



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3329002 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/113 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.03.15
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.10.07
(86)	European Application Nr.	16750567.6
(86)	European Filing Date	2016.07.28
(87)	The European Application's Publication Date	2018.06.06
(30)	Priority	2015.07.31, US, 201562199563 P 2016.01.27, US, 201662287518 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	ZIMMERMANN, Tracy, 300 Third Street3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA CHAN, Amy, 300 Third Street3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA JADHAV, Vasant, 300 Third Street3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA MAIER, Martin, 300 Third Street3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA RAJEEV, Kallanthottathil, G., 300 Third Street3rd Floor, Cambridge, MA 02142, USA
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

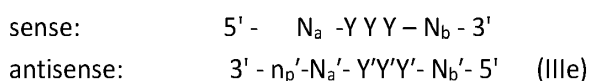
(54)	Title	TRANSTHYRETIN (TTR) IRNA COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF FOR TREATING OR PREVENTING TTR-ASSOCIATED DISEASES
(56)	References Cited:	WO-A1-2013/075035 WO-A2-2013/074974 TERESA COELHO ET AL: "Safety and Efficacy of RNAi Therapy for Transthyretin Amyloidosis", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 369, no. 9, 29 August 2013 (2013-08-29), pages 819-829, XP55163313, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1208760

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 dobbeltrådet ribonukleinsyre- (RNAi) middel for å inhibere ekspresjon av transtyretin (TTR) i en celle, hvor nevnte RNAi-midlet omfatter en sense-tråd som er komplementær til en antisense-tråd, hvor nevnte antisense-tråd omfatter en region som er komplementær til SEQ ID NO: 2, hvor hver tråd er 14 til 30 nukleotider i lengde, hvor i det vesentlige alle av nukleotidene i sense-tråden og i det vesentlige alle av nukleotidene i antisense-tråden er modifiserte nukleotider, hvor sense-tråden omfatter ikke mer enn 8 2'-fluormodifikasjoner; hvor antisense-tråden omfatter ikke mer enn 6 2'-fluormodifikasjoner; hvor sense-tråden og antisense-tråden hver uavhengig omfatter to fosfortioat-bindinger ved 5'-terminusen; og hvor sense-tråden er konjugert til i det minste en ligand.

2. Det dobbeltrådede RNAi-midlet ifølge krav 1, hvor nevnte dobbeltrådet RNAi-middel er representert ved formel (IIIe):



hvor:

n_p' er et 2 nukleotidoverheng og hvert nukleotid innenfor n_p' er koblet til et tilgrensende nukleotid *via* en fosfortioat-binding;

hver N_a , N_b , N_a' og N_b' uavhengig representerer en oligonukleotidsekvens som omfatter 0-25 nukleotider som enten er modifiserte eller umodifiserte eller kombinasjoner derav, hvor hver sekvens omfatter i det minste to forskjellige modifiserte nukleotider;

YYY og Y'Y'Y' hver uavhengig representerer ett motiv av tre identiske modifikasjoner på tre konsekutive nukleotider.

3. Det dobbeltrådede RNAi-midlet ifølge krav 2, hvor:

I) YYY-motivet forekommer ved eller i nærheten av spaltningsstedet av sense-tråden;

II) Y'Y'Y'-motivet forekommer ved de 11, 12 og 13 posisjonene av antisense-tråden fra 5'-enden;

III) Y-nukleotidene inneholder en 2'-fluormodifisering;

IV) Y'-nukleotidene inneholder en 2'-O-metylmodifisering;

5 V) den dobbelttrådet regionen er 15-30, 17-23, 17-25, 23-27, 19-21 eller 21-23 nukleotidpar i lengde; eller

VI) hver tråd har 15-30 eller 19-30 nukleotider.

4. Det dobbelttrådet RNAi-midlet ifølge krav 1, hvor:

10 I) modifikasjonene på nukleotidene er valgt fra gruppen som består av et deoksy-nukleotid, et 3'-terminalt deoksy-tymin- (dT) nukleotid, et 2'-O-metylmodifisert nukleotid, et 2'-fluormodifisert nukleotid, et 2'-deoksy-modifisert nukleotid, et låst nukleotid, et ulåst nukleotid, et konformasjonelt begrenset nukleotid, et begrenset etylnukleotid, et abasisk nukleotid, et 2'-aminomodifisert nukleotid, et 2'-O-allyl-
15 modifisert nukleotid, 2'-C-alkyl-modifisert nukleotid, 2'-hydroksymodifisert nukleotid, et 2'-metoksyetylmodifisert nukleotid, et 2'-O-alkyl-modifisert nukleotid, et morfolino-nukleotid, et fosforamidat, en ikke-naturlig base som omfatter nukleotid, et tetrahydropyran-modifisert nukleotid, et 1,5-anhydrohexitol-modifisert nukleotid, et sykloheksenyl-modifisert nukleotid, et nukleotid som
20 omfatter en fosfortioat-gruppe, et nukleotid som omfatter en metylfosfonat-gruppe, et nukleotid som omfatter et 5'-fosfat, og et nukleotid som omfatter 5'-fosfat-mimetikum og kombinerer derav, eventuelt hvor modifikasjonene på nukleotidene er 2'-O-metyl eller 2'-fluormodifikasjoner;

II) sense-tråden omfatter ikke mer enn 6, 5 eller 4 2'-fluormodifikasjoner;

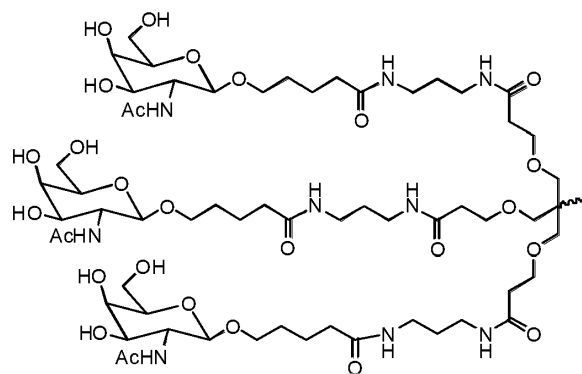
25 III) antisense-tråden omfatter ikke mer enn 5, 4, 3 eller 2 2'-fluormodifikasjoner;

IV) det dobbelttrådet RNAi-midlet videre omfatter et 5'-fosfat eller et 5'-fosfat-mimetikum ved 5'-nukleotidet av antisense-tråden;

V) det dobbelttrådet RNAi-midlet, videre omfatter en 5'-fosfat-mimetikum ved 5'-nukleotidet av antisense-tråden, eventuelt hvor nevnte 5'-fosfat-mimetikum er et
30 5'-vinylfosfat (5'-VP);

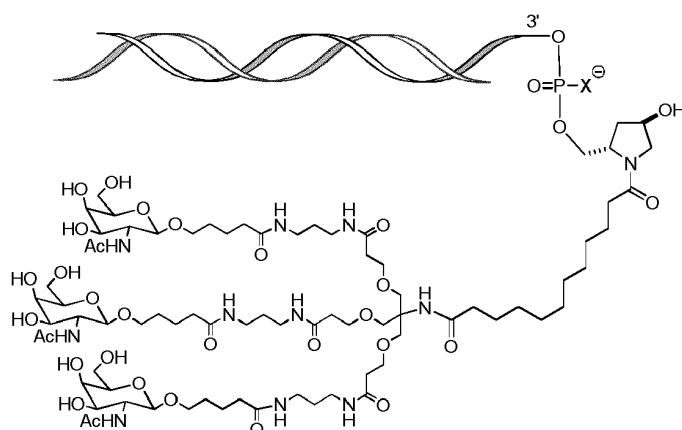
VI) liganden er ett eller flere GalNAc-derivater som er bundet gjennom en bivalent eller trivalent forgrenet linker;

VII) liganden er



5

VIII) liganden er bundet til 3'-enden av sense-tråden, eventuelt hvor RNAi-midlet er konjugert til liganden som skjematisk vist i det følgende



hvor X er O eller S;

IX) antisense-trådene omfatter en nukleotidsekvens som er valgt fra gruppen som består av

5'-usCfsuugguuacaugAfaaucccasusc-3' (SQ ID NO: 6),

5'-usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc-3' (SEQ ID NO: 7),

5'-UfsCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc-3' (SEQ ID NO: 8), og

5'-VPusCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc-3' (SEQ ID NO: 9), hvor a, c, g og u er henholdsvis 2'-O-metyl (2'-OMe) A, C, G og U; Af, Cf, Gf og Uf er

10

15

henholdsvis 2'-fluor A, C, G og U; s er en fosforotioat-binding; og VP er en 5'-fosfat-mimetikum;

X) sense- og antisense-trådene omfatter nukleotidsekvenser som er valgt fra gruppen som består av

- 5 5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga-3' (SEQ ID NO: 10) og
- 5'-usCfsuugguuacaugAfaaucccasusc-3' (SEQ ID NO: 6);
- 5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga-3' (SEQ ID NO: 10) og
- 5'-usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc-3' (SEQ ID NO: 7);
- 5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga-3' (SEQ ID NO: 10) og
- 10 5'-UfsCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc-3' (SEQ ID NO: 8); og
- 5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga-3' (SEQ ID NO: 10) og
- 5'-VPusCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc-3' (SEQ ID NO: 9), hvor a, c, g og u er henholdsvis 2'-O-metyl (2'-OMe) A, C, G og U; Af, Cf, Gf og Uf er henholdsvis 2'-fluor A, C, G og U; og s er en fosforotioat-binding; og VP er
- 15 en 5'-fosfat-mimetikum; eller

XI) nevnte RNAi-middel er valgt fra gruppen av RNAi-midler som er oppført i hvilken som helst av tabellene 1, 3, 5, 6 eller 7.

- 20 **5.** Det dobbeltrådede RNAi-midlet ifølge krav 1, hvor sense- og antisense-trådene omfatter nukleotidsekvensene

5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga-3' (SEQ ID NO: 10) og

5'-usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc-3' (SEQ ID NO: 7),

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

25

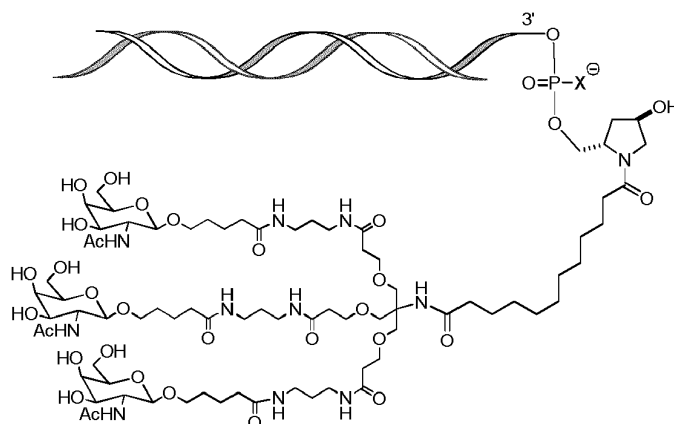
- 6.** Det dobbeltrådede RNAi-midlet ifølge krav 5, hvor sense- og antisense-trådene består av nukleotidsekvensene

5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga-3' (SEQ ID NO: 10) og

5'-usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc-3' (SEQ ID NO: 7),

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

- 5 hvor liganden er bundet til 3'-enden av sense-tråden, hvor RNAi-midlet er konjugert til liganden som skjematisk vist i det følgende



hvor X er O.

- 10 **7.** En celle som inneholder det dobbelttrådede RNAi-midlet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6.

8. En farmasøytisk sammensetning som omfatter det dobbelttrådede RNAi-midlet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, eventuelt hvor:

- 15 I) det dobbelttrådede RNAi-midlet administreres i en ubufret løsning, eventuelt hvor den ubufrete løsningen er saltvann eller vann; eller

II) det dobbelttrådede RNAi-midlet administreres med en bufferløsning, hvor eventuelt a) nevnte bufferløsning omfatter acetat, citrat, prolamin, karbonat eller fosfat eller en hvilken som helst kombinasjon derav, eller b) nevnte bufferløsning er fosfatbufret saltvann (PBS).

20

9. En in vitro fremgangsmåte for inhibering av transtyrelin- (TTR) ekspresjon i en celle, hvor fremgangsmåten omfatter:

å bringe cellen i kontakt med det dobbelttrådede RNAi-midlet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, eller den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 8, og derved å inhibere ekspresjon av TTR-genet i cellen, hvor TTR-ekspresjonen eventuelt inhiberes

25

med i det minste ca. 10% ca. 15%, ca. 20%, ca. 25%, ca. 30%, ca. 40%, ca. 50%, ca. 60%, ca. 70%, ca. 80%, ca. 90%, ca. 95%, ca. 98% eller ca. 100%.

10. Det dobbeltrådede RNAi-midlet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, eller sammensetningen ifølge krav 8 for bruk i en fremgangsmåte for behandling av et individ som lider på en TTR-assosiert sykdom eller som er i fare for å utvikle en TTR-assosiert sykdom, som omfatter å administrere til nevnte individ en terapeutisk effektiv mengde eller en profylaktisk effektiv mengde av det dobbeltrådede RNAi-midlet, eller den farmasøytiske sammensetningen, hvorved nevnte individ blir behandlet.

11. Det dobbeltrådede RNAi-midlet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6 eller sammensetningen ifølge krav 8 for bruk i:

I) en fremgangsmåte for å redusere, bremse eller arrestere en nevropati-nedsatt-score (Neuropathy Impairment Score - NIS) eller en modifisert NIS (mNIS + 7) hos et individ som lider av en TTR-assosiert sykdom eller som er i fare for å utvikle en TTR-assosiert sykdom, som omfatter å administrere til nevnte individ en terapeutisk effektiv mengde eller en profylaktisk effektiv mengde av det dobbeltrådede RNAi-midlet, eller den farmasøytiske sammensetningen, og derved å redusere, bremse eller arrestere en nevropati-nedsatt-score (Neuropathy Impairment Score - NIS) eller en modifisert NIS (mNIS + 7) i nevnte individ; eller

II) en fremgangsmåte for å øke en 6-minutters gangetest (6MWT) hos et individ som lider av en TTR-assosiert sykdom eller som er i fare for å utvikle en TTR-assosiert sykdom, som omfatter å administrere til nevnte individ en terapeutisk effektiv mengde eller en profylaktisk effektiv mengde av det dobbeltrådede RNAi-midlet, eller den farmasøytiske sammensetningen, og derved å øke en 6-minutters gangetest (6MWT) i nevnte individ.

12. Det dobbeltrådede RNAi-midlet eller sammensetningen for bruk ifølge krav 10 eller 11, hvor:

I) nevnte individ er et menneske;

II) nevnte individ er en person som lider av en TTR-assosiert sykdom;

III) nevnte individ er en person som er i fare for å utvikle en TTR-assosiert sykdom;

IV) nevnte individ bærer en TTR-genmutasjon som er assosiert med utviklingen av en TTR-assosiert sykdom;

V) nevnte TTR-assosiert sykdom er valgt fra gruppen som består av senil systemisk amyloidose (SSA), systemisk familiær amyloidose, familiær amyloidotisk polyneuropati (FAP), familiær amyloidotisk kardiomyopati (FAC),
leptomeningeal/sentralnervesystem (Central Nervous System - CNS) amyloidose, og hypertyroksinemi;

VI) nevnte individ har en TTR-assosiert amyloidose og nevnte fremgangsmåte reduserer en amyloid TTR-avsetning i nevnte individ;

VII) det dobbeltrådede RNAi-midlet administreres til nevnte individ ved en administreringsmåte som er valgt fra gruppen som består av subkutan, intravenøs, intramuskulær, intrabronkial, intrapleurale, intraperitoneal, intraarteriell, lymfatisk, cerebrospinal, og hvilke som helst kombinasjoner derav;

VIII) det dobbeltrådede RNAi-midlet administreres til nevnte individ via subkutan, intramuskulær eller intravenøs administrering;

IX) det dobbeltrådede RNAi-midlet administreres til nevnte individ *via* subkutan administrering, eventuelt hvor den subkutane administreringen er selvadministrering, eventuelt hvor selvadministreringen er *via* en pre-fylt sprøyte eller en auto-injeksjonssprøyte, eventuelt blir det dobbeltrådede RNAi-midlet kronisk administrert til nevnte individ hver 4. uke, hver 5. uke eller hver sjette uke; eller

X) fremgangsmåten omfatter videre å vurdere nivået av TTR-mRNA-ekspresjon eller TTR-proteinekspresjon i en prøve som er avledet fra nevnte individ.

13. Det dobbeltrådede RNAi-midlet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6 for bruk i:

I) en fremgangsmåte for behandling av et individ som lider av en TTR-assosiert sykdom eller som er i fare for å utvikle en TTR-assosiert sykdom, som omfatter å administrere til nevnte individ en fast dose på ca. 50 mg til ca. 250 mg av det dobbeltrådede ribonukleinsyre- (RNAi) midlet;

II) en fremgangsmåte for å redusere, bremse eller arrestere en nevrologi-nedsatt score (Neuropathy Impairment Score - NIS) eller en modifisert NIS (mNIS + 7) i et individ som lider av en TTR-assosiert sykdom eller som er i fare for å utvikle en

TTR-assosiert sykdom, som omfatter å administrere til nevnte individ en fast dose på ca. 50 mg til ca. 250 mg av det dobbeltrådede ribonukleinsyre- (RNAi) midlet; eller

III) en fremgangsmåte for å øke en 6-minutters gangetest (6MWT) i et individ som lider av en TTR-assosiert sykdom eller som er i fare for å utvikle en TTR-assosiert sykdom, som omfatter å administrere til nevnte individ en fast dose på ca. 50 mg til ca. 250 mg av det dobbeltrådede ribonukleinsyre- (RNAi) midlet.

14. Det dobbeltrådede RNAi-midlet for bruk ifølge krav 13, hvor:

I) det dobbeltrådede RNAi-midlet administreres til nevnte individ i en fast dose på ca. 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg eller 250 mg;

II) den faste dosen av det dobbeltrådede RNAi-midlet administreres til nevnte individ en gang hver 4. uke, hver 5. uke, hver 6. uke, hver 8. uke eller kvartalsvis;

III) den faste dosen av det dobbeltrådede RNAi-midlet administreres til nevnte individ en gang hvert kvartal;

IV) det dobbeltrådede RNAi-midlet blir kronisk administrert til nevnte individ;

V) nevnte individ er et menneske, eventuelt hvor nevnte individ er et individ som lider av en TTR-assosiert sykdom eller nevnte individ er et individ som er i fare for å utvikle en TTR-assosiert sykdom;

VI) nevnte individ bærer en TTR-genmutasjon som er assosiert med utvikling av en TTR-assosiert sykdom hvor den TTR-assosierte sykdommen er valgt fra gruppen som består av senil systemisk amyloidose (SSA), systemisk familiær amyloidose, familiær amyloidotisk polyneuropati (FAP), familiær amyloidotisk kardiomyopati (FAC), leptomeningeal/sentralnervesystem (Central Nervous System - CNS) amyloidosis og hypertyroksinemi;

VII) nevnte individ har en TTR-assosiert amyloidose og nevnte fremgangsmåte reduserer en amyloid TTR-avsetning i nevnte individ;

VIII) det dobbeltrådede RNAi-midlet administreres til nevnte individ ved a) et administreringsmiddel, som er valgt fra gruppen som består av subkutan, intravenøs, intramuskulær, intrabronkial, intrapleurale, intraperitoneal,

5

10

15

20

25

hvor X er 0.