



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3366775 B1

NORWAY

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

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2022.08.01
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2022.04.27
(86)	European Application Nr.	17209680.2
(86)	European Filing Date	2012.11.16
(87)	The European Application's Publication Date	2018.08.29
(30)	Priority	2011.11.18, US, 201161561710 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, Cambridge, MA 02142, USA
(72)	Inventor	RAJEEV, Kallanthottathil, G., c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc. 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, USA ZIMMERMANN, Tracy, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc. 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, USA MANOHARAN, Muthiah, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc. 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, USA MAIER, Martin, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc. 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, USA KUCHIMANCHI, Satyanarayana, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc. 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, USA CHARISSE, Klaus, c/o Alnylam Pharmaceuticals, Inc. 300 Third Street, Cambridge, MA 02142, USA
(74)	Agent or Attorney	RWS, Europa House, Chiltern Park, Chiltern Hill, SL99FG CHALFONT ST PETER, Storbritannia

(54) Title **MODIFIED RNAI AGENTS**

(56) References Cited: WO-A1-2011/123468, WO-A1-2009/002944, WO-A2-2013/163430, WO-A1-2010/078536, WO-A2-2007/092059, WO-A2-2009/134487, WO-A2-2009/073809, US-A1- 2006 217 331, WO-A2-2011/072082
DAVID V MORRISSEY ET AL: "Potent and persistent in vivo anti-HBV activity of chemically modified siRNAs", NATURE BIOTECHNOLOGY, GALE GROUP INC, NEW YORK, vol. 23, no. 8, 1 August 2005 (2005-08-01) , pages 1002-1007, XP008157520, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/NBT1122 [retrieved on 2005-07-24]

CZAUADERNA 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]

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, XP055000747, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkp106

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]

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

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/>

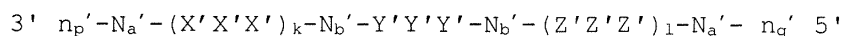
Patentkrav

1. Dobbelstrenget RNAi-agens som er i stand til å inhibere ekspresjonen av et målgen, omfattende en sense-streng og en antisense-streng, idet hver streng har 14 til 5 30 nukleotider, hvor duplekse betegnes av formel (III):

sense:



antisense:



(III)

hvor:

- i, j, k og l er hver uavhengig av hverandre 0 eller 1;
 p og q er hver uavhengig av hverandre 0-6;
- 10 hver N_a og N_a' betegner uavhengig av hverandre en oligonukleotidsekvens omfattende 0-25 nukleotider som er enten modifisert eller umodifisert eller kombinasjoner derav, idet hver sekvens omfatter minst to ulikt modifiserte nukleotider, hvor hver N_b og N_b' uavhengig av hverandre betegner en oligonukleotidsekvens omfattende 0-10 nukleotider som er enten modifisert eller umodifisert eller kombinasjoner derav;
- 15 hver n_p , n_p' , n_q og n_q' betegner uavhengig av hverandre en overheng-nukleotidsekvens omfattende 0-6 nukleotider; og
 XXX , YYY , ZZZ , $X'X'X'$, $Y'Y'Y'$ og $Z'Z'Z'$ betegner hver uavhengig av hverandre et motiv av tre identiske modifikasjoner på tre på hverandre følgende nukleotider;
 $Y'Y'Y'$ -motivet forekommer på posisjoner 11, 12 og 13 av antisense-strengen fra 5'-enden;
- 20 Y' er 2'-OMe;
 nevnte agens omfatter videre minst én fosforotioat-internukleotid-kobling, hvor antisense-strengen omfatter to blokker av to fosforotioat-internukleotid-koblinger adskilt av 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 eller 18 fosfat-internukleotid-koblinger, og nevnte antisense-streng er paret med en sense-streng som omfatter en hvilken som helst
- 25 kombinasjon av fosforotioat-, metylfosfonat- og fosfat-internukleotid-koblinger;
 og
 hvor modifikasjonen på N_b er forskjellig fra modifikasjonen på Y , og modifikasjonen på N_b' er forskjellige fra modifikasjonen på Y' .
- 30 2. Dobbelstrenget RNAi-agens ifølge krav 1, hvor
 (a) i er 1; j er 1; eller både i og j er 1; eller
 (b) k er 1; l er 1; eller både k og l er 1.

3. Dobbeltstrenget RNAi-agens ifølge krav 1 eller 2, hvor YYY-motivet forekommer på eller i nærheten av spaltningsstedet for sense-strengen.
4. Dobbeltstrenget RNAi-agens ifølge krav 1, hvor
- 5 (a) dupleks-regionen er 17-30 nukleotidpar lang, 17-19 nukleotidpar lang eller 27-30 nukleotidpar lang, og/eller
(b) hver streng har 17-30 nukleotider.
5. Dobbeltstrenget RNAi-agens ifølge krav 1, hvor modifikasjonene på nukleotidene
10 velges fra gruppen bestående av LNA, HNA, CeNA, 2'-metoksyetyl, 2'-O-alkyl, 2'-O-allyl, 2'-C-allyl, 2'-fluor, 2'-deoksy og kombinasjoner derav, eller fra gruppen bestående av 2'-O-metyl-nukleotid, 2'-deoksyfluor-nukleotid, 2'-O-N-metylacetamido (2'-O-NMA)-nukleotid, et 2'-O-dimetylaminoetoksyetyl (2'-O-DMAEOE)-nukleotid, 2'-O-aminopropyl (2'-O-AP)-nukleotid, 2'-ara-F og kombinasjoner derav, hvor nukleotidene fortrinnsvis
15 modifiseres med enten 2'-OCH₃ eller 2'-F.
6. Dobbeltstrenget RNAi-agens ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, som videre omfatter minst én ligand, hvor liganden fortrinnsvis
20 (a) er ett eller flere GalNAc-derivater som er festet gjennom en bivalent eller trivalent forgrenet linker; og/eller
(b) er festet til 3'-enden av sense-strengen.
7. Dobbeltstrenget RNAi-agens ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor
25 (a) nukleotidet på 1-posisjonen av 5'-enden av duplekse i antisense-strengen velges fra gruppen bestående av A, dA, dU, U og dT; og/eller
(b) baseparet på 1-posisjonen av 5'-enden av duplekse er et AU-basepar.
8. Dobbeltstrenget RNAi-agens ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor Y-nukleotidene inneholder en 2'-fluor-modifikasjon.
30
9. Farmasøytisk sammensetning som omfatter den dobbeltstrengede RNAi-agens ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, alene eller i kombinasjon med en farmasøytisk akseptert bærer eller eksipiens.
- 35 10. Dobbeltstrenget RNAi-agens ifølge et hvilket som helst av de foregående krav for anvendelse i en terapeutisk fremgangsmåte, idet fremgangsmåten omfatter å inhibere ekspresjonen av et målgjen.

11. Agens for anvendelse ifølge krav 10, hvor den dobbeltstrengede RNAi-agens administreres gjennom subkutan eller intravenøs administrasjon.
- 5 12. Agens ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8 for anvendelse i en terapeutisk fremgangsmåte, idet fremgangsmåten omfatter å tilføre nevnte agens til et spesifikt mål i et individ.
- 10 13. Agens for anvendelse ifølge krav 12, hvor nevnte agens administreres gjennom intramuskulær, intrabronkial, intrapleural, intraperitoneal, intraarteriell, lymfatisk, intravenøs, subkutan eller cerebrospinal administrasjon, eller kombinasjoner derav.