



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2714752 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C08F 4/52 (2006.01)
A61K 38/47 (2006.01)
C07K 14/65 (2006.01)
C12N 9/16 (2006.01)
C12N 9/24 (2006.01)
C12N 9/96 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.05.14
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.11.22
(86)	European Application Nr.	12793015.4
(86)	European Filing Date	2012.05.25
(87)	The European Application's Publication Date	2014.04.09
(30)	Priority	2011.05.27, US, 201161490957 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	Amicus Therapeutics, Inc., 1 Cedar Brook Drive, Cranbury, NJ 08512, US-USA
(72)	Inventor	DO, Hung, 819 Yearling Drive, New Hope, PA 18938, US-USA
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	METHODS FOR COUPLING TARGETING PEPTIDES ONTO RECOMBINANT LYSOSOMAL ENZYMES FOR IMPROVED TREATMENTS OF LYSOSOMAL STORAGE DISEASES
(56)	References Cited:	US-A1- 2001 007 755, US-A1- 2003 072 761, FERNANDEZ ET AL.: 'Distinct molecular events during secretory granule biogenesis revealed by sensitivities to brefeldin' A. MOL. BIOL. CELL. vol. 8, no. 11, November 1997, pages 2171 - 2185, XP055140307, US-A1- 2010 104 589, US- A1- 2009 203 575

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

5

1. Fremgangsmåte ved fremstilling av en målrettet peptid konjugert til et rekombinant lysosomalt enzym, hvor fremgangsmåten omfatter å:

(a)

10 i. modifisere amino (N)-terminusen og én eller flere lysinrester på et rekombinant humant lysosomalt enzym med bruk av et første tverrbindingsmiddel for å gi opphav til et første, tverrbindingsmiddelmodifisert rekombinant humant lysosomalt enzym;

15 ii. modifisere den første aminosyren til en kort ekstensjonslinker ved amino (N)-terminusen på en IGF-2-peptidvariant med bruk av et andre tverrbindingsmiddel for å gi opphav til en andre, tverrbindingsmiddelmodifisert IGF-2-peptidvariant; og

iii. konjugere det første, tverrbindingsmiddelmodifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet til den andre, tverrbindingsmiddelmodifiserte IGF-2-peptidvarianten som inneholder en kort ekstensjonslinker; eller

20 (b) konjugere et heterobifunksjonelt tverrbindingsmiddel til en IGF-2-peptidvariant; og konjugere den heterobifunksjonelle tverrbindingsmiddelmodifiserte IGF-2-peptidvarianten til et rekombinant humant lysosomalt enzym gjennom reaksjon med N-terminusen og én eller flere lysinrester på det rekombinante humane lysosomale enzymet; eller

25 (c) konjugere et heterobifunksjonelt tverrbindingsmiddel til et rekombinant humant lysosomalt enzym gjennom reaksjon med N-terminusen og én eller flere lysinrester på det rekombinante humane lysosomale enzymet; og konjugere det heterobifunksjonelle tverrbindingsmiddelmodifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet til en IGF-2-peptidvariant;

30 hvor det rekombinante humane lysosomale enzymet velges fra rekombinant human α -glukosidase (rhGAA), rekombinant human α -galaktosidase A (GLA), rekombinant human sur β -glukuronidase (GUS), rekombinant human α -iduronidase A (IduA), rekombinant human isuronidat 2-sulfatase (I2S), rekombinant human β -

heksosaminidase A (Heksa), rekombinant human β -heksosaminidase B (HexB), rekombinant human α -mannosidase A, rekombinant human β -glukocerebrosidase (GlcCerase), rekombinant human sur lipase (LPA) eller en hvilken som helst kombinasjon derav; og

5 hvor det første tverrbindingsmiddelet velges fra N- succinimidyl 6-hydrazinonikotinat-aceton (S-Hynic), sulfo-succinimidyl 6-hydrazonikotinat-aceton (sulfo-S-HyNic), C6-succinimidyl 6-hydrazino-nikotinamid (C6-S-Hynic), succinimidyl 4-hydrazidotereftalat-hydroklorid (SHTH) succinimidyl 4-hydrazinium nikotinat-hydroklorid (SHNH) eller N-hydroksysuccinimidester-(PEG)_n-hydrazid, 10 hvor n er 3-24 PEG-enheter; og det andre tverrbindingsmiddelet velges fra PEG4-pentafluorbenzen-4-formylbenzoat (PEG4-PFB), succinimidyl 4-formylbenzoat (SFB) og C6-succinimidyl 4-formylbenzoat (C6-SFB); eller

det første tverrbindingsmiddelet velges fra N-hydroksysuccinimidester-fosfin (NHS-fosfin), sulfo-N-hydroksysuccinimidester-fosfin (sulfo-NHS-fosfin), N- 15 hydroksysuccinimidester-tetraoksapentadekanacetylen (NHS-PEG4-acetylen) eller N-hydroksysuccinimidester-(PEG)_n-acetylen, hvor n er 3-24 PEG-enheter, spaltbare heterobifunksjonelle tverrbindere så som NHS-PEG3-S-S-acetylen eller heterobifunksjonelle tverrbindere inneholdende syklooktyner så som difluorsyklooktyn (DIFO) og dibenzosyklooktyn (DIBO); og det andre tverrbindingsmiddelet velges fra 20 N-hydroksysuccinimidester-PEG4-azid (HS-PEG4-azid), N-hydroksysuccinimidester-azid (NHS-azid), N-hydroksysuccinimidester-(PEG)_n azid, hvor n er 3-24 PEG-enheter, eller NHS-PEG3-S-S-azid; eller

det heterobifunksjonelle tverrbindingsmiddelet velges fra m-maleimidobenzylol-N-hydroksysuccinimidester (MBS), sulfo-m-maleimidobenzylol-N- 25 hydroksysuccinimidester (sulfo-MBS) og sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)sykloheksan-1-karboksylat (SMCC); og

hvor IGF-2-peptidvarianten omfatter én eller flere av følgende modifikasjoner med hensyn til den native humane IGF-2-sekvensen:

substitusjon av arginin for glutaminsyre i posisjon 6; 30 sletting av aminosyrer 1-4 og 6; sletting av aminosyrer 1-4, 6 og 7;

sletting av aminosyrer 1-4 og 6 og substitusjon av lysin for treonin i posisjon 7;

sletting av aminosyrer 1-4 og substitusjon av glycin for glutaminsyre i posisjon 6, og

- 5 substitusjon av lysin for treonin i posisjon 7;
 substitusjon av leucin for tyrosin i posisjon 27;
 substitusjon av leucin for valin i posisjon 43;
 substitusjon av arginin for lysin i posisjon 65;

og/eller IGF-2-peptidvarianten omfatter en affinitetsmarkør og/eller et
10 linkerekstensjonsområde på minst 5 aminosyrer foran IGF-2.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor IGF2-peptidvarianten omfatter aminosyresekvensen med SEKV. ID NR.: 2

15 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor den korte ekstensjonslinkeren omfatter 5 til 20 aminosyrerester.

4. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor ekstensjonslinkeren omfatter SEKV. ID NR.: 3.

20

5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvor to lysinrester modifiseres på det rekombinante humane lysosomale enzymet.

6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor det
25 rekombinante humane lysosomale enzymet dannes med bruk av gjær, insektceller, planteceller, sopp, transgene dyr og in vitro translasjonssystemer.

7. Konjugat, omfattende én eller flere IGF-2-peptidvarianter kjemisk konjugert til et rekombinant humant lysosomalt enzym, hvor konjugatet kan frembringes med en
30 fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5 og omfatter:

et humant lysosomalt enzym modifisert ved amino (N)-terminusen og én eller flere lysinrester gjennom konjugering til en linker; og

en IGF-2-peptidvariant omfattende en kort ekstensjonslinker ved aminotermi-
nusen; hvor den første aminosyren til den korte ekstensjonslinkeren er

5 konjugert til linkeren;

hvor det rekombinante humane lysosomale enzymet er som angitt i krav 1;

hvor IGF-2-peptidvarianten er som angitt i krav 1,

hvor linkeren er produktet av reaksjonene av første og andre

tverrbindingssmidler som angitt i krav 1 eller en heterobifunksjonell tverrbinder som

10 angitt i krav 1.

8. Konjugat ifølge krav 7 for bruk ved behandling en lysosomal lagringssykdom valgt fra Pompes sykdom, Fabrys sykdom og Gauchers sykdom, MPS I, MPS II, MPS VII, Tay Sachs, Sandhoff, α -mannosidose og Wohlmans sykdom, hvor:

15 det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er sur α -glukosidase for behandling av Pompes sykdom; eller

det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er sur α -galaktosidase A for behandling av Fabrys sykdom; eller

20 det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er sur β -glukocerebrosidase for behandling av Gauchers sykdom; eller

det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er sur α -iduronidase for behandling av mukopolysakkaridose I (MPS I); eller

det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er sur iduronidat 2-sulfatase (I2S) for behandling av mukopolysakkaridose II (MPS II); eller

25 det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er sur β -glukuronidase for behandling av mukopolysakkaridose VII (MPS VII); eller

det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er β -heksosaminidase A for behandling av GM2 gangliosidose (Tay-Sachs); eller

30 det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er β -heksosaminidase B for behandling av GM2 gangliosidose (Sandhoff); eller

det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er sur lipase for behandling av Wohlmans sykdom; eller

det modifiserte rekombinante humane lysosomale enzymet er sur α -mannosidase for behandling av α -mannosidose.

5

9. Farmasøytisk sammensetning omfattende et konjugat ifølge krav 7 og en farmasøytisk akseptabel bærer.