



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2281006 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 47/65 (2017.01)
A61K 31/5365 (2006.01)
C07D 207/46 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.01.22
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.08.02
(86)	European Application Nr.	09739779.8
(86)	European Filing Date	2009.04.30
(87)	The European Application's Publication Date	2011.02.09
(30)	Priority	2008.04.30, US, 49291 P 2009.01.28, US, 147966 P
(84)	Designated Contracting States:	AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; TR
	Designated Extension States:	BA; RS
(73)	Proprietor	Immunogen, Inc., 830 Winter Street, Waltham, MA 02451, US-USA
(72)	Inventor	CHARI, Ravi, V., J., 174 Winchester Street, Newton, MA 02461, US-USA ZHAO, Robert, Yongxin, 3 Donald Street, Lexington, MA 02420, US-USA KOVTON, Yelena, 7 Elaine Street, Stow, MA 01775, US-USA SINGH, Rajeeva, 40 Lanewood Avenue, Framingham, MA 01701, US-USA WIDDISON, Wayne, Charles, 7 Holden Road, Belmont, MA 02478, US-USA
(74)	Agent or Attorney	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

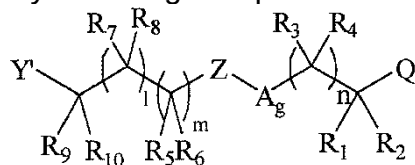
(54)	Title	CROSS-LINKERS AND THEIR USES
(56)	References Cited:	EP-A1- 1 514 561, KRANZ D M ET AL: "CONJUGATES OF FOLATE AND ANTI-T-CELL- RECEPTOR ANTIBODIES SPECIFICALLY TARGET FOLATE-RECEPTOR-POSITIVE TUMOR CELLS FOR LYSIS", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 92, 1 September 1995 (1995-09-01), pages 9057-9061, XP002050538, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.92.20.9057, WO-A1- 98/13059, GB-A- 2 029 825, US-A- 3 420 876, US-A- 5 219 564, US-A1- 2004 001 838, US-A1- 2005 158 370, US-A1- 2006 233 814, US-A1- 2007 092 940, ZARA J J ET AL: "A carbohydrate- directed heterobifunctional cross-linking reagent for the synthesis of immunoconjugates", ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS INC, NEW YORK, vol. 194, no. 1, 1 April 1991 (1991-04-01), pages 156-162, XP024830754, ISSN: 0003-2697, DOI: 10.1016/0003- 2697(91)90163-N [retrieved on 1991-04-01], YASHVEER SINGH ET AL: "A novel heterobifunctional linker for facile access to bioconjugates", ORGANIC & BIOMOLECULAR CHEMISTRY, vol. 4, no. 7, 1 January 2006 (2006-01-01), page 1413, XP55035079, ISSN:

1477-0520, DOI: 10.1039/b518151h, SENGLE G ET AL: "Synthesis, incorporation efficiency, and stability of disulfide bridged functional groups at RNA 5'-ends", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, PERGAMON, GB, vol. 8, no. 6, 1 June 2000 (2000-06-01), pages 1317-1329, XP027411644, ISSN: 0968-0896 [retrieved on 2000-06-01], GUILLAUME CLAVÉ ET AL: "A novel heterotrifunctional peptide-based cross-linking reagent for facile access to bioconjugates. Applications to peptide fluorescent labelling and immobilisation", ORGANIC & BIOMOLECULAR CHEMISTRY, vol. 6, no. 17, 1 January 2008 (2008-01-01), page 3065, XP55035016, ISSN: 1477-0520, DOI: 10.1039/b807263a, OLIVIER PLOUX ET AL: "A new modified amino acid. 2-Amino-3-mercapto-3-phenylpropionic acid (3-mercaptophenylalanine). Synthesis of derivatives, separation of stereoisomers, and assignment of absolute configuration", THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 53, no. 14, 1 July 1988 (1988-07-01), pages 3154-3158, XP55035080, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/jo00249a006, CHARLET AL.: 'Targeted delivery of chemotherapeutics: tumor-activated prodrug therapy.' ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS vol. 31, 1998, pages 89 - 104, XP002204748, "Crosslinking Technical handbook", 1 April 2009 (2009-04-01), Thermo Scientific Pierce, LEE R J ET AL: "DELIVERY OF LIPOSOMES INTO CULTURED KB CELLS VIA FOLATE RECEPTOR-MEDIATED ENDOCYTOSIS", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, INC, BETHESDA, MD, USA, vol. 269, no. 5, 4 February 1994 (1994-02-04), pages 3198-3204, XP009059971, ISSN: 1083-351X, MARTIN L ET AL: "Beta-amino-thiols inhibit the zinc metallopeptidase activity of tetanus toxin light chain", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 41, no. 18, 27 August 1998 (1998-08-27), pages 3450-3460, XP002092584, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/JM981015Z, NEAMATI N ET AL: "POTENT INHIBITORS OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1 INTEGRASE: IDENTIFICATION OF A NOVEL FOUR-POINT PHARMACOPHORE AND TETRACYCLINES AS NOVEL INHIBITORS", MOLECULAR PHARMACOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, US, vol. 52, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 1041-1055, XP002945436, ISSN: 0026-895X, EP-A2- 0 457 250

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

Patentkrav

1. Kryssbinding for å danne et cellebindingsmiddel-legemiddelkonjugat, hvori kryssbindingen representeres av formel (I)



(I)

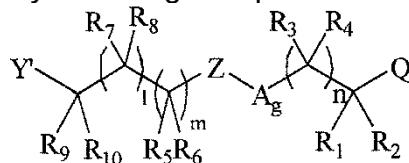
hvori:

Y' representerer en funksjonell gruppe som muliggjør reaksjon med et cellebindingsmiddel valgt fra et antistoff, et enkelkjede antistoff eller et fragment av antistoff som binder til målcellen, hvori Y' velges fra en N-hydroksysuksinimidester, p-nitrofenylester, dinitrofenylester, pentafluorfenylester, en pyridyldisulfid, nitropyridyldisulfid, maleimid, haloacetat eller karboksylsyreklorid;

Q representerer en funksjonell gruppe som muliggjør binding av et cytotoxisk legemiddel via en disulfid-, tioeter-, tioester-, peptid-, hydrazon-, ester-, eter-, karbamat- eller amidbinding, hvori Q velges fra gruppen som består av tiol, disulfid, amino, karboksy, aldehyd, maleimido, haloacetyl, hydrazin og hydroksy; én av R₁, R₂, R₃, R₄, R₉ og R₁₀ er en ladet substituent valgt fra SO₃⁻, X-SO₃⁻, OPO₃²⁻, X-OPO₃²⁻, N⁺R₁₁R₁₂R₁₃ og X-N⁺R₁₁R₁₂R₁₃, og resten er H; l, g og m hver er 0; n er 1, hvori

R₁₁, R₁₂ og R₁₃ er de samme eller forskjellige og er lineær alkyl som har fra 1 til 6 karbonatomer, eller forgrenet eller syklisk alkyl som har fra 3 til 6 karbonatomer og X representerer fenyl eller et lineært alkyl som har fra 1 til 6 karbonatomer, eller forgrenet eller syklisk alkyl som har fra 3 til 6 karbonatomer; og Z er fraværende.

2. Anvendelse av en kryssbinding for å danne forbindelsen ifølge krav 6, hvori kryssbindingen representeres av formel (I)



(I)

hvori:

Y' representerer en funksjonell gruppe som muliggjør reaksjon med et cellebindingsmiddel valgt fra et antistoff, et enkelkjede antistoff eller et fragment av antistoff som binder til målcellen, hvori Y' er en aminreaktiv gruppe eller en tiolreaktiv gruppe;

Q representerer en funksjonell gruppe som muliggjør binding av et cytotoxisk legemiddel via en disulfid-, tioeter-, tioester-, peptid-, hydrazon-, ester-, eter-, karbamat- eller amidbinding, hvori Q velges fra gruppen som består av tiol, disulfid, amino, karboksy, aldehyd, maleimido, haloacetyl, hydrazin og hydroksy; én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er en ladet substituent valgt fra SO_3^- , $X-SO_3^-$, OPO_3^{2-} , $X-OPO_3^{2-}$, $N^+R_{11}R_{12}R_{13}$ og $X-N^+R_{11}R_{12}R_{13}$, og resten er H; l, g og m er hver 0; n er 1, hvori

R_{11} , R_{12} og R_{13} er de samme eller forskjellige og er lineær alkyl som har fra 1 til 6 karbonatomer, eller forgrenet eller syklisk alkyl som har fra 3 til 6 karbonatomer og X representerer fenyl eller et lineært alkyl som har fra 1 til 6 karbonatomer, eller forgrenet eller syklisk alkyl som har fra 3 til 6 karbonatomer; og

Z er fraværende.

3. Anvendelsen ifølge krav 2, hvori Y' velges fra en N-hydroksysukkinimidester, p-nitrofenylester, dinitrofenylester, pentafluorofenylester, et pyridyldisulfid, nitropyridyldisulfid, maleimid, haloacetat eller karboksylsyreklorid.

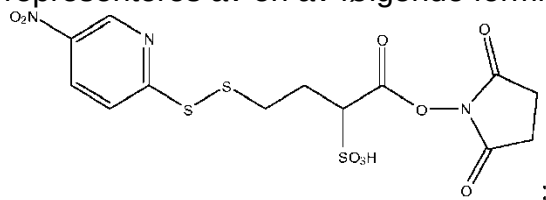
4. Kryssbinderen ifølge krav 1 eller anvendelsen ifølge krav 2, hvori:

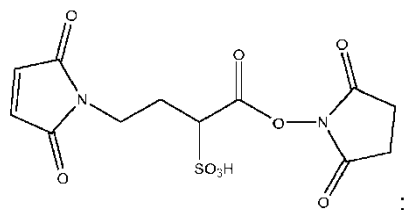
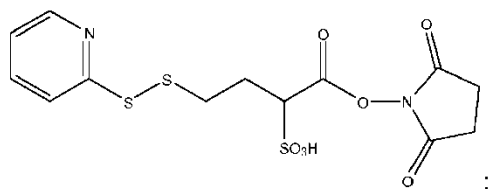
1. Q er en disulfid-, en maleimido-, en haloacetylgruppe, eller en N-hydroksysukkinimidester og Y' er en disulfid-, en maleimido-, en haloacetylgruppe, eller en N-hydroksysukkinimidester; eller

2. én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er SO_3^- eller $X-SO_3^-$; Q er en disulfid-, en maleimido- eller en haloacetylgruppe; og Y' er en maleimido-gruppe eller en N-hydroksysukkinimidester; eller

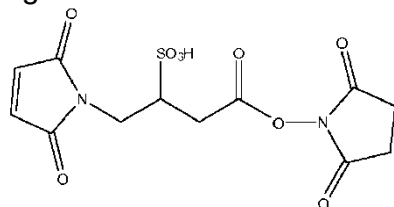
3. én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er SO_3^- eller $X-SO_3^-$; Q er en pyridylditio-, nitropyridylditio-, maleimido- eller haloacetylgruppe; og Y' er en N-hydroksysukkinimidester.

5. Kryssbindingen ifølge krav 1 eller anvendelsen ifølge krav 2, hvori kryssbindingen representeres av én av følgende formler:



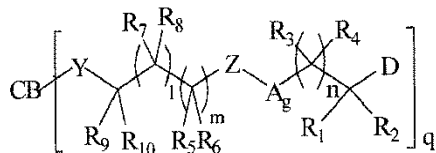


og



5

6. Forbindelse med en formel valgt fra gruppen bestående av:



(II)

10 hvori:

CB representerer et cellebindingsmiddel valgt fra et antistoff, et enkelkjede antistoff eller et fragment av antistoff som binder til målcellen;

D representerer legemidlet lenket til cellebindingsmidlet av en disulfid-, tioeter-, tioester-, peptid-, hydrazon-, ester-, eter-, karbamat- eller amidbinding;

15 én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er en ladet substituent valgt fra SO_3^- , X-SO_3^- , OPO_3^{2-} , X-OPO_3^{2-} , $\text{N}^+\text{R}_{11}\text{R}_{12}\text{R}_{13}$ og $\text{X-N}^+\text{R}_{11}\text{R}_{12}\text{R}_{13}$, og resten er H; l, g og m er hver 0; n er 1; hvori:

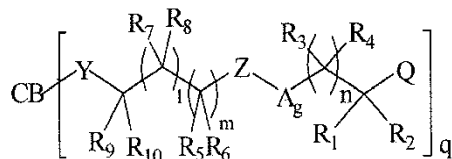
R_{11} , R_{12} og R_{13} er de samme eller forskjellige og er lineært alkyl som har fra 1 til 6 karbonatomer, forgrenet eller syklisk alkyl som har fra 3 til 6 karbonatomer og X representerer fenyl eller et lineært alkyl fra med 1 til 6 karbonatomer, eller forgrenet eller syklisk alkyl som har fra 3 til 6 karbonatomer;

Z er fraværende.

25 Y representerer en karbonyl-, tioeter-, amid-, disulfid- eller hydrazonogruppe, og

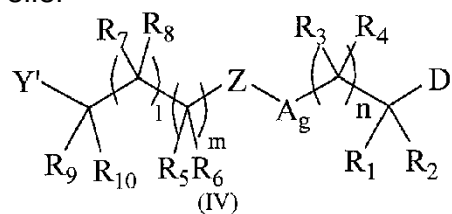
q representerer et heltall fra 1 til 20.

7. Forbindelse med en formel valgt fra gruppen om består av:



(III)

5 eller



hvor:

CB representerer et cellebindingsmiddel, hvori cellebindingsmidlet er et antistoff, et enkeltkjede antistoff eller et fragment av et antistoff som binder til målcellen; D representerer legemidlet lenket til cellebindingsmidlet av en disulfid-, tioeter-, tioester-, peptid-, hydrazon-, ester-, eter-, karbamat- eller amidbinding; Y' representerer en funksjonell gruppe som muliggjør reaksjon med et cellebindingsmiddel, hvori Y' velges fra en N-hydroksysukkinimidester, p-nitrofenylester, dinitrofenylester, pentafluorofenylester, en pyridyldisulfid, nitropyridyldisulfid, maleimido, haloacetat eller karboksylsyreklorid; Q representerer en funksjonell gruppe som muliggjør binding av et cytotoxisk legemiddel via en disulfid-, tioeter-, tioester-, peptid-, hydrazon-, ester-, eter-, karbamat- eller amidbinding, hvori Q velges fra gruppen som består av tiol, disulfid, amino, karboksy, aldehyd, maleimido, haloacetyl, hydrazin og hydroksy; én av R₁, R₂, R₃, R₄, R₉ og R₁₀ er en ladet substituent valgt fra SO₃⁻, X-SO₃⁻, OPO₃²⁻, X-OPO₃²⁻, N⁺R₁₁R₁₂R₁₃ og X-N⁺R₁₁R₁₂R₁₃, og resten er H; l, g og m er hver 0; n er 1; hvori:

R₁₁, R₁₂ og R₁₃ er de samme eller forskjellige og er lineært alkyl som har fra 1 til 6 karbonatomer, eller forgrenet eller syklisk alkyl som har fra 3 til 6 karbonatomer og X representerer fenyl eller et lineært alkyl fra 1 til 6 karbonatomer, eller forgrenet eller syklisk alkyl som har fra 3 til 6 karbonatomer;

Z er fraværende.

Y representerer en karbonyl-, tioeter-, amid-, disulfid- eller hydrazonogruppe, og

q representerer et heltall fra 1 til 20.

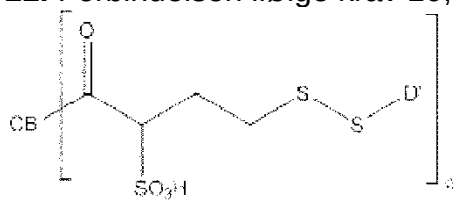
8. Forbindelsen ifølge krav 7, hvori:

1. for forbindelse av formel (IV), én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er SO_3^- eller X-SO_3^- ; og Y' er en maleimidohalvdel eller en N-hydroksysukkinimidester; eller
2. for forbindelse av formel (IV), Y' er disulfid, en maleimido-, en
3. for forbindelse av formel (IV), én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er SO_3^- eller X-SO_3^- ; og Y' er en N-hydroksysukkinimidester; eller
4. for forbindelse av formel (III), én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er SO_3^- eller X-SO_3^- ; Q er en disulfid-, maleimid- eller haloacetylandel, og Y er tioeter, amid eller
5. for forbindelse av formel (III), én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er SO_3^- eller X-SO_3^- ; Q er en pyridylditio- eller nitropyridylditio-gruppe, og Y er tioeter, amid eller disulfid.

9. Forbindelsen ifølge krav 6, hvori legemidlet velges fra maytansinoider, CC-1065-analoger, morfolino-doksorubicin, taksaner, kalikeamiciner, auristatiner, pyrrolbenzodiazepin dimer, siRNA eller kombinasjoner derav, og farmasøytisk akseptable salter, syrer eller derivater av hvilket som helst av de ovennevnte.

10. Forbindelsen ifølge krav 6, hvori én av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_9 og R_{10} er SO_3^- eller X-SO_3^- og legemidlet er en maytansinoid, CC-1065-analog eller en pyrrolbenzodiazepindimer lenket via en disulfid-, tioester- eller tioeterbinding.

11. Forbindelsen ifølge krav 10, hvori forbindelsen representeres av følgende formel:



hvor $\text{D}'\text{-S-S}$ representerer legemiddelet lenket til cellebindingsmidlet av en disulfidbinding.

12. Forbindelsen ifølge krav 11, hvori legemidlet er en maytansinoid.

13. Forbindelsen ifølge hvilket som helst av krav 6 eller 9-12, hvori antistoffet, det enkelkjede antistoffet eller fragmentet binder til målceller valgt fra tumorceller, virusinfiserte celler, mikroorganismeinfiserte celler, parasittinfiserte celler, autoimmune celler, aktiverte celler, myeloidceller, aktiverte T-celler, B-celler eller melanocyter, celler som uttrykker én eller flere av IGF-IR-, CanAg-, EGFR- EphA2-reseptor, MUC1-, MUC 16-, VEGF-, TF-, EpCAM-, CD2-, CD3-, CD4-, CD5-, CD6-, CD11-, CD11a-, CD18-, CD19-, CD20-, CD22-, CD26-, CD30-, CD33-, CD37-, CD38-, CD40-, CD44-, CD56-, CD79-, CD105-, CD138-, EphA-reseptorer, EphB-reseptorer, EGFR, EGFRvIII, HER2/neu, HER3, mesotelin, krypto, $\alpha_v\beta_3$, integrin, $\alpha_v\beta_5$ integrin, $\alpha_v\beta_6$ integrin, Apo2- og C242-antigener; og celler som uttrykker insulinvekstfaktor-reseptor, epidermal vekstfaktor-reseptor eller folat-reseptor, og eventuelt hvori

tumorcellene velges fra brystkreftceller, prostatakreftceller, ovarialkreftceller, kolorektalkreftceller, magekreftceller, plateepitelkreftceller, småcellet lungekreftceller og testikkelkreftceller.

- 5 **14.** Forbindelsen ifølge hvilket som helst av krav 6 eller 9-13, hvori antistoffet, det enkelkjede antistoffet eller fragmentet velges fra gruppen bestående av:
- 10 (i) et antistoff med utbedret overflate, et enkelkjede antistoff med utbedret overflate eller et antistoff-fragment derav med utbedret overflate; eller
- (ii) et monoklonalt antistoff, et enkelkjede monoklonalt antistoff eller et monoklonalt antistoff-fragment derav; eller
- (iii) et menneskelig antistoff, humanisert antistoff eller antistoff med utbedret overflate, et humanisert enkelkjede antistoff eller et humanisert antistoff-fragment derav; eller
- 15 (iv) et kimærisk antistoff, et kimærisk antistoff-fragment; eller
- (v) et domeneantistoff eller et domeneantistoff-fragment derav.
- 20 **15.** Forbindelsen ifølge krav 14, hvori antistoffet er My9-6, B4, C242, N901, DS6, CNTO 95, B-B4, trastuzumab, bivatuzumab, sibrotuzumab, pertuzumab eller rituximab.
- 16.** Forbindelsen som har formel (II) ifølge hvilket som helst av krav 6 eller 9–15, for anvendelse i behandling av en tumor hos en pasient med behov for behandling.
- 25 **17.** Farmasøytisk forbindelse omfattende en effektiv mengde av forbindelsen som har formel (II) ifølge et hvilket som helst av krav 6 eller 9–15, et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, og en farmasøytisk akseptabel bærer, fortynner eller et hjelpestoff.