



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 3356391 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**C07K 14/33 (2006.01)**  
**C12N 9/52 (2006.01)**

**Norwegian Industrial Property Office**

---

|      |                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (45) | Translation Published                                                      | 2020.02.17                                                                                                                                                                                                                                               |
| (80) | Date of The European<br>Patent Office Publication of<br>the Granted Patent | 2019.11.06                                                                                                                                                                                                                                               |
| (86) | European Application Nr.                                                   | 16784802.7                                                                                                                                                                                                                                               |
| (86) | European Filing Date                                                       | 2016.09.27                                                                                                                                                                                                                                               |
| (87) | The European Application's<br>Publication Date                             | 2018.08.08                                                                                                                                                                                                                                               |
| (30) | Priority                                                                   | 2015.10.02, GB, 201517450                                                                                                                                                                                                                                |
| (84) | Designated Contracting<br>States:                                          | AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ;<br>IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ;<br>SK ; SM ; TR                                                        |
| (73) | Proprietor                                                                 | Ipsen Biopharm Limited, Unit 9, Ash Road Wrexham Industrial Estate, Wrexham<br>LL13 9UF, Storbritannia                                                                                                                                                   |
| (72) | Inventor                                                                   | HACKETT, Stephen Gavin, 8 Peck Court, Oxley Park Milton Keynes MK4 4HZ,<br>Storbritannia<br>PALAN, Shilpa, 17 Broad Field Road, Yarnton Oxfordshire OX5 1UL, Storbritannia<br>ANDERSON, Dina, Brady, 42 Beverley Close, Abingdon OX14 1LB, Storbritannia |
| (74) | Agent or Attorney                                                          | BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge                                                                                                                                                                                                       |

---

|      |                      |                                                             |
|------|----------------------|-------------------------------------------------------------|
| (54) | Title                | <b>METHOD FOR PURIFYING CLOSTRIDIAL NEUROTOXIN</b>          |
| (56) | References<br>Cited: | WO-A1-2011/050072<br>WO-A1-2013/091895<br>WO-A1-2015/004461 |

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 rensing av et klostridialt nevrotoksin omfattende:

(a) å bringe en kationbytterharpiks i kontakt med en sammensetning omfattende et klostridialt nevrotoksin, hvori kontakttrinnet utføres i en buffer med en pH høyere enn -1 pH-enhet under den beregnede pl av det klostridiale nevrotoksin, hvor nevnte trinn med å kontakte en kation bytterharpiks med en sammensetning som omfatter nevnte klostridiale nevrotoksin oppstår før omdannelse av nevnte klostridiale nevrotoksin fra en enkeltkjedeform til en di-kjedeform;

(b) separere det klostridiale nevrotoksinet fra kationbytterharpiksen; og

(c) utvinning av det enkeltkjededede klostridiale nevrotoksinet.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor det separerte klostridiale nevrotoksinet er i hovedsakelig ren tilstand.

3. Rensemellomprodukt omfattende et klostridielt nevrotoksin assosiert med en kationbytterharpiks, hvor resemellomproduktet har en pH-verdi på minst pH 6,5, fortrinnsvis minst pH 7,3, og hvor kationbytterharpiksen er i kontakt med nevnte klostridiale nevrotoksin før konvertering av nevnte klostridiale nevrotoksin fra en enkeltkjedeform til en di-kjedeform.

4. Fremgangsmåte eller resemellomprodukt ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, karakterisert ved at pH-verdien er:

(a) minst ca. pH 6,5;

(b) minst ca. pH 7,5, fortrinnsvis ca. pH 7,6, mer foretrukket minst ca. pH 7,7, enda mer foretrukket minst pH 7,8;

(c) mellom ca. pH 7,3 og ca. pH 9,5; eller

(d) mellom ca. pH 7,3 og ca. pH 8,0.

5. Anvendelse av en buffer med en pH-verdi som er høyere enn -1 pH-enhet under den beregnede pl av et enkeltkjedet, klostridialt neurotoksin for kontakt med en sammensetning som omfatter det klostridiale nevrotoksinet med en kationbytterharpiks før omdannelse av nevnte enkeltkjedeform til en di-kjedeform for økt binding og/eller utbytte av det enkeltkjededede klostridiale nevrotoksin, sammenlignet med å bruke en pH-

verdi som er mer enn -1 pH-enheter under den beregnede pl av nevnte klostridiale nevrotoksin under identiske betingelser.

6. Anvendelse ifølge krav 5, hvor pH-verdien er:

(a) minst ca. pH 6,5;

(b) minst den beregnede pl av nevnte klostridiale nevrotoksin, fortrinnsvis minst ca. 0,2 pH-enheter over, mer foretrukket minst 0,5 pH-enheter over den beregnede pl av nevnte klostridiale nevrotoksin;

(c) mellom ca. 0,2 og 1,5 pH-enheter over den beregnede pl av nevnte klostridiale nevrotoksin; eller

(d) mellom ca. 0,2 og ca. 1,0 pH-enheter over den beregnede pl av nevnte klostridiale nevrotoksin.

7. Fremgangsmåte eller anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1, 2 eller 4-6, hvor det å kontakte en kationbytterharpiks med en sammensetning som omfatter et klostridielt nevrotoksin er et første rensetrinn (f.eks. et første kromatografisk rensetrinn).

8. Fremgangsmåte eller anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1, 2 eller 4-6, hvor at rensingen omfatter et eller flere ytterligere trinn.

9. Fremgangsmåte eller anvendelse ifølge krav 8, det ene eller flere ytterlige trinn omfatter å bringe sammensetningen som omfatter et klostridielt nevrotoksin i kontakt med en eller flere ytterligere harpikser, og eventuelt hvor:

(a) kontakt med en eller flere ytterligere harpikser blir utført etter trinnet å bringe kationbytterharpiksen i kontakt med preparatet som omfatter det klostridiale nevrotoksin; og/eller

(b) ett eller flere ytterligere trinn er valgt fra gruppen bestående av anionbytterkromatografi, kationbytterkromatografi, hydrofob interaksjonskromatografi, kromatografi i blandet modus, hydrofob ladning-induksjonskromatografi, gelfiltreringskromatografi og affinitetskromatografi;

hvor fremgangsmåten fortrinnsvis omfatter det ekstra trinn av anionbytterkromatografi etter trinnet med å bringe kationbytterharpiksen i kontakt med preparatet som omfatter

det klostridiale nevrotoksin.

10. Fremgangsmåte eller anvendelse ifølge krav 8 eller 9, hvor det ene eller flere tilleggstrinn omfatter å omdanne botulinum-nevrotoksinet fra en enkeltkjedeform til en di-kjedeform etter utvinning av det enkeltkjededede, klostridiale nevrotoksin.

11. Fremgangsmåte eller anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1, 2 eller 4-10, hvor minst 35% (fortrinnsvis minst 40%, 50% 60%, 70% eller 80%) av det totale klostridiale nevrotoksin i sammensetningen knytter seg til kationbytterharpiksen.

12. Fremgangsmåte, bruk eller resemellomprodukt ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor det klostridiale nevrotoksinet er et eller flere valgt fra gruppen bestående av: *Clostridia botulinum* *Clostridia tetani*, *Clostridia baratii* og *C. butyricum*.

13. Fremgangsmåte, bruk eller resemellemprodukt ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor det klostridiale nevrotoksinet er et botulinumneurotoksin (BoNT), fortrinnsvis en eller flere BoNT(er) valgt fra gruppen bestående av: BoNT/A, BoNT/B, BoNT/C1, BoNT/D, BoNT/E, BoNT/F og BoNT/G, mer foretrukket hvor BoNT er et kationisk BoNT.