



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2307454 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/22 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2017.05.29
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.01.18
(86)	European Application Nr.	09768693.5
(86)	European Filing Date	2009.06.25
(87)	The European Application's Publication Date	2011.04.13
(30)	Priority	2008.06.25, US, 133212 P 2008.06.25, US, 75692 P 2008.06.25, US, 75697 P 2009.02.24, US, 155041 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
(73)	Proprietor	ESBATech, an Alcon Biomedical Research Unit LLC, Wagistrasse 21, 8952 Schlieren, CH-Sveits
(72)	Inventor	BORRAS, Leonardo, Bundentalstrasse 1, 8952 Schlieren, CH-Sveits URECH, David, Widmen 8, 8634 Hombrechtikon, CH-Sveits GUNDE, Tea, Ottostrasse 15, 8005 Zürich, CH-Sveits
(74)	Agent or Attorney	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	STABLE AND SOLUBLE ANTIBODIES INHIBITING VEGF
(56)	References Cited:	WO-A-2004/016740 US-A1- 2005 033 031 US-A1- 2005 048 578 US-A1- 2006 099 204 RAN SOPHIA ET AL: "Generation of new rabbit monoclonal antibody RAM-1 against human VEGF-C" PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, NEW YORK, NY, US, vol. 46, 20 April 2005 (2005-04-20), page 911, XP001539565 ISSN: 0197-016X LIANG W-C ET AL: "Cross-species vascular endothelial growth factor (VEGF)-blocking antibodies completely inhibit the growth of human tumor xenografts and measure the contribution of stromal VEGF" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM, US, vol. 281, no. 2, 13 January 2006 (2006-01-13), pages 951-961, XP002481172 ISSN: 0021-9258 [retrieved on 2005-11-07] FUH GERMAINE ET AL: "Structure-function studies of two synthetic anti-vascular endothelial growth factor Fabs and comparison with the AVASTIN (TM) Fab" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM, US, vol. 281, no. 10, 1 March 2006 (2006-03-01), pages 6625-6631, XP002472297 ISSN: 0021-9258 RADER C ET AL: "THE RABBIT ANTIBODY REPERTOIRE AS A NOVEL SOURCE FOR THE GENERATION OF THERAPEUTIC HUMAN ANTIBODIES" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM, US, vol. 275, no. 18, 5 May 2000 (2000-05-05), pages 13668-13676, XP001023515 ISSN: 0021-

9258

ZHANG YONGKE ET AL: "EPI0030, a humanized anti-VEGF rabbit monoclonal antibody, exhibits potent activity in preclinical models" PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 50, 22 April 2009 (2009-04-22), page 296, XP009123599 ISSN: 0197-016x

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. Rekombinant immunobinder som spesifikt binder human VEGF med en Kd på mindre enn 10^{-8} M, omfattende en variabel tungkjede (VH) og en variabel lett kjede (VL) som nøytraliserer human VEGF og omfatter kanin-CDRH1, -CDRH2, -CDRH3, -CDRL1, -CDRL2 og -CDRL3, som har minst 80 % likhet med en konsensussekvens av gruppen bestående henholdsvis av SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 60 og SEQ ID NO: 71.
2. Immunobinderen ifølge krav 1 som er en kimær immunobinder.
3. Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, som er humanisert.
4. Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvori:

 - a. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 15 og SEQ ID NO: 27, og hvori VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 50 og SEQ ID NO: 61;
 - b. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 15 og SEQ ID NO: 27, og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 50 og SEQ ID NO: 61;
 - c. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 28, og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 51, og SEQ ID NO: 62;
 - d. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 29, og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 52 og SEQ ID NO: 63;
 - e. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 18 og SEQ ID NO: 30, og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 53 og SEQ ID NO: 64;
 - f. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19 og SEQ ID NO: 31, og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 54 og SEQ ID NO: 65;
 - g. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 20 og SEQ ID NO: 32, og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 55 og SEQ ID NO: 66;

- h. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 21 og SEQ ID NO: 33, og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 56 og SEQ ID NO: 67;
- 5 i. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 22 og SEQ ID NO: 34, og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 57 og SEQ ID NO: 68;
- 10 j. VH-en omfatter CDR-er fra (i) gruppen bestående av SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 23 og SEQ ID NO: 35; (ii) gruppen bestående av SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 25 og SEQ ID NO: 35; (iii) gruppen bestående av SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 23 og SEQ ID NO: 35; eller (iv) gruppen bestående av SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 25 og SEQ ID NO: 35; og VL-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 58 og SEQ ID NO: 69;
- 15 k. VH-en omfatter CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 24 og SEQ ID NO: 36, og hvori VL-en omfatter (i) CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 59 og SEQ ID NO: 70; eller (ii) CDR-er fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 59 og SEQ ID NO: 70.
- 20 **5.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, omfattende en variabel regions struktursekvens til tungkjedens variable region som har minst 80 % sekvensidentitet med sekvensen til SEQ ID NO: 169.
- 6.** Immunobinderen ifølge krav 5, hvori strukturen til tungkjedens variable region er SEQ ID NO: 170 eller SEQ ID NO: 171.
- 25 **7.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, som har delesjoner på posisjon 1, 83 eller 87 til tungkjedens variable region ifølge AHo-nummereringssystemet.
- 30 **8.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, som har en substitusjon på minst én av posisjonene 2, 12, 24, 25, 46, 54, 55, 83, 84, 87, 89, 103, 105, 108 eller 144 i tungkjedens variable region ifølge AHo-nummereringssystemet.
- 35 **9.** Immunobinderen ifølge krav 8, hvori substitusjonene er valgt fra gruppen bestående av:
- i. Glutamin på posisjon 2;
- ii. Serin på posisjon 12;

- iii. Treonin på posisjon 24;
 - iv. Valin på posisjon 25;
 - v. Leucin på posisjon 46;
 - vi. Tyrosin på posisjon 54;
 - 5 vii. Isoleucin på posisjon 55;
 - viii. Alanin på posisjon 83;
 - ix. Asparagin på posisjon 84
 - x. Alanin eller leucin på posisjon 87;
 - xi. Alanin eller leucin på posisjon 89;
 - 10 xii. Serin eller treonin på posisjon 103;
 - xiii. Fenylalanin på posisjon 105;
 - xiv. Arginin på posisjon 108; og
 - xv. Serin eller treonin på posisjon 144.
- 15 **10.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, omfattende en strukturekvens til lettkjedens variable region som har minst 85 % sekvensidentitet med sekvensen til SEQ ID NO: 167.
- 20 **11.** Immunobinderen ifølge krav 10, hvori strukturen til lettkjedens variable region er SEQ ID NO: 167 eller SEQ ID NO: 168.
- 25 **12.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, som har en substitusjon i minst én av posisjonene 1, 2, eller 15 til lettkjedens variable region ifølge AHo-nummereringssystemet.
- 30 **13.** Immunobinderen ifølge krav 12, hvori substitusjonene er valgt fra gruppen bestående av:
- i. Aspartat på posisjon 1;
 - ii. Valin på posisjon 2; og
 - iii. Treonin på posisjon 15.
- 35 **14.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av kravene 5-13, omfattende:
- a. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 107 og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 72;

- b. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 109, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 73;
- 5 c. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 110, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 74;
- d. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 111, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 75;
- 10 e. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 112, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 76;
- f. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 113, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 77;
- 15 g. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 114, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 78;
- h. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 115, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 79;
- 20 i. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 116, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 80;
- 25 j. en variabel region i tungkjeden omfattende en aminosyresekvens som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 117, og en variabel region i lettkjeden som er minst 80 % lik SEQ ID NO: 81.
- 15.** Immunobinderen ifølge krav 14, som har minst 80 % identitet med SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 179 eller SEQ ID NO: 180.
- 30
- 16.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene som spesifikt binder til human og rotte-/muse-VEGF.
- 35
- 17.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene som er et antistoff, scFv, Fab eller Dab.

18. Sammensetning omfattende immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene og en farmasøytisk akseptabel bærer.

5 **19.** Sammensetningen ifølge krav 18, formulert for topisk, intramolekylær, oral, nasal, rektal eller parental administrering.

20. Isolert nukleinsyremolekyl som koder for immunobinderen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene.

10

21. Ekspresjonsvektor omfattende nukleinsyremolekylet ifølge krav 20.

22. Vertscelle omfattende ekspresjonsvektoren ifølge krav 21.

15

23. Anvendelse av immunobinderen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-18 i fremstilling av et medikament for behandling eller forebygging av en human VEGF-mediert sykdom.

20

24. Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-18 for anvendelse i behandling eller forebygging av en human VEGF-mediert sykdom.

25

25. Anvendelse ifølge krav 23 eller immunobinderen for anvendelse ifølge krav 24, hvori den VEGF-medierte sykdommen er valgt fra gruppen bestående av aldersrelatert makuladegenerering, neovaskulært glaukom, diabetisk retinopati, prematurretinopati, retrolental fibroplasi, brystkarsinomer, lungekarsinomer, gastriske karsinomer, spiserørskarsinomer, kolorektale karsinomer, leverkarsinomer, eggstokkarsinomer, koma, arrhenoblastomer, livmorshalskarsinomer, endometrialt karsinom, endometrial hyperplasi, endometriose, fibrosarkomer, koriokarsinom, hode- og nakkekraft, nasofaryngealt karsinom, laryngeale karsinomer, hepatoblastom, Kaposi sarkom, melanom, hudkarsinomer, hemangiom, kavernøst hemangiom, hemangioblastom, pankraskarsinomer, retinoblastom, astrocytom, glioblastom, Schwannom, oligodendrogliom, medulloblastom, nevroblastomer, rabdomyosarkom, osteogent sarkom, leiomyosarkomer, urinveiskarsinomer, skjoldbruskkjertelkarsinomer, Wilms tumor, nyrecellekarsinom, prostatakarsinom, abnormal vaskulær proliferasjon assosiert med fakomatoser,

35

ødem (slik som assosiert med hjernetumor), Meigs syndrom, revmatoid artritt, psoriasis og aterosklerose.

5 **26.** Hybridom som produserer et antistoff omfattende en hvilken som helst av aminosyresekvensene angitt i SEQ ID NO: 60-166 og i SEQ ID NO: 175-180.

10 **27.** Immunobinderen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-18 i en farmasøytisk akseptabel doseringsform for topiske, intramolekylære, intramuskulære, intraperitoneale, intracerebrospinale, subkutane, intraartikulære, intrasynoviale, intratekale, orale administreringsveier eller ved inhalasjon.

15 **28.** Immunobinderen ifølge krav 4, hvori VH-en omfatter CDRH1-, CDRH2- og CDRH3-sekvenser til henholdsvis SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 20 og SEQ ID NO: 32, og VL-en omfatter CDRL1-, CDRL2-, og CDRL3-sekvenser til henholdsvis SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 55 og SEQ ID NO: 66.

20 **29.** Immunobinderen ifølge krav 28, hvori den variable regionen i tungkjeden omfatter aminosyresekvensen til SEQ ID NO: 164, og den variable regionen i lettkjeden omfatter aminosyresekvensen til SEQ ID NO: 87.

25 **30.** Antigenbindende fragment av immunobinderen ifølge krav 28 eller 29, hvori fragmentet er en scFv eller en Fab, a F(ab')₂ eller en Fab'.

30 **31.** Det antigenbindende fragmentet ifølge krav 30, hvori fragmentet er en scFv, og hvori den variable regionen i tungkjeden og den variable regionen i lettkjeden er bundet av sekvensen til SEQ ID NO: 181.

35 **32.** Farmasøytisk sammensetning omfattende immunobinderen ifølge hvilke som helst av kravene 4, 28 eller 29 eller det antigenbindende fragmentet ifølge hvilke som helst av kravene 30-31 og en farmasøytisk akseptabel bærer.

40 **33.** Anvendelse av immunobinderen ifølge et hvilket som helst av kravene 28-29, det antigenbindende fragmentet ifølge et hvilket som helst av kravene 30-31 eller den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 32 i fremstilling av et medikament for behandling av en human VEGF-mediert sykdom.

34. Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 32 for anvendelse i behandling av en human VEGF-mediert sykdom.

35. Den farmasøytiske sammensetningen for anvendelse ifølge krav 34, hvori den VEGF-medierte sykdommen er valgt fra gruppen bestående av aldersrelatert makuladegenerering, neovaskulær glaukom, diabetisk retinopati, prematuritetsretinopati, retrolental fibroplasi, brystkarsinomer, lungekarsinomer, gastriske karsinomer, øsofageale karsinomer, kolorektale karsinomer, leverkarsinomer, eggstokkarsinomer, koma, arrhenoblastomer, cervikale karsinomer, endometrialt karsinom, endometrial hyperplasi, endometriose, fibrosarkomer, koriokarsinom, hode- og nakkekraft, nasofaryngealt karsinom, strupekarsinomer, hepatoblastom, Kaposi sarkom, melanom, hudkarsinom, hemangiom, kavernøst hemangiom, hemangioblastom, pankreaskarsinomer, retinoblastom, astrocytom, glioblastom, Schwannom, oligodendrogliom, medulloblastom, neuroblastomer, rabdomyosarkom, osteogent sarkom, leiomyosarkomer, utinveiskarsinomer, skjoldbruskkjertelkarsinomer, Wilms tumor, renalcellekarsinom, prostatakarsinom, abnormal vaskulær proliferasjon assosiert med fakomatoser, ødem (slik som assosiert med hjernetumorer), Meigs syndrom, revmatoid artritt, psoriasis og aterosklerose.

36. Bispesifikt molekyl omfattende immunobinderen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-18 eller 27-29 eller det antigenbindende fragmentet ifølge et hvilket som helst av kravene 30-31.

37. Multispesifikt molekyl omfattende immunobinderen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-18 eller 27-29 eller det antigenbindende fragmentet ifølge et hvilket som helst av kravene 30-31.