



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2836595 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/113 (2010.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2017.11.27
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.06.14
(86)	European Application Nr.	13721433.4
(86)	European Filing Date	2013.04.10
(87)	The European Application's Publication Date	2015.02.18
(30)	Priority	2012.04.10, US, 201261622288 P 2013.03.15, US, 201313835613
(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	Alnylam Pharmaceuticals, Inc., 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, US-USA Icahn School of Medicine at Mount Sinai, One Gustave L. Levy Place, New York, NY 10029, US-USA
(72)	Inventor	BETTENCOURT, Brian, 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, US-USA FITZGERALD, Kevin, 40 Williams Street Apt. 202, Brookline, MA 02446, US-USA QUERBES, William, Alnylam Pharmaceuticals Inc. 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, US-USA YASUDA, Makiko, 100 Overlook Terrace Apartment 612, New York, NY 10040, US-USA DESNICK, Robert, J., 170 East 93rd Street, New York, NY 10128, US-USA
(74)	Agent or Attorney	Tandberg Innovation AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	COMPOSITIONS AND METHODS FOR INHIBITING EXPRESSION OF THE ALAS1 GENE
(56)	References Cited:	EP-A1- 1 752 536 WO-A1-2007/131274 WO-A2-2009/073809 WO-A2-2009/134487 WO-A2-2010/148013 WO-A2-2013/074974 NIKOLAUS SCHULTZ ET AL: "Off-target effects dominate a large-scale RNAi screen for modulators of the TGF- β pathway and reveal microRNA regulation of TGFB β 2", SILENCE, vol. 2, no. 1, 14 March 2011 (2011-03-14), page 3, XP055071102, ISSN: 1758-907X, DOI: 10.1101/gad.13.7.804 "ALAS1 Pre-design Chimera RNAi", www.abnova.com , 22 January 2010 (2010-01-22), XP002701598, Retrieved from the Internet: URL: http://www.abnova.com/PDFServer/output/s/H00000211-R02.pdf [retrieved on 2013-07-11] L. YIN ET AL: "Rev-erb , a Heme Sensor That Coordinates Metabolic and Circadian Pathways", SCIENCE, vol. 318, no. 5857, 14 December 2007 (2007-12-14), pages 1786-1789, XP055071004, ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.1150179 J. L. ESTALL ET AL: "PGC-1 negatively regulates hepatic FGF21 expression by modulating the

heme/Rev-Erb axis", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 106, no. 52, 29 December 2009 (2009-12-29), pages 22510-22515, XP055071011, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.0912533106

SCHUURMANS M M ET AL: "ZINC MESOPORPHYRIN REPRESSES INDUCED HEPATIC 5-AMINOLEVULINIC ACID SYNTHASE AND REDUCES HEME OXYGENASE ACTIVITY IN A MOUSE MODEL OF ACUTE HEPATIC PORPHYRIA", HEPATOLOGY, WILEY, USA, vol. 33, no. 5, 1 May 2001 (2001-05-01), pages 1217-1222, XP009019707, ISSN: 0270-9139, DOI: 10.1053/JHEP.2001.24170

RICHARD J HIFT ET AL: "Drugs in porphyria: From observation to a modern algorithm-based system for the prediction of porphyrogenicity", PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS, vol. 132, no. 2, 16 June 2011 (2011-06-16) , pages 158-169, XP028280082, ISSN: 0163-7258, DOI: 10.1016/J.PHARMTHERA.2011.06.001 [retrieved on 2011-06-16]

ZHENG J ET AL: "Tissue-specific expression of ALA synthase-1 and heme oxygenase-1 and their expression in livers of rats chronically exposed to ethanol", FEBS LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 582, no. 13, 11 June 2008 (2008-06-11), pages 1829-1834, XP022699016, ISSN: 0014-5793, DOI: 10.1016/J.FEBSLET.2008.04.047 [retrieved on 2008-05-08]

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/>

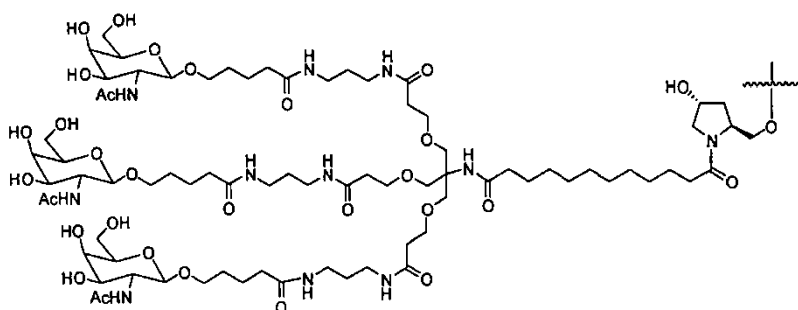
Patentkrav

1. En dobbelt-trådet ribonukleinsyre (dsRNA) for å inhibere ekspresjon av ALAS1, hvor dsRNA omfatter:

- (i) en antisenstråd komplementær til minst nukleotider 871-889 av SEKV ID Nr.:1;
- (ii) en senstråd som omfatter minst 15 fortløpende nukleotider fra SEKV ID Nr.:1295; og
- (iii) en ligand som omfatter ett eller flere N-acetylgalaktosamin (GalNAc)-derivater.

2. dsRNA ifølge krav 1, hvor nevnte dsRNA omfatter minst ett modifisert nukleotid, hvor minst ett av de modifiserte nukleotidene er valgt fra gruppen bestående av: et 2'-O-metyl modifisert nukleotid, et nukleotid som omfatter en 5'-fosfortioatgruppe, et terminalt nukleotid bundet til et kolesteryl-derivat eller dodecansyre-bisdecylamid-gruppe, et 2'-deoksy-2'-fluor-modifisert nukleotid, et 2'-deoksy-modifisert nukleotid, et låst nukleotid, et abasisk nukleotid, et 2'-amino-modifisert nukleotid, et 2'-alkyl-modifisert nukleotid, et morfolino-nukleotid, et fosforamidat, og en ikke-naturlig base som omfatter nukleotid.

3. dsRNA ifølge krav 1 eller 2, hvor GalNAc-derivativstrukturen er som vist nedenfor og er bundet til 3' enden av senstråden av dsRNA



4. dsRNA ifølge krav 1, 2 eller 3, hvor antisenstråden omfatter sekvensen med SEKV ID Nr.: 1296.

5. dsRNA ifølge krav 4, hvor senstråden omfatter sekvensen med SEKV ID Nr.:1295.

6. dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, som omfatter en dupleks-region på 15 til 30 basepar i lengde.

7. dsRNA ifølge krav 6, hvor nevnte dupleksregion er 19 til 23 basepar i lengde.

8. dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 to 7, hvor hver tråd ikke er mer enn 30 nukleotider i lengde.

9. En farmasøytisk sammensetning for å inhibere ekspresjon av et ALAS1-gen, sammensetningen omfatter dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor fortrinnsvis nevnte sammensetning skal administreres intravenøst eller subkutant.

10. En fremgangsmåte for å inhibere ALAS1-ekspresjon i en celle, fremgangsmåten som omfatter:

(a) å introdusere inn i cellen dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, og
(b) å opprettholde cellen fra trinn (a) i en tid tilstrekkelig til å oppnå nedbrytning av mRNA-transkriptet av et ALAS1-gen, for dermed å inhibere ekspresjon av ALAS1-genet i cellen,
hvor enhver fremgangsmåte for behandling menneske eller dyrekroppen ved terapi er ekskludert.

11. En fremgangsmåte for å senke et nivå av et porfyrin eller en porfyrinforløper i en celle, som omfatter å kontakte cellen med dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, i en mengde som er effektiv til å senke nivået av porfyrinet eller porfyrinforløperen i cellen, hvor enhver fremgangsmåte for behandling menneske eller dyrekroppen ved terapi er ekskludert.

12. Et dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge krav 9 for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av en lidelse relatert til ALAS1-ekspresjon, hvor en terapeutisk effektiv mengde av nevnte dsRNA eller nevnte sammensetning skal administreres til et individ med behov for slik behandling.

13. dsRNA for anvendelse ifølge krav 12, hvor

(a) individet står i fare for å utvikle, eller er diagnostisert med, en porfyri;

(b) nevnte fremgangsmåte

(i) forbedrer et symptom assosiert med en ALAS1 relatert lidelse (f.eks. en porfyri),

(ii) hemmer ALAS1-ekspresjon i individet,

(iii) reduserer et nivå av en porfyrinforløper eller et porfyrin i individet,

(iv) reduserer frekvensen av akutte anfall av symptomer assosiert med en porfyri i individet, eller

(v) reduserer forekomsten av akutte anfall av symptomer assosiert med en porfyri i individet når individet er eksponert for en presipiterende faktor;

(c) porfyrien er en hepatisk porfyri valgt fra akutt intermitterent porfyri (AIP), arvelig koproporfyri (HCP), variegat porfyri (VP), ALA dehydratase-mangel porfyri (ADP), og hepatoerytropoietisk porfyri;

(d) dsRNA skal administreres før, under, eller etter et akutt anfall av porfyri;

5 (e) dsRNA skal administreres under et prodrom, hvor fortrinnsvis prodromet er **karakterisert ved** smerte, kvalme, psykologiske symptomer, rastløshet eller søvnløshet; eller

(f) individet har et forhøyet nivå av ALA og/eller PBG.

10 **14.** En *in vitro* eller *ex vivo* celle som omfatter dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8.