



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:



HR P20201725 T1

HR P20201725 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTEJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

C07K 14/555 (2006.01)
C07K 14/56 (2006.01)
C07K 14/565 (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 05.03.2021.

(21) Broj predmeta: P20201725T

(22) Datum podnošenja zahtjeva u HR: 26.10.2020.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US2015045678
Datum podnošenja međunarodne prijave: 18.08.2015.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 15763443.7
Datum podnošenja europske prijave patenta: 18.08.2015.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2017030563
Datum međunarodne objave: 23.02.2017.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 3183264 A1
Datum objave europske prijave patenta: 28.06.2017.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 3183264 B1
Datum objave europskog patenta: 29.07.2020.

(31) Broj prve prijave: 201461997000 P (32) Datum podnošenja prve prijave: 19.08.2014. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(73) Nositelj patenta:

Biogen MA Inc., 225 Binney Street, Cambridge, MA 02142, US

(72) Izumitelji:

Robert S. Gronke, Boston, MA 02116, US

Orlando Jaquez, Melrose, MA 02176, US

(74) Zastupnik:

ZMP IP d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: **POSTUPAK PEGILACIJE**

HR P20201725 T1

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Postupak za pripremanje PEG na IFN β koji sadrži sljedeće korake:
 - (a) dodavanje aktiviranog PEG u pročišćenu otopinu IFN β u reakcijskoj posudi kako bi se stvorila mješavina aktiviranog PEG i IFN β , pri čemu pročišćena otopina IFN β ima koncentraciju IFN β od 1.75 mg/ml do 3.3 mg/ml i temperaturu od 2° C do 30 °C, pri čemu je dodana količina aktiviranog PEG dovoljna da omogući molarni omjer aktiviranog PEG naspram IFN β u PEG reakcijskoj mješavini za pripremanje od 1:1 do 20:1 i pri čemu je pH mješavine od 4.0 do 6.0;
 - (b) izorno dodavanje katalizatora (Lewisove kiseline) u mješavinu, pri čemu je dodana količina katalizatora (Lewisove kiseline) dovoljna da omogući koncentraciju katalizatora (Lewisove kiseline) u PEG reakcijskoj mješavini za pripremanje od 0.1 mM do 2.2 mM;
 - (c) dodavanje NaCNBH₃ u mješavinu kako bi se stvorila PEG reakcijska mješavina za pripremanje miješanjem kroz period od 5 minuta do 600 minuta, pri čemu je dodana količina NaCNBH₃ dovoljna da omogući koncentraciju NaCNBH₃ u PEG reakcijskoj mješavini za pripremanje od 15 mM do 25 mM; i
 - (d) nakon koraka (c), inkubiranje PEG reakcijske mješavine za pripremanje 10 minuta do 24 sata kako bi se proizveo poželjno mno-PEG IFN β .
2. Postupak prema zahtjevu 1, koji nadalje sadrži gašenje PEG reakcijske mješavine za pripremanje kako bi se zaustavila reakcija, izorno pri čemu se PEG reakcija pripremanja gasi dodavanjem arginina, te izorno pri čemu je količina arginina u ugašenoj reakcijskoj mješavini od 25 mM do 250 mM.
3. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 1-2, pri čemu se mješavina iz koraka gašenja prekriva inertnim plinom, izorno pri čemu je brzina prekrivanja inertnim plinom 10 LPM.
4. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 2-3, pri čemu je ugašena PEG reakcija pripremanja držana do 48 sati pri 2° C do 30 °C prije pročišćavanja mono-PEG IFN β .
5. Postupak prema zahtjevu 1, pri čemu:
 - (a) pročišćena otopina IFN β ima koncentraciju IFN β od 1.75 mg/ml do 3.3 mg/ml i temperaturu od 19° C do 27 °C, pri čemu je dodana količina aktiviranog PEG dovoljna da omogući molarni omjer aktiviranog PEG naspram IFN β u PEG reakcijskoj mješavini za pripremanje od 1:1 do 5:1 i pri čemu je pH mješavine od 4.8 do 5.2;
 - (b) količina katalizatora (Lewisove kiseline) kad je izorno dodana je dovoljna da omogući koncentraciju katalizatora (Lewisove kiseline) u PEG reakcijskoj mješavini za pripremanje od 0.78 mM do 1.2 mM;
 - (c) dodavanje NaCNBH₃ u mješavinu kako bi se stvorila PEG reakcijska mješavina za pripremanje miješanjem kroz period od 45 minuta do 240 minuta, pri čemu je dodana količina NaCNBH₃ dovoljna da omogući koncentraciju NaCNBH₃ u PEG reakcijskoj mješavini za pripremanje od 15 mM do 25 mM; i
 - (d) inkubiranje PEG reakcijske mješavine za pripremanje 5 sati do 9 sati kako bi se proizveo poželjno mono-PEG IFN β .
6. Postupak prema zahtjevu 5, koji nadalje sadrži gašenje PEG reakcijske mješavine za pripremanje kako bi se zaustavila reakcija, izorno pri čemu se PEG reakcija pripremanja gasi dodavanjem arginina, te izorno pri čemu je količina arginina u ugašenoj reakcijskoj mješavini od 50 mM do 150 mM, poželjno od 75 mM do 125 mM, još poželjnije 100 mM.
7. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 5-6, pri čemu:
 - (i) koncentracija IFN β u pročišćenoj otopini IFN β je od 2.4 mg/ml do 3.3 mg/ml, poželjno 2.9 mg/ml do 3.3 mg/ml, još poželjnije 3.3 mg/ml;
 - (ii) molarni omjer aktiviranog PEG naspram IFN β u PEG reakcijskoj mješavini za pripremanje je od 1.5:1 do 5:1, poželjno od 1.5:1 do 2:1, još poželjnije 1.5:1;
 - (iii) koncentracija kationa cinka u PEG reakciji pripremanja je od 0.9 mM do 1.1 mM, poželjno od 0.95 mM do 1.05 mM, još poželjnije 1.0 mM;
 - (iv) koncentracija NaCNBH₃ u PEG reakciji pripremanja je od 18 mM do 22 mM, poželjno 20 mM;
 - (v) molarni omjer aktiviranog PEG naspram IFN β u PEG reakcijskoj mješavini za pripremanje je od 1.5:1 do 5:1, poželjno od 1.5:1 do 2:1, još poželjnije 1.5:1;
 - (vi) temperatura je od 21° C do 25° C, poželjno od 22° C do 24° C, još poželjnije 23° C; i/ili
 - (vii) pH je od 4.9 do 5.1, poželjno 5.0.
8. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 6-7, pri čemu je ugašena PEG reakcija pripremanja držana do 48 sati pri 2° C do 25 °C prije pročišćavanja mono-PEG IFN β .
9. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 1-8, pri čemu se u reakcijsku mješavinu dodaje katalizator (Lewisova kiselina), izorno pri čemu je katalizator (Lewisova kiselina) kation cinka.
10. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 1-9, pri čemu IFN β je IFN β -1a.
11. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 1-10, pri čemu PEG je mPEG, izorno pri čemu mPEG je mPEG-O-2-metilpropionaldehid.
12. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 1-11, pri čemu:
 - (i) IFN β se dovodi do navedene temperature prije dodavanja u reakcijsku posudu; ili
 - (ii) IFN β se dodaje u reakcijsku posudu i zatim dovodi do navedene temperature.

13. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 1-12, pri čemu su mješavine u koracima (a) – (d) prekrivene inertnim plinom, izborno pri čemu je brzina prekrivanja inertnim plinom 3-5 LPM za korake (a) i (b) te je 10 LPM za korake (c) i (d).
- 5 14. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 5-13, pri čemu je pH 5.0, temperatura je 23° C, koncentracija IFN β u pročišćenoj otopini IFN β je 3.3 mg/ml, molarni omjer aktiviranog PEG naspram IFN β je 1.5:1 te je koncentracija NaCNBH₃ u PEG reakciji pripajanja 20 mM, izborno pri čemu je katalizator (Lewisova kiselina) kation cinka u koncentraciji u PEG reakciji pripajanja od 1.0 mM.
15. Postupak prema zahtjevu 14, pri čemu se PEG reakcija pripajanja gasi dodavanjem arginina u PEG reakcijsku mješavinu za pripajanje do koncentracije od 100 mM u ugašenoj reakcijskoj mješavini.
- 10 16. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 14-15, pri čemu su mješavine u koracima (a) – (d) prekrivene inertnim plinom brzinom prekrivanja inertnim plinom od 3-5 LPM za korake (a) i (b) te 10 LPM za korake (c) i (d).
17. Postupak prema bilo kojem od prethodnih zahtjeva, pri čemu je mono-PEG IFN β formuliran u farmaceutski sastav, izborno pri čemu farmaceutski sastav nadalje sadrži farmaceutski prihvatljive nosače, adjuvanse, razrjeđivače, konzervanse i/ili pomoćna sredstva za topljenje.
- 15 18. Postupak prema zahtjevu 17, pri čemu (a) spomenuto pomoćno sredstvo za topljenje je odabrano od Tweena ili polisorbata; i/ili (b) spomenuti razrjeđivač sadrži pufer, izborno odabran od arginina, Tris-HCl, acetata ili fosfata.
19. PEG reakcijska mješavina za pripajanje koja sadrži sljedeće sastavnice:
 - (a) IFN β u koncentraciji od 1.5 mg/ml do 2.8 mg/ml;
 - (b) aktivirani PEG u molarnom omjeru aktiviranog PEG naspram IFN β od 1:1 do 20:1; te
 - 20 (c) NaCNBH₃ u koncentraciji od 15 mM do 25 mM, pri čemu je pH PEG reakcijske mješavine od 4.0 do 6.0.
20. PEG reakcijska mješavina za pripajanje prema zahtjevu 19, koja nadalje sadrži katalizator (Lewisovu kiselinu) u koncentraciji od 0.1 mM do 2.2 mM, izborno pri čemu je katalizator (Lewisova kiselina) kation cinka.
21. PEG reakcijska mješavina za pripajanje prema zahtjevu 19-20, koja nadalje sadrži arginin u koncentraciji u reakcijskoj mješavini od 25 mM do 200 mM.
- 25 22. PEG reakcijska mješavina za pripajanje prema zahtjevu 19-21, pri čemu se PEG reakcijska mješavina za pripajanje gasi.
23. PEG reakcijska mješavina za pripajanje prema zahtjevu 19, pri čemu:
 - (a) IFN β je u koncentraciji od 2.0 mg/ml do 2.8 mg/ml, poželjnije 2.5 mg/ml do 2.8 mg/ml, još poželjnije 2.8 mg/ml;
 - 30 (b) aktivirani PEG je u molarnom omjeru aktiviranog PEG naspram IFN β od 1:1 do 5:1, poželjno od 1.5:1 do 5:1, poželjnije od 1.5:1 do 2:1, još poželjnije 1.5:1; te;
 - (d) NaCNBH₃ je u koncentraciji od 18 mM do 22 mM, poželjnije 20 mM, pri čemu je pH PEG reakcijske mješavine od 4.8 do 5.2, poželjno od 4.9 do 5.1, još poželjnije 5.0.
- 35 24. PEG reakcijska mješavina za pripajanje prema zahtjevu 23, koja nadalje sadrži katalizator (Lewisovu kiselinu) u koncentraciji od 0.78 mM do 1.2 mM, poželjno od 0.9 mM do 1.1 mM, poželjnije od 0.95 mM do 1.05 mM, još poželjnije 1.0 mM, izborno pri čemu je katalizator (Lewisova kiselina) kation cinka.
25. PEG reakcijska mješavina za pripajanje prema bilo kojem od zahtjeva 23-24, koja nadalje sadrži arginin u koncentraciji u reakcijskoj mješavini od 50 mM do 150 mM, poželjno od 75 mM do 125 mM, još poželjnije 100 mM.
- 40 26. PEG reakcijska mješavina za pripajanje prema bilo kojem od zahtjeva 23-25, pri čemu se PEG reakcijska mješavina za pripajanje gasi.