aproximadamente 26,3 %, 27,69 % y 74 %, respectivamente). Pareció haber una correlación entre el nivel de expresión de los receptores de STEAP2 y la retención celular -en este caso tanto para 40A3-LO11 como para 40A3-LO14.

10 Ejemplo 9. Biodistribución *in vivo* del conjugado [^{177}Lu]-Compuesto C-anti-STEAP2 en modelos animales de 22RV1 y C4-2

Se usaron dos modelos de ratones de xenoinjerto de línea celular diferentes para evaluar la biodistribución *in vivo* del conjugado [^{177}Lu]-DOTA-anti-STEAP2, es decir, [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14), siguiendo el siguiente protocolo.

15 Inoculaciones de tumor: Las células se lavaron con PBS y se desprendieron con EDTA y tripsina al 0,25 %. Las células recolectadas se resuspendieron en un concentrado de Cultrex listo para usar a las siguientes concentraciones:

22RV1: 125×10^6 células/ml

C4-2: 125×10^6 células/ml

20 Se inyectaron por vía subcutánea ratones atímicos NCr-nu/nu machos de 4 a 6 semanas de edad (Charles River Laboratories) en el flanco derecho con 100 μl de la mezcla. Las inyecciones radiactivas comenzaron aproximadamente a los 15-25 días después de la inoculación cuando el volumen del tumor alcanzó 150-200 mm^3 .

Estudios de biodistribución: Seis grupos de 3 ratones con tumores subcutáneos (descritos anteriormente) recibieron inyecciones por vía intravenosa a través de la vena lateral de la cola con 200 μ l de [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14) que contenía aproximadamente 0,74 MBq de ^{177}Lu (aproximadamente 2 μ g de anticuerpo). En los puntos de tiempo especificados (4 h, 24 h, 72 h, 96 h, 168 h, y 336 h) después de la inyección, por cada punto de tiempo se anestesió un grupo con isoflurano, se desangró mediante punción cardíaca y luego se sometió a eutanasia para la recolección de sangre y diferentes órganos mediante disección. El tumor y los órganos se enjuagaron con PBS para eliminar cualquier sangre residual, se secaron con papel secante y se recogieron en tubos de conteo gamma previamente pesados. Los recuentos de radiación por minuto contenidos en las muestras de tejido se midieron con el uso de un contador gamma y después se convirtieron en μCi de actividad corregidas por desintegración con el uso de un estándar de calibración. Se usaron mediciones de actividad y pesos de muestra para calcular el porcentaje de dosis inyectada por gramo de peso tisular (%DI/g).

Los resultados se expresaron como el porcentaje de dosis inyectada por gramo de tejido (% DI/g) y se representan en las **Figuras 8A-8B**. El estudio de biodistribución de [^{177}Lu]-STEAP2 (40A3-LO14) mostró el perfil de biodistribución típico para IgG con niveles aceptables de captación en órganos normales. La captación tumoral más alta (%DI/g) observada en el xenoinjerto de C4-2 fue mayor que aquella en el xenoinjerto de 22RV1 [aproximadamente 61 % (168 h), y aproximadamente 38 % (168 h), respectivamente].

Ejemplo 10. Eficacia *in vivo* del conjugado [^{225}Ac]-Compuesto C-anti-STEAP2 en un modelo animal

Se diseñó un estudio para evaluar la eficacia para diferentes dosis de radioinmunoconjugado etiquetado con actinio-225, es decir, [^{225}Ac]-STEAP2 (40A3-LO14), en comparación con el anticuerpo frío solo, control vehicular y control de isotipo.

El estudio de eficacia se realizó con hasta cuatro dosis crecientes de [^{225}Ac]-STEAP2 (40A3-LO14) y se comparó con el anticuerpo frío, control vehicular y control de isotipo. Se realizaron estudios de eficacia terapéutica con el uso de xenoinjertos tumorales de 22RV1 o C4-2. Para el estudio, 4-7 grupos de animales portadores de tumores (n = 5 para 22RV1, n = 4 para C4-2) recibieron inyecciones por vía intravenosa a través de la vena lateral de la cola con 200 μl de compuestos. El [^{225}Ac]-STEAP2 (40A3-LO14) se dosificó a 50 - 400 nanocurios (nCi) de actividad formulados en 20 mM de citrato de sodio a pH 5,5, 0,82 % de NaCl y 0,01 % de regulador Tween 80. Como control, se administró anticuerpo no radioetiquetado, no conjugado a una masa proteica equivalente a la dosis de radiactividad más alta de [^{225}Ac]-STEAP2 (40A3-LO14) sometida a prueba en un estudio. Las mediciones de los tumores se tomaron 2 - 3 veces por semana durante al menos 60 días con calibres vernier en dos dimensiones. La longitud del tumor se definió como la dimensión más larga, el ancho se midió perpendicular a la longitud del tumor. Al mismo tiempo se pesaron los animales. El estado general del cuerpo y el comportamiento general se evaluaron diariamente. El volumen tumoral (mm) se calculó a partir de las mediciones del calibre como un elipsoide: El crecimiento del tumor se expresó como volumen tumoral relativo (RTV, por sus siglas en inglés) que es el volumen tumoral medido el día X dividido

entre el volumen tumoral medido el día de la dosificación. En el modelo de 22RV1, 200 nCi y 400 nCi causaron regresión tumoral a largo plazo en todos los ratones (**Figuras 9A-9B**). En el modelo de 22RV1, el grupo tratado con 100 nCi mostró una respuesta mixta que incluyó retraso en el crecimiento del tumor, supresión del tumor y regresión. En el modelo de C4-2, el grupo tratado con 100 nCi mostró regresión del tumor a largo plazo en todos los ratones, mientras que el grupo tratado con 50 nCi mostró regresión a largo plazo en 3 de 4 ratones (**Figura 9C**).

El estudio de eficacia del xenoinjerto derivado de paciente (PDX, por sus siglas en inglés) se realizó con dos dosis crecientes de [^{225}Ac]-STEAP2 (40A3-LO14) y en comparación con las cohortes de control de isotipo y control no tratado. El estudio de eficacia terapéutica se realizó utilizando el modelo PDX de cáncer de próstata CTG-3167. Para el estudio, 5 grupos de animales portadores de tumores ($n = 3$) recibieron inyecciones por vía intravenosa a través de la vena lateral de la cola. El [^{225}Ac]-STEAP2 (40A3-LO14) se dosificó a 50 - 100 nanocurios (nCi) de actividad formulados en 20 mM de citrato de sodio a pH 5,5, 0,82 % de NaCl y 0,01 % de regulador Tween 80. Los animales se evaluaron diariamente para monitorear la salud general y cualquier manifestación de efectos adversos agudos por el tratamiento. Se pesaron los animales y se tomaron mediciones de los tumores con calibres vernier 2 veces por semana hasta por 60 días. El volumen tumoral se evaluó midiendo los diámetros tumorales perpendiculares y el crecimiento de los tumores en cada grupo experimental se expresó como el volumen tumoral medio (mm^3) $\pm$ SEM del número de animales utilizados. En el modelo de CTG-3167, 50 nCi y 100 nCi causaron regresión tumoral a largo plazo en todos los ratones (**Figura 9D**).

OTRAS MODALIDADES

Si bien la descripción se ha divulgado en relación con modalidades específicas de esta, se entenderá que es capaz de modificaciones adicionales y esta aplicación
5 está destinada a cubrir cualquier variación, usos o adaptaciones de la descripción posteriores, en general, los principios de la descripción y que incluye tales desvíos de la presente descripción que entran dentro de la práctica conocida o habitual dentro de la técnica a la que pertenece la descripción y pueden aplicarse a las características esenciales de la presente descripción expuestas anteriormente.