



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3466969 B1

NORWAY

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

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.09.09
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.05.08
(86)	European Application Nr.	18195447.0
(86)	European Filing Date	2012.02.06
(87)	The European Application's Publication Date	2019.04.10
(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
(62)	Divided application	EP2673296, 2012.02.06
(73)	Proprietor	Abionyx Pharma SA, 33-43 Avenue Georges Pompidou Bâtiment D, 31130 Balma, Frankrike
(72)	Inventor	DASSEUX, Jean-Louis, Bât. B 7 Allées Charles Malpel, 31300 Toulouse, Frankrike ONICIU, Daniela Carmen, 148 Chemin de Nicol - Appt. 32, 31200 Toulouse, Frankrike ACKERMANN, Rose, 9600 Oak Pointe Lane, Northville, MI 48167, USA

(54)	Title	LIPOPROTEIN COMPLEXES AND MANUFACTURING AND USE THEREOF
(56)	References Cited:	WO-A1-2006/100567, WO-A1-2009/055538, WO-A1-2010/093918, WO-A1-2012/135046, WO-A2-03/096983, WO-A2-2006/020040, US-A1- 2008 234 192, WO-A2-2009/070210, WO-A2-2008/104890 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 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 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

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**5 1.**

En fremgangsmåte for fremstilling av lipoproteinkomplekser, innbefattende:

(a) avkjøling av en startsuspensjon som innbefatter en lipidkomponent og en proteinkomponent fra en temperatur i et første temperaturområde til en temperatur i et andre temperaturområde, hvor:

- 10 (i) lipidkomponenten består hovedsakelig av partikler av lipid;
(ii) proteinkomponenten består hovedsakelig av apolipoproteiner og/eller apolipoproteinmimetiske peptider og eventuelt et lipid i en mengde som er 10 masse-% eller mindre av den totale mengden lipid i utgangssuspensjonen;
- 15 (iii) lipidkomponenten inneholder minst ett nøytralt fosfolipid;
(iv) lipidprotein-molforholdet i nevnte utgangssuspensjon er fra ca. 2:1 til ca. 200:1, mol av apolipoproteiner og/eller apolipoproteinmimetiske peptider definert i ApoA-I-ekvivalenter; og
(v) det første temperaturområdet innbefatter temperaturer fra 12°C under
20 til 12°C over faseovergangstemperaturen til proteinkomponenten, og det andre temperaturområdet innbefatter temperaturer minst ca. 20°C lavere til ca. 40°C lavere enn det første temperaturspenn;
- (b) oppvarming av den avkjølte suspensjonen av (a) fra en temperatur i det andre temperaturområdet til en temperatur i det første temperaturområdet;
- 25 (c) avkjøling av den oppvarmede suspensjon av (b) fra en temperatur i det første temperaturområdet til en temperatur i det andre temperaturområdet;
og
(d) gjenta trinn (b) og (c) til minst 80 % av proteinkomponenten er inkorporert i lipoproteinkomplekser,
- 30 og derved danne lipoproteinkomplekser.

2.

Fremgangsmåten i henhold til krav 1, hvor trinnene (b) og (c) gjentas inntil minst 85 %, minst 90 % eller minst 95 % av proteinkomponenten er inkorporert i

lipoproteinkomplekser.

3.

Fremgangsmåten i henhold til krav 1 eller krav 2, hvor trinnene (b) og (c)
5 gjentas minst tre ganger.

4.

Fremgangsmåten i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor trinnene
(b) og (c) gjentas inntil det erholdes lipoproteinkomplekser med 4 nm til 15 nm i
10 diameter, målt ved gelfiltreringskromatografi.

5.

Fremgangsmåten i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor nevnte
proteinkomponent innbefatter apolipoproteiner, eventuelt hvor nevnte
15 proteinkomponent består hovedsakelig av Apolipoprotein A-I (ApoA-I).

6.

Fremgangsmåten i henhold til krav 5, hvor nevnte proteinkomponent består
hovedsakelig av Apolipoprotein A-I (ApoA-I), og hvor nevnte første
20 temperaturområde er 55°C til 60°C.

7.

Fremgangsmåten i henhold til krav 6, hvor det andre temperaturområdet er
mellom 35°C og 40°C.
25

8.

Fremgangsmåten i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor de
nøytrale lipidene består hovedsakelig av sfingomyelin.

30 **9.**

Fremgangsmåten i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor
startsuspendjonen videre innbefatter negativt ladede lipider, eventuelt hvor (i)
vekt:vekt (vekt:vekt) forholdet mellom de nøytrale og negativt ladede lipidene er
fra ca. 99:1 til 95:5 eller 97:3 og/eller (ii) de negativt ladede lipidene består

hovedsakelig av 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-[fosfo-rac-(1-glycerol)] ("DPPG").

10.

5 Fremgangsmåten i henhold til krav 9, hvor molforholdet mellom komponentene av det negativt ladede lipidet og det nøytrale lipidet til apolipoproteinene og/eller apolipoproteinmimetiske peptider i startuspensjonen er 2-6:90-120:1, hvor mol med apolipoproteiner og/eller apolipoproteinmimetiske peptider er definert i ApoA-I-ekvivalenter.

10 **11.**

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 10, videre innbefattende, før trinn (a), trinnet med å danne startuspensjonen ved en prosess som innbefatter å kombinere lipidkomponenten og proteinkomponenten.

15

12.

Fremgangsmåten i henhold til krav 11, hvor lipidkomponenten og proteinkomponenten hver forvarmes ved en temperatur i det første området.

20 **13.**

Fremgangsmåten i henhold til krav 11 eller 12, som videre innbefatter, før trinnet med å danne startuspensjonen, trinnet med å danne lipidpartiklene ved bruk av høytrykkshomogenisering, eventuelt hvor høytrykkshomogeniseringen innbefatter mikrofluidisering.

25

14.

En fremgangsmåte for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning, innbefattende:

30

- (a) fremstilling av en populasjon av lipoproteinkomplekser i henhold til fremgangsmåten i henhold til et hvilket som helst av kravene 1 til 13; og
- (b) kombinere populasjonen av lipoproteinkomplekser med én eller flere farmasøytisk akseptable hjelpestoffer.