



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3092010 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 47/68 (2017.01)
C07K 16/32 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.10.22
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.07.11
(86)	European Application Nr.	15700117.3
(86)	European Filing Date	2015.01.09
(87)	The European Application's Publication Date	2016.11.16
(30)	Priority	2014.01.10, EP, 14150789
(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	Synthon Biopharmaceuticals B.V., Microweg 22, 6545 CM Nijmegen, Nederland
(72)	Inventor	ROO DE, Guy, Synthon Biopharmaceuticals B.V.Microweg 22, 6545 CM Nijmegen, Nederland VERSTEGEN, Ruud Martin, Synthon Biopharmaceuticals B.V.Microweg 22, 6545 CM Nijmegen, Nederland COUMANS, Rudy Gerardus Elisabeth, Synthon Biopharmaceuticals B.V.Microweg 22, 6545 CM Nijmegen, Nederland
(74)	Agent or Attorney	OSLO PATENTKONTOR AS, Postboks 7007 M, 0306 OSLO, Norge

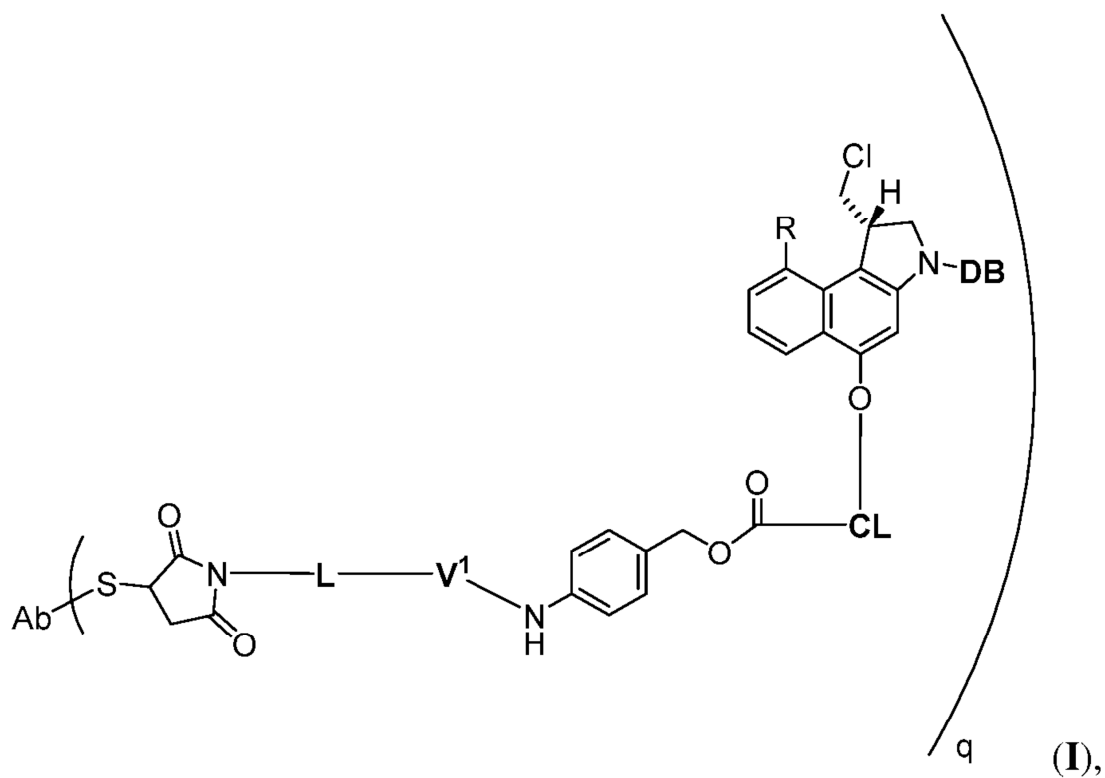
(54)	Title	METHOD FOR PURIFYING CYS-LINKED ANTIBODY-DRUG CONJUGATES
(56)	References Cited:	WO-A1-2013/049410, BEN-QUAN SHEN ET AL: "Conjugation site modulates the in vivo stability and therapeutic activity of antibody-drug conjugates", NATURE BIOTECHNOLOGY, vol. 30, no. 2, 22 January 2012 (2012-01-22), pages 184-189, XP055123129, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/nbt.2108, WO-A1-99/31120, OUYANG JUN: "Drug-to-Antibody Ratio (DAR) and Drug Load Distribution by Hydrophobic Interaction Chromatography and Reversed Phase High-Performance Liquid Chromatography", ANTIBODY-DRUG CONJUGATES HUMANA PRESS INC, 999 RIVERVIEW DR, STE 208, TOTOWA, NJ 07512-1165 USA SERIES : METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY (ISSN 1064-3745(PRINT)), 2013, pages 275-283, XP008170017, cited in the application, KATHERINE CUMNOCK ET AL: "Trisulfide Modification Impacts the Reduction Step in Antibody-Drug Conjugation Process", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, vol. 24, no. 7, 17 July 2013 (2013-07-17), pages 1154-1160, XP055123130, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/bc4000299, MCDONAGH C F ET AL: "Engineered Antibody-drug Conjugates with Defined Sites and Stoichiometries of Drug Attachment", PROTEIN ENGINEERING, DESIGN

AND SELECTION, OXFORD JOURNAL, LONDON, GB, vol. 19, no. 7, 1 July 2006 (2006-07-01), pages 299-307, XP003013764, ISSN: 1741-0126, DOI: 10.1093/PROTEIN/GZL013, EP-A1-0 263 526, SUN M M C ET AL: "REDUCTION-ALKYLATION STRATEGIES FOR THE MODIFICATION OF SPECIFIC MONOCLONAL ANTIBODY DISULFIDES", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, ACS, WASHINGTON, DC, US, vol. 16, no. 5, 7 September 2005 (2005-09-07), pages 1282-1290, XP008072165, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/BC050201Y, HAMBLETT KEVIN J ET AL: "Effects of drug loading on the antitumor activity of a monoclonal antibody drug conjugate.", CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH 15 OCT 2004, vol. 10, no. 20, 15 October 2004 (2004-10-15), pages 7063-7070, XP002623986, ISSN: 1078-0432

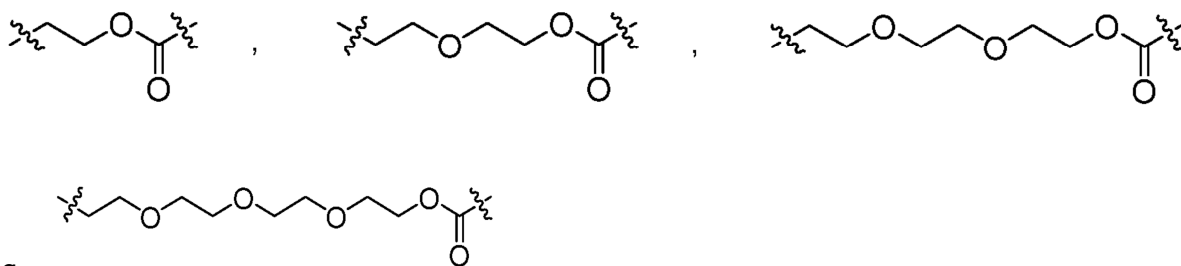
Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters 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

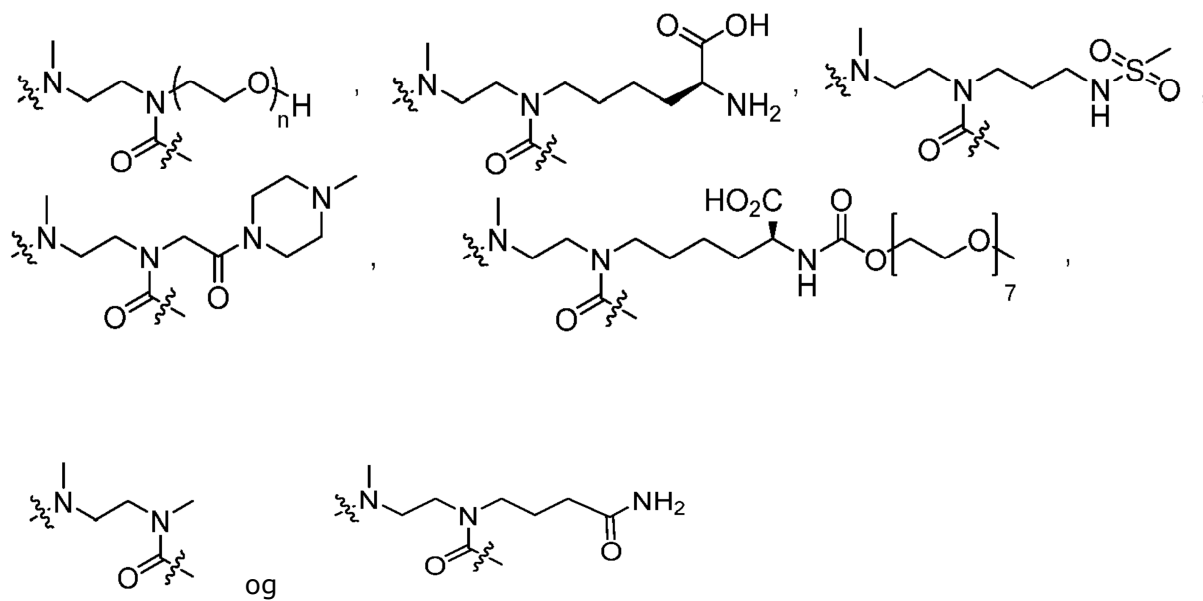
1. Fremgangsmåte for rensing av en blanding av cysteinbundet antistoff-medikament-konjugater av formel (I)



5 hvor
Ab er et antistoff,
L er en linkergruppe valgt fra



10 V¹ er et eventuelt spaltbart dipeptid av naturlige og/eller unaturlige aminosyrer,
CL er en cycliseringslinker valgt fra



5

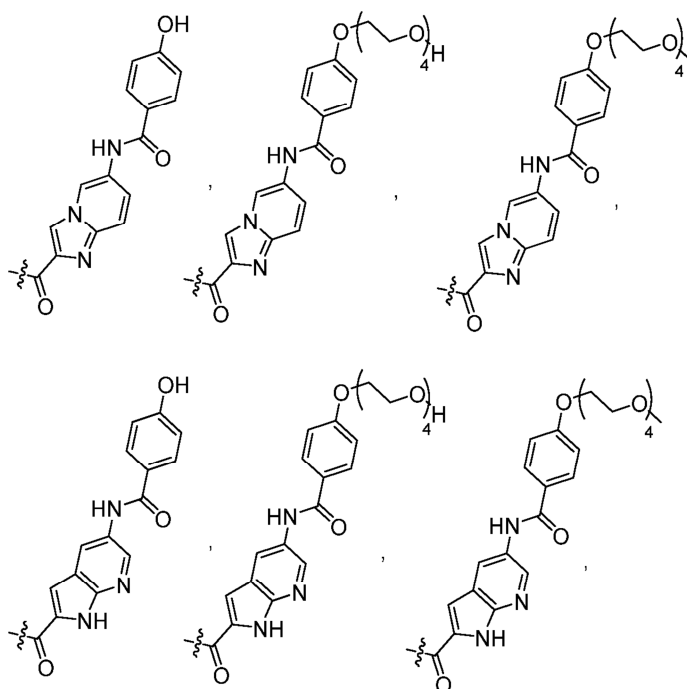
hvor

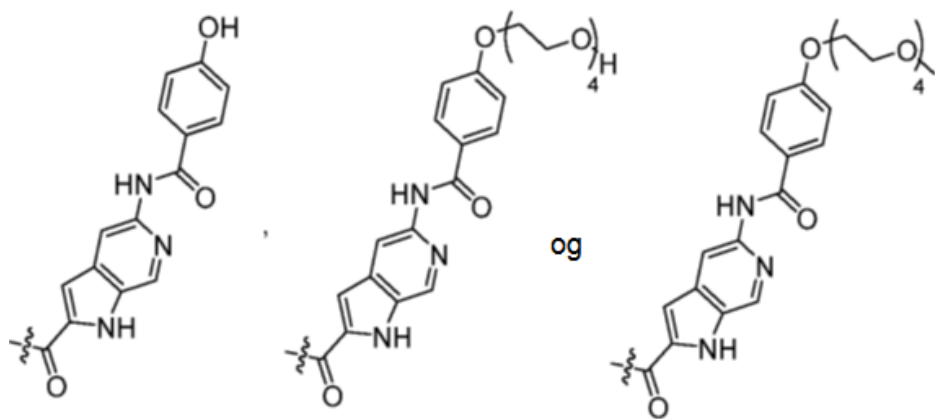
n er et heltall fra 1 til 16,

R er valgt fra H, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, CF₃, OCF₃, Cl, F,

q strekker seg fra 0 til 8, og

10 DB er en DNA-bindende enhet valgt fra





hvor mengden av ikke-konjugert antistoff er i området 10-40 vekt%
omfattende:

- a. å fremskaffe blandingen i en 0,2-1,5 M vandig saltoppløsning;
- 5 b. å sette nevnte oppløsning på en preparativ hydrofob interaksjon
kromatografikolonne;
- c. å samle opp gjennomstrømningsfraksjonen som inneholder ikke-konjugert
antistoff;
- d. å vaske nevnte kolonne med en 0,2-1,5 M vandig saltoppløsning under
10 oppsamling av gjennomstrømningsfraksjonen; og
- e. å eluere nevnte kolonne med en 0-100 mM vandig saltoppløsning for å
oppnå en renset blanding av cysteinbundne antistoff-medikament-
konjugater;

hvor intet tilsatt organisk oppløsningsmiddel anvendes i noen av trinnene a, b, d
15 eller e.

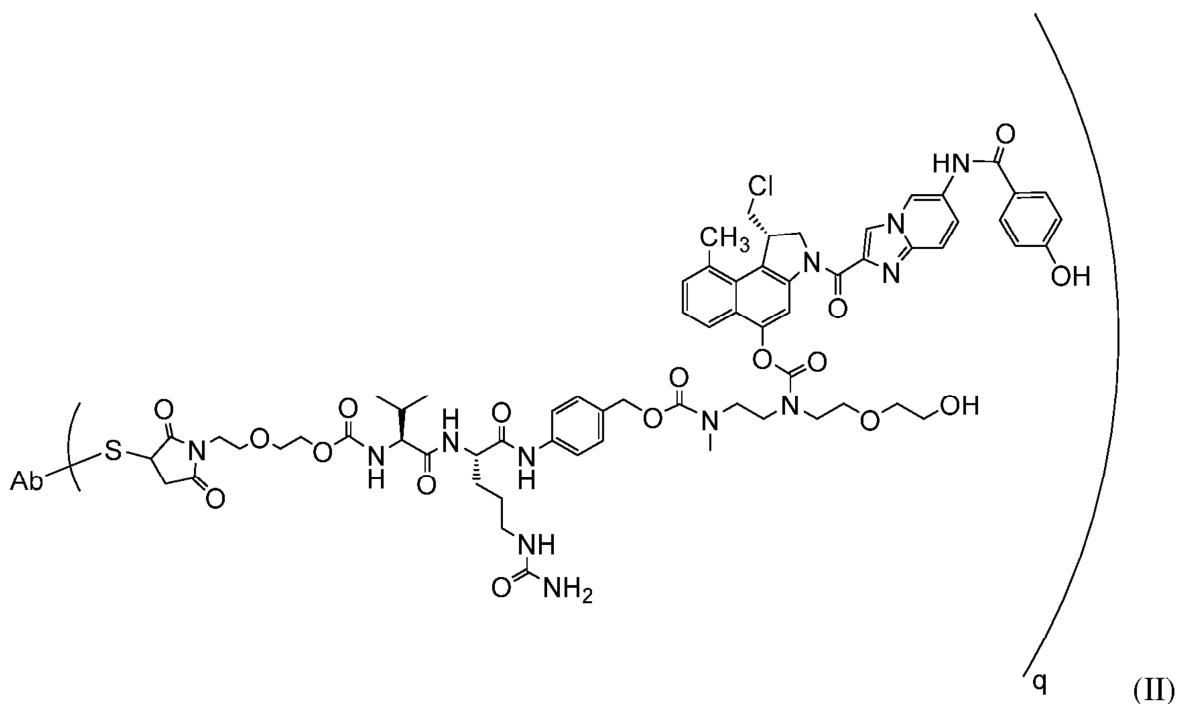
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor nevnte kolonne er pakket med Fractogel EMD propyl, Fractogel EMD fenyl, Butyl-S sepharose, Octyl Sepharose, Capto Octyl, Capto Butyl, Capto Phenyl ImpRes, Capto Butyl ImpRes, Toyopearl PPG-600M, Toyopearl Hexyl-650, Toyopearl Butyl-650, Toyopearl Phenyl-650, Toyopearl
20 Ether-650, Macrorep t-Butyl, Macrorep fenyl, Cellufine Butyl, Cellufine Phenyl eller Poros HP2.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor nevnte kolonne har en diameter i området 4,0-2000 mm, fortrinnsvis 15-2000 mm.

4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor
25 kolonnepåføringen er i området 5-50 g/l, fortrinnsvis 5-40 g/l av kolonne
pakkematerialet.

- 5.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor kolonne pakkematerialet har en gjennomsnittlig partikkelstørrelse i området 30-180 µm.
- 6.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor saltet av den vandige saltoppløsningen er valgt fra gruppen bestående av kaliumtiocyanat, natriumklorid, kaliumklorid, ammoniumklorid, natriumsulfat, kaliumsulfat og ammoniumsulfat, foretrukket er saltet natriumklorid eller ammoniumsulfat.
- 7.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor den vandige saltoppløsningen ytterligere inneholder en buffer.
- 8.** Fremgangsmåte ifølge krav 7, hvor bufferen er valgt fra gruppen bestående av natriumfosfat, kaliumfosfat, ammoniumfosfat, natriumacetat, kaliumacetat, natriumcitrat, kaliumcitrat, ammoniumcitrat og blandinger derav, foretrukket er bufferen natriumfosfat eller natriumacetat.
- 9.** Fremgangsmåte ifølge krav 7 eller 8, hvor nevnte vandige saltoppløsning er bufret til en pH fra omkring 4 til omkring 8.
- 10.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvor elueringen i trinn e utføres på revers måte.
- 11.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor Ab er valgt fra gruppen bestående av et anti-CD19 antistoff, et anti-CD22 antistoff, et anti-CD30 antistoff, et anti-CD33 antistoff, et anti-CD56 antistoff, et anti-CD70 antistoff, et anti-CD74 antistoff, et anti-CD138 antistoff, et anti-CLL-1 antistoff, et anti-5T4 antistoff, et anti-CD303 antistoff, et anti-Tag 72 antistoff, et anti-Lewis A-liknende karbohydrat antistoff, et anti-EphB3 antistoff, et anti-HMW-MAA antistoff, et anti-CD38 antistoff, et anti-Cripto antistoff, et anti-EphA2 antistoff, et anti-GPNMB antistoff, et anti-integrin antistoff, et anti-MN antistoff, et anti-HER2 antistoff, et anti-PSMA antistoff, et anti-EGFR antistoff, et anti-CD203c antistoff, et anti-SLC44A4 antistoff, et anti-Nectin-4 antistoff, et anti-mesotelin antistoff, et anti-CD44 antistoff, et anti-CD79 antistoff, et anti-FcRL5 antistoff, et anti-MUC16 antistoff, et anti-NaPi2b antistoff, et anti-STEAP-1 antistoff, et anti-ETBR antistoff, et anti-TF antistoff, et anti-MUC1 antistoff, et anti-HGFR antistoff, et anti-CD37 antistoff, et anti-FOLR1 antistoff, et anti-CEACAM antistoff, et anti-TROP2 antistoff, et anti-GCC antistoff, et anti-Lewis Y antistoff, et anti-LIV1 antistoff, et anti-DLL3 antistoff, og et anti-EPCAM antistoff.

12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11, hvor blandingen av cystein-bundne antistoff-medikament-konjugater er av formelen (II)



hvor

5 Ab er trastuzumab og
q strekker seg fra 0 til 8.

13. Fremgangsmåte ifølge krav 12, hvor den rensede blandingen av nevnte cystein-bundne antistoff-medikament-konjugater av formel (II) har et gjennomsnittlig medikament-til-antistoff-forhold (DAR) på fra 2,6 til 2,9.

10 **14.** Fremgangsmåte ifølge krav 13, hvor den gjennomsnittlige DAR er 2,80.