



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2654794 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 47/54 (2017.01)
A61K 47/60 (2017.01)
A61P 7/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.07.20
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.03.04
(86)	European Application Nr.	11806103.5
(86)	European Filing Date	2011.12.16
(87)	The European Application's Publication Date	2013.10.30
(30)	Priority	2010.12.22, US, 201061426356 P
(84)	Designated Contracting States:	AL ; 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 ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Baxalta GmbH, Thurgauerstrasse 130, 8152 Glattpark (Opfikon), Sveits Baxalta Incorporated, 1200 Lakeside Drive, Bannockburn, IL 60015, USA
(72)	Inventor	SIEKMANN, Juergen, Gerasdorfer Strabe 153/209, A-1210 Vienna, Østerrike SCHEINECKER, Richard, Währinger Strabe 133/16, A-1180 Vienna, Østerrike ROTTENSTEINER, Hanspeter, Haidgasse 10/17, A-1020 Vienna, Østerrike TURECEK, Peter, WeidlingHauptstrasse 59g, A-3400 Klosterneuburg, Østerrike
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

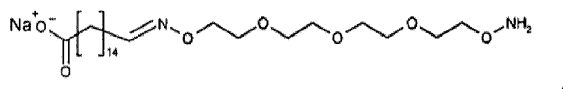
(54)	Title	MATERIALS AND METHODS FOR CONJUGATING A WATER SOLUBLE FATTY ACID DERIVATIVE TO A PROTEIN
(56)	References Cited:	WO-A2-2005/117984 WO-A1-2006/084319 WO-A1-2011/101277 WO-A2-2008/025856 US-A1- 2003 069 170 EKRAMI H M ET AL: "Water-soluble fatty acid derivatives as acylating agents for reversible lipidization of polypeptides", FEBS LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 371, 11 September 1995 (1995-09-11), pages 283-286, XP002244694, ISSN: 0014-5793, DOI: 10.1016/0014-5793(95)00910-2

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

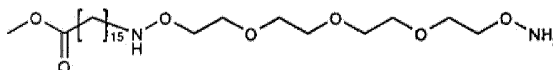
1. Konjugat av et vannløselig fettsyrederivat og et terapeutisk protein, hvor det vannløselige fettsyrederivatet omfatter en fettsyre eller fettsyreester festet til en vannløselig linker, og hvor det vannløselige fettsyrederivatet er stabilt festet til det terapeutiske proteinet ved en oksimkobling fremstilt mellom en aminooksygruppe på den vannløselige linkeren og en aldehydgruppe av et oksidert karbohydrat på det terapeutiske proteinet.
2. Konjugat ifølge krav 1 som binder humant serumalbumin (HSA) in vitro eller in vivo, har økt halveringstid i forhold til et nativt terapeutisk protein, og hvor fettsyren er en mettet fettsyre eller umettet fettsyre.
3. Konjugat ifølge krav 2, hvor fettsyren er en forgrenet fettsyre.
4. Konjugat ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvor fettsyren omfatter en kjedelengde valgt fra gruppen bestående av C10, C12, C14, C16, C18, C20, C22, og C24.
5. Konjugat ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvor fettsyren er festet til den vannløselige linkeren ved en gruppe på fettsyren valgt fra gruppen bestående av: terminal karboksylgruppe og ω -gruppe, hvor ω -gruppen er valgt fra gruppen bestående av: hydroksyl, amino, tio, og karboksyl.
6. Konjugat ifølge krav 1 eller krav 2, hvor fettsyren er 16-hydroksyheksadekansyre eller fettsyreesteren er 16-hydroksyheksadekansyremetylester.
7. Konjugat ifølge krav 1 eller krav 2, hvor fettsyreesteren er metylester eller etylester.
8. Konjugat ifølge et hvilket som helst av kravene 1-7, hvor den vannløselige linkeren omfatter en vannløselig polymer og minst en aminooksygruppe festet til det terapeutiske proteinet.
9. Konjugat ifølge krav 1 eller krav 2, hvor det vannløselige fettsyrederivatet er
 - a) 16-(2-(2-(2-(2-aminooksyetoksy)-etoksy)-etoksy)-etoksyimino)-heksadekansyrenatriumsalt med formelen:

2



eller

b) 16-(2-(2-(2-(2-aminooksyetoksy)-etoksy)-etoksy)-etoksyamino)-heksadekansyremetylester,



5

10. Fremgangsmåte for å fremstille et konjugert terapeutisk protein omfattende å bringe en oksidert karbohydratenhet i kontakt med det terapeutiske proteinet med det vannløselige fettsyrederivatet ifølge krav 1 under betingelser som tillater konjugering; nevnte karbohydratenhet oksideres ved inkubering med en buffer omfattende et oksidasjonsmiddel valgt fra gruppen bestående av natriumperiodat (NaIO_4), blytetraacetat ($\text{Pb}(\text{OAc})_4$) og kalumperrutenat (KRuO_4); hvor en oksimkobling blir fremstilt mellom den oksiderte karbohydratenheten og en aktiv aminooksygruppe på fettsyrederivatet; og hvor nevnte oksimbindingsfremstilling er katalysert av en nukleofil katalysator valgt fra gruppen bestående av anilin, o-aminobenzosyre, m-aminobenzosyre, p-aminobenzosyre, sulfanilinsyre, o-aminobenzamid, o-toluidin, m-toluidin, p-toluidin, o-anisidin, m-anisidin, og p-anisidin.

11. Fremgangsmåte for å fremstille et konjugert terapeutisk protein ifølge krav 10, videre omfattende en fremgangsmåte for å fremstille det vannløselige fettsyrederivatet ifølge krav 1, omfattende:

- a) å oksidere en ω -hydroksygruppe på en fettsyre for å generere en aldehydgruppe på fettsyren; og
- b) å koble en vannløselig linker omfattende en aktiv aminooksygruppe til aldehydgruppen for å fremstille en stabil oksimkobling;

hvor nevnte fettsyrederivat er vannløselig; hvor ω -hydroksygruppen blir oksidert av en oksidasjonsreagens valgt fra gruppen bestående av: Dess Martin periodinanreagens, Tempo-reagens, oksalyklorid/DMSO, tetrapropylammonumperrutenat (TPAP) og krom VI-reagenser (Collinsreagens, pyridiniumklorokromat (PCC) og pyridiniumdikromat); hvor fettsyren er en mettet fettsyre eller umettet fettsyre.

12. Fremgangsmåte for å fremstille et konjugert terapeutisk protein ifølge krav 10, videre omfattende en fremgangsmåte for å fremstille det vannløselige fettsyrederivatet ifølge krav 1, omfattende:

a) å forestre en karboksylgruppe på en fettsyre for å generere en ester på fettsyren;

b) å aktivere en ω -hydroksygruppe på en fettsyre for å generere en mesylgruppe på fettsyren fra trinn a); og

5 c) å koble en vannløselig linker omfattende en aktiv aminooksygruppe ved å substituere mesylgruppen fra trinn b) og derved fremstille en stabil oksyimin-metylenbinding;

hvor nevnte fettsyrederivat er vannløselig; hvor karboksylgruppen er forestret med et forestringsmiddel valgt fra gruppen bestående av: acetylklorid, metanol i nærvær av
10 syre, etanol i nærvær av syre, diazometan, og metyljodid; hvor ω -hydroksygruppen blir aktivert av et aktiveringsmiddel valgt fra gruppen bestående av: mesylklorid, tosylklorid og nosylklorid; og hvor fettsyren er en mettet fettsyre eller umettet fettsyre.

15 13. Fremgangsmåte ifølge krav 11 eller krav 12, hvor fettsyren er en forgrenet fettsyre.

14. Fremgangsmåte ifølge krav 11 eller krav 12, hvor fettsyren omfatter en kjedelengde valgt fra gruppen bestående av C10, C12, C14, C16, C18, C20, C22, og C24,
20 eventuelt hvor fettsyren er 16-hydroksyheksadekansyre.

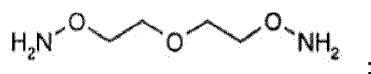
15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 11 til 14, hvor den vannløselige linker omfatter en vannløselig polymer og minst en aminooksygruppe.

25 16. Konjugat ifølge krav 8 eller fremgangsmåte ifølge krav 15, hvor den vannløselige polymeren er valgt fra gruppen bestående av:
polyetylenglykol (PEG), forgrenet PEG, polysialsyre (PSA), hydroksyalkylstivelse (HAS), hydroksyetylstivelse (HES), karbohydrat, polysakkarider, pullulan, kitosan, hyaluronsyre, kondroitinsulfat, dermatansulfat, stivelse, dekstran,
30 karboksymetyldekstran, polyalkylenoksid (PAO), polyalkylenglykol (PAG), polypropylenglykol (PPG), polyoksazolin, polyakryloylmorfolin, polyvinylalkohol (PVA), polykarboksylat, polyvinylpyrrolidon, polyfosfazen, polyetylen-co-maleinsyreanhydrid, polystyren-co-maleinsyreanhydrid, og
poly(1-hydroksymetyletylenhydroksymetylformal) (PHF).

17. Konjugat eller fremgangsmåte ifølge krav 16, hvor den vannløselige polymeren er PEG og omfatter en kjedelengde valgt fra gruppen bestående av O3, O5, O7, O9, O11, O13 og O15.

18. Konjugat eller fremgangsmåte ifølge krav 17, hvor den vannløselige linkerens er valgt fra gruppen bestående av:

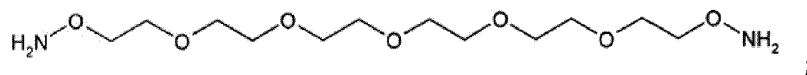
a) 3-oksapentan-1,5-dioksyamin med formelen:



b) 3,6,9-triaoksaundekan-1,11-dioksyamin med formelen:



c) 3,6,9,12,15-pentaoksaheptadekan-1,17-dioksyamin med formelen:



og

d) 3,6,9,12,15,18,21-heptaoksatrikosan-1,23-dioksyamin med formelen:



19. Konjugat ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9 og 16-18 eller fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 10 og 16-18, hvor det terapeutiske proteinet er valgt fra gruppen bestående av: Faktor IX (FIX), Faktor VIII (FVIII), Faktor VIIa (FVIIa), von Willebrand-faktor (VWF), Faktor V (FV), Faktor X (FX), Faktor XI (FXI), Faktor XII (FXII), trombin (FII), protein C, protein S, tPA, PAI-1, vevsfaktor (TF), ADAMTS 13-protease, IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-11, kolonistimulerende faktor-1 (CSF-1), M-CSF, SCF, GM-CSF, granulocyttkolonistimulerende faktor (G-CSF), EPO, interferon-alfa (IFN-alfa), konsensusinterferon, IFN-beta, IFN- gamma, IFN-omega, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-31, IL-32 alfa, IL-33, trombopoietin (TPO), Ang-1, Ang-2, Ang-4, Ang-Y, angiopoietinlignende polypeptid 1 (ANGPTL1), angiopoietinlignende polypeptid 2 (ANGPTL2), angiopoietinlignende polypeptid 3 (ANGPTL3), angiopoietinlignende polypeptid 4 (ANGPTL4), angiopoietinlignende polypeptid 5 (ANGPTL5), angiopoietinlignende polypeptid 6 (ANGPTL6), angiopoietinlignende polypeptid 7 (ANGPTL7), vitronektin, vaskulær endotelial vekstfaktor (VEGF), angiogenin, aktivin A, aktivin B, aktivin C, benmorfogent protein-1, benmorfogent protein-2, benmorfogent protein-3, benmorfogent protein-4, benmorfogent protein-5, benmorfogent protein-6,

benmorfogent protein-7, benmorfogent protein-8, benmorfogent protein-9, benmorfogent protein-10, benmorfogent protein-11, benmorfogent protein-12, benmorfogent protein-13, benmorfogent protein-14, benmorfogent protein-15, benmorfogen proteinreseptor IA, benmorfogen proteinreseptor IB, benmorfogen proteinreseptor II, hjerneavledet nevrotrofisk faktor, kardiotrofin-1, ciliær nevrotrofisk faktor, ciliær nevrotrofisk faktorreseptor, krypto, kryptisk, cytokinindusert nøytrofil kjemotaktisk faktor 1, cytokinindusert nøytrofil kjemotaktisk faktor 2 α , cytokinindusert nøytrofil kjemotaktisk faktor 2 β , β -endotelcellevekstfaktor, endotelin 1, epidermal vekstfaktor, epigen, epiregulin, epitelialavledet nøytrofilattraktant,

fibroblastvekstfaktor 4, fibroblastvekstfaktor 5, fibroblastvekstfaktor 6, fibroblastvekstfaktor 7, fibroblastvekstfaktor 8, fibroblastvekstfaktor 8b, fibroblastvekstfaktor 8c, fibroblastvekstfaktor 9, fibroblastvekstfaktor 10, fibroblastvekstfaktor 11, fibroblastvekstfaktor 12, fibroblastvekstfaktor 13, fibroblastvekstfaktor 16, fibroblastvekstfaktor 17, fibroblastvekstfaktor 19,

fibroblastvekstfaktor 20, fibroblastvekstfaktor 21, fibroblastvekstfaktorsyrlig, fibroblastvekstfaktorbasisk, gliacellelinjeavledet nevrotrofisk faktorreseptor α 1, gliacellelinjeavledet nevrotrofisk faktorreseptor α 2, vekstrelatert protein, vekstrelatert protein α , vekstrelatert protein β , vekstrelatert protein γ , heparinbindende epidermal vekstfaktor, hepatocyttevekstfaktor, hepatocyttevekstfaktorreseptor, hepatomavledet vekstfaktor, insulinlignende vekstfaktor I, insulinlignende vekstfaktorreseptor, insulinlignende vekstfaktor II, insulinlignende vekstfaktorbindende protein, keratinocyttevekstfaktor, leukemiinhiberende faktor, leukemiinhiberende faktorreseptor α , nervevekstfaktor, nervevekstfaktorreseptor, nevropoietin, nevrotrofin-3, nevrotrofin-4, onkostatin M (OSM), placentavekstfaktor, placentavekstfaktor 2,

blodplateavledet endotelcellevekstfaktor, blodplateavledet vekstfaktor, blodplateavledet vekstfaktor A-kjede, blodplateavledet vekstfaktor AA, blodplateavledet vekstfaktor AB, blodplateavledet vekstfaktor B-kjede, blodplateavledet vekstfaktor BB, blodplateavledet vekstfaktorreseptor α , blodplateavledet vekstfaktorreseptor β , pre-B-cellevekststimulerende faktor,

stamcellefaktor (SCF), stamcellefaktorreseptor, TNF, TNF0, TNF1, TNF2, transformerende vekstfaktor α , transformerende vekstfaktor β , transformerende vekstfaktor β 1, transformerende vekstfaktor β 1.2, transformerende vekstfaktor β 2, transformerende vekstfaktor β 3, transformerende vekstfaktor β 5, latent transformerende vekstfaktor β 1, transformerende vekstfaktor β -bindende protein I, transformerende vekstfaktor β -bindende protein II, transformerende vekstfaktor β -bindende protein III, tymisk stromalymfopoietin (TSLP), tumornekrosefaktorreseptor type I, tumornekrosefaktorreseptortype II, urokinasetype

plasminogenaktivatorreseptor, fosfolipaseaktiverende protein (PUP), insulin, lektin, ricin, prolaktin, korionisk gonadotropin, follikkelstimulerende hormon, skjoldbruskstimulerende hormon, vevsplasminogenaktivator, IgG, IgE, IgM, IgA, og IgD, α -galaktosidase, β -galaktosidase, DNase, fetuin, luteiniserende hormon, østrogen, 5 albumin, lipoproteiner, fetoprotein, transferrin, trombopoietin, urokinase, integrin, trombin, leptin, Humira (adalimumab), Prolia (denosumab), Enbrel (etanercept), et protein i tabell 1, eller et biologisk aktivt fragment, derivat eller variant derav.