



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2929031 B9

NORWAY

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

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2018.03.26	
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.10.25	
(86)	European Application Nr.	13811327.9	
(86)	European Filing Date	2013.12.05	
(87)	The European Application's Publication Date	2015.10.14	
(30)	Priority	2012.12.05, US, 201261733518 P 2013.03.15, US, 201361793530 P	2013.10.04, US, 201361886916 P 2013.10.17, US, 201361892188 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	
	Correction in the Gazette	2021.09.06	
	Correction in EPO	2020.08.12	
(73)	Proprietor	Alnylam Pharmaceuticals, Inc., 675 West Kendall Street, Henri A. Termeer Square, MA02142, CAMBRIDGE, USA	
(72)	Inventor	BORODOVSKY, Anna, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA KALLANTHOTTATHIL, Rajeev G., 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA FITZGERALD, Kevin, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA FRANK-KAMENETSKY, Maria, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA QUERBES, William, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA MAIER, Martin, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA CHARISSE, Klaus, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA KUCHIMANCHI, Satyanarayana, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA MANOHARAN, Muthiah, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA MILSTEIN, Stuart, 300 Third Street 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA	
(74)	Agent or Attorney	OSLO PATENTKONTOR AS, Hoffsvæien 1A, 0275 OSLO, Norge	

(54) Title **PCSK9 IRNA COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF**

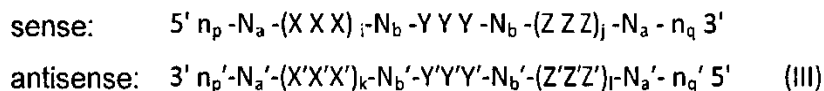
(56) References
Cited: WO-A2-2012/058693, WO-A2-2010/148013

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:

5 Patentkrav

1. Dobbeltrådet RNAi-agent i stand til å hemme ekspresjon av PCSK9 (Proprotein Konvertase Subtilisin Kexin 9) i en celle, hvor den dobbeltrådede RNAi-agenten omfatter:

- 10 (a) en sense-tråd som er komplementær til en antisense-tråd, hvor antisense-tråden omfatter et område som er komplementært til en del av et mRNA-kodende PCSK9, hvor hver tråd er omtrent 17 til omtrent 30 nukleotider lang, hvor antisense-tråden omfatter minst 17 nukleotider fra nukleobasesekvensen ACAAAGCAAAACAGGUCUAG (SEKV. ID NR.: 412) og den dobbeltrådede
- 15 RNAi-agenten er representert ved formel (III):



hvor:

- 20 hver av i, j, k og l uavhengig er 0 eller 1; hver av p, p', q og q' uavhengig er 0-6;

- hver N_a og N_a' uavhengig representerer en oligonukleotidsekvens omfattende 0-25 nukleotider som enten er modifisert eller umodifisert eller kombinasjoner av dette, idet hver sekvens omfatter minst to forskjellig modifiserte
- 25 nukleotider;

hver N_b og N_b' uavhengig representerer en oligonukleotidsekvens omfattende 0-10 nukleotider som enten er modifisert eller umodifisert eller kombinasjoner av dette;

- hver n_p , n_p' , n_q og n_q' , som hver kan, men ikke trenger å forefinnes,
- 30 uavhengig representerer en overheng-nukleotid;

hver av XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' og Z'Z'Z' uavhengig representerer ett motiv av tre identiske modifikasjoner på tre etterfølgende nukleotider;

modifikasjoner på N_b er forskjellige fra modifikasjonen på Y og modifikasjoner på N_b' er forskjellige fra modifikasjonen på Y';

5 hvor modifikasjonene på nukleotidene er 2'-O-metyl- eller 2'-fluor-modifikasjoner; og

hvor liganden er én eller flere GalNAc-derivater tilknyttet gjennom en toverdig eller treverdig forgrenet linker; eller

(b) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen

10 asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa og en sense-tråd bestående av nukleotidsekvensen csusagacCfuGfudTuugcuuuugu,

hvor a, g, c og u henholdsvis er 2'-O-metyl (2'-OMe)-modifiserte A-, G-, C- og U-nukleotider; Af, Gf, Cf og Uf henholdsvis er 2'-fluor-modifiserte A-, G-, C- og U-nukleotider; dT er a deoksytymin-nukleotid og s er en fosforotioat-kobling;

15 og hvor sense-tråden er konjugert til minst én ligand.

2. Dobbeltrådet RNAi-agent ifølge krav 1, hvor

(a) antisense-tråden omfatter nukleobasesekvensen

ACAAAAGCAAAACAGGUCUAGAA (SEKV. ID NR.: 418);

20 (b) sense-tråden omfatter nukleobasesekvensen

AGACCUGUUUUGCUUUUGU (SEKV. ID NR.: 191);

(c) sense-tråden omfatter nukleobasesekvensen

CUAGACCUGUUUUGCUUUUGU (SEKV. ID NR.: 197);

(d) antisense-tråden omfatter nukleobasesekvensen

25 ACAAAAGCAAAACAGGUCUAGAA (SEKV. ID NR.: 418) og sense-tråden

omfatter nukleobasesekvensen CUAGACCUGUUUUGCUUUUGU (SEKV. ID NR.: 197);

(e) antisense-tråden omfatter nukleobasesekvensen

ACAAAAGCAAAACAGGUCUAG (SEKV. ID NR.: 412) og sense-tråden omfatter

30 nukleobasesekvensen AGACCUGUUUUGCUUUUGU (SEKV. ID NR.: 191); eller

(f) antisense-tråden omfatter nukleobasesekvensen

ACAAAAGCAAAACAGGUCUAGAA (SEKV. ID NR.: 418) og sense-tråden omfatter nukleobasesekvensen CUAGACCUGUTUUGCUUUUGU (SEKV. ID NR.: 1665).

5

3. Dobbeltrådet RNAi-agent ifølge krav 1, hvor det dobbeltrådede området er 17-23 nukleotidpar langt, 17-25 nukleotidpar langt, 23-27 nukleotidpar langt, 19-21 nukleotidpar langt eller 21-23 nukleotidpar langt.

10 4. Dobbeltrådet RNAi-agent ifølge krav 1, hvor dsRNA'et omfatter:

(a) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen

aCfaAfaAfgCfaAfaacAfgGfuCfuAfgsAfsa (SEKV. ID NR.: 1151) og en sense-tråd bestående av nukleotidsekvensen CfuAfgAfcCfuGfUfUfuUfgCfuUfuUfgUf (SEKV. ID NR.: 600);

15 (b) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen

aCfaAfAfAfgCfaAfaacAfgGfuCfuAfgsAfsa (SEKV. ID NR.: 1246) og en sense-tråd bestående av nukleotidsekvensen CfuAfgAfcCfuGfUfUfuUfgCfuuuUfgUf (SEKV. ID NR.: 695);

(c) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen

20 aCfaaaaAfgCfaAfaacAfgGfuCfuAfgsAfsa (SEKV. ID NR.: 1253) og en sense-tråd bestående av nukleotidsekvensen CfuAfgAfcCfuGfUfUfuUfgCfuUfUfUfgUf (SEKV. ID NR.: 702);

(d) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen

25 aCfaAfAfAfgCfaAfaacAfgGfuCfusAfsa (SEKV. ID NR.: 1263) og en sense-tråd bestående av nukleotidsekvensen AfgAfcCfuGfUfUfuUfgCfuuuUfgUf (SEKV. ID NR.: 712);

(e) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen

30 aCfaaaaAfgCfaAfaacAfgGfuCfusAfsa (SEKV. ID NR.: 1269) og en sense-tråd bestående av nukleotidsekvensen AfgAfcCfuGfUfUfuUfgCfuUfUfUfgUf (SEKV. ID NR.: 718);

(f) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen asCfsaAfaAfgCfaAfaacAfgGfuCfuAfgsasa (SEKV. ID NR.: 1369) og en sense-tråd bestående av nukleotidsekvensen CfsusAfgAfcCfuGfUfUfuUfgCfuUfuUfgUf (SEKV. ID NR.: 818);

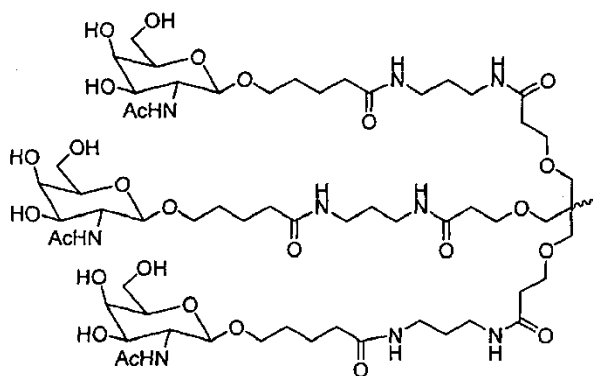
5 (g) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen asCfsaAfaagCfaAfaacAfgGfucuAfgsasa, og en sense-tråd bestående av nukleotidsekvensen CfsusAfgAfcCfuGfUfUfuUfgcuuuugu; eller

(h) en antisense-tråd bestående av nukleotidsekvensen asCfsaAfaAfgCfaAfaacAfgGfuCfsuAfgsasa (SEKV. ID NR.: 1400) og en sense-tråd
10 bestående av nukleotidsekvensen CfsusAfgAfcCfuGfUfUfuUfgCfsuUfsuUfsgsUfs (SEKV. ID NR.: 849);

hvor a, g, c og u henholdsvis er 2'-O-metyl (2'-OMe)-modifiserte A-, G-, C- og U-nukleotider; Af, Gf, Cf og Uf henholdsvis er 2'-fluor-modifiserte A-, G-, C- og U-nukleotider; dT er en deoksytymin-nukleotid og s er en fosforotioat-kobling.

15

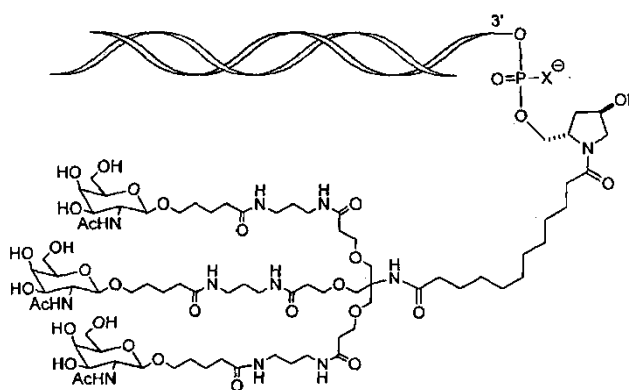
5. Dobbeltrådet RNAi-agent ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor liganden er



20

6. Dobbeltrådet RNAi-agent ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor liganden er knyttet til 3'-enden av sense-tråden.

25 7. Dobbeltrådet RNAi-agent ifølge krav 6, hvor RNAi-agenten er konjugert til liganden som vist i følgende skjema



hvor X er O eller S.

5

8. Dobbeltrådet RNAi-agent ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor sense-tråden har totalt 21 nukleotider og antisense-tråden har totalt 23 nukleotider.

9. In vitro-celle inneholdende den dobbelttrådede RNAi-agenten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8.

10

10. Farmasøytisk sammensetning omfattende den dobbelttrådede RNAi-agenten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8.

11. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 10, hvor

15

(a) RNAi-agenten skal administreres i en ubufret løsning, hvor fortrinnsvis den ubufrede løsningen er saltløsning eller vann; eller

(b) RNAi-agenten skal administreres med en bufferløsning, hvor fortrinnsvis bufferløsningen omfatter acetat, sitrat, prolamin, karbonat eller fosfat eller en hvilken som helst kombinasjon derav, og hvor mest foretrukket bufferløsningen er fosfatbufret saltløsning (PBS).

20

12. Fremgangsmåte for å hemme PCSK9-ekspresjon i en celle, fremgangsmåten omfattende å:

(a) bringe cellen i kontakt med den dobbelttrådede RNAi-agenten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge krav 10 eller 11; og

(b) opprettholde cellen frembragt i trinn (a) i en periode tilstrekkelig til å oppnå nedbrytning av mRNA-transkriptet til et PCSK9-gen, og med det hemme ekspresjon av PCSK9-genet i cellen, hvor fremgangsmåter for behandling av menneske- eller dyrekropper gjennom terapi er utelukket.

10 13. Dobbelttrådet RNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8 eller farmasøytisk sammensetning ifølge krav 10 eller 11 for bruk i en fremgangsmåte for behandling av et individ som har en lidelse mediert gjennom PCSK9-ekspresjon.

14. Dobbelttrådet RNA eller farmasøytisk sammensetning for bruk ifølge krav 13, hvor

(a) indivitet er et menneske;

(b) lidelsen er hyperkolesterolemi;

(c) den dobbelttrådede RNAi-agenten skal administreres i en dose på omtrent 0,01 mg/kg til omtrent 10 mg/kg, omtrent 0,5 mg/kg til omtrent 50 mg/kg, eller omtrent 10 mg/kg til omtrent 30 mg/kg; og/eller

(d) den dobbelttrådede RNAi-agenten skal administreres subkutant eller intravenøst.

15. Dobbelttrådet RNA eller farmasøytisk sammensetning for bruk ifølge krav 13 eller 14,

hvor RNAi-agenten skal administreres i et doseringsregime som inkluderer en innledningsfase etterfulgt av en vedlikeholdsfasen,

hvor innledningsfasen omfatter administrering av en dose på 2 mg/kg, 1 mg/kg eller 0,5 mg/kg fem ganger i uken, og

hvor vedlikeholdsfasen omfatter administrering av en dose på 2 mg/kg, 1 mg/kg eller 0,5 mg/kg én gang i uken, to ganger i uken, tre ganger i uken, én gang hver annen

uke, én gang hver tredje uke, én gang i måneden, én gang hver annen måned, én gang hver tredje måned, én gang hver fjerde måned, én gang hver femte måned eller én gang hver sjette måned.