



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 2815762 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**A61K 39/02 (2006.01)**

**Norwegian Industrial Property Office**

---

|      |                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) | Translation Published                                                | 2017.10.09                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| (80) | Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent | 2017.05.31                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| (86) | European Application Nr.                                             | 14181075.4                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| (86) | European Filing Date                                                 | 2011.03.07                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| (87) | The European Application's Publication Date                          | 2014.12.24                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| (30) | Priority                                                             | 2010.03.09, GB, 201003922                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| (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                                                                                                                                                                                                                      |
|      | Designated Extension States:                                         | BA ME                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| (62) | Divided application                                                  | EP2544708, med inndato 2011.03.07                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (73) | Proprietor                                                           | GlaxoSmithKline Biologicals S.A., Rue de l'Institut, 89, 1330 Rixensart, BE-Belgia                                                                                                                                                                                                                                                     |
| (72) | Inventor                                                             | Biemans, Ralph Leon, GlaxoSmithKline Biologicals s.a. Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, BE-Belgia<br>Duvivier, Pierre, GlaxoSmithKline Biologicals s.a. Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, BE-Belgia<br>Gavard, Olivier Francis Nicolas, GlaxoSmithKline Biologicals s.a. Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, BE-Belgia |
| (74) | Agent or Attorney                                                    | Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge                                                                                                                                                                                                                                                                                |

---

|      |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|------|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (54) | Title             | <b>CONJUGATION PROCESS OF BACTERIAL POLYSACCHARIDES TO CARRIER PROTEINS</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| (56) | References Cited: | WO-A1-2007/000322, WO-A2-2006/082530, WO-A2-2007/071707, US-A- 4 356 170, US-A1- 2007 184 071<br>ANDERSON ET AL: "Vaccines consisting of periodate-cleaved oligosaccharides from the capsule of Haemophilus influenzae type b coupled to a protein carrier: structural and temporal requirements for priming in the human infant.", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 137, no. 4, 1 August 1986 (1986-08-01), pages 1181-1186, XP055007229, ISSN: 0022-1767<br>KIM J S ET AL: "Monitoring activation sites on polysaccharides by GC-MS", ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS INC, NEW YORK, vol. 358, no. 1, 1 November 2006 (2006-11-01), pages 136-142, XP024942320, ISSN: 0003-2697, DOI: 10.1016/J.AB.2006.08.016 [retrieved on 2006-11-01]<br>STEINHOFF M C ET AL: "A RANDOMIZED COMPARISON OF THREE BIVALENT STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE GLYCOPROTEIN CONJUGATE VACCINES IN YOUNG CHILDREN: EFFECT OF POLYSACCHARIDE SIZE AND LINKAGE CHARACTERISTICS", THE PEDIATRIC INFECTIOUS DISEASE JOURNAL, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, US, vol. 13, no. 5, 1 May 1994 (1994-05-01), pages 368-372, XP000600692, ISSN: 0891-3668, DOI: 10.1097/00006454-199405000-00007 |

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. En prosess for konjugering av et bakteriesakkarid omfattende trinnene

- 5           a) å reagere bakteriesakkaridet med 0,001-0,7 molar ekvivalenter periodat for  
å danne et aktivert bakteriesakkarid;
- b) å blande det aktiverte bakteriesakkaridet med et bærerprotein;
- c) å reagere det aktiverte bakteriesakkarid og bærerproteinet med et  
reduksjonsmiddel for å danne et konjugat;

eller

- 10           a) å reagere bakteriesakkaridet med 0,001-0,7 molar ekvivalenter periodat for  
å danne et aktivert bakteriesakkarid;
- b) å blande det aktiverte bakteriesakkaridet med en linker;
- c') å reagere det aktiverte bakteriesakkaridet med linkeren under anvendelse  
av et reduksjonsmiddel for å danne en bakteriell sakkarid-linker;
- 15           d) å reagere bakteriell sakkarid-linkeren med et bærerprotein for å danne et  
konjugat;

hvor trinn a) forekommer i en buffer som ikke inneholder en aminogruppe, og  
bufferen har en konsentrasjon mellom 1-100 mM og hvor bakteriesakkaridet er *S.*  
*pneumoniae* kapselsakkarid 23F.

- 20           2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor bufferen er valgt fra gruppen bestående av  
fosfatbuffer, boratbuffer, acetatbuffer, karbonatbuffer og citratbuffer eventuelt hvor  
bufferen har en konsentrasjon mellom 1-50 mM, 1-25 mM, 1-10 mM, 5 -15mM, 8-  
12mM, eller 10-50mM eller rundt 10 mM.

- 25           3. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-2 hvor pH i trinn a) er pH  
3,5-8,0 5,0-7,0, eller pH 5,5-6,5 eller rundt pH 6,0.

- 30           4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvor gjennomsnittlig  
molekylvekt av bakteriesakkaridet er mellom 1-1100 kDa, 100-470 kDa, 200-300  
kDa, 600-1100 kDa eller 800-1000 kDa etter trinn a).

5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvor gjennomsnittlig  
molekylvekt av 23F-sakkaridet er mellom 100-470 kDa eller 200-300 kDa etter trinn

a).

6. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-5 hvor bærerproteinet er valgt fra gruppen bestående av tetanustoksoid, fragment C av tetanustoksoid,  
5 differitoksoid, CRM197, Pneumolysin, protein D, PhtD, PhtDE og N19.

7. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-6, hvor reduksjonsmidlet omfatter natriumcyanoborhydrid eller natriumtriacetoksyborhydrid.

10 8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-7 omfattende et ytterligere trinn e) for å rense konjugatet.

9. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, som inneholder et ytterligere trinn for å blande konjugatet med ytterligere antigener, eventuelt hvor de  
15 ytterligere antigenene omfatter minst 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 eller 20 *S.pneumoniae* sakkarider valgt fra gruppen bestående av 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F og 33F.

10. Fremgangsmåte ifølge krav 9, hvor de ytterligere antigenene omfatter en eller  
20 flere *S.pneumoniae* proteiner valgt fra gruppen bestående av Poly Histidine Triad-familien (PhtX), Cholin Binding Protein-familien (CbpX), CbpX-trunkater, LytX-familien, LytX-trunkater, CbpX truncate-LytX-trunkerte kimære proteiner (eller fusjoner), pneumolysin (Ply), PspA, PsaA, Sp128, Sp101, Sp130, Sp125 og Sp133.

25 11. Fremgangsmåte ifølge krav 9 eller krav 10, hvor de ytterligere antigenene omfatter *S. pneumoniae* sakkarider 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C og 19F.

12. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-11 som omfatter trinnet å reagere bakteriesakkaridet med 0,1-0,5 molarekvivalenter periodat for å danne et  
30 aktivert bakteriesakkarid.

13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12 som reduserer størrelses-effekten på bakteriesakkaridet.

35 14. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-13, hvor konjugatet blandes med en adjuvans eller en farmasøytisk akseptabel eksipient.