



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 2662448 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**C12N 15/55 (2006.01)**  
**A61K 38/46 (2006.01)**  
**A61P 19/08 (2006.01)**  
**C12N 5/10 (2006.01)**  
**C12N 9/16 (2006.01)**  
**C12N 15/85 (2006.01)**

Norwegian Industrial Property Office

---

|      |                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) | Translation Published                                                | 2017.05.15                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (80) | Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent | 2016.12.21                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (86) | European Application Nr.                                             | 13002327.8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (86) | European Filing Date                                                 | 2008.05.12                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (87) | The European Application's Publication Date                          | 2013.11.13                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (30) | Priority                                                             | 2007.05.11, US, 917589 P                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| (84) | Designated Contracting States:                                       | AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|      | Designated Extension States:                                         | AL BA MK RS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| (62) | Divided application                                                  | EP2368999, filing date 2008.05.12                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| (73) | Proprietor                                                           | Alexion Pharmaceuticals, Inc., 100 College Street, New Haven, CT 06510, US-USA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| (72) | Inventor                                                             | Crine, Philippe, 28 Avenue Claude-Champagne, OutremontQuebec H2V 2X1, CA-Canada<br>Boileau, Guy, 7645 Malherbe, BrossardQuebec J4Y 1E6, CA-Canada<br>Loisel, Thomas P., 4959, rue Saint-Gabriel, MontrealQuebec H8Y 1Z7, CA-Canada<br>Lemire, Isabelle, 6538 44ième avenue, MontrealQuebec H1T 2P1, CA-Canada<br>Leonard, Pierre, 12364 Notre-Dame-des-Anges, MontrealQuebec H4J 2C4, CA-Canada<br>Heft, Robert, 141 Fairview Street, Dollard-des-OrmeauxQuebec H9A 1V5, CA-Canada<br>Landy, Hal, 66 Clubhouse Drive, Hingham, MA 02043, US-USA |
| (74) | Agent or Attorney                                                    | Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

---

(54) Title **Bone targeted alkaline phosphatase, kits and methods of use thereof**

(56) References  
Cited: WO-A1-2005/103263  
WO-A2-2006/039480  
US-A1- 2007 081 984  
MILLÁN JOSÉ LUIS ET AL: "Enzyme replacement therapy for murine hypophosphatasia.", JOURNAL OF BONE AND MINERAL RESEARCH : THE OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY FOR BONE AND MINERAL RESEARCH JUN 2008 LNKD-PUBMED:18086009, vol. 23, no. 6, 17 December 2007 (2007-12-17), pages 777-787, XP002585178, ISSN: 1523-4681

NISHIOKA ET AL: "Enhancement of drug delivery to bone: Characterization of human tissue-nonspecific alkaline phosphatase tagged with an acidic oligopeptide", MOLECULAR GENETICS AND METABOLISM, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, vol. 88, no. 3, 1 July 2006 (2006-07-01), pages 244-255, XP005524861, ISSN: 1096-7192, DOI: 10.1016/J.YMGME.2006.02.012

DUMONT JENNIFER A ET AL: "MONOMERIC FC FUSIONS: IMPACT ON PHARMACOKINETIC AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF PROTEIN THERAPEUTICS", BIODRUGS: CLINICAL IMMUNOTHERAPEUTICS, BIOPHARMACEUTICALS AND GENE THERAPY, ADIS INTERNATIONAL, FR LNKD- DOI:10.2165/00063030-200620030-00002, vol. 20, no. 3, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 151-160, XP009082835, ISSN: 1173-8804

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.** En farmasøytisk sammensetning som omfatter et polypeptid som har sekvensen angitt i SEKV ID Nr.: 4 og en farmasøytisk akseptabel bærer som omfatter natriumklorid og/eller natriumfosfat.

**2.** Sammensetningen ifølge krav 1, hvor:

a) sammensetningen omfatter 150 mM natriumklorid og 25 mM natriumfosfat, pH 7.4; eller

b) sammensetningen er hydratisert fra en frysetørret form; eller

c) polypeptidet er post-translasjonelt modifisert med glykosylering, acetylering, amidering, blokkering, formylering, gamma-karboksyglutaminsyre-hydroksylering, metylering, fosforylering, pyrrolidon-karboksylsyre, eller sulfatering, fortrinnsvis hvor nevnte polypeptid er glykosylert; eller

d) sammensetningen omfatter polypeptidet i en form som omfatter en dimer eller tetramer, fortrinnsvis hvor dimeren er sammenføyd av to disulfidbroer.

**3.** Sammensetningen ifølge krav 1 eller 2, for anvendelse i korrigering eller forhindring av en alkalisk fosfatase mangel i et individ med behov for det.

**4.** Sammensetningen for anvendelse ifølge krav 3, hvor nevnte alkaliske fosfatmangel er hypofosfatasi (HPP) eller periodontal sykdom, fortrinnsvis hvor nevnte periodontale sykdom er forårsaket av en bakteriell infeksjon.

**5.** Sammensetningen for anvendelse ifølge krav 3 eller 4, hvor individet har minst én HPP-fenotype, fortrinnsvis hvor:

a) den minst ene HPP fenotypen omfatter ufullstendig beinmineralisering, fortrinnsvis hvor nevnte ufullstendig beinmineralisering er ufullstendig lårbeynmineralisering, eller ufullstendig skinnbeynmineralisering, eller ufullstendig mellomfotbeynmineralisering, eller ufullstendig ribbeynmineralisering; eller

b) den minst ene HPP-fenotypen omfatter HPP-relatert anfall; eller

c) den minst ene HPP-fenotypen omfatter prematurt tap av melketenner; eller

d) den minst ene HPP-fenotypen omfatter forhøyet blod og/eller urin-nivåer av uorganisk pyrofosfat (PPi); eller

e) den minst ene HPP-fenotypen omfatter forhøyet blod og/eller urin-nivåer av fosfoetanolamin (PEA); eller

f) den minst ene HPP-fenotypen omfatter forhøyet blod og/eller urin-nivåer av pyridoksal-5'-fosfat (PLP); eller

g) den minst ene HPP-fenotypen omfatter utilstrekkelig vektøkning; eller

h) den minst ene HPP-fenotypen omfatter rakitt; eller

5 i) den minst ene HPP-fenotypen omfatter beinsmerter; eller

j) den minst ene HPP-fenotypen omfatter kalsiumpyrofosfat-dihydrat-krystall-avsetting; eller

k) den minst ene HPP-fenotypen omfatter aplasi, hypoplasi, eller dysplasi av dental sement; eller

10 l) den minst ene HPP-fenotypen omfatter osteomalasi.

**6.** Sammensetningen for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 3 til 5, hvor nevnte individ med behov for det har minst én av:

a) infantil HPP; eller

15 b) barndoms HPP; eller

c) perinatal HPP; eller

d) voksen HPP; eller

e) odontohypofosfatasi HPP.

20 **7.** Sammensetningen for anvendelse ifølge krav 3 eller 4, hvor individet har minst én fenotype for periodontal sykdom, fortrinnsvis hvor:

a) fenotypen for minst én periodontal sykdom omfatter dysplasi av dental sement; eller

b) fenotypen for minst én periodontal sykdom omfatter aplasi; eller

25 c) fenotypen for minst én periodontal sykdom omfatter hypoplasi; eller

d) fenotypen for minst én periodontal sykdom omfatter eksfoliering av tenner.

**8.** Sammensetningen for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 3 til 7, hvor nevnte individ er et menneske.

30

**9.** Sammensetningen for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 3 til 8, hvor:

a) sammensetningen er formulert i en dose som gir rundt 0,2 til rundt 20 mg/kg/dag, eller rundt 1,4 til rundt 140 mg/kg/uke; eller

b) sammensetningen er formulert for daglig eller ukentlig administrasjon, eller en fraksjon derav, fortrinnsvis hvor nevnte sammensetning er formulert for administrasjon hver dag, hver andre dag, hver tredje dags, eller hver syvende dag; eller

c) sammensetningen er formulert for subkutan, intravenøs, oral, nasal, intramuskulær, sublingual, intratekal, eller intradermal administrasjon, fortrinnsvis hvor nevnte sammensetning er formulert for subkutan eller intravenøs administrasjon; eller

d) sammensetningen er i formen av en væske, løsning, suspensjon, pille, kapsel, tablett, gelcap, pulver, gel, salve, krem, nebula, tåke, atomisert damp, aerosol, eller fytosom, fortrinnsvis hvor nevnte sammensetning er i formen av en væske; eller

e) sammensetningen er formulert i en dose som gir lik til eller mindre enn 5 mg/kg/dag; eller

f) sammensetningen er formulert i en dose som gir lik til eller mindre enn 0,5 mg/kg/dag; eller

g) sammensetningen er formulert for å gi maksimale sirkulerende nivåer ( $C_{max}$ ) lik til eller mellom 65 mg/l og 396 mg/l av nevnte polypeptid; eller

h) sammensetningen er formulert for å gi maksimale sirkulerende nivåer ( $C_{max}$ ) lik til eller mellom 1230 mg/l og 7720 mg/l av nevnte polypeptid; eller

i) polypeptidet akkumulerer i bein; eller

j) polypeptidet akkumulerer ikke i muskel.

**10.** En fremgangsmåte for å fremstille den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 1, nevnte fremgangsmåte omfatter dyrkning av en rekombinant vertcelle transformert eller transfektert med en rekombinant ekspresjonsvektor som omfatter en nukleinsyre som har en sekvens som koder for polypeptidet ifølge krav 1 i et dyrkningsmedium under betingelser egnet for å bevirke ekspresjon av nevnte polypeptid, gjenvinning av nevnte polypeptid from dyrkningsmediet, og blanding av nevnte polypeptid med farmasøytisk akseptabel bærer som omfatter natriumklorid og/eller natriumfosfat.

**11.** Fremgangsmåten ifølge krav 10, hvor:

a) vertcellen er en Kinesisk hamster-ovarie (CHO)-celle, L-celle, C127-celle, 3T3-celle, BHK-celle, eller COS-7-celle, fortrinnsvis hvor vertcellen er en CHO-celle; eller

b) gjenvinningen omfatter affinitetskromatografi, fortrinnsvis hvor nevnte affinitetskromatografi omfatter Protein A kromatografi eller hydroksyapatitt kromatografi, fortrinnsvis hvor nevnte affinitetskromatografi er Protein A kromatografi; eller

c) den isolerte nukleinsyren ytterligere omfatter et 5' UTR eller N-terminalt signal peptid; eller

d) renheten av nevnte gjenvunne polypeptid er større enn 95 %.

**12.** Et sett som omfatter sammensetningen ifølge krav 1 eller 2, og instruksjoner for anvendelse av nevnte sammensetning i en fremgangsmåte for korrigering eller forhindring av en alkalisk fosfatase-mangel i et individ med behov for det.

**13.** Settet ifølge krav 12, hvor nevnte alkaliske fosfatmangel er HPP eller periodontal sykdom.

**14.** En bein målrettet alkalisk fosfatase som omfatter et polypeptid som har strukturen:

sALP-Y-spacer-X-W<sub>n</sub>,

hvor sALP er det ekstracellulære domenet av den alkaliske fosfatasen;

X er fraværende eller er en aminosyresekvens med minst én aminosyre;

Y er fraværende eller er en aminosyresekvens med minst én aminosyre;

W<sub>n</sub> er en polyaspartat eller en polyglutamat hvor n = 10 til 16; og

spaceren omfatter en fragment-krystalliserbar-region (Fc).

**15.** Den alkaliske fosfatasen ifølge krav 14, hvor:

a) den alkaliske fosfatasen er fysiologisk aktiv mot fosfoetanolamin (PEA), uorganisk pyrofosfat (PPi), og pyridoksal 5'-fosfat (PLP); eller

b) den alkaliske fosfatasen er til stede i en sammensetning som omfatter en farmasøytisk akseptabel bærer som omfatter natriumklorid og/eller natriumfosfat, fortrinnsvis hvor nevnte farmasøytisk akseptabel bærer omfatter 150 mM natriumklorid og 25 mM natriumfosfat, pH 7,4; eller

c) den alkaliske fosfatasen er:

i) en ikke-vevsspesifikk alkalisk fosfatase (tnALP), fortrinnsvis hvor nevnte tnALP er:

- en human tnALP som har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. NP000469, AA110910, AAH90861, AAH66116, AAH21289, eller AAI26I66; eller

- en rhesus-tnALP som har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. XP-001109717; eller

- en rotte-tnALP som har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. NP\_037191; eller

- en hunde-tnALP som har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. AAF64516; eller

- en svine-tnALP som har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. AAN64273; eller

- en muse-tnALP som har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. NP\_031457; eller

- en storfe-tnALP som har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. NP\_789828, NP\_776412, AAI18209, eller AAC33858; eller

- en katte-tnALP som har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. NP\_001036028; eller

ii) en placenta alkalisk fosfatase (pALP), fortrinnsvis hvor nevnte pALP har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. NP\_112603 eller NP\_001623; eller

iii) en kimcelle alkalisk fosfatase (gcALP), fortrinnsvis hvor nevnte gcALP har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. P10696; eller

iv) en intestinal alkalisk fosfatase (iALP), fortrinnsvis hvor nevnte iALP har sekvensen angitt i GenBank aksesjonsnr. NP\_001622; eller

d) den alkaliske fosfatasen omfatter:

i) aminosyrerester 23-508 med SEKV ID Nr.: 15, fortrinnsvis hvor den alkaliske fosfatasen består av aminosyrerester 23-512 med SEKV ID Nr.: 15; eller

ii) aminosyrerester 23-508 med SEKV ID Nr.: 18, fortrinnsvis hvor den alkaliske fosfatasen består av aminosyrerester 23-512 med SEKV ID Nr.: 18; eller

iii) aminosyrerester 18-498 med SEKV ID Nr.: 16, fortrinnsvis hvor den alkaliske fosfatasen består av aminosyrerester 18-502 med SEKV ID Nr.: 16; eller

iv) aminosyrerester 18-498 med SEKV ID Nr.: 19, fortrinnsvis hvor den alkaliske fosfatasen består av aminosyrerester 18-502 med SEKV ID Nr.: 19; eller

e) den alkaliske fosfatasen er i en form som omfatter en dimer eller tetramer, fortrinnsvis hvor dimeren er sammenføyd av to disulfidbroer; eller

5 f) den alkaliske fosfatasen er i en frysetørret form; eller

g) den alkaliske fosfatasen er post-translasjonelt modifisert med glykosylering, acetylering, amidering, blokkering, formylering, gamma-karboksyglutaminsyre hydroksylering, metylering, fosforylering, pyrrolidon karboksylsyre, eller sulfatering, fortrinnsvis hvor den nevnte alkaliske fosfatasen er glykosylert.