



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2756845 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 31/713 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2017.07.17
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.03.15
(86)	European Application Nr.	14157847.6
(86)	European Filing Date	2010.04.05
(87)	The European Application's Publication Date	2014.07.23
(30)	Priority	2009.04.03, US, 166559 P 2009.04.03, US, 166578 P 2009.04.30, US, 174279 P 2009.04.30, US, 174306 P 2009.06.03, US, 183815 P 2009.06.03, US, 183818 P 2009.06.05, US, 184735 P 2009.11.03, US, 257810 P 2009.11.03, US, 257820 P 2009.12.11, US, 285925 P 2009.12.18, US, 642264 2009.12.18, US, 642371 2009.12.18, US, 642404 2010.02.11, US, 704256 2010.03.01, US, 309266 P 2009.09.17, WO, PCT/US09/005214
(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 MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
(73)	Proprietor	Dicerna Pharmaceuticals, Inc., 87 Cambridgepark Drive, Cambridge, MA 02140, US-USA
(72)	Inventor	Brown, Bob D., 54 Leprechaun Drive, Millington, NJ 07946, US-USA

(54)	Title	Methods and compositions for the specific inhibition of KRAS by asymmetric double-stranded RNA
(56)	References Cited:	WO-A1-93/23057 WO-A1-2005/078095 WO-A2-2005/040379 WO-A2-2007/031091 US-A1- 2002 076 696 US-A1- 2009 043 083 SOUKAINA RÉJIBA ET AL: "K-ras oncogene silencing strategy reduces tumor growth and enhances gemcitabine chemotherapy efficacy for pancreatic cancer treatment", CANCER SCIENCE, vol. 98, no. 7, 1 July 2007 (2007-07-01), pages 1128-1136, XP55063526, ISSN: 1347-9032, DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00506.x

DANIEL KIM ET AL: "RNAi mechanisms and applications", BIOTECHNIQUES, vol. 44 Supplement, no. 4, 1 April 2008 (2008-04-01), pages 613-616, XP55063985, ISSN: 0736-6205, DOI: 10.2144/000112792
HEFNER ET AL: "Increased potency and longevity of gene silencing using validated Dicer substrates.", JOURNAL OF BIOMOLECULAR TECHNIQUES, vol. 19, no. 4, 1 September 2008 (2008-09-01), pages 231-237, XP055050408, ISSN: 1524-0215
AMARZGUIOUI MOHAMMED ET AL: "Principles of Dicer substrate (D-siRNA) design and function", CHUNG-HUA FU CH'AN K'O TSA CHIH - CHINESE JOURNAL OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY, CN, vol. 43, no. 9, 1 January 2008 (2008-01-01), pages 680-684, XP008159473, ISSN: 0529-567X

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.** Isolert dobbelttrådet ribonukleinsyre (dsRNA) omfattende første og andre nukleinsyretråder og en dupleksregion av minst 25 basepar, hvori den andre tråden av dsRNA-et omfatter 1-5 enkelttrådede nukleotider ved dens 3'-terminal, hvori den andre nukleotidtråden er tilstrekkelig komplementær til SEQ ID NO: 161 langs minst 19 nukleotider og høyst 35 nukleotider av den andre oligonukleotidtrådlengden for å redusere KRAS-målgeneekspresjonen når den dobbelttrådede nukleinsyren føres inn i en pattedyrceelle.

10

2. Isolert dsRNA ifølge krav 1, hvori:

a) med start fra det første nukleotidet (posisjon 1) ved 3'-terminalen til den første oligonukleotidtråden, er posisjon 1, 2 og/eller 3 substituert med et modifisert oligonukleotid, og/eller

15

b) 3'-terminalen til den første tråden og 5'-terminalen til den andre tråden danner en butt ende og/eller

c) den første tråden har en lengde på 25 nukleotider, og den andre tråden har en lengde på 27 nukleotider.

20

3. Isolert dsRNA ifølge krav 1 eller 2, hvori den andre tråden omfatter SEQ ID NO: 26 og/eller første tråden omfatter SEQ ID NO: 105.

4. Isolert dsRNA ifølge krav 2 a), hvori den modifiserte nukleotidresten til den første trådens 3'-terminal er valgt fra gruppen bestående av et deoksyribonukleotid, et acyklonukleotid og et fluorescent molekyl.

25

5. Isolert dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori

a) nukleotidene til 3'-overhenget omfatter et modifisert nukleotid, og/eller

b) det modifiserte nukleotidet til 3'-overhenget er et 2'-O-metylribonukleotid og/eller

30

c) alle nukleotidene til 3'-overhenget er modifiserte nukleotider og/eller

d) 3'-overhenget har en lengde på 1-2 nukleotider og/eller

e) den andre oligonukleotidtråden, med start fra nukleotidresten til den andre tråden som er komplementær til den første oligonukleotidtrådens 5'-terminalnukleotidrest, omfatter alternerende modifiserte og umodifiserte nukleotidrester.

35

- 5 **6.** Isolert dobbelttrådet nukleinsyre ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, omfattende minst ett modifisert nukleotid valgt fra gruppen bestående av et deoksyribonukleotid, et dideoksyribonukleotid, et asyklonukleotid, et 3'-deoksyadenosin (cordycepin), a 3'-azido-3'-deoksytymidin (AZT), et 2',3'-dideoksyinosin (ddI), et 2',3'-dideoksy-3'-tiacytidin (3TC), et 2',3'-didehydro-2',3'-dideoksytymidin (d4T), en 4-tiouracil, en 5-bromouracil, en 5-iodouracil, en 5-(3-aminoallyl)-uracil, et 2'-O-alkylribonukleotid, et 2'-O-metylribonukleotid, et 2'-aminoribonukleotid, et 2'-fluorribonukleotid og en låst nukleinsyre.
- 10 **7.** Fremgangsmåte for å redusere ekspresjon av et KRAS målgen i en pattedyr-celle, omfattende å bringe en pattedyr-celle i kontakt *in vitro* med et isolert dsRNA som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 6 i en mengde som er tilstrekkelig til å redusere ekspresjon av et KRAS målgen i cellen.
- 15 **8.** Isolert dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6 for anvendelse som medikament, foretrukket hvori medikamentet er til å redusere ekspresjon av et KRAS målgen hos et pattedyr, omfattende å administrere det isolerte dsRNA-et til et pattedyr i en mengde som er tilstrekkelig til å redusere ekspresjon av et KRAS målgen hos et pattedyr.
- 20 **9.** Isolert dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6 for anvendelse som medikament eventuelt ifølge krav 8, foretrukket hvori medikamentet er for selektivt å hemme veksten av en celle, omfattende å bringe en celle i kontakt med en mengde av det isolerte dsRNA-et som er tilstrekkelig til å hemme cellens vekst.
- 25 **10.** Anvendelse av et isolert dsRNA som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 6 for selektivt å hemme veksten av en celle *in vitro*, omfattende å bringe en celle i kontakt med en mengde av det isolerte dsRNA-et som er tilstrekkelig til å hemme cellens vekst.
- 30 **11.** Isolert dsRNA ifølge krav 9, hvori administreringstrinnet omfatter en måte valgt fra gruppen bestående av intravenøs injeksjon, intramuskulær injeksjon, intraperitoneal injeksjon, infusjon, subkutan injeksjon, transdermal, aerosol-, rektal, vaginal, topisk, oral og inhalert levering, og/eller hvori cellen er en tumorcelle til et individ, og/eller cellen er en tumorcelle *in vitro*, og/eller cellen er en human celle.
- 35

- 5 **12.** Formulering omfattende det isolerte dsRNA-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvori dsRNA-et er til stede i en mengde som er effektiv til å redusere KRAS-målets RNA-nivåer når dsRNA-et føres inn i en pattedyrce­lle *in vitro* i en mengde (uttrykt i %) valgt fra gruppen bestående av minst 10 %, minst 50 % og minst 80-90 % analysert *in vitro* i en pattedyrce­lle i en effektiv konsentrasjon i miljøet til en celle på 1 nanomol eller mindre.
- 10 **13.** Pattedyrce­lle inneholdende det isolerte dsRNA-et som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 6.
- 15 **14.** Farmasøytisk sammensetning omfattende det isolerte dsRNA-et som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 6 og en farmasøytisk akseptabel bærer.
- 20 **15.** Kit omfattende det isolerte dsRNA-et som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 6 og instruksjoner for anvendelse av dette.
- 25 **16.** Sammen­setning som har KRAS-hemmende aktivitet, bestående hovedsakelig av en isolert dobbelttrådet ribonukleinsyre (dsRNA) omfattende første og andre nukleinsyretråder og en dupleksregion av minst 25 basepar, hvori den andre tråden av dsRNA-et omfatter 1-5 enkelttrådede nukleotider ved dens 3'-terminal, hvori den andre nukleotidtråden er tilstrekkelig komplementær til SEQ ID NO: 161 langs minst 19 nukleotider og høyst 35 nukleotider av den andre oligonukleotidtrådlengden for å redusere KRAS-målets genekspresjon når den dobbelttrådede nukleinsyren føres inn i en pattedyrce­lle.