



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2707031 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

A61K 39/395 (2006.01) A61K 47/65 (2017.01) C07K 16/28 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01) A61K 47/68 (2017.01) C07K 16/32 (2006.01)
A61K 47/54 (2017.01) A61K 48/00 (2006.01) C12Q 1/48 (2006.01)
A61K 47/55 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.11.04
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.06.26
(86)	European Application Nr.	12782658.4
(86)	European Filing Date	2012.05.08
(87)	The European Application's Publication Date	2014.03.19
(30)	Priority	2011.05.08, US, 201161483698 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	LegoChem Biosciences, Inc., 8-26, Munpyeongseo-ro Daedeok-gu, Daejeon 34302, Sør-Korea
(72)	Inventor	KIM, Yongzu, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea PARK, Taekyo, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea WOO, Sunggho, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea LEE, Hyangsook, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea KIM, Youngun, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea CHO, Jongun, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea JUNG, Doohwan, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea KIM, Sunyoung, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea KWON, Hyunjin, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea OH, Kyuman, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea CHUNG, Yunseo, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea PARK, Yun-hee, Daejeon Bioventure Town 3F 461-8 Jeonmin-dong Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Sør-Korea

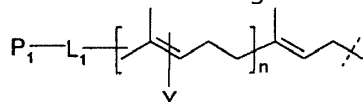
(74) Agent or Attorney ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	PROTEIN-ACTIVE AGENT CONJUGATES AND METHOD FOR PREPARING THE SAME
(56)	References Cited:	US-A1- 2003 017 149, US-A- 6 011 175, WO-A2-2007/048127, US-A1- 2010 063 114, US-A1- 2009 081 210 KOLB H C ET AL: "The growing impact of click chemistry on drug discovery", DRUG DISCOVERY TODAY, ELSEVIER, RAHWAY, NJ, US, vol. 8, no. 24, 15 December 2003 (2003-12-15), pages 1128-1137, XP002377521, ISSN: 1359-6446, DOI: 10.1016/S1359-6446(03)02933-7 RABUKA ET AL: "Chemoenzymatic methods for site-specific protein modification", CURRENT OPINION IN CHEMICAL BIOLOGY, CURRENT BIOLOGY LTD, LONDON, GB, vol. 14, no. 6, 1 December 2010 (2010-12-01), pages 790-796, XP027545767, ISSN: 1367-5931 [retrieved on 2010-12-01] JAIN S ET AL: "Structure of human beta-glucuronidase reveals candidate lysosomal targeting and active-site motifs", NATURE STRUCTURAL BIOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 3, no. 4, 1 April 1996 (1996-04-01), pages 375-381, XP002692743, ISSN: 1072-8368 Daniel Thorek ET AL: "Comparative analysis of nanoparticle-antibody conjugations: carbodiimide versus click chemistry", Molecular imaging, 1 July 2009 (2009-07-01), pages 221-229, XP055169547, United States DOI: 10.2310/7290.2009.00021 Retrieved from the Internet: URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19728976 [retrieved on 2015-02-13] L. P. WRIGHT: "Thematic review series: Lipid Posttranslational Modifications. CAAX modification and membrane targeting of Ras", THE JOURNAL OF LIPID RESEARCH, vol. 47, no. 5, 11 February 2006 (2006-02-11), pages 883-891, XP055169119, ISSN: 0022-2275, DOI: 10.1194/jlr.R600004-JLR200 SANGPEN CHAMNONGPOL: "SH3 Domain Protein-Binding Arrays", 1 January 2004 (2004-01-01), METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY,, PAGE(S) 183 - 189, XP009190767, ISBN: 978-1-58829-255-1 JAMES W. WOLLACK ET AL: "A Minimalist Substrate for Enzymatic Peptide and Protein Conjugation", CHEMBIOCHEM, vol. 10, no. 18, 14 December 2009 (2009-12-14), pages 2934-2943, XP055169113, ISSN: 1439-4227, DOI: 10.1002/cbic.200900566 Benjamin P. Duckworth ET AL: "Site-Specific, Covalent Attachment of Proteins to a Solid Surface", Bioconjugate Chemistry, vol. 17, no. 4, 1 July 2006 (2006-07-01), pages 967-974, XP055440415, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/bc060125e REISS Y ET AL: "SEQUENCE REQUIREMENT FOR PEPTIDE RECOGNITION BY RAT BRAIN P21RAS PROTEIN FARNESYLTRANSFERASE", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 88, no. 3, 1 February 1991 (1991-02-01), pages 732-736, XP000652098, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.88.3.732 DAVID A LEVARY ET AL: "Protein-Protein Fusion Catalyzed by Sortase A", PLOS ONE, PUBLIC LIBRARY OF SCIENCE, US , vol. 6, no. 4 1 April 2011 (2011-04-01), pages e18342.1-e18342.6, XP002686608, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0018342 Retrieved from the Internet: URL:http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0018342 [retrieved on 2011-04-06]

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 antistoff og aktivt middel, hvori antistoffet har et aminosyremotiv som kan gjenkjennes av en isoprenoidtransferase, hvori det aktive middelet er kovalent bundet til antistoffet ved aminosyremotivet, hvori aminosyremotivet er CAAX, XXCC, XCXC eller CXX, hvori C representerer cystein, A representerer en alifatisk aminosyre, og X representerer en aminosyre som bestemmer en substratspesifisitet til isoprenoidtransferasen; og hvori aminosyremotivet er kovalent bundet til det aktive middelet via minst én linker, hvori den minst ene linkeren er et isoprenylderivat som kan gjenkjennes av isoprenoidtransferasen, hvorved linkeren er angitt ved formelen (I):



(I)

hvori

P₁ og Y hver for seg er en gruppe inneholdende en første funksjonell gruppe (FG1), der FG1 er valgt fra gruppen bestående av: acetylen, azid, aldehyd, hydroksylamin, hydrazin, keton, nitrobenzofurazan (NBD), dansyl, fluorescein, biotin og rodamin,

L₁ er (CH₂)_rX_q(CH₂)_p,

X er oksygen, svovel, -NR₁-, -C(O)NR₁-, -NR₁C(O)-, -NR₁SO₂-, -SO₂NR₁-, - (CH=CH)- eller acetylen,

R₁ er hydrogen, C₁₋₆-alkyl, C₁₋₆-alkylaryl eller C₁₋₆-alkylheteroaryl,

r og p er hver for seg et heltall på 0 til 6,

q er et heltall på 0 til 1, og

n er et heltall på 1 til 4,

hvori det aktive middelet er festet til en gruppe inneholdende en andre funksjonell gruppe (FG2) som kan reageres med FG1, hvori FG2 er valgt fra gruppen bestående av: acetylen, hydroksylamin, azid, aldehyd, hydrazin, ketone, og hvori det aktive middelet er festet til gruppen inneholdende en FG2 via - (CH₂)_rX_q(CH₂)_p- eller [ZCH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_wCH₂CH₂Z]-, i hvilken

X er oksygen, svovel, -NR₁-, -C(O)NR₁-, -NR₁C(O)-, -NR₁SO₂ eller -SO₂NR₁-,

Z er oksygen, svovel eller NR₁,

R₁ er hydrogen, C₁₋₆-alkyl, C₁₋₆-alkylaryl eller C₁₋₆-alkylheteroaryl,

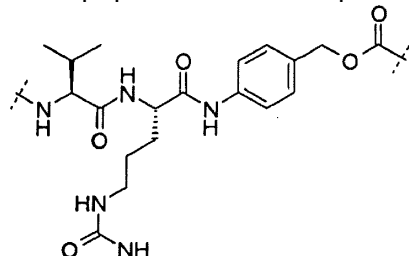
r og p er hver for seg et heltall på 0 til 6,

q er et heltall på 0 til 1, og

w er et heltall på 0 til 6,

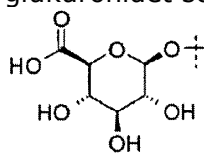
hvor $-(CH_2)_rX_q(CH_2)_p-$ eller $-[ZCH_2CH_2O(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Z]-$ er festet til (i) et peptid(s) som kan spaltes av katepsin B eller (ii) et glukuronid som kan spaltes av β -glukuronidase,

hvor peptidet som kan spaltes av katepsin B, er



og

glukuronidet som kan spaltes av β -glukuronidase, er



og hvor antistoffet er et monoklonalt antistoff, et målbindende antistoffragment, en enkeltkjedet Fv- (scFv-) mutant, et multispesifikt antistoff, et bispesifikt antistoff generert fra minst to intakte antistoffer, et kimært antistoff, et humanisert antistoff eller et humant antistoff eller et fusjonsprotein omfattende et målbindende antistoffragment.

2. Konjugatet av antistoff og aktivt middel ifølge krav 1, hvor det aktive middelet er et legemiddel, et toksin, en affinitetsligand, en detekteringsprobe, en immunomodulatorisk forbindelse, et antikreftmiddel, et antiviralt middel, et antibakterielt middel, et antisoppmiddel eller et antiparasittmiddel.

3. Konjugatet av antistoff og aktivt middel ifølge krav 1 eller 2 for anvendelse i terapi hos et individ.

4. Konjugatet av antistoff og aktivt middel ifølge krav 3, hvor individet har kreft.

5. Konjugatet av antistoff og aktivt middel ifølge krav 3, hvor individet har en infeksjon med et patogen middel.

6. Konjugatet av antistoff og aktivt middel ifølge krav 5, hvor det patogene middelet er et virus, en bakterie, en sopp eller en parasitt.

7. Fremgangsmåte for å fremstille konjugatet av antistoff og aktivt middel ifølge krav 1 eller 2, der fremgangsmåten omfatter:

(a) å uttrykke et antistoff festet til et aminosyremotiv som kan gjenkjennes av en isoprenoidtransferase;

5 (b) enzymatisk å reagere, ved å anvende isoprenoidtransferasen, det uttrykte antistoffet med minst ett isosubstrat som har en første funksjonell gruppe (FG1), og derved frembringe et funksjonalisert antistoff;

(c) å feste en andre funksjonell gruppe (FG2) til et aktivt middel og derved frembringe et funksjonalisert aktivt middel; og

10 (d) å reagere det funksjonaliserte antistoffet med det funksjonaliserte aktive middelet og derved frembringe konjugatet av antistoff og aktivt middel, eller

(a) å uttrykke et antistoff festet til et aminosyremotiv som kan gjenkjennes av en isoprenoidtransferase;

15 (b) å feste et isosubstrat av isoprenoidtransferasen til et aktivt middel; og

(c) enzymatisk å reagere, ved å anvende isoprenoidtransferasen, det uttrykte antistoffet med det aktive middelet festet til isosubstratet.

8. Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvori fremgangsmåten omfatter:

20 (a) å uttrykke et antistoff festet til et aminosyremotiv som kan gjenkjennes av en isoprenoidtransferase;

(b) enzymatisk å reagere, ved å anvende isoprenoidtransferasen, det uttrykte antistoffet med minst ett isosubstrat som har en første funksjonell gruppe (FG1), og derved frembringe et funksjonalisert antistoff;

25 (c) å feste en andre funksjonell gruppe (FG2) til et aktivt middel og derved frembringe et funksjonalisert aktivt middel; og

(d) å reagere det funksjonaliserte antistoffet med det funksjonaliserte aktive middelet og derved frembringe konjugatet av antistoff og aktivt middel.

30 **9.** Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvori fremgangsmåten omfatter:

(a) å uttrykke et antistoff festet til et aminosyremotiv som kan gjenkjennes av en isoprenoidtransferase;

(b) å feste et isosubstrat av isoprenoidtransferasen til et aktivt middel; og,

35 (c) enzymatisk å reagere, ved å anvende isoprenoidtransferasen, det uttrykte antistoffet med det aktive middelet festet til isosubstratet.

10. Fremgangsmåten ifølge krav 7 eller 8, hvori FG2 er:

- (a) festet til det aktive middelet av den minst ene linkeren, og
- (b) FG2 er valgt fra: acetylen, hydroksylamin, azid, aldehyd, hydrazin, ketone og amin.

5 **11.** Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 7-10, hvori reaksjonen mellom det funksjonaliserte antistoffet og det funksjonaliserte aktive middelet er en kjemisk klikkreaksjon eller en hydrazon- og/eller oksimdannelse.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvori

- 10 (i) FG1 er en azidgruppe, og FG2 er en acetylengruppe, eller hvori FG1 er en acetylengruppe, og FG2 er en azidgruppe; eller
- (ii) FG1 er en aldehyd- eller ketongruppe, og FG2 er et hydrazin, eller hydroksylamin eller hvori FG1 er hydrazin eller hydroksylamin, og FG2 er et aldehyd eller keton.

15

13. Sammensetning omfattende en farmasøytisk akseptabel eksipient og konjugatet av antistoff og aktivt middel ifølge krav 1 eller 2.