

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和1年10月3日(2019.10.3)

【公表番号】特表2018-525015(P2018-525015A)

【公表日】平成30年9月6日(2018.9.6)

【年通号数】公開・登録公報2018-034

【出願番号】特願2018-510718(P2018-510718)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/113	(2010.01)
A 6 1 P	21/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/675	(2006.01)
A 6 1 K	47/64	(2017.01)

【F I】

C 1 2 N	15/113	Z N A Z
A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 K	31/675	
A 6 1 K	47/64	

【手続補正書】

【提出日】令和1年8月22日(2019.8.22)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

8～40サブユニットの修飾アンチセンスオリゴマー化合物であって、

a.(i)修飾ヌクレオシド間連結、(ii)修飾糖部分、または(iii)前出のものの組合せを有するヌクレオチド類似体である、少なくとも1つのサブユニットと；

b.SMN2プレmRNA内の標的領域中の8またはこれを超える連続ヌクレオチドと相補的なターゲティング配列であって、前記標的領域がSMN2プレmRNAのイントロン6またはイントロン7内の領域を含む、ターゲティング配列と

を含む、修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

【請求項2】

前記修飾ヌクレオシド間連結が、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結、ホスホルアミデートヌクレオシド間連結、ホスホロジアミデートヌクレオシド間連結、ホスホロトリアミデートヌクレオシド間連結、またはホスホロジアミデートから選択され、ここで、リン原子は、(1,4-ピペラジン)-1-イル部分、置換(1,4-ピペラジン)-1-イル部分、4-アミノピペリジン-1-イル部分、または置換4-アミノピペリジン-1-イル部分に共有結合している、請求項1に記載の修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

【請求項3】

前記修飾糖部分が、ペプチド核酸(PNA)サブユニット、ロックト核酸(LNA)サブユニット、2'-O,4'-C-エチレン架橋核酸(ENA)サブユニット、トリシクロDNA(tc-DNA)サブユニット、2'-O-メチルサブユニット、2'-O-メトキシリルサブユニット、2'-フルオロサブユニット、2'-O-[2-(N-メチルカルバ

モイル)エチル]サブユニット、またはモルホリノサブユニットのうちの少なくとも1つを含む、請求項1または2に記載の修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

【請求項4】

前記修飾アンチセンスオリゴマー化合物の3'末端または5'末端にコンジュゲートしたアルギニンに富む細胞透過性ペプチドをさらに含む、請求項1～3のいずれかに記載の修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

【請求項5】

前記ターゲティング配列が、配列番号4～16または33～45から選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載の修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

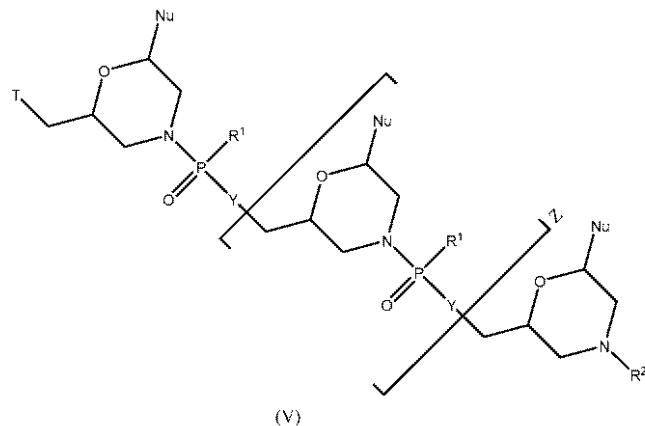
【請求項6】

前記サブユニットの各々のヌクレオ塩基が独立に、アデニン、グアニン、チミン、ウラシル、シトシン、イノシン、ヒポキサンチン、2',6'-ジアミノプリン、5'-メチルシトシン、C5'-プロピニル修飾ピリミジン、または10-(9-(アミノエトキシ)フェノキサジニル)から選択される、請求項1から4のいずれか一項に記載の修飾アンチセンスオリゴマー。

【請求項7】

式(V)：

【化302】



の化合物または薬学的に許容されるその塩であって、

式中、

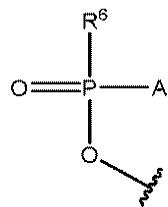
各Nuは、一緒にになってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

Zは、6～38の整数であり；

各Yは、Oおよび-NR⁴から独立に選択され、式中、各R⁴は、H、C₁～C₆アルキル、アラルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_nNR⁵C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR⁵C(=NH)NH₂、およびGから独立に選択され、式中、R⁵は、HおよびC₁～C₆アルキルから選択され、nは、1～5の整数であり；

Tは、OHおよび式：

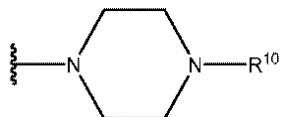
【化303】



の部分から選択され、式中、

A は、 - O H 、 - N (R ⁷) ₂ R ⁸ および R ¹ から選択され、式中、
各 R ⁷ は、 H および C ₁ ~ C ₆ アルキルから独立に選択され、
R ⁸ は、 電子対および H から選択され、そして
R ⁶ は、 O H 、 - N (R ⁹) C H ₂ C (O) N H ₂ 、 および式：

【化 3 0 4】



の部分から選択され、式中、

R ⁹ は、 H および C ₁ ~ C ₆ アルキルから選択され；
R ¹ ⁰ は、 G 、 - C (O) - R ¹ ¹ O H 、 アシル、 トリチル、 4 - メトキシトリチル、 - C (= N H) N H ₂ 、 - C (O) (C H ₂) _m N R ¹ ² C (= N H) N H ₂ 、 および - C (O) (C H ₂) ₂ N H C (O) (C H ₂) ₅ N R ¹ ² C (= N H) N H ₂ から選択され、式中、
m は、 1 ~ 5 の整数であり、

R ¹ ¹ は、 式 - (O - アルキル) _y - を有し、式中、y は、 3 ~ 10 の整数であり、

y 個のアルキル基の各々は、 C ₂ ~ C ₆ アルキルから独立に選択され；

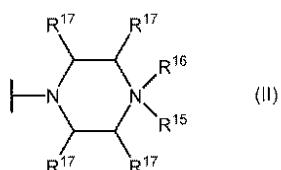
R ¹ ² は、 H および C ₁ ~ C ₆ アルキルから選択され；

R ¹ の各例は、

- N (R ¹ ³) ₂ R ¹ ⁴ [式中、各 R ¹ ³ は、 H および C ₁ ~ C ₆ アルキルから独立に選択され、そして R ¹ ⁴ は電子対および H から選択される] ；

式 (I I) :

【化 3 0 5】



の部分 [式中、

R ¹ ⁵ は、 H 、 G 、 C ₁ ~ C ₆ アルキル、 - C (= N H) N H ₂ 、 - C (O) (C H ₂) _q N R ¹ ⁸ C (= N H) N H ₂ 、 および - C (O) (C H ₂) ₂ N H C (O) (C H ₂) ₅ N R ¹ ⁸ C (= N H) N H ₂ から選択され、式中、

R ¹ ⁸ は、 H および C ₁ ~ C ₆ アルキルから選択され；

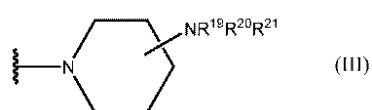
q は、 1 ~ 5 の整数であり；

R ¹ ⁶ は、 電子対および H から選択され；そして

各 R ¹ ⁷ は、 H およびメチルから独立に選択される] ； および

式 (I I I) :

【化 3 0 6】



の部分 [式中、

R ¹ ⁹ は、 H 、 C ₁ ~ C ₆ アルキル、 - C (= N H) N H ₂ 、 - C (O) (C H ₂) _q N R ¹ ⁸ C (= N H) N H ₂ 、 および - C (O) (C H ₂) ₅ N R ¹ ⁸ C (= N H) N H ₂ から選択され、式中、

$\text{N R}^{2-2}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_3\text{NH C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NH C}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{N R}^{2-2}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 、および G から選択され、式中、 R^{2-2} は、H および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルから選択され；

r は、1 ~ 5 の整数であり、

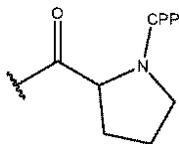
R^{2-0} は、H および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルから選択され、 R^{2-1} は、電子対および H から選択される]

から独立に選択され；

R² は、G、H、アシル、トリチル、4 - メトキシトリチル、および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルから選択され、

ここで、G は、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NH}-\text{CPP}$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NH}-\text{CPP}$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NH C}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NH}-\text{CPP}$ 、および $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{NH}-\text{CPP}$ から選択される細胞透過性ペプチド（「CPP」）およびリンカー部分であるか、または G は、式：

【化 307】



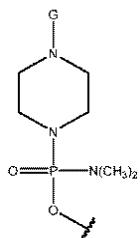
を有し、式中、該 CPP は、G の最大で 1 つの例が存在するという条件で、該 CPP のカルボキシ末端において、アミド結合により、リンカー部分に結合しており、

該ターゲティング配列は、(a) 配列番号 4 ~ 16 から選択される配列を含むか、(b) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるか、(c) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも 90 % の配列同一性を有する変体であり、ここで、各 X は、ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、各 Y は、シトシン (C) または 5 - メチルシトシン (5mC) から独立に選択され、

ここで、以下の条件のうちの少なくとも 1 つが存在する：

- a) R^1 の少なくとも 1 つが式 (II) または式 (III) であるか、あるいは
- b) R^2 が G であるか、または T が

【化 308】

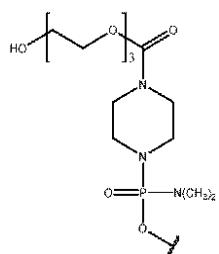


である、化合物または薬学的に許容されるその塩。

【請求項 8】

T が式：

【化309】

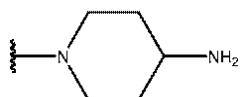


であり、R²がHである、請求項7に記載の化合物。

【請求項9】

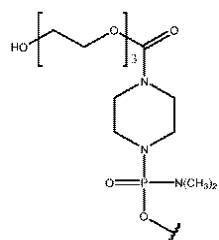
各R¹が

【化310】



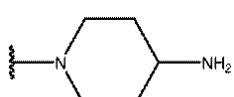
および-N(CH₃)₂から独立に選択され、Tが

【化311】



であり、R²がHであり、ここで、少なくとも1つのR¹が

【化312】

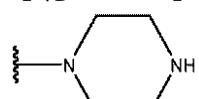


である、請求項7に記載の化合物。

【請求項10】

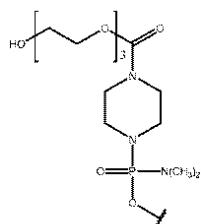
各R¹が

【化313】



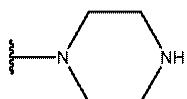
および-N(CH₃)₂から独立に選択され、Tが

【化314】



であり、R²がHであり、ここで、少なくとも1つのR¹が

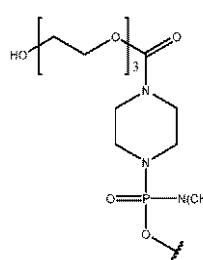
【化315】



である、請求項7に記載の化合物。

【請求項11】

各R¹が-N(CH₃)₂であり、R²がHおよびアシリルから選択され、Tが式：

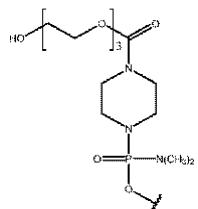


である、請求項7に記載の化合物。

【請求項12】

R²がGであり、Tが式：

【化317】

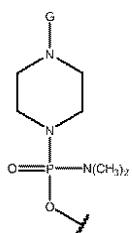


であり、各R¹が-N(CH₃)₂である、請求項7に記載の化合物。

【請求項13】

R²がHまたはアシリルから選択され、Tが式：

【化318】

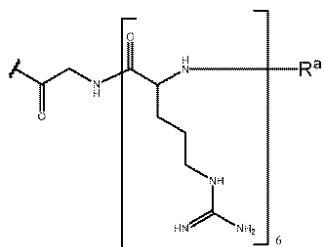


であり、各R¹が-N(CH₃)₂である、請求項7に記載の化合物。

【請求項14】

Gが式：

【化319】



であり、式中、R^aがH、アセチル、ベンゾイルおよびステアロイルから選択される、請求項11、12または13のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項15】

前記ターゲティング配列が、配列番号35、36または37から選択される、請求項1から14のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項16】

前記ターゲティング配列が配列番号37である、請求項1から15のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項17】

前記ターゲティング配列が配列番号35である、請求項1から15のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項18】

前記ターゲティング配列が配列番号36である、請求項1から15のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項19】

Zが16～23の整数であり、前記ターゲティング配列が配列番号35、36または37から選択される、請求項7から14のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項20】

Zが16であり、前記ターゲティング配列が配列番号35である、請求項7から15のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項21】

Zが18であり、前記ターゲティング配列が配列番号36である、請求項7から15のいずれか一項に記載の化合物。

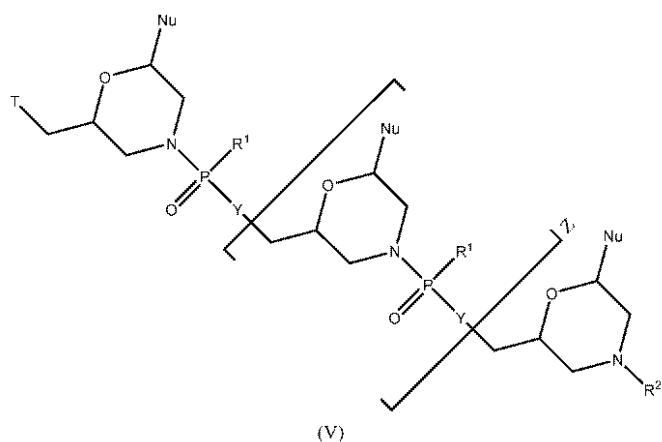
【請求項22】

Zが23であり、前記ターゲティング配列が配列番号37である、請求項7から15のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項23】

式(V)：

【化320】



の化合物または薬学的に許容されるその塩を含む医薬組成物であって、式中、

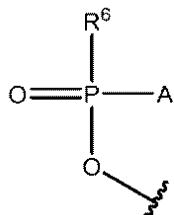
各 Nu は、一緒にになってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

Z は、6 ~ 38 の整数であり；

各 Y は、O および -NR⁴ から独立に選択され、式中、各 R⁴ は、H、C₁ ~ C₆ アルキル、アラルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_nNR⁵C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR⁵C(=NH)NH₂、および G から独立に選択され、式中、R⁵ は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され、n は、1 ~ 5 の整数であり；

T は、OH および式：

【化321】



の部分から選択され、式中、

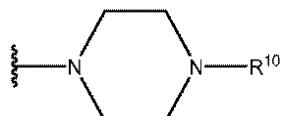
A は、-OH、-N(R⁷)₂R⁸ および R¹ から選択され、式中、

各 R⁷ は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから独立に選択され、

R⁸ は、電子対および H から選択され、そして

R⁶ は、OH、-N(R⁹)CH₂C(O)NH₂、および式：

【化322】



の部分から選択され、式中、

R⁹ は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

R¹⁰ は、G、-C(O)-R¹¹OH、アシル、トリチル、4-メトキシトリチル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_mNR¹²C(=NH)NH₂、および -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR¹²C(=NH)NH₂ から選択され、式中、

m は、1 ~ 5 の整数であり、

R^{1-1} は、式 - (O-アルキル)_y - を有し、式中、 y は、3 ~ 10 の整数であり、

y 個のアルキル基の各々は、C₂ ~ C₆ アルキルから独立に選択され；

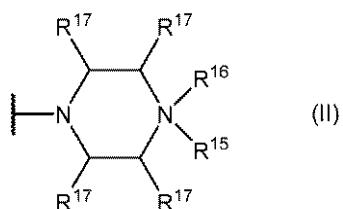
R^{1-2} は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

R^1 の各例は、

- N(R¹⁻³)₂ R¹⁻⁴ [式中、各 R¹⁻³ は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから独立に選択され、そして R¹⁻⁴ は電子対および H から選択される]；

式 (II) :

【化 3 2 3】



の部分 [式中、

R^{1-5} は、H、G、C₁ ~ C₆ アルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_qNR¹⁻⁸C(=NH)NH₂、および-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR¹⁻⁸C(=NH)NH₂ から選択され、式中、

R^{1-8} は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

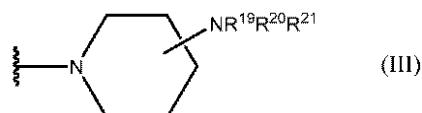
q は、1 ~ 5 の整数であり；

R^{1-6} は、電子対および H から選択され；そして

各 R^{1-7} は、H およびメチルから独立に選択される]；および

式 (III) :

【化 3 2 4】



の部分 [式中、

R^{1-9} は、H、C₁ ~ C₆ アルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_rNR²⁻²C(=NH)NH₂、-C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁻²C(=NH)NH₂、-C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂、および G から選択され、式中、

R^{2-2} は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

r は、1 ~ 5 の整数であり、

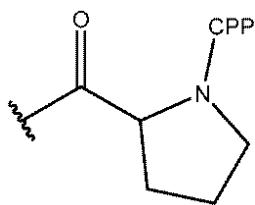
R^{2-0} は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され、 R^{2-1} は、電子対および H から選択される]

から独立に選択され；

R^2 は、G、H、アシル、トリチル、4-メトキシリチル、および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され、

ここで、G は、-C(O)(CH₂)₅NH-CPP、-C(O)(CH₂)₂NH-CPP、-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NH-CPP、および -C(O)CH₂NH-CPP から選択される細胞透過性ペプチド (「CPP」) および リンカ部分であるか、または G は、式：

【化325】



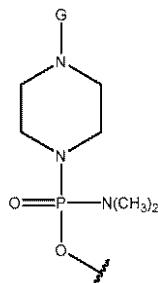
を有し、式中、該 CPP は、G の最大で 1 つの例が存在するという条件で、該 CPP のカルボキシ末端において、アミド結合により、リンカー部分に結合しており、

該ターゲティング配列は、(a) 配列番号 4 ~ 16 から選択される配列を含むか、(b) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるか、(c) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも 90 % の配列同一性を有する改変体であり、ここで、各 X は、ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、各 Y は、シトシン (C) または 5 - メチルシトシン (5mC) から独立に選択され、

ここで、以下の条件のうちの少なくとも 1 つが存在する：

- c) R¹ の少なくとも 1 つが式 (II) または式 (III) であるか、あるいは
- d) R² が G であるか、または T が

【化326】

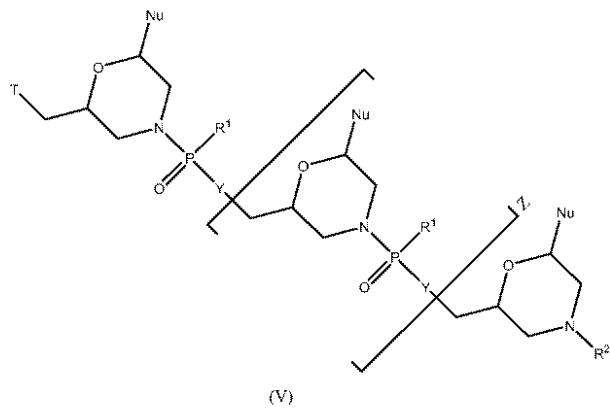


である、医薬組成物。

【請求項 24】

式 (V) :

【化327】



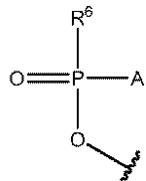
の化合物または薬学的に許容されるその塩を含む、脊髄性筋萎縮症の処置を必要とする該対象において脊髄性筋萎縮症を処置するための組成物であって、
式中、

各 N_u は、一緒になってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；
 Z は、6～38の整数であり；

各 Y は、O および $-NR^4$ から独立に選択され、式中、各 R^4 は、H、C₁～C₆アルキル、アラルキル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_nNR^5C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^5C(=NH)NH_2$ 、およびGから独立に選択され、式中、 R^5 は、H および C₁～C₆アルキルから選択され、 n は、1～5の整数であり；

T は、OH および式：

【化328】



の部分から選択され、式中、

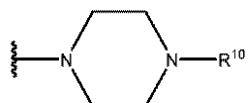
A は、 $-OH$ 、 $-N(R^7)_2R^8$ および R^1 から選択され、式中、

各 R^7 は、H および C₁～C₆アルキルから独立に選択され、

R^8 は、電子対およびHから選択され、そして

R^6 は、OH、 $-N(R^9)CH_2C(O)NH_2$ 、および式：

【化329】



の部分から選択され、式中、

R^9 は、H および C₁～C₆アルキルから選択され；

R^{10} は、G、 $-C(O)-R^{11}OH$ 、アシル、トリチル、4-メトキシトリチル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_mNR^{12}C(=NH)NH_2$ 、および $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{12}C(=NH)NH_2$ から選択され、式中、

m は、1～5の整数であり、

R^{11} は、式 $- (O - \text{アルキル})_y -$ を有し、式中、 y は、3～10の整数であり、

y 個のアルキル基の各々は、C₂～C₆アルキルから独立に選択され；

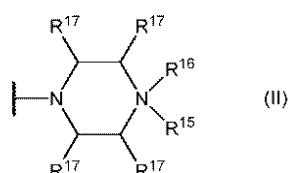
R^{12} は、H および C₁～C₆アルキルから選択され；

R^1 の各例は、

$-N(R^{13})_2R^{14}$ [式中、各 R^{13} は、H および C₁～C₆アルキルから独立に選択され、そして R^{14} は電子対およびHから選択される]；

式(I I)：

【化330】



の部分 [式中、

R^{1-5} は、 H、 G、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 -C(=NH)NH₂、 -C(O)(CH₂)_qNR¹⁻⁸C(=NH)NH₂、 および -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR¹⁻⁸C(=NH)NH₂ から選択され、 式中、

R^{1-8} は、 H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

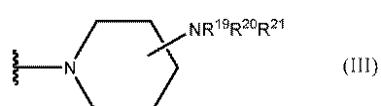
q は、 1 ~ 5 の整数であり；

R^{1-6} は、 電子対および H から選択され； そして

各 R^{1-7} は、 H およびメチルから独立に選択される] ； および

式 (I I I) :

【化 3 3 1】



の部分 [式中、

R^{1-9} は、 H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 -C(=NH)NH₂、 -C(O)(CH₂)_rNR²⁻²C(=NH)NH₂、 -C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂、 -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁻²C(=NH)NH₂、 -C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂、 および G から選択され、 式中、

R^{2-2} は、 H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

r は、 1 ~ 5 の整数であり、

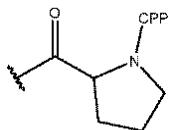
R^{2-0} は、 H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され、 R^{2-1} は、 電子対および H から選択される]

から独立に選択され；

R^2 は、 G、 H、 アシル、 トリチル、 4 - メトキシトリチル、 および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され、

ここで、 G は、 -C(O)(CH₂)₅NH-CPP、 -C(O)(CH₂)₂NH-CPP、 および -C(O)CH₂NH-CPP から選択される細胞透過性ペプチド (「 CPP 」) およびリンカー部分であるか、 または G は、 式 :

【化 3 3 2】



を有し、 式中、 該 CPP は、 G の最大で 1 つの例が存在するという条件で、 該 CPP のカルボキシ末端において、 アミド結合により、 リンカー部分に結合しており、

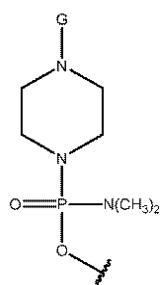
該ターゲティング配列は、 (a) 配列番号 4 ~ 1 6 から選択される配列を含むか、 (b) 配列番号 4 ~ 1 6 または 3 3 ~ 4 5 から選択されるか、 (c) 配列番号 4 ~ 1 6 または 3 3 ~ 4 5 から選択されるターゲティング配列のうちの、 少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、 または、 (d) 配列番号 4 ~ 1 6 または 3 3 ~ 4 5 から選択されるターゲティング配列に対する、 少なくとも 90 % の配列同一性を有する改変体であり、 ここで、 各 X は、 ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、 各 Y は、 シトシン (C) または 5 - メチルシトシン (5 m C) から独立に選択され、

ここで、 以下の条件のうちの少なくとも 1 つが存在する :

a) R^1 の少なくとも 1 つが式 (I I) または式 (I I I) であるか、 あるいは

b) R^2 が G であるか、 または T が

【化333】



である、組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0057

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0057】

以下の詳細な記載および添付の図面を参照すれば、本開示のこれらの態様および他の態様が明らかとなるであろう。本明細書で開示される全ての参考文献は、あたかも各々が個別に組み込まれたように、参照によりそれらの全体において本明細書に組み込まれる。

本発明の実施形態において、例えは以下の項目が提供される。

(項目1)

8～40サブユニットの修飾アンチセンスオリゴマー化合物であって、

a. (i) 修飾ヌクレオシド間連結、(ii) 修飾糖部分、または(iii) 前出のものの組合せを有するヌクレオチド類似体である、少なくとも1つのサブユニットと；
 b. SMN2プレmRNA内の標的領域中の8またはこれを超える連続ヌクレオチドと相補的なターゲティング配列であって、前記標的領域がSMN2プレmRNAのイントロン6またはイントロン7内の領域を含む、ターゲティング配列と
 を含む、修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

(項目2)

前記修飾ヌクレオシド間連結が、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結、ホスホルアミデートヌクレオシド間連結、ホスホジアミデートヌクレオシド間連結、ホスホロトリアミデートヌクレオシド間連結、またはホスホロジアミデートから選択され、ここで、リン原子は、(1,4-ピペラジン)-1-イル部分、置換(1,4-ピペラジン)-1-イル部分、4-アミノピペリジン-1-イル部分、または置換4-アミノピペリジン-1-イル部分に共有結合している、項目1に記載の修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

(項目3)

前記修飾糖部分が、ペプチド核酸(PNA)サブユニット、ロックト核酸(LNA)サブユニット、2'O,4'C-エチレン架橋核酸(ENA)サブユニット、トリシクロDNA(tc-DNA)サブユニット、2'O-メチルサブユニット、2'O-メトキシリルサブユニット、2'-フルオロサブユニット、2'-O-[2-(N-メチルカルバモイル)エチル]サブユニット、またはモルホリノサブユニットのうちの少なくとも1つを含む、項目1または2に記載の修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

(項目4)

前記修飾アンチセンスオリゴマー化合物の3'末端または5'末端にコンジュゲートしたアルギニンに富む細胞透過性ペプチドをさらに含む、項目1～3のいずれかに記載の修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

(項目5)

前記ターゲティング配列が、配列番号4～16または33～45から選択される、項目

1 ~ 4 のいずれか一項に記載の修飾アンチセンスオリゴマー化合物。

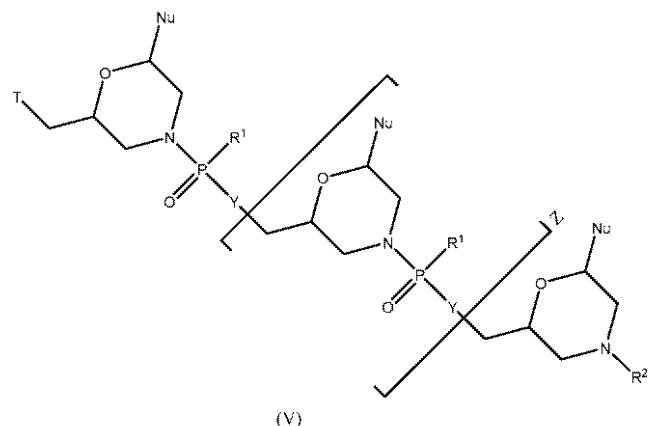
(項目6)

前記サブユニットの各々のヌクレオ塩基が独立に、アデニン、グアニン、チミン、ウラシル、シトシン、イノシン、ヒポキサンチン、2', 6'-ジアミノプリン、5'-メチルシトシン、C5'-プロピニル修飾ピリミジン、または10-(9-(アミノエトキシ)フェノキサジニル)から選択される、項目1から4のいずれか一項に記載の修飾アンチセンスオリゴマー。

(項目7)

式(V) :

【化302】



の化合物または薬学的に許容されるその塩であって、

式中、

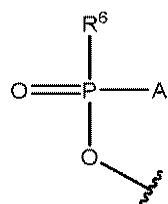
各Nuは、一緒にになってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

Zは、6~38の整数であり；

各Yは、Oおよび-NR⁴から独立に選択され、式中、各R⁴は、H、C₁~C₆アルキル、アラルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_nNR⁵C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR⁵C(=NH)NH₂、およびGから独立に選択され、式中、R⁵は、HおよびC₁~C₆アルキルから選択され、nは、1~5の整数であり；

Tは、OHおよび式：

【化303】



の部分から選択され、式中、

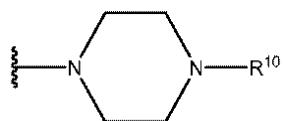
Aは、-OH、-N(R⁷)，R⁸およびR¹から選択され、式中、

各R⁷は、HおよびC₁~C₆アルキルから独立に選択され、

R⁸は、電子対およびHから選択され、そして

R⁶は、OH、-N(R⁹)CH₂C(O)NH₂、および式：

【化304】



の部分から選択され、式中、

R^9 は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

R^{10} は、G、 $-C(O)-R^{11}OH$ 、アシル、トリチル、4-メトキシトリチル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_mNR^{12}C(=NH)NH_2$ 、および $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{12}C(=NH)NH_2$ から選択され、式中、

m は、1 ~ 5 の整数であり、

R^{11} は、式 $- (O\text{-アルキル})_y -$ を有し、式中、 y は、3 ~ 10 の整数であり、

y 個のアルキル基の各々は、 $C_2 \sim C_6$ アルキルから独立に選択され；

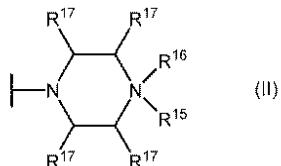
R^{12} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

R^1 の各例は、

$-N(R^{13})_2R^{14}$ [式中、各 R^{13} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから独立に選択され、そして R^{14} は電子対およびHから選択される]；

式(I I)：

【化305】



の部分 [式中、

R^{15} は、H、G、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_qNR^{18}C(=NH)NH_2$ 、および $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{18}C(=NH)NH_2$ から選択され、式中、

R^{18} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

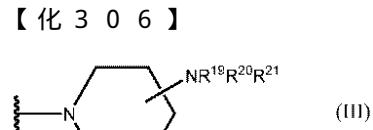
q は、1 ~ 5 の整数であり；

R^{16} は、電子対およびHから選択され；そして

各 R^{17} は、H およびメチルから独立に選択される]；および

式(I I I)：

【化306】



の部分 [式中、

R^{19} は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_rNR^{22}C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)CH(NH_2)(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{22}C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)CH(NH_2)(CH_2)_4NH_2$ 、および G から選択され、式中、

R^{22} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

r は、1～5 の整数であり、

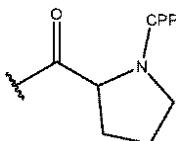
R² 0 は、H および C₁～C₆ アルキルから選択され、R² 1 は、電子対および H から選択される】

から独立に選択され；

R² は、G、H、アシル、トリチル、4-メトキシトリチル、および C₁～C₆ アルキルから選択され、

ここで、G は、-C(O)(CH₂)₅NH-CPP、-C(O)(CH₂)₂NH-CPP、-C(O)CH₂NH-CPP から選択される細胞透過性ペプチド（「CPP」）およびリンカー部分であるか、または G は、式：

【化 307】



を有し、式中、該 CPP は、G の最大で 1 つの例が存在するという条件で、該 CPP のカルボキシ末端において、アミド結合により、リンカー部分に結合しており、

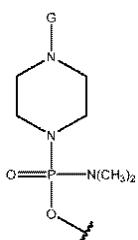
該ターゲティング配列は、(a) 配列番号 4～16 から選択される配列を含むか、(b) 配列番号 4～16 または 33～45 から選択されるか、(c) 配列番号 4～16 または 33～45 から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d) 配列番号 4～16 または 33～45 から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも 90% の配列同一性を有する変形体であり、ここで、各 X は、ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、各 Y は、シトシン (C) または 5-メチルシトシン (5mC) から独立に選択され、

ここで、以下の条件のうちの少なくとも 1 つが存在する：

a) R¹ の少なくとも 1 つが式 (II) または式 (III) であるか、あるいは

b) R² が G であるか、または T が

【化 308】

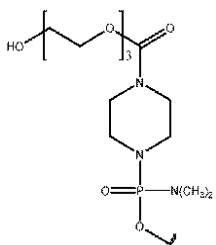


である、化合物または薬学的に許容されるその塩。

(項目 8)

T が式：

【化 309】

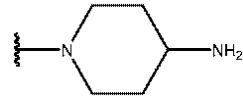


であり、R²がHである、項目7に記載の化合物。

(項目9)

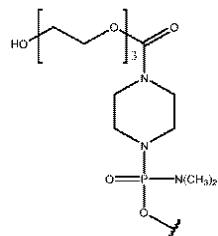
各R¹が

【化310】



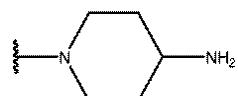
および-N(C₂H₅)₂から独立に選択され、Tが

【化311】



であり、R²がHであり、ここで、少なくとも1つのR¹が

【化312】

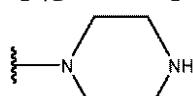


である、項目7に記載の化合物。

(項目10)

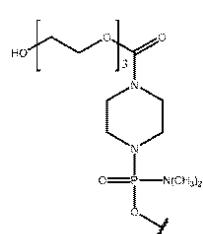
各R¹が

【化313】



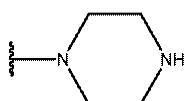
および-N(C₂H₅)₂から独立に選択され、Tが

【化314】



であり、R²がHであり、ここで、少なくとも1つのR¹が

【化315】

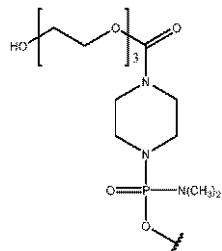


である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 1 1)

各 R¹ が -N(C₂H₅)₂ であり、R² が H およびアシルから選択され、T が式 :

【化 3 1 6】

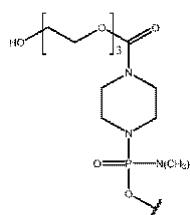


である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 1 2)

R² が G であり、T が式 :

【化 3 1 7】

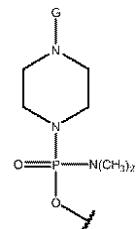


であり、各 R¹ が -N(C₂H₅)₂ である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 1 3)

R² が H またはアシルから選択され、T が式 :

【化 3 1 8】

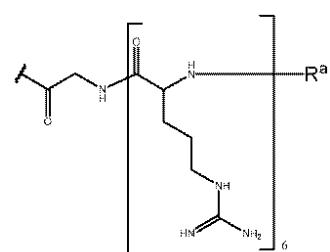


であり、各 R¹ が -N(C₂H₅)₂ である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 1 4)

G が式 :

【化 3 1 9】



であり、式中、R^a が H、アセチル、ベンゾイルおよびステアロイルから選択される、項目 1 1、1 2 または 1 3 のいずれか一項に記載の化合物。

(項目15)

前記ターゲティング配列が、配列番号35、36または37から選択される、項目1から14のいずれか一項に記載の化合物。

(項目16)

前記ターゲティング配列が配列番号37である、項目1から15のいずれか一項に記載の化合物。

(項目17)

前記ターゲティング配列が配列番号35である、項目1から15のいずれか一項に記載の化合物。

(項目18)

前記ターゲティング配列が配列番号36である、項目1から15のいずれか一項に記載の化合物。

(項目19)

Zが16～23の整数であり、前記ターゲティング配列が配列番号35、36または37から選択される、項目7から14のいずれか一項に記載の化合物。

(項目20)

Zが16であり、前記ターゲティング配列が配列番号35である、項目7から15のいずれか一項に記載の化合物。

(項目21)

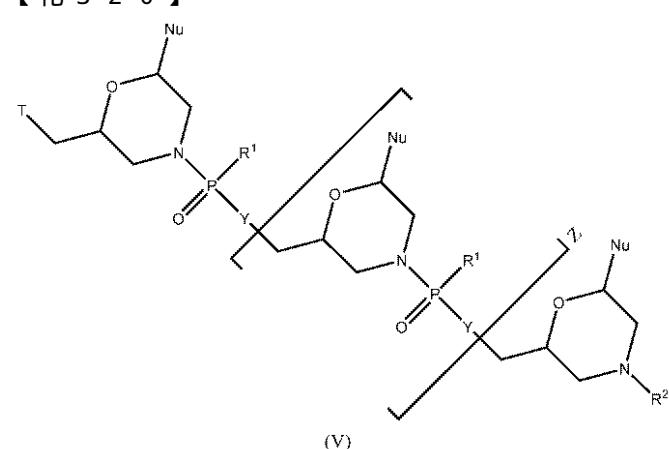
Zが18であり、前記ターゲティング配列が配列番号36である、項目7から15のいずれか一項に記載の化合物。

(項目22)

Zが23であり、前記ターゲティング配列が配列番号37である、項目7から15のいずれか一項に記載の化合物。

(項目23)

式(V)：

【化320】

の化合物または薬学的に許容されるその塩を含む医薬組成物であって、

式中、

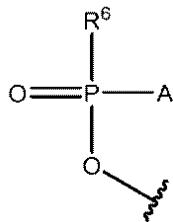
各Nuは、一緒になってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

Zは、6～38の整数であり；

各Yは、Oおよび-NR⁴から独立に選択され、式中、各R⁴は、H、C₁～C₆アルキル、アラルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_nNR⁵C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR⁵C(=NH)NH₂、およびGから独立に選択され、式中、R⁵は、HおよびC₁～C₆アルキルから選択され、nは、1～5の整数であり；

Tは、OHおよび式：

【化321】



の部分から選択され、式中、

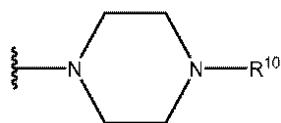
Aは、-OH、-N(R⁷)，R⁸およびR¹から選択され、式中、

各R⁷は、HおよびC₁～C₆アルキルから独立に選択され、

R⁸は、電子対およびHから選択され、そして

R⁶は、OH、-N(R⁹)CH₂C(O)NH₂、および式：

【化322】



の部分から選択され、式中、

R⁹は、HおよびC₁～C₆アルキルから選択され；

R¹⁰は、G、-C(O)-R¹¹OH、アシル、トリチル、4-メトキシトリチル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_mNR¹²C(=NH)NH₂、および-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR¹²C(=NH)NH₂から選択され、式中、

mは、1～5の整数であり、

R¹¹は、式-(O-アルキル)_y-を有し、式中、yは、3～10の整数であり、

y個のアルキル基の各々は、C₂～C₆アルキルから独立に選択され；

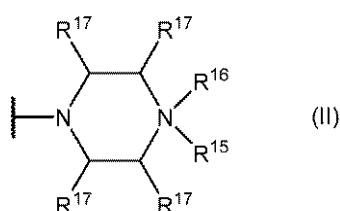
R¹²は、HおよびC₁～C₆アルキルから選択され；

R¹の各例は、

-N(R¹³)₂R¹⁴ [式中、各R¹³は、HおよびC₁～C₆アルキルから独立に選択され、そしてR¹⁴は電子対およびHから選択される]；

式(I I)：

【化323】



の部分 [式中、

R¹⁵は、H、G、C₁～C₆アルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_qNR¹⁸C(=NH)NH₂、および-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR¹⁸C(=NH)NH₂から選択され、式中、

R¹⁸は、HおよびC₁～C₆アルキルから選択され；

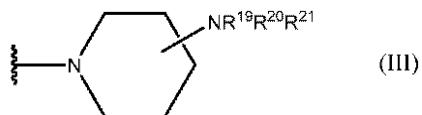
qは、1～5の整数であり；

R¹~R⁶は、電子対およびHから選択され；そして

各R¹~R⁷は、Hおよびメチルから独立に選択される]；および

式(II)：

【化324】



の部分[式中、

R¹~R⁹は、H、C₁~C₆アルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_rNR²~C(=NH)NH₂、-C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHCO(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)₂NHCO(O)(CH₂)₅NR²~C(=NH)NH₂、-C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂、およびGから選択され、式中、

R²~R²は、HおよびC₁~C₆アルキルから選択され；

rは、1~5の整数であり、

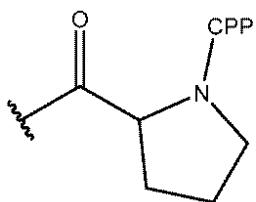
R²~R⁰は、HおよびC₁~C₆アルキルから選択され、R²~R¹は、電子対およびHから選択される]

から独立に選択され；

R²は、G、H、アシル、トリチル、4-メトキシトリチル、およびC₁~C₆アルキルから選択され、

ここで、Gは、-C(O)(CH₂)₅NH-CPP、-C(O)(CH₂)₂NH-CPP、-C(O)(CH₂)₂NHCO(O)(CH₂)₅NH-CPP、および-C(O)CH₂NH-CPPから選択される細胞透過性ペプチド(「CPP」)およびリンカー部分であるか、またはGは、式：

【化325】



を有し、式中、該CPPは、Gの最大で1つの例が存在するという条件で、該CPPのカルボキシ末端において、アミド結合により、リンカー部分に結合しており、

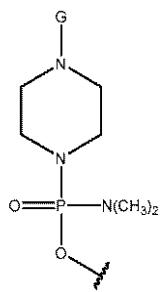
該ターゲティング配列は、(a)配列番号4~16から選択される配列を含むか、(b)配列番号4~16または33~45から選択されるか、(c)配列番号4~16または33~45から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも8連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d)配列番号4~16または33~45から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも90%の配列同一性を有する変体であり、ここで、各Xは、ウラシル(U)またはチミン(T)から独立に選択され、各Yは、シトシン(C)または5-メチルシトシン(5mC)から独立に選択され、

ここで、以下の条件のうちの少なくとも1つが存在する：

c) R¹の少なくとも1つが式(II)または式(III)であるか、あるいは

d) R²がGであるか、またはTが

【化326】

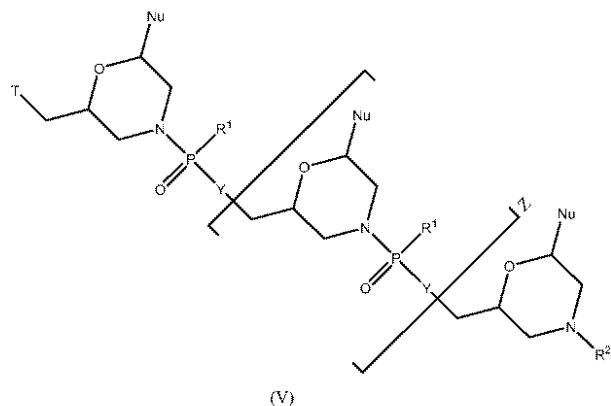


である、医薬組成物。

(項目24)

有効量の式(V)：

【化327】



の化合物または薬学的に許容されるその塩を対象に投与するステップを含む、脊髄性筋萎縮症の処置を必要とする該対象において脊髄性筋萎縮症を処置する方法であって、式中、

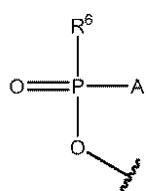
各Nuは、一緒にになってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

Zは、6～38の整数であり；

各Yは、Oおよび-NR⁴から独立に選択され、式中、各R⁴は、H、C₁～C₆アルキル、アラルキル、-C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)_nNR⁵C(=NH)NH₂、-C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR⁵C(=NH)NH₂、およびGから独立に選択され、式中、R⁵は、HおよびC₁～C₆アルキルから選択され、nは、1～5の整数であり；

Tは、OHおよび式：

【化328】



の部分から選択され、式中、

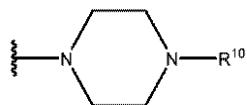
Aは、-OH、-N(R⁷)₂R⁸およびR¹から選択され、式中、

各R⁷は、HおよびC₁～C₆アルキルから独立に選択され、

R⁸は、電子対およびHから選択され、そして

R⁶ は、 OH、 - N (R⁹) CH₂ C (O) NH₂、 および式：

【化 3 2 9】



の部分から選択され、式中、

R⁹ は、 H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

R¹⁰ は、 G、 - C (O) - R¹¹ OH、 アシル、 トリチル、 4 - メトキシトリチル、 - C (= NH) NH₂、 - C (O) (CH₂)_m NR¹² C (= NH) NH₂、 および - C (O) (CH₂)₂ NH C (O) (CH₂)₅ NR¹² C (= NH) NH₂ から選択され、式中、

m は、 1 ~ 5 の整数であり、

R¹¹ は、 式 - (O - アルキル)_y - を有し、 式中、 y は、 3 ~ 10 の整数であり、

y 個のアルキル基の各々は、 C₂ ~ C₆ アルキルから独立に選択され；

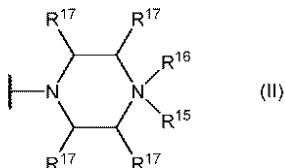
R¹² は、 H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

R¹ の各例は、

- N (R¹³)₂ R¹⁴ [式中、 各 R¹³ は、 H および C₁ ~ C₆ アルキルから独立に選択され、 そして R¹⁴ は電子対および H から選択される] ；

式 (II) :

【化 3 3 0】



の部分 [式中、

R¹⁵ は、 H、 G、 C₁ ~ C₆ アルキル、 - C (= NH) NH₂、 - C (O) (CH₂)_q NR¹⁸ C (= NH) NH₂、 および - C (O) (CH₂)₂ NH C (O) (CH₂)₅ NR¹⁸ C (= NH) NH₂ から選択され、 式中、

R¹⁸ は、 H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

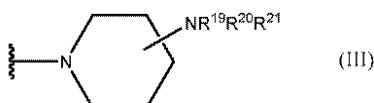
q は、 1 ~ 5 の整数であり；

R¹⁶ は、 電子対および H から選択され； そして

各 R¹⁷ は、 H およびメチルから独立に選択される] ； および

式 (III) :

【化 3 3 1】



の部分 [式中、

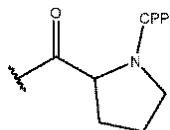
R¹⁹ は、 H、 C₁ ~ C₆ アルキル、 - C (= NH) NH₂、 - C (O) (CH₂)_r NR²² C (= NH) NH₂、 - C (O) CH (NH₂) (CH₂)₃ NH C (= NH) NH₂、 - C (O) (CH₂)₂ NH C (O) (CH₂)₅ NR²² C (= NH) NH₂、 - C (O) CH (NH₂) (CH₂)₄ NH₂、 および G から選択され、 式中、

R² は、 H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；
r は、 1 ~ 5 の整数であり、
R² は、 H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され、 R² は、 電子対および H から選択される】
から独立に選択され；

R² は、 G、 H、 アシル、 トリチル、 4 - メトキシリチル、 および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され、

ここで、 G は、 - C(O)(CH₂)₅NH-CPP、 - C(O)(CH₂)₂NH-CPP、 および - C(O)CH₂NH-CPP から選択される細胞透過性ペプチド（「CPP」）およびリンカー部分であるか、 または G は、 式：

【化 3 3 2】



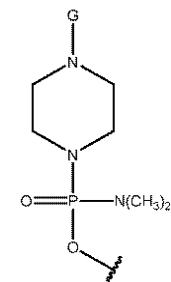
を有し、 式中、 該 CPP は、 G の最大で 1 つの例が存在するという条件で、 該 CPP のカルボキシ末端において、 アミド結合により、 リンカー部分に結合しており、

該ターゲティング配列は、 (a) 配列番号 4 ~ 16 から選択される配列を含むか、 (b) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるか、 (c) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列のうちの、 少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、 または、 (d) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列に対する、 少なくとも 90 % の配列同一性を有する改変体であり、 ここで、 各 X は、 ウラシル (U) または チミン (T) から独立に選択され、 各 Y は、 シトシン (C) または 5 - メチルシトシン (5mC) から独立に選択され、

ここで、 以下の条件のうちの少なくとも 1 つが存在する：

- a) R¹ の少なくとも 1 つが式 (II) または式 (III) であるか、 あるいは
- b) R² が G であるか、 または T が

【化 3 3 3】



である、 方法。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0540

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0540】

S MN 2 対立遺伝子を増幅するために、 Super Script III One - S

tep RT - PCR system (Invitrogen) を使用して逆転写酵素 PCR を実施した。スクレオフェクトした細胞から単離した 400 ng の RNA を逆転写し、次の遺伝子特異的プライマーで増幅した：フォワードプライマー 5' - A C T T T C C C C A A T C T G T G A A G T - 3' (配列番号52) およびリバースプライマー 5' - C A T T T A G T G C T G C T C T A T G C C - 3' (配列番号54)。逆転写および増幅のための PCR 条件は、次の通り設定した：逆転写、55、20 分間；RT 不活性化、94、2 分間；変性、94、2 分間；アニーリング、59、45 秒間；伸長、68、1 分間；変性 / アニーリング / 伸長を 45 サイクル繰り返した。エクソン 7 が適切に含まれる場合、増幅産物のサイズは、494 bp であるはずである。エクソン 7 排除物の増幅産物のサイズは、434 bp のはずである。cDNA 試料は、さらなる分析のために -20 で保存した。