



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3137479 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.

C07H 21/04 (2006.01)

C12N 15/113 (2010.01)

C12N 15/115 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.12.04
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.08.30
(86)	European Application Nr.	15785822.6
(86)	European Filing Date	2015.04.29
(87)	The European Application's Publication Date	2017.03.08
(30)	Priority	2014.05.01, US, 201461987396 P 2015.04.23, US, 201562151909 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
	Designated Extension States:	BA; ME
(73)	Proprietor	Geron Corporation, 919 E. Hillsdale Blvd., Suite 250, Foster City, CA 94404, USA
(72)	Inventor	RAMIYA, Premchandran H., 1416 Allanmere Drive, San Ramon, California 94582, USA
(74)	Agent or Attorney	PLOUGMANN VINGTOFT, C. J. Hambros plass 2, 0164 OSLO, Norge

(54) Title **OLIGONUCLEOTIDE COMPOSITIONS AND METHODS OF MAKING THE SAME**

(56) References

Cited:

WO-A1-01/18015, WO-A1-97/37691, WO-A2-02/077184, WO-A2-2008/094640,
US-A1- 2007 037 770, US-A1- 2009 175 801,
S. GRYAZNOV ET AL: "TELOMERASE INHIBITORS - OLIGONUCLEOTIDE
PHOSPHORAMIDATES AS POTENTIAL THERAPEUTIC AGENTS", NUCLEOSIDES,
NUCLEOTIDES AND NUCLEIC ACIDS., vol. 20, no. 4-7, 31 March 2001 (2001-03-31), pages
401-410, XP055434031, US ISSN: 1525-7770, DOI: 10.1081/NCN-100002314
SERGEI GRYAZNOV ET AL: "Oligonucleotide N3' -> P5' Thio-phosphoramidate Telomerase
Template Antagonists as Potential Anticancer Agents", NUCLEOSIDES, NUCLEOTIDES AND
NUCLEIC ACIDS., vol. 22, no. 5-8, 1 October 2003 (2003-10-01), pages 577-581,
XP055434025, US ISSN: 1525-7770, DOI: 10.1081/NCN-120021958
FEARON, KL ET AL.: 'Investigation Of The 'N 1' Impurity In Phosphorothioate
Oligodeoxynucleotides Synthesized By The Solid-Phase -Cyanoethyl Phosphoramidate Method
Using Stepwise Sulfurization.' NUCLEIC ACIDS RESEARCH vol. 23, no. 14, 1995, pages 2754 -
2761, XP001063116
CAPALDI, DC ET AL.: 'Highly Efficient Solid Phase Synthesis Of Oligonucleotide Analogs
Containing Phosphorodithioate Linkages.' NUCLEIC ACIDS RES. vol. 28, no. 9,; 01 May 2000,
ISSN 0305-1048 page E40, XP055234613
CHEN, JJ ET AL.: 'N2'-->P3' Phosphoramidate Glycerol Nucleic Acid As A Potential Alternative
Genetic System .' J AM CHEM SOC. vol. 131, no. 6, 18 February 2009, ISSN 0002-2121 pages
2119 - 2121, XP055234617

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/>

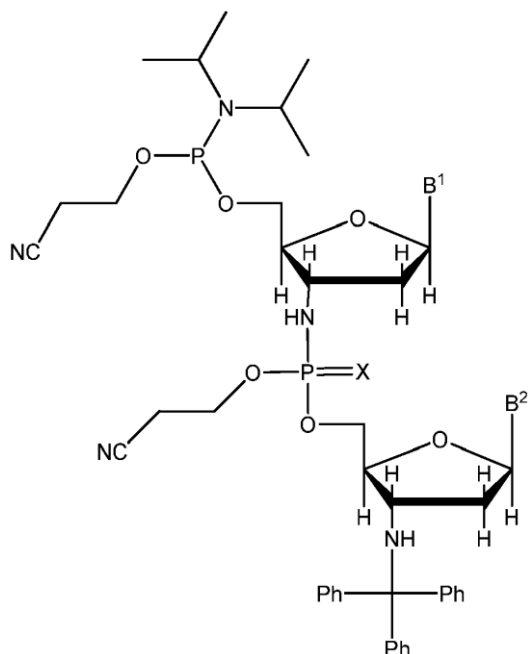
Patentkrav

1. Fremgangsmåte for syntetisering av et polynukleotid som har minst to nukleosiddelenheter forbundet med en N3'→P5'-oksofosforamidat- eller N3'→P5'-tiofosforamidat-inter-delenhetsbinding, fremgangsmåten omfattende trinnene:

- (a) å avbeskytte den beskyttede 3'-aminogruppen til et terminalt nukleosid festet til en fastfasebærer, idet avbeskyttelsen danner en fri 3'-aminogruppe;
- (b) å bringe den frie 3'-aminogruppen i kontakt med en 3'-beskyttet aminodinukleotidfosforamidat-5'-fosforamidittdimer i nærværet av en nukleofil katalysator for å danne en internukleosid-N3'→P5'-fosforamidittbinding; og
- (c) å oksidere bindingen for å fremstille en N3'→P5'-oksofosforamidat- eller N3'→P5'-tiofosforamidat-inter-delenhetsbinding.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori oksidering av bindingen omfatter sulfurisering for å fremstille en tiofosforamidatbinding eller oksidering av bindingen fremstiller en oksofosforamidatbinding.

3. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den 3'-beskyttede aminodinukleotidfosforamidat-5'-fosforamidittdimeren har formelen:



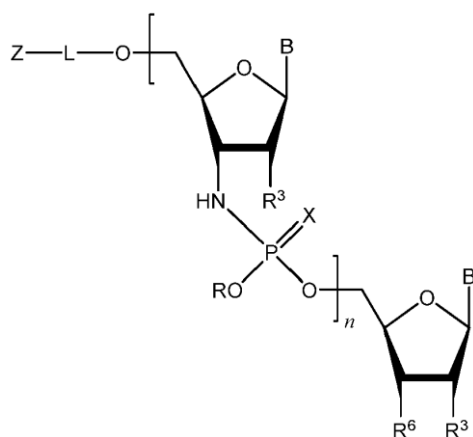
hvori X er O eller S og B¹ og B² hver uavhengig er et purin, et beskyttet purin, et pyrimidin eller et beskyttet pyrimidin, eller en analog derav.

4. Fremgangsmåten ifølge krav 3, hvori B^1 og B^2 er hver uavhengig valgt fra beskyttet adenin, beskyttet cytosin, beskyttet guanin, tymin og uracil.

5. Fremgangsmåten ifølge krav 4, hvori B^1 og B^2 er hver uavhengig valgt fra A(Bz), A(DMF), C(Bz), G(isobutyryl), T og U.

6. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 3–5, hvori X er S.

7. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1–6, hvori polynukleotidet har formelen:



hvor:

hver B er uavhengig et purin, et beskyttet purin, et pyrimidin eller et beskyttet pyrimidin, eller en analog derav;

hver X er uavhengig oksygen eller svovel;

hver R^3 er hydrogen, fluor eller hydroksyl, et alkoksy, et substituert alkoksy eller et beskyttet hydroksyl;

L er et valgfritt bindeledd;

Z er H, et lipid, en støtte, en bærer, et oligonukleotid, en PEG, et polypeptid, en detekterbar markør eller et merke;

R^6 er amino, hydroksyl, et beskyttet amino, et beskyttet hydroksy, -O-L-Z eller -NH-L-Z;

R er hydrogen, et alkyl, et substituert alkyl, et aryl, et substituert aryl eller en fosfatbeskyttende gruppe; og

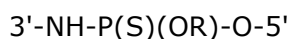
n er et heltall på 1 til 1000; eller et salt derav;

og fremgangsmåten omfatter trinnene:

(a) å avbeskytte en beskyttet 3'-aminogruppe av et terminalt nukleosid festet til en fastfasebærer, idet avbeskyttelsen danner en fri 3'-aminogruppe;

- (b) å reagere den frie 3'-aminogruppen med en 3'-beskyttet amino-dinukleotidfosforamidat-5'-fosforamidittdimer i nærværet av en nukleofil katalysator for å danne en internukleosid N3'→P5'-fosforamidittbinding;
- (c) å oksidere bindingen; og
- (d) å gjenta trinn (a) til (c) inntil polynukleotidet er syntetisert.

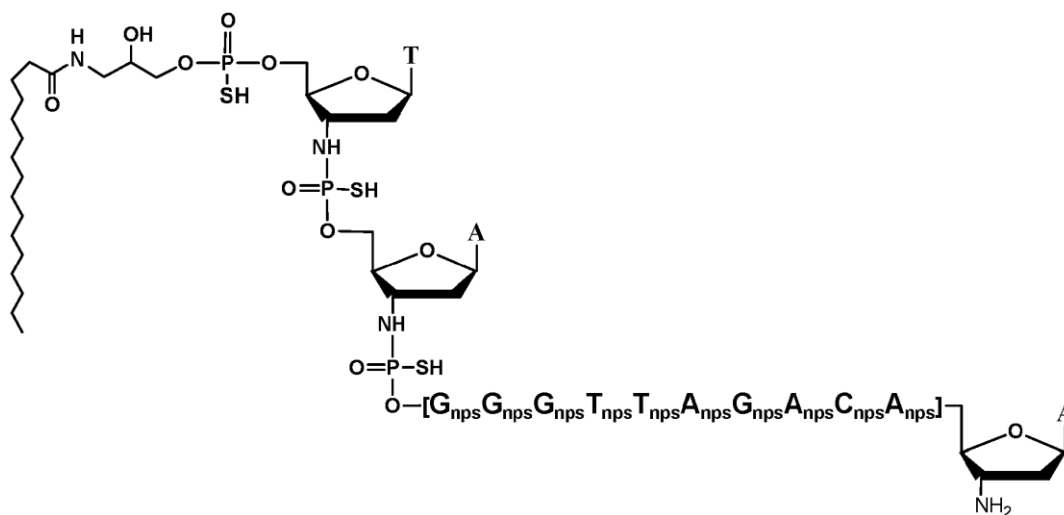
8. Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvori N3'→P5'-oksofosforamidat- eller N3'→P5'-tiofosforamidat-inter-delenhetsbindingen er en N3'→P5'-tiofosforamidat-inter-delenhetsbinding som har strukturen:



hvor R er valgt fra gruppen som består av hydrogen, et alkyl, et substituert alkyl, et aryl, et substituert aryl og en fosfatbeskyttende gruppe, eller et salt deriv.

9. Fremgangsmåten ifølge krav 8, hvori polynukleotidet omfatter sekvensen TAGGGTTAGACAA og alle internukleotid-inter-delenhetsbindingene til TAGGGTTAGACAA-sekvensen er N3'→P5'-fosforamidatinter-delenhetsbindinger.

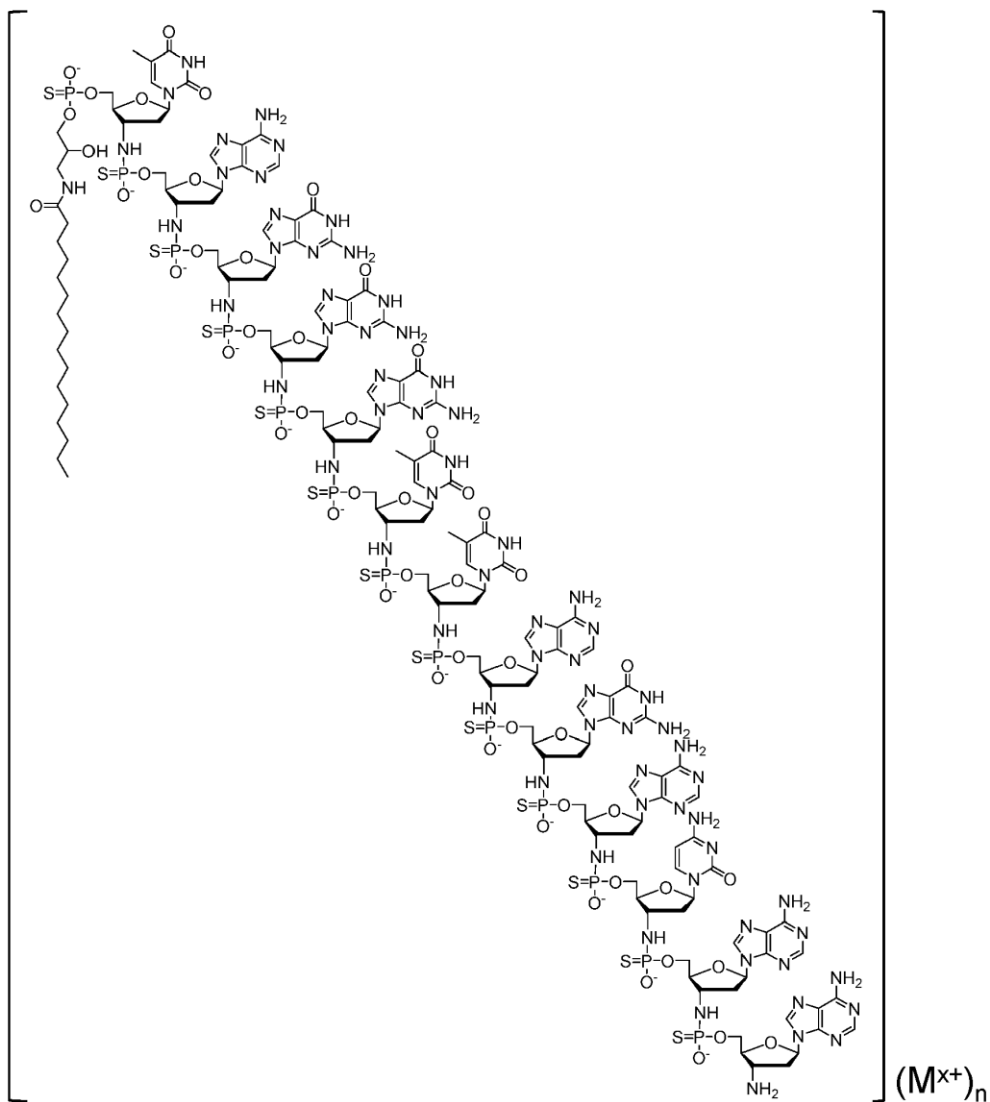
10. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 7–9, hvori polynukleotidet har strukturen:



eller et salt deriv;

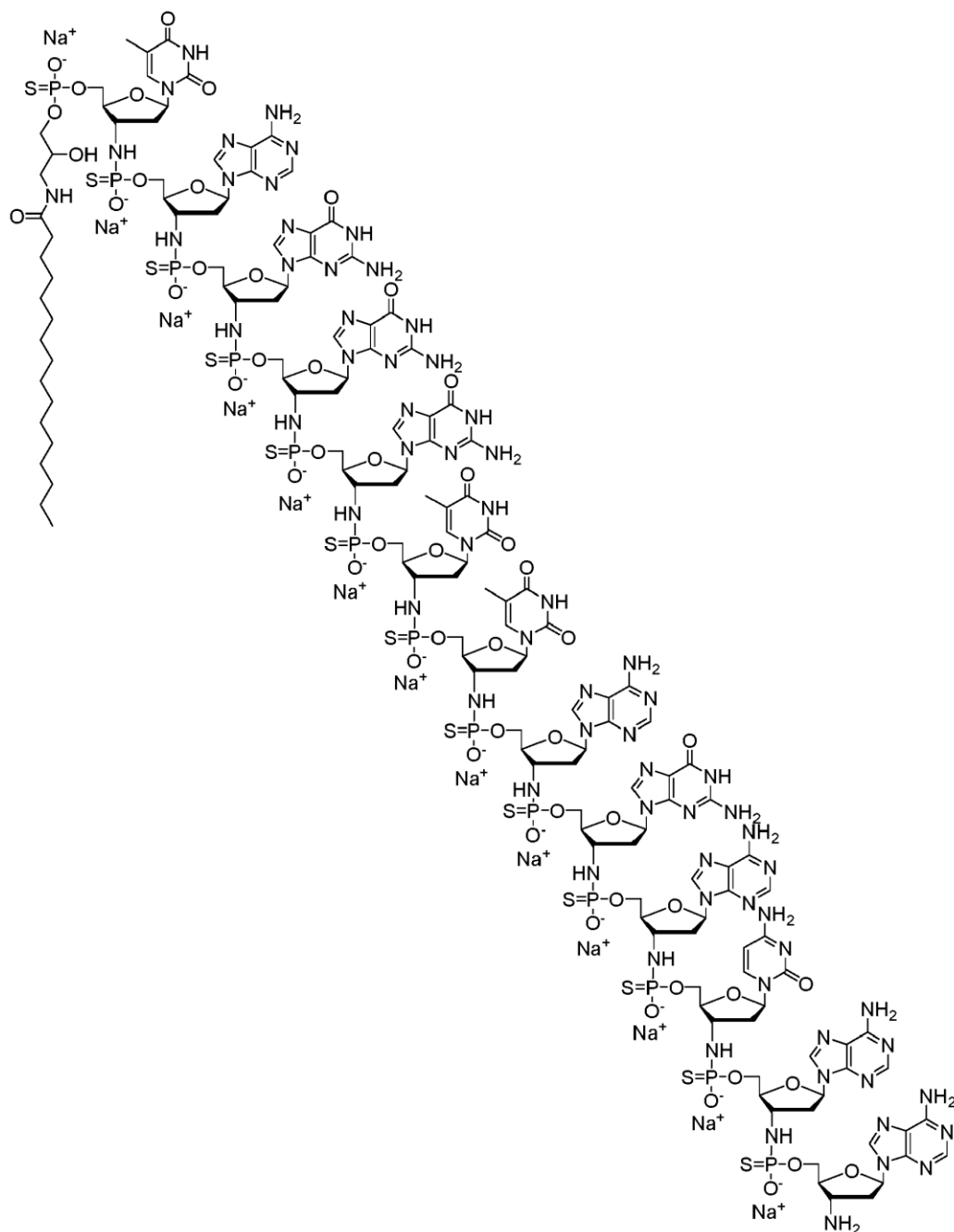
hvor «nps» representerer en tiofosforamidatbinding -NH-P(=O)(SH)-O-, som forbinder 3'-karbonet til ett nukleosid til 5'-karbonet til det tilstøtende nukleosidet.

11. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 7–10, hvori polynukleotidet har strukturen:

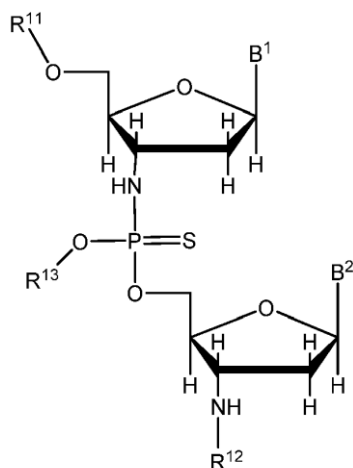


hvor i hver M^{x+} er uavhengig hydrogen eller et motion av et farmasøytisk akseptabelt salt, hver x er uavhengig 1, 2 eller 3 og n er et heltall fra 5 til 13.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvor i polynukleotidet har strukturen:



13. Dinukleotidtiofosforamidatforbindelse beskrevet av formel (II):



Formel (II)

hvor:

B^1 og B^2 er hver uafhængig et purin, et beskyttet purin, et pyrimidin eller et beskyttet pyrimidin, eller en analog derav;

R^{11} er en fosforamiditgruppe; og

R^{12} og R^{13} er hver uafhængig en beskyttende gruppe; eller et salt derav.

14. Forbindelsen ifølge krav 13, hvor B^1 og B^2 er hver uafhængig valgt fra beskyttet adenin, beskyttet cytosin, beskyttet guanin, thymin og uracil.

15. Forbindelsen ifølge krav 14, hvor B^1 og B^2 er hver uafhængig valgt fra A(Bz), A(DMF), C(Bz), G(isobutyryl), T og U.

16. Forbindelsen ifølge krav 15, hvor:

B^1 er A(Bz) eller A(DMF) og B^2 er A(Bz) eller A(DMF);

B^1 er A(Bz) eller A(DMF) og B^2 er C(Bz);

B^1 er A(Bz) eller A(DMF) og B^2 er G(isobutyryl);

B^1 er A(Bz) eller A(DMF) og B^2 er T;

B^1 er A(Bz) eller A(DMF) og B^2 er U;

B^1 er C(Bz) og B^2 er A(Bz) eller A(DMF);

B^1 er C(Bz) og B^2 er C(Bz);

B^1 er C(Bz) og B^2 er G(isobutyryl);

B^1 er C(Bz) og B^2 er T;

B^1 er C(Bz) og B^2 er U;

B^1 er G(isobutyryl) og B^2 er A(Bz) eller A(DMF);

B^1 er G(isobutyryl) og B^2 er C(Bz);

B^1 er G(isobutyryl) og B^2 er G(isobutyryl);

B¹ er G(isobutyryl) og B² er T;

B¹ er G(isobutyryl) og B² er U;

B¹ er T eller U og B² er A(Bz) eller A(DMF);

B¹ er T eller U og B² er C(Bz);

B¹ er T eller U og B² er G(isobutyryl);

B¹ er T eller U og B² er T; eller

B¹ er T eller U og B² er U.