



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3661562 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 14/605 (2006.01)

A61K 47/68 (2017.01)

C07K 16/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.12.16
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.10.02
(86)	European Application Nr.	18759787.7
(86)	European Filing Date	2018.08.03
(87)	The European Application's Publication Date	2020.06.10
(30)	Priority	2017.08.04, US, 201762541522 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
	Designated Extension States:	BA; ME
	Designated Validation States:	KH; MA; MD; TN
(73)	Proprietor	Amgen Inc., One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799, USA
(72)	Inventor	ACHMATOWICZ, Michal, 1655 Woodscent Lane, Simi Valley California 93065, USA ROMANINI, Dante, 5921 Tobias Avenue, Sherman Oaks California 91411, USA FALSEY, James R., 13209 Peach Hill Road, Moorpark California 93021, USA HERBERICH, Bradley J., 1746 Hays Drive, Newbury Park California 91320, USA THIEL, Oliver R., 5174 Via Pisa, Thousand Oaks California 91320, USA
(74)	Agent or Attorney	RWS, Europa House, Chiltern Park, Chiltern Hill, SL99FG CHALFONT ST PETER, Storbritannia

(54) Title **METHOD OF CONJUGATION OF CYS-MABS**

(56) References

Cited:

WO-A1-2009/012256, WO-A1-2015/086853, WO-A1-2015/123265, WO-A1-2016/067013, WO-A1-2017/055582, WO-A1-2017/137628, WO-A1-2018/136440, WO-A2-2017/025897, WO-A2-2005/084390,
JAGATH R JUNUTULA ET AL: "Site-specific conjugation of a cytotoxic drug to an antibody improves the therapeutic index", NATURE BIOTECHNOLOGY, vol. 26, no. 8, 1 August 2008 (2008-08-01), pages 925 - 932, XP002727747, ISSN: 1546-1696, [retrieved on 20080720], DOI: 10.1038/NBT.1480
DATABASE Geneseq [online] 20 September 2018 (2018-09-20), "Human GLP-1 agonist peptide, SEQ 3293.", retrieved from EBI accession no. GSP:BFM63200 Database accession no. BFM63200
CHRISTOPHER R BEHRENS ET AL: "Methods for site-specific drug conjugation to antibodies", MABS, vol. 6, no. 1, 20 January 2014 (2014-01-20), US, pages 46 - 53, XP055293357, ISSN: 1942-0870, DOI: 10.4161/mabs.26632
LYON ROBERT P ET AL: "Chapter 6: CONJUGATION OF ANTICANCER DRUGS THROUGH ENDOGENOUS MONOCLONAL ANTIBODY CYSTEINE RESIDUES", METHODS IN ENZYMO, ACADEMIC PRESS, US, vol. 502, 1 January 2012 (2012-01-01), pages 123 - 138, XP008157545, ISSN: 0076-6879, DOI: 10.1016/B978-0-12-416039-2.00006-9

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 fremstilling av et antistoffkonjugat eller antistofffragmentkonjugat, fremgangsmåten omfattende trinnene:
 - 5 a) å oppnå en sammensetning omfattende et antistoff eller antistofffragment;
 - b) å eksponere antistoffet eller antistofffragmentet for et cysteinblokkeringsmiddel, hvori cysteinblokkeringsmidlet er cysteamin og cysteinblokkeringsmidlet danner et stabilt blandet disulfid med minst én cysteinrest av antistoffet eller antistofffragmentet;
 - c) å tilsette et reduksjonsmiddel til sammensetningen for å danne en reduksjonsblanding og å tillate en reduksjonsreaksjon å forekomme slik at reduksjonsblandingen omfatter et
10 redusert antistoff eller redusert antistofffragment, hvori reduksjonsmidlet er trifenyfosfin-3,3',3"-trisulfonat («TPPTS»);
 - d) å tilsette et oksidasjonsmiddel til reduksjonsblandingen for å danne en oksidert blanding og å tillate en oksidasjonsreaksjon å forekomme slik at den oksiderende blandingen
15 omfatter et oksidert antistoff eller oksidert antistofffragment; og
 - e) å tilsette en aktivert kjemisk del til den oksiderte blandingen for å danne en konjugasjonsblanding og å tillate en konjugeringsreaksjon å forekomme slik at et antistoffkonjugat eller antistofffragmentkonjugat dannes.
- 20 2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori det blandede disulfidet er et antistoff eller antistofffragment med et avdekket fritt cystein.
3. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori etter trinn b) og før trinn c) utføres kationbytterkromatografi for å fjerne overskudd av cysteinblokkeringsmiddel.
25
4. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori forholdet mellom reduksjonsmiddel og antistoff eller antistofffragment er 2 til 4:1 (mole/mol).
5. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori etter trinn c) og før trinn d) utføres et bufferutvekslingstrinn for å fjerne reduksjonsmidlet.
30
6. Fremgangsmåten ifølge krav 5, hvori bufferutvekslingstrinnet er ultrafiltrering/diafiltrering.
- 35 7. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori oksidasjonsmidlet er dehydroaskorbinsyre («DHAA»).

8. Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvori forholdet mellom oksidasjonsmiddel og antistoff eller antistofffragment er 3 til 6:1 (mole/mol).

9. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori den aktiverte kjemiske delen er et peptid omfattende et halogen, hvori halogenet velges fra gruppen som består av Br, I og Cl.

10. Fremgangsmåten ifølge krav 9, hvori forholdet mellom aktivert kjemisk del og antistoff eller antistofffragment er 2 til 3:1 (mole/mol).

11. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori etter trinn e) utføres et rensetrinn for å fjerne den aktiverte kjemiske delen.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvori rensetrinnet inkluderer hydrofob interaksjonskromatografi («HIC»), ultrafiltrering/diafiltrering eller hydrofob interaksjonskromatografi («HIC») etterfulgt av ultrafiltrering/diafiltrering.

13. Fremgangsmåte for fremstilling av et antistoffkonjugat eller antistofffragmentkonjugat, fremgangsmåten omfattende trinnene:

a) å oppnå en sammensetning omfattende et blandet disulfid omfattende et antistoff eller antistofffragment med et avdekket fritt cystein som omfatter en cysteaminhette;

b) å tilsette et reduksjonsmiddel til sammensetningen for å danne en reduksjonsblanding og tillate en reduksjonsreaksjon å forekomme slik at reduksjonsblandingen omfatter et redusert antistoff eller redusert antistofffragment, hvori reduksjonsmidlet er trifenyfosfin-3,3',3"-trisulfonat («TPPTS»);

c) å tilsette et oksidasjonsmiddel til reduksjonsblandingen for å danne en oksidert blanding og tillate en oksidasjonsreaksjon å forekomme slik at den oksiderende blandingen omfatter et oksidert antistoff eller oksidert antistofffragment; og

d) å tilsette en aktivert kjemisk del til den oksiderte blandingen for å danne en konjugasjonsblanding og tillate en konjugeringsreaksjon å forekomme slik at et antistoffkonjugat eller antistofffragmentkonjugat dannes.

14. Fremgangsmåten ifølge krav 13, hvori etter trinn a) og før trinn b) utføres kationbytterkromatografi for å fjerne overskudd av cysteinblokkeringsmiddel.

15. Fremgangsmåten ifølge krav 13, hvori forholdet mellom reduksjonsmiddel og antistoff eller antistofffragment er 2 til 4:1 (mole/mol).

16. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 13–15, hvori etter trinn b) og før trinn c) utføres et bufferutvekslingstrinn for å fjerne reduksjonsmidlet.
17. Fremgangsmåten ifølge krav 16, hvori bufferutvekslingstrinnet er
5 ultrafiltrering/diafiltrering.
18. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 13–17, hvori oksidasjonsmidlet er dehydroaskorbinsyre («DHAA»).
- 10 19. Fremgangsmåten ifølge krav 18, hvori forholdet mellom oksidasjonsmiddel og antistoff eller antistofffragment er 3 til 6:1 (mole/mol).
20. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 13–19, hvori den aktiverte kjemiske delen er et peptid omfattende et halogen, hvori halogenet velges fra gruppen
15 som består av Br, I og Cl.
21. Fremgangsmåten ifølge krav 20, hvori forholdet mellom aktivert kjemisk del og antistoff eller antistofffragment er 2 til 3:1 (mole/mol).
- 20 22. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 13–21, hvori etter trinn d) utføres et rensetrinn for å fjerne den aktiverte kjemiske delen.
23. Fremgangsmåten ifølge krav 22, hvori rensetrinnet inkluderer hydrofob interaksjonskromatografi («HIC»), ultrafiltrering/diafiltrering eller hydrofob
25 interaksjonskromatografi («HIC») etterfulgt av ultrafiltrering/diafiltrering.
24. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori antistoffet eller antistofffragmentet omfatter en cysteinrest i en posisjon valgt fra gruppen som består av D70 av antistofflekkjeden i forhold til referansesekvens SEQ ID NO: 7; E276 av
30 antistofftungkjeden i forhold til referansesekvens SEQ ID NO: 8; og T363 av antistofftungkjeden i forhold til referansesekvens SEQ ID NO: 8.