



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3301177 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/113 (2010.01)
A61K 31/7125 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

- (45) Translation Published 2020.08.24
- (80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2020.03.25
- (86) European Application Nr. 17184486.3
- (86) European Filing Date 2012.11.16
- (87) The European Application's Publication Date 2018.04.04
- (30) Priority 2011.11.18, US, 201161561710 P
2012.03.26, US, 201261615618 P
2012.08.06, US, 201261680098 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 Alnylam Pharmaceuticals, Inc., 300 Third Street, 3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA
- (72) Inventor KALLANTHOTTATHIL, Rajeev G., c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc.300 Third Street, 3rd Floor, Cambridge, MA Massachusetts 02142, USA
ZIMMERMANN, Tracy, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc.300 Third Street, 3rd Floor, Cambridge, MA Massachusetts 02142, USA
MANOHARAN, Muthiah, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc.300 Third Street, 3rd Floor, Cambridge, MA Massachusetts 02142, USA
MAIER, Martin, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc.300 Third Street, 3rd Floor, Cambridge, MA Massachusetts 02142, USA
KUCHIMANCHI, Satyanarayana, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc.300 Third Street, 3rd Floor, Cambridge, MA Massachusetts 02142, USA
CHARISSE, Klaus, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc.300 Third Street, 3rd Floor, Cambridge, MA Massachusetts 02142, USA
- (74) Agent or Attorney TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54) Title **RNAI AGENTS, COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF FOR TREATING TRANSTHYRETIN (TTR) ASSOCIATED DISEASES**

(56) References Cited: WO-A1-2011/123468

WO-A1-2010/078536

WO-A2-2009/134487

WO-A1-2011/056883

WO-A1-2009/002944

WO-A2-2010/048228

MICHAEL A COLLINGWOOD ET AL: "Chemical Modification Patterns Compatible with High Potency Dicer-Substrate Small Interfering RNAs", OLIGONUCLEOTIDES, MARY ANN LIEBERT, NEW YORK, NY, US, vol. 18, no. 2, 18 July 2008 (2008-07-18), pages 187-200, XP002623649, ISSN: 1545-4576, DOI: 10.1089/OLI.2008.0123

BEHLKE M A: "Chemical modification of siRNAs for in vivo use", OLIGONUCLEOTIDES, MARY ANN LIEBERT, NEW YORK, NY, US, vol. 18, no. 4, 22 November 2008 (2008-11-22), pages 305-320, XP002546697, ISSN: 1545-4576, DOI: 10.1089/OLI.2008.0164 [retrieved on 2008-11-29]

CZAUDERNA F ET AL: "Structural variations and stabilising modifications of synthetic siRNAs in mammalian cells", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, INFORMATION RETRIEVAL LTD, GB, vol. 31, no. 11, 1 June 2003 (2003-06-01), pages 2705-2716, XP002270732, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/NAR/GKG393

THAZHA P PRAKASH ET AL: "Positional effect of chemical modifications on short interference RNA activity in mammalian cells", JOURNAL OF MEDICINAL CHEM, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 48, no. 13, 27 May 2005 (2005-05-27), pages 4247-4253, XP008155072, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/JM050044O [retrieved on 2007-05-27]

G. F. DELEAVEY ET AL: "Synergistic effects between analogs of DNA and RNA improve the potency of siRNA-mediated gene silencing", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 38, no. 13, 22 April 2010 (2010-04-22), pages 4547-4557, XP55057743, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkq181

J. B. BRAMSEN ET AL: "A large-scale chemical modification screen identifies design rules to generate siRNAs with high activity, high stability and low toxicity", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 37, no. 9, 12 March 2009 (2009-03-12), pages 2867-2881, XP55000747, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkp106

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. Et dobbeltstrenget RNAi-middel som omfatter en sense-streng som er komplementær til en antisense-streng, hvor nevnte antisense-streng omfatter en region som i det vesentlige er komplementært til nukleotidsekvensen 5'-GGATGGGATTTTCATGTAACCAAGA-3' (SEQ ID NO: 2204), hvor sense-strengen har en total av 21 nukleotider og antisense-strengen har en totalt av 23 nukleotider, hvor det dobbeltstrengete RNAi-midlet er representert med formel (III):

sense: $5' n_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z)_j - N_a - n_q 3'$

antisense: $3' n_p' - N_a' - (X'X'X')_k - N_b' - Y'Y'Y' - N_b' - (Z'Z'Z')_l - N_a' - n_q' 5'$

(III)

hvor:

i, j, k og l hver uavhengig er 0 eller 1, hvor i er 0, j er 1;

p, p', q og q' er hver uavhengig 0-6;

hver N_a og N_a' uavhengig representerer en oligonukleotidsekvens som omfatter 0-25 modifiserte nukleotider, hver sekvens omfatter i det minste to forskjellige modifiserte nukleotider; hver N_b og N_b' uavhengig representerer en oligonukleotidsekvens som omfatter 0-10 modifiserte nukleotider; hvor modifikasjonene er 2'-O-metyl, 2'-fluor eller begge;

hver n_p , n_p' , n_q , og n_q' uavhengig representerer et overhengende nukleotid; XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' og Z'Z'Z' representerer hver uavhengig et motiv av tre identiske modifikasjoner på tre påfølgende nukleotider;

hvor Y-nukleotidene inneholder en 2'-fluoro modifikasjon og Y'-nukleotidene inneholder en 2'-O-metyl modifikasjon; hvor nevnte YYY-motiv forekommer i posisjoner 9, 10 og 11 når dupleksregionen er 21 nukleotider;

hvor sense-strengen er konjugert til i det minste en ligand, hvor liganden er et eller flere GalNAc-derivater som er festet gjennom en bivalent eller trivalent forgrenet linker;

hvor "i det vesentlige komplementært" betyr ikke mer enn 2 uoverensstemmende basepar innenfor 2 nukleotider i 5' og/eller 3' terminus; og

hvor et fosfortioat er til stede i de siste 2 nukleotidene ved en eller begge terminus.

2. RNAi-middel ifølge krav 1, hvor k er 0 og l er 1.

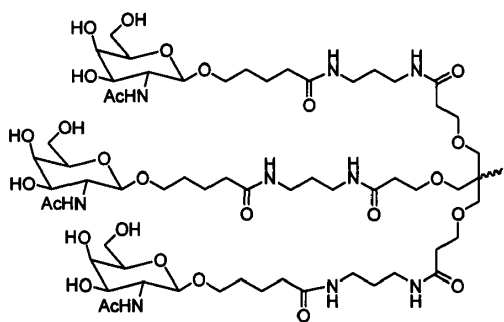
3. RNAi-middel ifølge krav 1 eller 2, hvor

- (a) YYY er komplementær til Y'Y'Y', og ZZZ er komplementær til Z'Z'Z'; og/eller
- (b) Y'Y'Y'-motivet forekommer i de 11, 12 og 13 posisjonene av antisense-strengen fra 5'-enden.

5 4. RNAi-middel ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor dupleksregionen er 21 nukleotidpar i lengde.

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

(a)

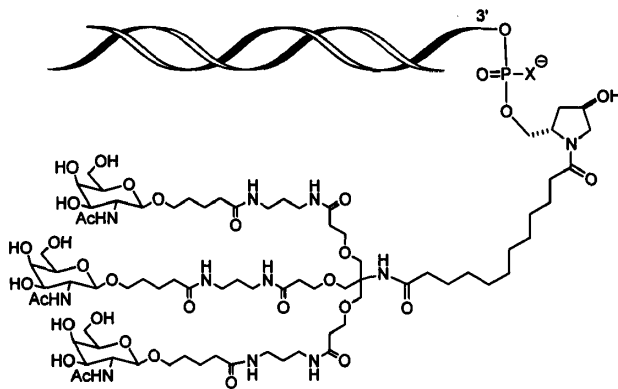


10

; eller

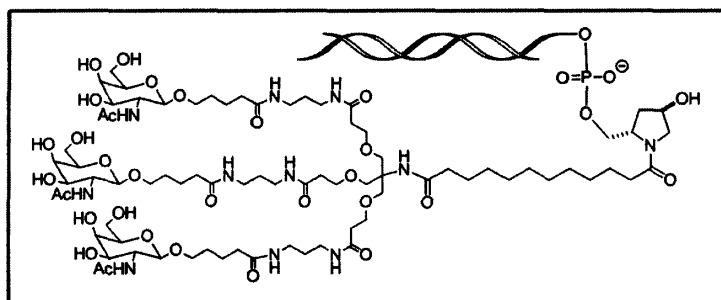
(b) festet til 3'-enden av sense-strengen.

6. RNAi-middel ifølge krav 5, hvor RNAi-midlet er konjugert til liganden som vist i det
15 følgende skjematisk



hvor X er O eller S, eller

som vist i følgende skjematisk



7. En in vitro-celle som inneholder det dobbeltstrengete RNAi-midlet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6.

5 8. En farmasøytisk sammensetning som omfatter et RNAi-middel ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6.

9. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 8, hvor

(a) nevnte RNAi-middel skal administreres

10 (i) i en ubufret løsning, hvor den ubufrete løsningen fortrinnsvis er saltløsning eller vann;

(ii) med en bufferløsning, hvor fortrinnsvis bufferløsningen omfatter acetat, citrat, prolamin, karbonat eller fosfat eller hvilken som helst kombinasjon derav, hvor nevnte bufferløsning mer foretrukket er fosfatbufret saltløsning (PBS); eller

15 (b) nevnte farmasøytiske sammensetning er

(i) et liposom; eller

(ii) en lipidformulering.

20 10. En in vitro-fremgangsmåte for å hemme ekspresjon av et transtyretin (TTR) i en celle, som omfatter å bringe nevnte celle i kontakt med et RNAi-middel ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6 eller med en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 8 eller 9 i en mengde som er effektiv til å inhibere ekspresjon av nevnte TTR i nevnte celle, og derved å inhibere ekspresjon av nevnte transtyretin (TTR) i nevnte celle, hvor fortrinnsvis ekspresjon av nevnte TTR er inhibert av i det minste 10%, i det
25 minste 20%, i det minste 30%, i det minste 40% , i det minste 50%, i det minste 60%, i det minste 70%, i det minste 80%, eller i det minste 90%.

30 11. Et RNAi-middel ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6 eller et farmasøytisk preparat ifølge krav 8 eller 9 for bruk i en fremgangsmåte for å behandle eller forhindre en TTR-assosiert sykdom hos et individ.

35 12. Middel eller sammensetning for bruk ifølge krav 11, hvor TTR-ekspresjon i en prøve avledet fra nevnte individ blir inhibert av i det minste 10%, i det minste 20%, i det minste 30%, i det minste 40%, i det minste 50%, i det minste 60%, i det minste 70%, i det minste 80%, eller i det minste 90%.

13. Middel eller sammensetning for bruk ifølge krav 11, hvor nevnte individ er et menneske.

14. Middel eller sammensetning for bruk ifølge krav 11, hvor nevnte individ er et individ
(a) som lider av en TTR-assosiert sykdom; eller
(b) som er i fare for å utvikle en TTR-assosiert sykdom.

5 15. Middel eller sammensetning for bruk ifølge et hvilket som helst av kravene 11 til 14,
hvor nevnte individ bærer en TTR-genmutasjon som er assosiert med utviklingen av en
TTR-assosiert sykdom, hvor den TTR-assosierte sykdommen fortrinnsvis er valgt fra
gruppen bestående av senil systemisk amyloidosis (SSA), systemisk familial amyloidosis,
familil amyloidotisk polyneuropati (FAP), familial amyloidotisk kardiomyopati (FAC),
10 leptomeningeal/sentralnervesystem (CNS) amyloidosis og hyperthyroxinemia.

16. Midlet eller sammensetningen for bruk ifølge et hvilket som helst av kravene 11 til 15,
hvor RNAi-midlet skal administreres i en dose på 0,05-50 mg/kg.