



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2828332 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C08L 5/08 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
C07H 21/00 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
C12N 15/87 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2017.10.09
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.05.10
(86)	European Application Nr.	13763497.8
(86)	European Filing Date	2013.03.15
(87)	The European Application's Publication Date	2015.01.28
(30)	Priority	2012.03.21, US, 201261613885 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	enGene, Inc., 2386 East Mall Suite 111, Vancouver, British Columbia V6T 1Z3, CA-Canada
(72)	Inventor	GAO, Jun, 607 Langside Avenue, Coquitlam, British Columbia V3J 2Y7, CA-Canada HSU, Eric, 5870 Fremlin Street, Vancouver, British Columbia V5Z 3W7, CA-Canada CHEUNG, Anthony, 3-3960 St Hubert, Montreal, QC, CA-Canada
(74)	Agent or Attorney	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Title	DUALLY DERIVATIZED CHITOSAN NANOPARTICLES AND METHODS OF MAKING AND USING THE SAME FOR GENE TRANSFER IN VIVO
(56)	References Cited:	WO-A1-2008/082282 PARK, J.H. ET AL.: 'Synthesis and characterization of sugar bearing chitosan derivatives: aqueous solubility and biodegradability.' BIOMACROMOLECULES vol. 4, 2003, pages 1087 - 1091, XP055168092 ZHU, D. ET AL.: 'Enhancement of transfection efficiency for HeLa cells via incorporating arginine moiety into chitosan.' CHINESE SCIENCE BULLETIN vol. 52, no. 23, December 2007, pages 3207 - 3215, XP002574180 GAO, Y ET AL.: 'Arginine-chitosan/DNA self assembly nanoparticle for gene delivery: In vitro characteristics and transfection efficiency.' INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS vol. 359, 2008, pages 241 - 246, XP022707722 MAO, S. ET AL.: 'Chitosan-based formulations for delivery of DNA and siRNA.' ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS vol. 62, 2010, pages 12 - 27, XP026877912

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/>

**DOBBELTDERIVATISERTE KITOSANNANOPARTIKLER OG
FREMGANGSMÅTER FOR Å LAGE OG ANVENDE DET SAMME FOR
GENOVERFØRING IN VIVO**

Patentkrav

- 5 1. Kitosan-derivatnanopartikkel som omfatter kitosan koblet med glukonsyre og arginin.
2. Nanopartikkelen ifølge krav 1, hvori kitosanet kobles med glukonsyre ved en innledende konsentrasjon på 5 til 60 %, eventuelt 8 til 30 % og videre eventuelt 3 til 10 %.
- 10 3. Nanopartikkelen ifølge krav 2, hvori kitosanet kobles med glukonsyre i en sluttkonsentrasjon på 5 %.
4. Nanopartikkelen ifølge ett av kravene 1-3, hvori kitosanet kobles med arginin i en konsentrasjon på 10 til 55 %.
- 15 5. Sammensetning som omfatter nanopartikkelen ifølge ett av kravene 1-4, hvori kitosanet er kompleksdannet med en nukleinsyre for å danne et dobbeltderivatisert (DD) kitosannukleinsyrepolypleks.
- 20 6. Sammensetningen ifølge krav 5, hvori nukleinsyren velges fra gruppen som består av peptidnukleinsyre (PNA), fosfordiamidatmorfolino (PMO), låst nukleinsyre (LNA), glykolnukleinsyre (GNA) og treosenukleinsyre (TNA).
7. Sammensetningen ifølge krav 5, hvori nukleinsyren er DNA eller RNA.
- 25 8. Sammensetningen ifølge krav 7, hvori RNA-et velges fra gruppen som består av antisense RNA, siRNA, kort hårnål RNA, mikro-RNA og enzymatisk RNA.
9. Sammensetningen ifølge ett av kravene 1-8, hvori amin- til fosfatforholdet til DD-kitosannukleinsyrepolyplekset er mellom 2 og 100, og er eventuelt mellom 2 og 50, og er videre eventuelt mellom 2 og 30 og er videre eventuelt mellom 2 og 15.
- 30 10. Sammensetningen ifølge ett av kravene 5-9, hvori DD-kitosannukleinsyrepolyplekset har en kombinasjonsgrad av funksjonalisering med argininet og glukonsyren på 1-60 %, og

eventuelt har en kombinert funksjonsgrad med argininet og glukonsyren på 1-30 %.

11. Sammensetningen ifølge ett av kravene 5-10, hvori DD-kitosannukleinsyrepolyplekset omfatter kitosanmolekyler som har en gjennomsnittlig molekylvekt på mindre enn 110 kDa, eventuelt mindre enn 65 kDa, videre eventuelt mindre enn 50 kDa, videre eventuelt mindre enn 30 kDa, videre eventuelt mindre enn 10 kDa eller videre eventuelt mindre enn 5 kDa før kobling med glukonsyren og argininet.
12. Sammensetningen ifølge ett av kravene 5-11, hvori DD-kitosannukleinsyrepolyplekset har en gjennomsnittlig polydispersitetsindeks (PDI) på mindre enn 0,5, eventuelt mindre enn 0,4, videre eventuelt mindre enn 0,3, eller videre eventuelt mindre enn 0,25.
13. Sammensetningen ifølge ett av kravene 5-12, hvori DD-kitosannukleinsyrepolyplekset har et molforhold mellom argininet og glukonsyren mellom 100:1 og 1:100, eventuelt mellom 50:1 og 1:50, videre eventuelt mellom 10:1 og 1:10, videre eventuelt mellom 5:1 og 1:5, eller videre eventuelt mellom 2:1 og 1:2
14. *In vitro* fremgangsmåte for å levere et nukleinsyremolekyl til en celle som omfatter å bringe cellen i kontakt med en sammensetning som omfatter en kitosanderivatnanopartikkel ifølge ett av kravene 1-13.
15. Sammensetning som omfatter et kitosanderivatnanopartikkel ifølge ett av kravene 1 til 13 for anvendelse ved behandling av diabetes, hvori nanopartikkelen er kompleksdannet med et nukleinsyremolekyl som koder for insulin, en glukagonantagonist, GLP-1 eller leptin for å danne et dobbelderivatisert (DD) kitosannukleinsyrepolypleks.
16. Sammensetning som omfatter en kitosanderivatnanopartikkel ifølge ett av kravene 1 til 13 for anvendelse ved behandling av inflammatorisk tarmsykdom hvori nanopartikkelen er kompleksdannet med et nukleinsyremolekyl som koder for IL-10, en TNF α -antagonist eller en IL-17-antagonist for å danne et dobbelderivatisert (DD) kitosannukleinsyrepolypleks.
17. Sammensetning som omfatter en kitosanderivatnanopartikkel ifølge ett av kravene 1 til 13 for anvendelse ved behandling av fedme hvori nanopartikkelen er kompleksdannet med et nukleinsyremolekyl som koder for leptin,olecystokinin, PYY eller GLP-1 for å danne et

dobbelderivatisert (DD) kitosannukleinsyrepolyleks.