



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3604333 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/08 (2006.01)
C07K 16/20 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.09.13
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.05.05
(86)	European Application Nr.	19195720.8
(86)	European Filing Date	2015.03.10
(87)	The European Application's Publication Date	2020.02.05
(30)	Priority	2014.03.11, US, 201461951121 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	Molecular Templates, Inc., 9301 Amberglen Boulevard Suite 100, Austin, TX 78729, USA
(72)	Inventor	POMA, Eric, 165 Christopher Street, New York, NY 10014, USA WILLERT, Erin, 2230 Mockingbird Drive, Round Rock, TX 78681, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	PROTEINS COMPRISING AMINO-TERMINAL PROXIMAL SHIGA TOXIN A SUBUNIT EFFECTOR REGIONS AND CELL-TARGETING IMMUNOGLOBULIN-TYPE BINDING REGIONS CAPABLE OF SPECIFICALLY BINDING CD38
(56)	References Cited:	WO-A2-00/06194 WO-A2-2014/164693 PASTAN IRA ET AL: "Immunotoxin treatment of cancer", ANNUAL REVIEW OF MEDICINE : SELECTED TOPICS IN THE CLINICALSCIENCES, ANNUAL REVIEWS INC, US, vol. 58, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 221-237, XP009134786, ISSN: 0066-4219

GOLDMACHER VICTOR S ET AL: "Anti-CD-38-blocked ricin: An immunotoxin for the treatment of multiple myeloma", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 84, no. 9, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 3017-3025, XP002424989, ISSN: 0006-4971

KAH-WHYE PENG ET AL: "Oncolytic measles viruses displaying a single-chain antibody against CD38, a myeloma cell marker", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 101, no. 7, 1 April 2003 (2003-04-01) , pages 2557-2562, XP002656476, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2002-07-2195 [retrieved on 2002-11-14]

STEVENSON G T: "CD38 as a therapeutic target", MOLECULAR MEDICINE, FEINSTEIN INSTITUTE FOR MEDICAL RESEARCH, WASHINGTON, DC; US, vol. 12, no. 11-12, 1 November 2006 (2006-11-01), pages 345-346, XP009145827, ISSN: 1076-1551

HABIBI ROUDKENAR M ET AL: "Selective cytotoxicity of recombinant STXA1-GM-CSF protein in hematopoietic cancer cells", CELL BIOLOGY AND TOXICOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 22, no. 3, 1 May 2006 (2006-05-01), pages 213-219, XP019392870, ISSN: 1573-6822, DOI: 10.1007/S10565-006-0051-Y

AL-JAUFY AHMED Y ET AL: "Cytotoxicity of a shiga toxin a subunit-CD4 fusion protein to human immunodeficiency virus-infected cells", INFECTION AND IMMUNITY, vol. 62, no. 3, 1994, pages 956-960, XP002740867, ISSN: 0019-9567

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/>

3604333

1

Patentkrav**1. Cytotoksisk protein omfattende:**

- 5 a) en immunoglobulintype-bindingsregion omfattende ett eller flere polypeptider og er i stand til spesifikt å binde minst ett ekstracellulært målbiomolekyl, hvori immunoglobulintype-bindingsregionen er avledet fra et antistoff, hvori det ekstracellulære målbiomolekylet er CD38; og
- 10 b) en Shiga-toksineffektorregion omfattende et polypeptid som er i stand til å effektuere Shiga-toksin-A-underenhet-cytotoksisitet og omfatter:
en aminosyresekvens som er minst 90 % identisk med aminosyresekvensen vist i en av SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 eller SEQ ID NO: 3; eller
en aminosyresekvens valgt fra:
(i) aminosyrer 75 til 251 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3;
(ii) aminosyrer 1 til 241 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3;
15 (iii) aminosyrer 1 til 251 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; og
(iv) aminosyrer 1 til 261 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3;
hvori proteinet er i stand til å forårsake død av en celle fysisk koblet til CD38; og
hvor bindingsregionen og Shiga-toksineffektorregionen er orientert i proteinet på en slik måte at bindingsregionen er lokalisert i en posisjon som er mer proksimal
20 til karboksy-enden til Shiga-toksineffektorregionen enn aminoterminalen til Shiga-toksineffektorregionen.

- 25 **2.** Det cytotoksiske proteinet ifølge krav 1 som utviser en cytotoksisitet som er minst 3 ganger større til en første populasjon av celler hvis medlemmer er fysisk koblet til CD38, sammenlignet med en andre populasjon av celler hvis medlemmer ikke er fysisk koblet til CD38.

- 30 **3.** Det cytotoksiske proteinet ifølge krav 2, hvori den første populasjonen av celler er fysisk koblet med CD38 ved hjelp av kovalente og/eller ikke-kovalente intermolekulære interaksjoner som kobler CD38 eller et parti derav, til utsiden av en celle; eller hvori CD38 er et helt membranprotein eller et perifert membranprotein uttrykt av den første populasjonen av celler.

3604333

2

4. Det cytotoxiske proteinet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvori Shiga-toksineffektorregionen omfatter:

(i) aminosyrer 75 til 251 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3;

(ii) aminosyrer 1 til 241 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3;

5 (iii) aminosyrer 1 til 251 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; eller

(iv) aminosyrer 1 til 261 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3.

5. Det cytotoxiske proteinet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvori Shiga-toksineffektorregionen omfatter en mutasjon i forhold til en naturlig forekommende A-underenhet av et medlem i Shiga-toksinfamilien som endrer den enzymatiske aktiviteten til Shiga-toksineffektorregionen, der mutasjonen er valgt fra minst én aminosyrerestdeletering, -innsetting eller -substitusjon; hvori den naturlige forekommende A-underenheten av et medlem i Shiga-toksinfamilien omfatter eller består av aminosyresekvensen ifølge en av SEQ ID NOs: 1-3.

6. Det cytotoxiske proteinet ifølge krav 5, hvori mutasjonen reduserer cytotoxisitet til Shiga-toksineffektorregionen.

7. Det cytotoxiske proteinet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6, hvori immunoglobulintype-bindingsregionen omfatter et enkeltkjedet variabelt fragment (scFv).

8. Det cytotoxiske proteinet ifølge krav 7, hvori immunoglobulintype-bindingsregionen omfatter aminosyrer 269-508 ifølge SEQ ID NO: 4.

9. Det cytotoxiske proteinet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6, hvori immunoglobulintype-bindingsregionen omfatter et enkeltdomeneantistoff(sdAb)-fragment.

10. Det cytotoxiske proteinet ifølge krav 9, hvori enkeltdomene antistofffragmentet er et V_HH-fragment.

3604333

3

11. Det cytotoxiske proteinet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, i formen av en homo-multimer eller hetero-multimer.

5 **12.** Det cytotoxiske proteinet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-11, i formen av et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat.

13. Farmasøytisk sammensetning omfattende et cytotoxisk protein ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12 og minst én farmasøytisk akseptabel eksipient eller bærer.

10

14. Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 13, hvori den farmasøytisk akseptable bæreren omfatter et fysiologisk akseptabelt løsemiddel eller dispersjonsmedium; og/eller hvori den farmasøytisk akseptable bæreren omfatter vann, alkohol, en polyol og egnede blandinger derav; en vegetabilsk olje; eller en injiserbar organisk ester.

15

15. Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 13 eller 14, ytterligere omfattende en adjuvans; et belegg; et antimikrobielt, antibakterielt eller antifungalt middel; et isotonisk middel; en polyalkohol; et absorpsjonsforsinkede middel; en stabilisator; en buffer; en sufaktant; og/eller en farmasøytisk akseptabel antioksidant.

20

16. Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 15, hvori:
adjuvansen er et konserveringsmiddel, fuktemiddel, emulgeringsmiddel eller dispersjonsmiddel;
belegget er lecitin;
det antibakterielle eller antifungale middelet er et paraben, klorbutanol, fenol eller sorbinsyre;
det isotoniske middelet er et sukker eller natriumklorid;
polyalkoholen er mannitol eller sorbitol; og/eller
den farmasøytisk akseptable antioksidanten er en vannløselig antioksidant, en oljeløselig antioksidant eller et metallchelateringsmiddel.

25

30

3604333

4

- 5 **17.** Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 16, hvori:
den vannløselige antioksidanten er askorbinsyre, cysteinhydroklorid,
natriumbisulfat, natriummetabisulfitt eller natriumsulfitt;
den oljeløselige antioksidanten er askorbylpalmitat, butylert hydroksyanisol
(BHA), butylert hydroksytoluen (BHT), lecitin, propylgallat eller alfa-tokoferol;
og/eller
det metallchelaterende middelet er sitronsyre, etylendiamintetraeddiksyre
(EDTA), sorbitol, vinsyre eller fosforsyre.
- 10 **18.** Polynukleotid som koder for et cytotoxisk protein ifølge et hvilket som helst
av kravene 1-12 eller et komplement derav.
- 15 **19.** Ekspresjonsvektor omfattende et polynukleotid ifølge krav 18.
- 20 **20.** Vertscelle omfattende et polynukleotid ifølge krav 18 eller en
ekspresjonsvektor ifølge krav 19.
- 25 **21.** *In vitro*-fremgangsmåte for å drepe en CD38-uttrykkende celle, der
fremgangsmåten omfatter trinnet med å bringe cellen i kontakt med et cytotoxisk
protein ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12 eller en farmasøytisk
sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 13-17.
- 30 **22.** Cytotoxisk protein ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12 eller en
farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 13-17, for
anvendelse i behandlingen eller forebyggingen av en sykdom, lidelse eller tilstand
hos en pasient med behov for dette, hvori sykdommen, lidelsen eller tilstanden
er **karakterisert ved** celler som uttrykker CD38.
- 35 **23.** Cytotoxisk protein ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12 eller en
farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 13-17, for
anvendelse ifølge krav 22, hvori sykdommen, lidelsen eller tilstanden er kreft eller
en tumor, **karakterisert ved** celler som uttrykker CD38.

3604333

5

5 **24.** Cytotoksisk protein ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 13-17, for anvendelse ifølge krav 23, hvori kreften er valgt fra gruppen bestående av: benkreft, brystkreft, kreft i sentralt eller perifert nervesystem, gastrointestinal kreft, kjønnscelekreft, kjertelkreft, hode- og nakkekreft, hematologisk kreft, nyre- og urinveiskreft, leverkreft, lunge-/plevrakreft, prostatakreft, sarkom, hudkreft og livmorkreft.

10 **25.** Cytotoksisk protein ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 13-17, for anvendelse ifølge krav 22, hvori sykdommen, lidelsen eller tilstanden er en immunlidelse eller en mikrobiell infeksjon, **karakterisert ved** celler som uttrykker CD38.

15 **26.** Cytotoksisk protein ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 13-17, for anvendelse ifølge krav 25, hvori immunlidelsen er forbundet med en sykdom valgt fra gruppen bestående av: amyloidose, ankyloserende spondylitt, astma, Crohns sykdom, diabetes, graftavstøting, graft-versus-vert-sykdom, Hashimotos
20 thyroiditt, hemolytisk uremisk syndrom, HIV-relatert sykdom, lupus erytematose, multippel sklerose, polyarteritt nodosa, polyarteritt, psoriasis, psoriasisk artritt, revmatoid artritt, sklerodermi, septisk sjokk, Sjögrens syndrom, ulcerøs kolitt og vaskulitt.

25