



(10) **DE 128 58 350 T1** 2021.10.07

(12) **Veröffentlichung der Patentansprüche**

der europäischen Patentanmeldung mit der
(97) Veröffentlichungsnummer: **EP 2 791 160**
in deutscher Übersetzung (Art. II § 2 Abs. 1 IntPatÜG)
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US2012/069610**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **12 85 8350.7**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2013/090648**
(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **20.06.2013**
(97) Veröffentlichungstag
der europäischen Anmeldung: **22.10.2014**
(46) Veröffentlichungstag der Patentansprüche
in deutscher Übersetzung: **07.10.2021**

(51) Int Cl.: **C07H 21/02** (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

| | | |
|--------------------------|-------------------|-----------|
| 201161576705 P | 16.12.2011 | US |
| 201261618957 P | 02.04.2012 | US |
| 201261648244 P | 17.05.2012 | US |
| 201261681712 P | 10.08.2012 | US |
| 201261696381 P | 04.09.2012 | US |
| PCT/US2012/058519 | 03.10.2012 | WO |
| 201261709303 P | 03.10.2012 | US |
| 201261712490 P | 11.10.2012 | US |

(71) Anmelder:
ModernaTX, Inc., Cambridge, MA, US

(74) Vertreter:
**HOFFMANN - EITLE Patent- und Rechtsanwälte
PartmbB, 81925 München, DE**

(72) Erfinder:
**DE FOUGEROLLES, Antonin, B-1410 Waterloo,
BE; WOOD, Kristy M., Cambridge, Massachusetts
02138, US; ELBASHIR, Sayda M., Cambridge,
Massachusetts 02138, US; AFEYAN, Noubar
B., Cambridge, Massachusetts 02142, US;
VALENCIA, Pedro, Cambridge, Massachusetts
02142, US; SCHRUM, Jason P., Watertown MA
02472-2580, US**

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen.

(54) Bezeichnung: **MODIFIZIERTE MRNA ZUSAMMENSETZUNGEN**

(57) Hauptanspruch: Verfahren zum Herstellen eines Polypeptids von Interesse in einer Säugerzelle oder einem Säugergewebe, wobei das Verfahren ein Inkontaktbringen der Säugerzelle oder des Säugergewebes mit einer Formulierung umfasst, die eine modifizierte mRNA umfasst, die für das Polypeptid von Interesse codiert, wobei die Formulierung aus der Gruppe bestehend aus Nanopartikeln, Poly(milchsäure-co-glykolsäure)(PLGA)-Mikrosphären, Lipidoid, Lipoplex, Liposom, Polymeren, Kohlenhydraten (einschließlich einfacher Zucker), kationischen Lipiden, Fibringel, Fibrinhydrogel, Fibrinkleber, Fibrindichtmittel, Fibrinogen, Thrombin, schnell eliminierten Lipidnanopartikeln (reLNPs) und Kombinationen davon ausgewählt ist.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Herstellen eines Polypeptids von Interesse in einer Säugerzelle oder einem Säugergewebe, wobei das Verfahren ein Inkontaktbringen der Säugerzelle oder des Säugergewebes mit einer Formulierung umfasst, die eine modifizierte mRNA umfasst, die für das Polypeptid von Interesse codiert, wobei die Formulierung aus der Gruppe bestehend aus Nanopartikeln, Poly(milchsäure-co-glykolsäure)(PLGA)-Mikrosphären, Lipidoid, Lipoplex, Liposom, Polymeren, Kohlenhydraten (einschließlich einfacher Zucker), kationischen Lipiden, Fibrinogen, Fibrinhydrogel, Fibrinkleber, Fibrindichtmittel, Fibrinogen, Thrombin, schnell eliminierten Lipidnanopartikeln (reLNPs) und Kombinationen davon ausgewählt ist.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die modifizierte mRNA ein gereinigtes IVT-Transkript umfasst.

3. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, ein Nanopartikel ist und wobei das Nanopartikel mindestens ein Lipid umfasst.

4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das Lipid aus der Gruppe bestehend aus DLin-DMA, DLin-K-DMA, 98N12-5, C12-200, DLin-MC3-DMA, DLin-KC2-DMA, DODMA, PLGA, PEG, PEG-DMG und PEGylierten Lipiden ausgewählt ist.

5. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das Lipid ein kationisches Lipid ist.

6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei das kationische Lipid aus der Gruppe bestehend aus DLin-DMA, DLin-K-DMA, DLin-MC3-DMA, DLin-KC2-DMA und DODMA ausgewählt ist.

7. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das Gewichtsverhältnis von Lipid zu modifizierter mRNA zwischen 10:1 und 30:1 liegt.

8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei die mittlere Größe der Nanopartikelformulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, zwischen 60-225 nm beträgt.

9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei der PDI der Nanopartikelformulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, zwischen 0,03 und 0,15 liegt.

10. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das Zeta-potential des Lipids von -10 bis +10 bei einem pH von 7,4 beträgt.

11. Verfahren nach Anspruch 7, wobei die Nanopartikelformulierung, welche die modifizierte mRNA

umfasst, ferner ein fusogenes Lipid, Cholesterin und ein PEG-Lipid umfasst.

12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die Nanopartikelformulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, ein Molverhältnis von 50:10:38,5:1,5-3,0 (kationisches Lipid: fusogenes Lipid: Cholesterin: PEG-Lipid) aufweist.

13. Verfahren nach Anspruch 12, wobei das PEG-Lipid aus PEG-c-DOMG und PEG-DMG ausgewählt ist und das fusogene Lipid DSPC ist.

14. Verfahren nach Anspruch 1, wobei ein Inkontaktbringen durch die Verwendung einer Vorrichtung erfolgt, die aus der Gruppe bestehend aus einer Spritzenpumpe, einer internen osmotischen Pumpe und einer externen osmotischen Pumpe ausgewählt ist.

15. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, eine Poly(milchsäure-co-glykolsäure)(PLGA)-Mikrosphäre ist.

16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei Mikrosphären der PLGA-Mikrosphären-Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, zwischen 4 und 20 µm groß sind.

17. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die PLGA-Mikrosphären-Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, weniger als 50 % der modifizierten mRNA in einem Zeitraum von 48 Stunden freisetzt.

18. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die PLGA-Mikrosphären-Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, in Serum stabil ist.

19. Verfahren nach Anspruch 18, wobei die Stabilität in Bezug auf unformulierte modifizierte mRNA in 90 % Serum bestimmt wird.

20. Verfahren nach Anspruch 15, wobei der Gewichtsprozentsatz der Beladung mindestens 0,05 %, mindestens 0,1 %, mindestens 0,2 %, mindestens 0,3 % oder mindestens 0,4 % beträgt.

21. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Verkapselungseffizienz der modifizierten mRNA in den PLGA-Mikrosphären mindestens 50 % beträgt.

22. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Verkapselungseffizienz der modifizierten mRNA in den PLGA-Mikrosphären mindestens 70 % beträgt.

23. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Verkapselungseffizienz der modifizierten mRNA in den PLGA-Mikrosphären mindestens 90 % beträgt.

24. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Verkapselungseffizienz der modifizierten mRNA in den PLGA-Mikrosphären mindestens 97 % beträgt.

25. Verfahren nach Anspruch 11, wobei ein Inkontaktbringen der Säugerzellen oder des Säugergewebes über einen Verabreichungsweg erfolgt, der aus der Gruppe bestehend aus intravenös, intramuskulär, intravitreal, intrathekal, intratumoral, pulmonal und subkutan ausgewählt ist.

26. Verfahren nach Anspruch 25, wobei das Polypeptid von Interesse in dem Serum bis zu 72 Stunden nach dem Inkontaktbringen mit höheren Konzentrationen als den Konzentrationen vor dem Inkontaktbringen nachweisbar ist.

27. Verfahren nach Anspruch 26, wobei das Polypeptid von Interesse in dem Serum weiblicher Subjekte in höheren Konzentrationen als in dem Serum männlicher Subjekte nachweisbar ist.

28. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Formulierung ferner eine zweite modifizierte mRNA umfasst.

29. Verfahren nach Anspruch 28, wobei die Formulierung ferner eine dritte modifizierte mRNA umfasst.

30. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, ein schnell eliminiertes Lipidnanopartikel umfasst.

31. Verfahren nach Anspruch 30, wobei das schnell eliminierte Lipidnanopartikel ein reLNP-Lipid, fusogenes Lipid, Cholesterin und ein PEG-Lipid in einem Molverhältnis von 50:10:38,5:1,5 (reLNP-Lipid: fusogenes Lipid:Cholesterin:PEG-Lipid) umfasst.

32. Verfahren nach Anspruch 31, wobei das fusogene Lipid DSPC ist und das PEG-Lipid PEG-c-DOMG ist.

33. Verfahren nach Anspruch 31, wobei das reLNP-Lipid aus der Gruppe bestehend aus DLin-DMA mit einem internen Ester, DLin-DMA mit einem terminalen Ester, DLin-MC3-DMA mit einem internen Ester und DLin-MC3-DMA mit einem terminalen Ester ausgewählt ist.

34. Verfahren nach Anspruch 30, wobei das Gewichtsverhältnis von Gesamtlipid zu modifizierter mRNA zwischen 10:1 und 30:1 beträgt.

35. Verfahren nach Anspruch 1, wobei ein Inkontaktbringen durch Injektion unter Verwendung eines geteilten Dosierungsplans erfolgt.

36. Verfahren nach Anspruch 35, wobei die Injektion in das Gewebe erfolgt, das aus der Gruppe beste-

hend aus intradermale Raum, Epidermis, subkutanem Gewebe und Muskel ausgewählt ist.

37. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, ein Fibrindichtmittel umfasst.

38. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, ein Lipidoid umfasst und wobei das Lipid aus der Gruppe bestehend aus C12-200 und 98N12-5 ausgewählt ist.

39. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Formulierung, welche die modifizierte mRNA umfasst, ein Polymer ist und das Polymer beschichtet, bedeckt, umgeben, eingeschlossen ist oder eine Schicht aus Hydrogel oder chirurgischem Dichtungsmittel umfasst.

40. Verfahren nach Anspruch 39, wobei das Polymer aus der Gruppe bestehend aus PLGA, Ethylenvinylacetat, Poloxamer und GELSITE® ausgewählt ist.

41. Verfahren nach Anspruch 40, ferner umfassend eine zusätzliche Schicht aus Polymer, Hydrogel oder chirurgischem Dichtungsmittel.

42. Verfahren nach Anspruch 2, wobei die modifizierte mRNA mindestens eine 5'-terminale Cap umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus CAP0, Cap1, ARCA, Inosin, NI-Methylguanosin, 2'-Fluoroguanosin, 7-Deazaguanosin, 8-Oxoguanosin, 2-Aminoguanosin, LNA-Guanosin und 2-Azidoguanosin ausgewählt ist.

43. Verfahren nach Anspruch 42, wobei die 5'-terminale Cap Cap1 ist.

44. Verfahren nach Anspruch 43, wobei die modifizierte mRNA mindestens zwei Modifikationen umfasst.

45. Verfahren nach Anspruch 44, wobei die mindestens zwei Modifikationen unabhängig aus der Gruppe bestehend aus 5-Methylcytidin, Pseudouridin und 1-Methylpseudouridin ausgewählt sind.

46. Verfahren zum Herstellen eines Polypeptids von Interesse in einer Säugerzelle oder einem Säugergewebe, wobei das Verfahren ein Inkontaktbringen der Säugerzelle oder des Säugergewebes mit einer Pufferformulierung umfasst, die eine modifizierte mRNA umfasst, die für das Polypeptid von Interesse codiert.

47. Verfahren nach Anspruch 46, wobei die Pufferformulierung aus der Gruppe bestehend aus Kochsalzlösung, phosphatgepufferter Kochsalzlösung und Ringer-Laktat ausgewählt ist.

48. Verfahren nach Anspruch 46, wobei die Pufferformulierung eine Calciumkonzentration zwischen 1-10 mM umfasst.

49. Verfahren nach Anspruch 46, wobei die modifizierte mRNA ein gereinigtes IVT-Transkript umfasst.

50. Verfahren nach Anspruch 46, wobei ein Inkontaktbringen der Säugerzellen oder des Säugergewebes über einen Verabreichungsweg erfolgt, der aus der Gruppe bestehend aus intravenös, intramuskulär, intravitreal, intrathekal, intratumoral, pulmonal und subkutan ausgewählt ist.

51. Verfahren nach Anspruch 25 oder 50, wobei das Polypeptid von Interesse in der Zelle oder dem Gewebe an einem Ort hergestellt wird, der systemisch von dem Ort des Inkontaktbringens ausgeht.

52. Verfahren nach Anspruch 51, wobei der Verabreichungsweg entweder intramuskulär oder subkutan ist.

53. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die Lipidnanopartikel-Formulierung ferner in einem Dichtmittel formuliert ist.

54. Verfahren nach Anspruch 53, wobei das Dichtmittel ein Fibrindichtmittel ist.

55. Verfahren zum Erzeugen einer pharmakologischen Wirkung bei einem Primaten, umfassend ein Inkontaktbringen des Primaten mit einer Zusammensetzung, die eine formulierte modifizierte mRNA umfasst, die für ein Polypeptid von Interesse codiert.

56. Verfahren nach Anspruch 55, wobei die modifizierte mRNA ein gereinigtes IVT-Transkript umfasst.

57. Verfahren nach Anspruch 56, wobei die Formulierung aus der Gruppe bestehend aus Nanopartikeln, Poly(milchsäure-co-glykolsäure)(PLGA)-Mikrosphären, Lipidoid, Lipoplex, Liposom, Polymeren, Kohlenhydraten (einschließlich einfacher Zucker), kationischen Lipiden, Fibringel, Fibrinhydrogel, Fibrinkleber, Fibrindichtmittel, Fibrinogen, Thrombin, schnell eliminierten Lipidnanopartikeln (reLNPs) und Kombinationen davon ausgewählt ist.

58. Verfahren nach Anspruch 57, wobei die pharmakologische Wirkung größer als die pharmakologische Wirkung ist, die mit einem therapeutischen Mittel verbunden ist, von dem bekannt ist, dass es die pharmakologische Wirkung erzeugt.

59. Verfahren nach Anspruch 57, wobei die pharmakologische Wirkung größer als die pharmakologische Wirkung ist, die durch eine Zusammensetzung erzeugt wird, die eine unformulierte modifizierte mRNA

NA umfasst, die für das Polypeptid von Interesse codiert.

60. Verfahren nach Anspruch 57, wobei die pharmakologische Wirkung größer als die pharmakologische Wirkung ist, die durch eine Zusammensetzung erzeugt wird, die eine formulierte unmodifizierte mRNA umfasst, die für das Polypeptid von Interesse codiert.

61. Verfahren nach Anspruch 57, wobei die pharmakologische Wirkung zu einem therapeutisch wirksamen Ergebnis einer Krankheit, Störung, eines Zustands oder einer Infektion führt.

62. Verfahren nach Anspruch 61, wobei die pharmakologische Wirkung aus der Gruppe bestehend aus einer Änderung der Zellzahl, einer Veränderung der Serumchemie, einer Veränderung der Enzymaktivität, einer Erhöhung des Hämoglobins und einer Erhöhung des Hämatokrits ausgewählt ist.

63. Verfahren nach Anspruch 62, wobei das therapeutisch wirksame Ergebnis aus der Gruppe bestehend aus Behandlung, Verbesserung eines oder mehrerer Symptome, Diagnose, Vorbeugung und Verzögerung des Einsetzens ausgewählt ist.

Es folgen keine Zeichnungen