



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3912642 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.

A61K 47/68 (2017.01)

A61P 15/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.08.14
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.04.12
(86)	European Application Nr.	21171679.0
(86)	European Filing Date	2013.10.23
(87)	The European Application's Publication Date	2021.11.24
(30)	Priority	2012.10.23, EP, 12189604 2013.10.14, EP, 13188607 2012.10.23, US, 201261717187 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	Synaffix B.V., Kloosterstraat 9, 5349 AB Oss, Nederland
(72)	Inventor	van Delft, Floris Louis, 6524 KZ Nijmegen, Nederland van Geel, Remon, 5396 CM Lithoijen, Nederland Wijdeven, Maria Antonia, 6603 AH Wijchen, Nederland
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	MODIFIED ANTIBODY, ANTIBODY-CONJUGATE AND PROCESS FOR THE PREPARATION THEREOF
(56)	References Cited:	WO-A2-2007/133855, WO-A2-2005/051429, WO-A1-2009/025645, WO-A1-2005/056783, US-A1- 2005 130 235, WO-A2-2009/102820, WO-A2-2008/143944, WO-A2-2008/029281, QASBA PRADMAN K ET AL: "Mutant glycosyltransferases assist in the development of a targeted drug delivery system and contrast agents for MRI", AAPS JOURNAL, AMERICAN ASSOCIATION OF PHARMACEUTICAL SCIENTISTS, US, vol. 8, no. 1, 1 January 2006 (2006-01-01) , pages E190-E195, XP002491763, ISSN: 1550-7416, DOI: 10.1208/AAPSJ080123 [retrieved on 2006-03-24] BOEGGEMAN ELIZABETH ET AL: "Direct identification of nonreducing GlcNAc residues on N-glycans of glycoproteins using a novel chemoenzymatic method", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, ACS, WASHINGTON, DC, US, vol. 18, no. 3, 1 May 2007 (2007-05-01), pages 806-814, XP002474455, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/BC060341N ELIZABETH BOEGGEMAN ET AL: "Site Specific Conjugation of Fluoroprobes to the Remodeled Fc N-Glycans of Monoclonal Antibodies Using Mutant Glycosyltransferases: Application for Cell Surface Antigen Detection", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, vol. 20, no. 6, 17 June 2009 (2009-06-17), pages 1228-1236, XP055061205, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/bc900103p QASBA PRADMAN K ET AL: "Site-specific linking of biomolecules via glycan residues using glycosyltransferases", BIOTECHNOLOGY PROGRESS,, vol. 24, no. 3, 22 April 2008 (2008-04-22) , pages 520-526, XP009107098, ISSN: 1520-6033, DOI: 10.1021/BP0704034

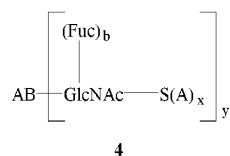
- RAMAKRISHNAN B ET AL: "Structure-based design of beta1,4-galactosyltransferase I (beta4Gal-T1) with equally efficient N-acetylgalactosaminyltransferase activity. Point mutation broadens beta4Gal-T1 donor specificity", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 277, no. 23, 7 June 2002 (2002-06-07), pages 20833-20839, XP002323111, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M111183200
- KHIDEKEL N ET AL: "A CHEMOENZYMATIC APPROACH TOWARD THE RAPID AND SENSITIVE DETECTION OF O-GLCNAc POSTTRANSLATIONAL MODIFICATIONS", JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, ACS PUBLICATIONS, US, vol. 125, no. 52, 31 December 2003 (2003-12-31), XP008055588, ISSN: 0002-7863, DOI: 10.1021/JA038545R
- M. PASEK ET AL: "The N-acetyl-binding pocket of N-acetylglucosaminyltransferases also accommodates a sugar analog with a chemical handle at C2", GLYCOBIOLOGY, vol. 22, no. 3, 1 March 2012 (2012-03-01), pages 379-388, XP055061204, ISSN: 0959-6658, DOI: 10.1093/glycob/cwr110
- BRIAN AGNEW ET AL: "Site-specific Labeling of Antibody N-glycans using a Click Chemistry-mediated Chemoenzymatic Approach", JOURNAL OF BIOMOLECULAR TECHNIQUES, 1 January 2012 (2012-01-01), page s28, XP055507952,
- VAN WIJK X M R ET AL: "A 4-deoxy analogue of N-acetyl-d-glucosamine inhibits heparan sulphate expression and growth factor binding in vitro", EXPERIMENTAL CELL RESEARCH, ACADEMIC PRESS, US, vol. 316, no. 15, 10 September 2010 (2010-09-10), pages 2504-2512, XP027166203, ISSN: 0014-4827 [retrieved on 2010-04-28]
- INKA BROCKHAUSEN ET AL: "UDP-Gal: GlcNAc-R [beta]1,4-galactosyltransferase-a target enzyme for drug design. Acceptor specificity and inhibition of the enzyme", GLYCOCONJUGATE JOURNAL, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO, vol. 23, no. 7-8, 1 November 2006 (2006-11-01), pages 525-541, XP019434746, ISSN: 1573-4986, DOI: 10.1007/S10719-006-7153-X

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. Antistoffkonjugat for anvendelse som et medikament, hvor antistoffkonjugatet er oppnåelig ved en prosess som omfatter å omsette a modifiserte antistoff med et linker-konjugat, hvor nevnte linker-konjugat omfatter en
5 (hetero)sykloalkynylgruppe og én eller flere substanser som er farmasøytisk aktive, hvor nevnte modifiserte antistoff er et antistoff som omfatter en GlcNAc-S(A)_x substituent, hvor GlcNAc er et N-acetylglukosamin, S(A)_x er et sukkerderivat som omfatter x funksjonelle grupper A, A er en azidogruppe og x er 1, 2, 3 eller 4, hvor nevnte GlcNAc-S(A)_x substituent er bundet til antistoffet via
10 C1 av kjerne-N-acetylglukosaminet av nevnte GlcNAc-S(A)_x substituent, og hvor nevnte GlcNAc eventuelt er fukosylert, hvor den ene eller flere substansene som er farmasøytisk aktive er cytotoxiner og hvor antistoffet spesifikt binder kreftantigen.
- 15 2. Antistoffkonjugat for anvendelse i behandlingen av kreft, hvor antistoffkonjugatet er som definert i krav1, fortrinnsvis hvor kreften er brystkreft.
3. Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til krav 2, hvor antistoffkonjugatet har en effekt på tumorvolum.
- 20 4. Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor prosessen omfatter trinnene:
- (i) å bringe et antistoff som omfatter en kjerne-N-acetylglukosamin (GlcNAc)-substituent i kontakt med en forbindelse med formelen S(A)_x-P i
25 nærværet av en katalysator, hvor nevnte kjerne-N-acetylglukosamin-substituent eventuelt er fukosylert hvor nevnte katalysator omfatter et mutant katalytisk domene fra en galaktosyltransferase, hvor S(A)_x er et sukkerderivat som omfatter x funksjonelle grupper A hvor A er en azidogruppe og x er 1, 2, 3 eller 4, hvor P er valgt fra gruppen som består
30 av uridindifosfat (UDP), guanosindifosfat (GDP) og cytidindifosfat (CDP), for å oppnå et modifisert antistoff, hvor et modifisert antistoff er definert som et antistoff som omfatter en GlcNAc-S(A)_x substituent bundet til antistoffet via C1 av N-acetylglukosaminet av nevnte GlcNAc-

$S(A)_x$ substituent, og hvor nevnte modifiserte antistoff er i henhold til Formel (4):



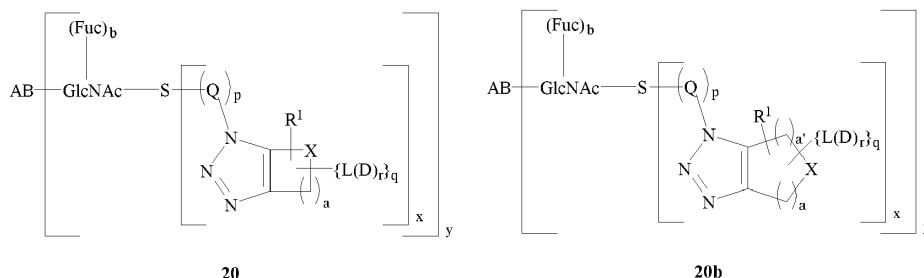
- 5 hvor $S(A)_x$ og x er som definert over; AB representerer et antistoff; GlcNAc er N-acetylglukosamin; Fuc er fukose; b er 0 eller 1; og y er 1 to 20; og (ii) å omsette nevnte modifiserte antistoff med et linker-konjugat, hvor nevnte linker-konjugat omfatter en (hetero)sykloalkynylgruppe og ett eller flere cytotoxiner.

- 10 **5.** Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til krav 4, hvor katalysatoren omfatter et mutant katalytisk domene fra en $\beta(1,4)$ -galaktosyltransferase, fortrinnsvis hvor katalysatoren er valgt fra gruppen som består av GalT Y289L, GalT Y289N og GalT Y289I eller valgt fra gruppen som består av GalT Y289F, GalT Y289M, GalT Y289V, GalT Y289G, GalT Y289I og GalT Y289A.

15

- 6.** Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor (hetero)sykloalkynylgruppen er en (hetero)sykloalkynylgruppe.

- 20 **7.** Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor antistoffkonjugatet er i henhold til formelen **(20)** eller **(20b)**:

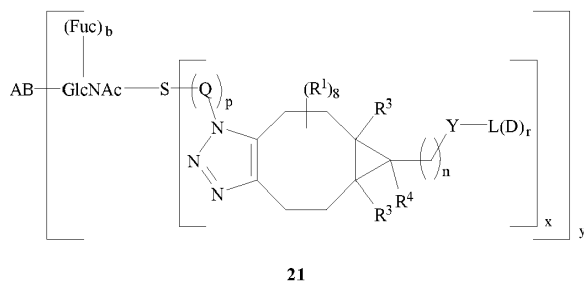
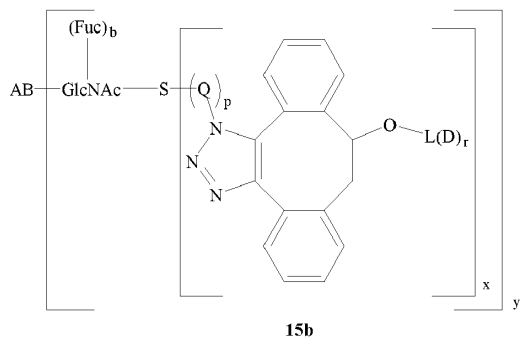


hvor:

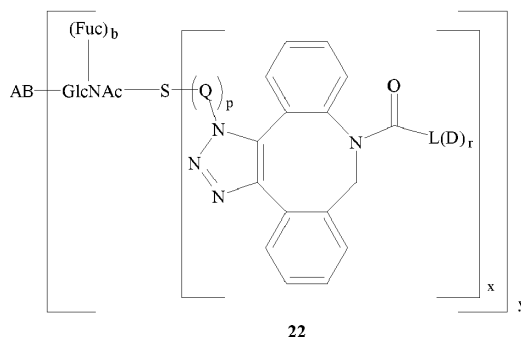
- 25 - L er en linker;
- D er et cytotoxin;

- r er 1 - 20;
 - R^1 er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, halogen, -OR⁵, -NO₂, -CN, -S(O)₂R⁵, C₁ - C₂₄ alkylgrupper, C₆ - C₂₄(hetero)-arylgrupper, C₇ - C₂₄ alkyl(hetero)arylgrupper og C₇ - C₂₄ (hetero)-arylalkylgrupper og hvor alkylgruppene, (hetero)arylgruppene, alkyl(hetero)arylgruppene og (hetero)arylalkylgruppene eventuelt er substituerte, hvor to substituenten R^1 kan være linket sammen for å danne en annelert sykloalkyl eller en annelert (hetero)arensubstituent, og hvor R⁵ er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, halogen, C₁ - C₂₄ alkylgrupper, C₆ - C₂₄ (hetero)arylgrupper, C₇ - C₂₄ alkyl(hetero)-arylgrupper og C₇ - C₂₄ (hetero)arylalkylgrupper;
 - X er C(R¹)₂, O, S eller NR², hvor R² er R¹ eller L(D)_r, og hvor L, D og r er som definert over;
 - q er 0 eller 1, med det forbehold at hvis q er 0 så er X N-L(D)_r;
 - b er 0 eller 1;
 - p er 0 eller 1;
 - Q er -N(H)C(O)CH₂- eller -CH₂-;
 - x er 1, 2, 3 eller 4;
 - y er 1 - 20;
 - AB er et antistoff;
 - S er et sukker eller et sukkerderivat;
 - GlcNAc er N-acetylglukosamin; og
 - Fuc er fukose,
- og hvor:
- i Formel **(20)**, er a 4, 5, 6 eller 7; og
 - i Formel **(20b)**:
 - er a 0,1, 2, 3, 4, 5, 6 eller 7;
 - er a' 0,1, 2, 3, 4, 5, 6 eller 7; og
 - a+a' er 4, 5, 6 eller 7,
- fortrinnsvis hvor i Formel **(20)** a er 5, og i Formel **(20b)** a+a' er 5.

8. Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til krav 7, hvor antistoffkonjugatet er av formelen **(15b)**, **(21)** eller **(22)**:



5



hvor:

- AB, GlcNAc, Fuc, L, D, S, Q, x, y, b, p, r, R¹ og er som definert i krav 7;
- Y er O, S eller NR², hvor R² er som definert i krav 7;
- R³ er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, halogen, C₁ - C₂₄ alkylgrupper, C₆ - C₂₄ (hetero)arylgrupper, C₇ - C₂₄ alkyl(hetero)arylgrupper og C₇ - C₂₄ (hetero)arylalkylgrupper;
- R⁴ er valgt fra gruppen som består av hydrogen, Y-L(D)_r, -(CH₂)_n-Y-L(D)_r, halogen, C₁ - C₂₄ alkylgrupper, C₆ - C₂₄ (hetero)arylgrupper, C₇ - C₂₄ alkyl(hetero)arylgrupper og C₇ - C₂₄ (hetero)arylalkylgrupper, hvor alkylgruppene eventuelt er avbrutt av ett eller flere heteroatomer valgt

fra gruppen som består av O, N og S, hvor alkylgruppene, (hetero)arylgruppene, alkyl(hetero)arylgruppene og (hetero)arylalkylgruppene eventuelt er uavhengig substituerte; og - n er 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 eller 10.

5

9. Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til krav 7 eller 8, hvor:

- y er 1, 2, 3 eller 4, fortrinnsvis y er 1 eller 2;
- x er 1 eller 2, fortrinnsvis x er 1; og
- r er 1, 2, 3 eller 4, fortrinnsvis r er 1 eller 2,

10 mer foretrukket hvor x er 1, y er 1 og r er 1, eller x er 1, y er 2 og r er 1, eller x er 2, y er 2 og r er 1.

10. Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor substansen som er farmasøytisk aktiv er et cytoksin
15 valgt fra gruppen som består av camptothecin, doksorubicin, daunorubicin, taksaner, calicheamycins, duokarmycin, maytansiner, maytansinoider, auristatiner og pyrrolbenzodiazepiner, mest foretrukket maytansin eller monometyl auristatin E (MMAE).

20 **11.** Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor antistoffet er valgt fra humane antistoffer, humaniserte antistoffer og kimære antistoffer.

25 **12.** Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor antistoffet er trastuzumab og substansen som er farmasøytisk aktiv er et cytoksin valgt fra maytansinoid, auristatin E, auristatin F, duokarmycin eller pyrrolbenzodiazepin.

30 **13.** Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor linkeren kan spaltes, fortrinnsvis hvor den spaltbare linkeren omfatter en selv-ødeleggende del som blir frigjort på en biologisk utløser, fortrinnsvis ved en enzymatisk spaltning eller en oksidasjonshendelse.

14. Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor antistoffkonjugatet er homogent i setespesifisitet og støkiometri, hvor konjugeringen blir utført bare på et forhåndsbestemt sete og med forhåndsbestemt legemiddel-antistoff forhold.

5

15. Antistoffkonjugatet for anvendelse i henhold til krav 14, hvor DAR-en er innenfor 10 % av dens teoretiske verdi, fortrinnsvis hvor DAR-en er 2, 4 eller 8.