



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2673296 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 14/775 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.03.25
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.10.24
(86)	European Application Nr.	12703947.7
(86)	European Filing Date	2012.02.06
(87)	The European Application's Publication Date	2013.12.18
(30)	Priority	2011.02.07, US, 201161440371 P 2011.03.14, US, 201161452630 P 2011.05.17, US, 201161487263 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	Cerenis Therapeutics Holding SA, 33-43 avenue Georges Pompidou Bâtiment D, 31130 Balma, Frankrike
(72)	Inventor	DASSEUX, Jean-Louis, Bât. B7 Allées Charles Malpel, 31300 Toulouse, Frankrike ONICIU, Daniela Carmen, Appt. 30218 Rue Sainte Anne, 31000 Toulouse, Frankrike ACKERMANN, Rose, 9600 Oak Pointe Lane, Northville, MI 48167, USA
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	LIPOPROTEIN COMPLEXES AND MANUFACTURING AND USES THEREOF
(56)	References Cited:	WO-A2-03/096983, R. A. Gangani D. Silva ET AL: "A Mass Spectrometric Determination of the Conformation of Dimeric Apolipoprotein A-I in Discoidal High Density Lipoproteins +", Biochemistry, vol. 44, no. 24, 1 June 2005 (2005-06-01), pages 8600-8607, XP055277601, US ISSN: 0006-2960, DOI: 10.1021/bi050421z, WO-A1-2006/100567, WO-A2-2008/104890, LAW S W ET AL: "NUCLEOTIDE SEQUENCE AND THE ENCODED AMINO-ACIDS OF HUMAN APO LIPO PROTEIN A-I MESSENGER RNA", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 81, no. 1, 1984, pages 66-70, XP002674080, ISSN: 0027-8424, WO-A1-2009/055538, SCHMIDT H H-J ET AL: "Expression and Purification of Recombinant Human Apolipoprotein A-I in Chinese Hamster Ovary Cells", PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, vol. 10, no. 2, 1 July 1997 (1997-07-01), pages 226-236, XP004451785, ISSN: 1046-5928, DOI: 10.1006/PREP.1997.0753, WO-A1-2010/093918, DAVIDSON W S ET AL: "The molecular basis for the difference in charge between pre-beta- and alpha-migrating high density lipoproteins", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 269, no. 12, 25 March 1994 (1994-03-25), pages 8959-8965, XP002391326, ISSN: 0021-9258

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. Sammensetning omfattende en populasjon av lipoproteinkomplekser, hvert omfattende

5 (a) en lipidfraksjon omfattende minst ett nøytralt lipid og minst ett negativt ladet lipid; og

(b) en apolipoproteinfraksjon bestående i det vesentlige av et apolipoprotein A-I ("ApoA-I"),

hvor

10 (i) minst 80% av apolipoproteinet i sammensetningen er i den komplekserte formen;

(ii) minst 80% av lipidet i sammensetningen er i den komplekserte formen;

(iii) ikke mer enn 20% av metioninrestene i apolipoproteinet er oksidert;

(iv) størrelsesfordelingen til lipoproteinkompleksene er minst 85%, minst 90%,

15 minst 95% eller minst 97% homogen, som gjenspeiles av én enkelt topp i gelpermeasjonskromatografi, og

(v) populasjonen ikke inneholder detergent.

2. Sammensetning ifølge krav 1, videre karakterisert ved ett, to, tre eller fire av
20 følgende trekk:

(a) minst 80%, minst 85%, minst 90%, minst 95% av lipoproteinkompleksene er i form av partikler fra 4 nm til 15 nm i størrelse, 6 nm til 15 nm i størrelse, 4 nm til 12 nm i størrelse, 6 nm til 12 nm i størrelse eller 8 nm til 12 i størrelse, målt med gelpermeasjonskromatografi ("GPC") eller dynamisk lysspredning ("DLS");

25 (b) minst 75 vekt%, minst 80 vekt%, minst 85 vekt%, minst 90 vekt% eller minst 95 vekt% av ApoA-I'et i populasjonen foreligger i moden form;

(c) ikke mer enn 25 vekt%, ikke mer enn 20 vekt%, ikke mer enn 15 vekt%, ikke mer enn 10 vekt% eller ikke mer enn 5 vekt% av ApoA-I'et i populasjonen foreligger i umoden form; og

(d) ikke mer enn 25 vekt%, ikke mer enn 20 vekt%, ikke mer enn 15 vekt%, ikke mer enn 10 vekt%, ikke mer enn 5 vekt% av ApoA-I'et i populasjonen er i avkortet form.

5 3. Sammensetning ifølge krav 1 eller krav 2, hvor minst 98 vekt% av ApoA-I'et i populasjonen er uavkortet ApoA-I.

4. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, videre karakterisert ved ett, to, tre, fire eller fem av følgende trekk:

10 (a) ikke mer enn 20%, ikke mer enn 15%, ikke mer enn 10%, ikke mer enn 5%, ikke mer enn 3%, ikke mer enn 2% eller ikke mer enn 1% av hver av metionin 112 og metionin 148 i ApoA-I'et i populasjonen er oksidert;

(b) ikke mer enn 15%, ikke mer enn 10%, ikke mer enn 5%, ikke mer enn 4%, ikke mer enn 3%, ikke mer enn 2% eller ikke mer enn 1% av aminosyrene i ApoA-I'et
15 i populasjonen er deamidert;

(c) populasjonen inneholder ikke mer enn 1 EU, ikke mer enn 0,5 EU, ikke mer enn 0,3 EU eller ikke mer enn 0,1 EU endotoksin per milligram ApoA-I;

(d) populasjonen inneholder ikke mer enn 100 pikogram, ikke mer enn 50 pikogram, ikke mer enn 25 pikogram, ikke mer enn 10 pikogram eller ikke mer enn 5
20 pikogram vertscelle-DNA per milligram ApoA-I; og

(e) populasjonen inneholder ikke mer enn 500 nanogram, ikke mer enn 200 nanogram, ikke mer enn 100 nanogram, ikke mer enn 50 nanogram eller ikke mer enn 20 nanogram vertscelleprotein per milligram ApoA-I.

25 5. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, som inneholder ikke mer enn 200 ppm, ikke mer enn 100 ppm, eller ikke mer enn 50 ppm av et vannfritt løsemiddel.

6. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, fremstilt gjennom
30 en prosess som ikke omfatter et størrelsesfraksjoneringstrinn for å rense

lipoproteinkompleksene.

7. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor ikke mer enn 15 vekt%, eller ikke mer enn 10 vekt%, ikke mer enn 5 vekt% eller ikke mer enn 2 vekt% av lipidet i lipidfraksjonen i kompleksene er kolesterol.
8. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor ApoA-I'et er et humant ApoA-I-protein.
9. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor ApoA-I'et er et rekombinant ApoA-I.
10. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvor ApoA-I'et har minst 95% sekvensidentitet med et protein svarende til aminosyrene 25 til 267 i SEKV. ID NR.: 1.
11. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor lipidfraksjonen omfatter nøytrale fosfolipider, eventuelt hvor de nøytrale fosfolipidene består i det vesentlige av sfingomyelin.
12. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11, hvor det negativt ladde lipidet består i det vesentlige av 1,2-dipalmitoyl-sn-glysero-3-[fosfo-rac-(1-glyserol)] (DPPG).
13. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 12, hvor molforholdet av komponentene av det negativt ladde lipidet til det nøytrale fosfolipidet til ApoA-I'et i populasjonen er 2-6:90-120:1.
14. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor lipidfraksjonen består i det vesentlige av

(a) 95 til 99 vekt % nøytralt fosfolipid og 1 til 5 vekt% negativt ladd fosfolipid;
eller

(b) 96 til 98 vekt % nøytral fosfolipid og 2 til 4 vekt% negativt ladd fosfolipid.

5 15. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor
lipidfraksjonen består i det vesentlige av 97 vekt% nøytral fosfolipid og 3 vekt%
negativt ladd fosfolipid, eventuelt hvor det nøytrale lipidet er naturlig sfingomyelin
eller syntetisk sfingomyelin, og eventuelt hvor lipidet har en peroksidverdi som er
lavere enn 5 meq O/kg, lavere enn 4 meq O/kg, lavere enn 3 meq O/kg eller lavere enn
10 2 meq O/kg.

16. Sammensetning ifølge krav 15, hvor sfingomyelinet er egg-sfingomyelin.

15 17. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 14 til 16, hvor det
negativt ladde fosfolipidet omfatter fosfatidylglyserol.

18. Sammensetning ifølge krav 17, hvor det negativt ladde fosfolipidet omfatter
eller består av et salt av 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glysero-3-[fosfo-*rac*-(1-glyserol)] (DPPG).

20 19. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 18, som har et
vektforhold av apolipoproteinfraksjon til fosfolipidfraksjon i området fra 1:2 til
omtrent 1:3.

25 20. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 19, hvor minst 90%,
minst 95%, eller minst 97% av lipoproteinet foreligger i kompleksert form.

21. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 20, hvor minst 90%,
minst 95%, minst 97%, minst 98%, minst 99% eller 100% av lipidet foreligger i
kompleksert form.

22. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 21, hvor lipoproteinkompleksene videre omfatter et hydrofobt, hydrofilt eller apolart virkestoff, eventuelt hvor virkestoffet omfatter:

(a) en fettsyre, et medikament, en nukleinsyre, et vitamin, et næringsmiddel eller en kombinasjon derav;

(b) et analgetikum, et antiinflammatorisk middel, et anthelmitikum, et antiarytmikum, et antibakterielt middel, et virusdrepende middel, en antikoagulant, et antidepressivt middel, et antidiabetikum, et antiepileptikum, et soppdrepende middel, et middel mot gikt, et blodtrykksnedsettende middel, en antimalariamiddel, et middel mot migrene, et antimuskarint middel, en cytostatikum, et middel for å avhjelpe erektil dysfunksjon, et immunosuppressivt middel, et antiprotozomiddel, et antithyroid middel, et angstdempende middel, et sedativ, et hypnotikum, et nevroleptikum, en β -blokker, et inotrop kardimiddel, et kortikosteroid, et diuretikum, en antiparkinsonmiddel, en gastrointestinalt middel, en histaminreseptorantagonist, et keratolytikum, et lipidreguleringsmiddel, et middel mot angina, en COX-2-inhibitor, et leukotrienhemmer, et makrolid, et muskelavslappende middel, et ernæringsmiddel, en nukleinsyre, som eventuelt er en liten interfererende RNA, et opioid analgetikum, en proteasehemmer, et kjønnshormon, et stimulerende middel, et muskelavslappende middel, et osteoporosehemmende middel, et middel mot fedme, en kognisjonsbedrende middel, et middel mot urininkontinens, en ernæringsolje, et middel mot ondartet prostataforstørrelse, en essensiell fettsyre, en ikke-essensiell fettsyre eller en kombinasjon derav; eller

(c) acetretin, albendazol, albuterol, aminoglutetimid, amiodaron, amlodipin, amfetamin, amfotericin B, atorvastatin, atovakvon, azitromycin, baklofen, beklometason, benezepril, benzonatat, betametason, bikalutanid, budesonid, bupropion, busulfan, butenafin, kalsifediol, kalsipotrien, kalsitriol, kamptotecin, kandesartan, kapsaicin, karbamezepin, karotener, celecoksib, cerivastatin, cetirizin, klorfeniramin, kolekalsiferol, cilostazol, cimetidin, cinnarizin, ciprofloksacin, cisaprid, klaritromycin, klemastin, klomifene, klomipramin, klopido-rel, kodein, koenzym Q10, syklobenzaprin, syklosporin, danazol, dantrolen, deksklorfeniramin, diklofenac, dicoumarol, digoksin, dehydroepiandrosteron, dihydroergotamin, dihydrotakysterol,

diritromycin, donezepil, efavirenz, eposartan, ergocalciferol, ergotamin, kilder til
 essensielle fettsyre, etodolac, etoposid, famotidin, fenofibrat, fentanyl, feksofenadin,
 finasterid, fluconazol, flurbiprofen, fluvastatin, fosfenytoin, frovatriptan, furazolidon,
 gabapentin, gemfibrozil, glibenclamid, glipizid, glyburid, glimepirid, griseofulvin,
 5 halofantrin, ibuprofen, irbesartan, irinotecan, isosorbid-dinitrat, isotretinoin,
 itraconazol, ivermectin, ketoconazol, ketorolac, lamotrigin, lansoprazol, leflunomid,
 lisinopril, loperamid, loratadin, lovastatin, L-tryroksine, lutein, lykopen,
 medroksyprogesteron, mifepriston, meflokin, megestrolacetat, metadon, metoksalen,
 metronidazol, mikonazol, midazolam, miglitol, minoxidil, mitoksantron, montelukast,
 10 nabumeton, nalbufin, naratriptan, nelfinavir, nifedipin, nilsolidipin, nilutanid,
 nitrofurantoin, nizatidin, omeprazol, oprevelkin, oestradiol, oksaprozin, paklitaksel,
 paracalcitol, paroksetin, pentazocin, pioglitason, pizofetin, pravastatin, prednisolon,
 probucol, progesteron, pseudoeffedrin, pyridostigmin, rabeprazol, raloksifen,
 rofecoksib, repaglinid, rifabutin, rifapentin, rimeksolon, ritanovir, rizatriptan,
 15 rosiglitason, sakvinavir, sertralin, sibutramin, sildenafilsitrat, simvastatin, sirolimus,
 spironolakton, sumatriptan, takrin, takrolimus, tamoksifen, tamsulosin, targretin,
 tazaroten, telmisartan, teniposid, terbinafin, terazosin, tetrahydrocannabinol, tiagabin,
 tiklopidin, tirofibrin, tizanidin, topiramate, topotekan, toremifen, tramadol, tretinoin,
 troglitason, trovafloksacin, ubidekarenon, valsartan, venlafaksin, verteporfin,
 20 vigabatrin, vitamin A, vitamin D, vitamin E, vitamin K, zafirlukast, zileuton,
 zolmitriptan, zolpidem, zopiklon eller et salt av et hvilket som helst av de ovennevnte.

23. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22, som er i form av
 en farmasøytisk sammensetning og videre omfatter én eller flere farmasøytisk
 25 akseptable bærere, fortynningsmidler og/eller tilsetningsmidler.

24. Enhetsdoseringsform omfattende en terapeutisk virksom mengde av en
 farmasøytisk sammensetning ifølge krav 23.

30 25. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 21, hvor
 lipoproteinkompleksene videre omfatter en markering, eventuelt hvor:

- (a) ApoA-I'et er merket med markeringen;
- (b) ett eller flere av lipidene i lipidfraksjonen er merket med markeringen;
- (c) markeringen omfatter:
- (i) en radiomarkering, som eventuelt er ^{125}I , ^{14}C , ^3H ;
 - (ii) en fluorescerende markering;
 - (iii) en enzymmarkering;
 - (iv) et fargestoff;
- eller
- (d) en kombinasjon av (a)-(c).

5

10

26. Sammensetning ifølge krav 25, som er i form av en farmasøytisk sammensetning og videre omfatter én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler og/eller tilsetningsmidler.