

【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、(i i) 修飾糖部分、または (i i i) 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 . S M N 2 プレ m R N A 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 S M N 2 プレ m R N A 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 (P N A) サブユニット、ロケット核酸 (L N A) サブユニット、2' O , 4' C - エチレン架橋核酸 (E N A) サブユニット、トリシクロ D N A (t c - D N A) サブユニット、2' O - メチルサブユニット、2' O - メトキシエチルサブユニット、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。

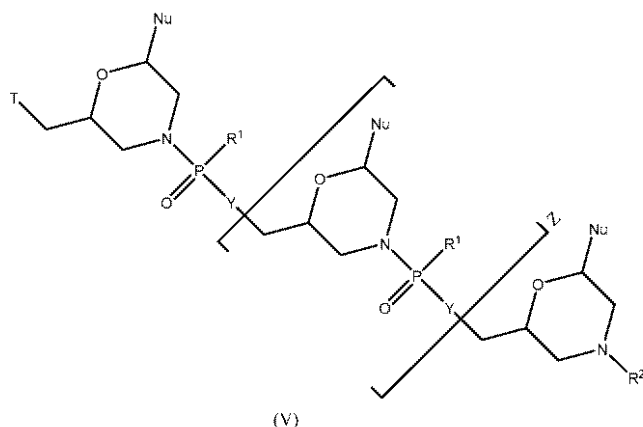
【請求項6】

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、

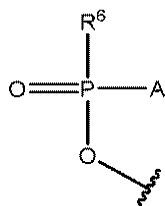
各Nuは、一緒になってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

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：

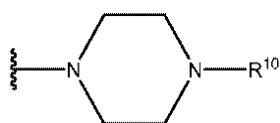
【化303】



の部分から選択され、式中、

A は、 $-OH$ 、 $-N(R^7)_2R^8$ および R^1 から選択され、式中、
 各 R^7 は、 H および $C_1 \sim C_6$ 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、 OH 、 $-N(R^9)CH_2C(O)NH_2$ 、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 $C_1 \sim C_6$ 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 $-(O-アルキル)_y-$ 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；

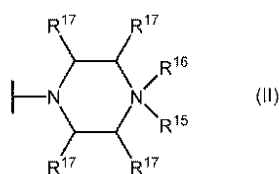
R^{12} は、 H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

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 3 0 5】



(II)

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；

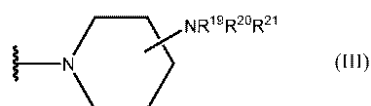
q は、1 ~ 5 の整数であり；

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 3 0 6】



(III)

の部分 [式中、

R^{19} は、 H 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH$

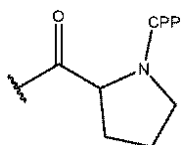
$\text{NR}^{22}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NR}^{22}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 、および G から選択され、式中、
 R^{22} 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^{20} は、H および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルから選択され、 R^{21} 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 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルから選択され、

ここで、G は、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NH}-\text{CPP}$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NH}-\text{CPP}$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NH}-\text{CPP}$ 、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】



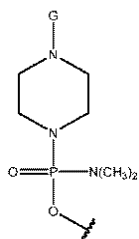
を有し、式中、該 CPP は、G の最大で 1 つの例が存在するという条件で、該 CPP のカルボキシ末端において、アミド結合により、リンカー部分に結合しており、

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) 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】

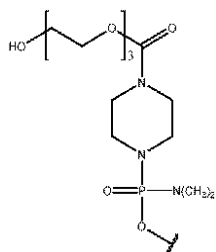


である、化合物または薬学的に許容されるその塩。

【請求項 8】

T が式：

【化 3 0 9】

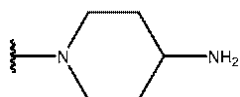


であり、 R^2 が H である、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 9】

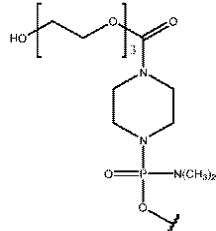
各 R^1 が

【化 3 1 0】



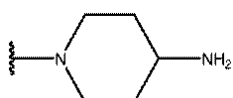
および -N(CH₃)₂ から独立に選択され、T が

【化 3 1 1】



であり、 R^2 が H であり、ここで、少なくとも 1 つの R^1 が

【化 3 1 2】

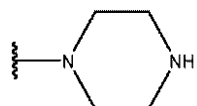


である、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 10】

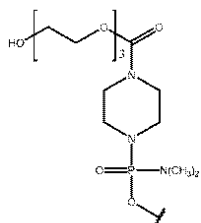
各 R^1 が

【化 3 1 3】



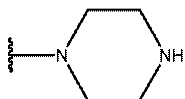
および -N(CH₃)₂ から独立に選択され、T が

【化 3 1 4】



であり、 R^2 が H であり、ここで、少なくとも 1 つの R^1 が

【化 3 1 5】

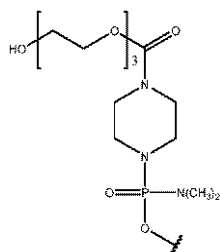


である、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 1 1】

各 R^1 が $-N(CH_3)_2$ であり、 R^2 が H およびアシルから選択され、T が式：

【化 3 1 6】

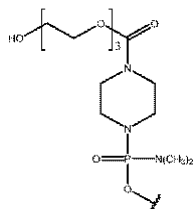


である、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 1 2】

R^2 が G であり、T が式：

【化 3 1 7】

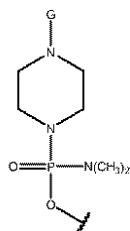


であり、各 R^1 が $-N(CH_3)_2$ である、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 1 3】

R^2 が H またはアシルから選択され、T が式：

【化 3 1 8】

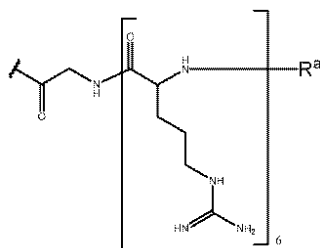


であり、各 R^1 が $-N(CH_3)_2$ である、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 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、請求項 1 1、1 2 または 1 3 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5】

前記ターゲティング配列が、配列番号 3 5、3 6 または 3 7 から選択される、請求項 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 6】

前記ターゲティング配列が配列番号 3 7 である、請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 7】

前記ターゲティング配列が配列番号 3 5 である、請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 8】

前記ターゲティング配列が配列番号 3 6 である、請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 9】

Z が 1 6 ~ 2 3 の整数であり、前記ターゲティング配列が配列番号 3 5、3 6 または 3 7 から選択される、請求項 7 から 1 4 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 2 0】

Z が 1 6 であり、前記ターゲティング配列が配列番号 3 5 である、請求項 7 から 1 5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 2 1】

Z が 1 8 であり、前記ターゲティング配列が配列番号 3 6 である、請求項 7 から 1 5 のいずれか一項に記載の化合物。

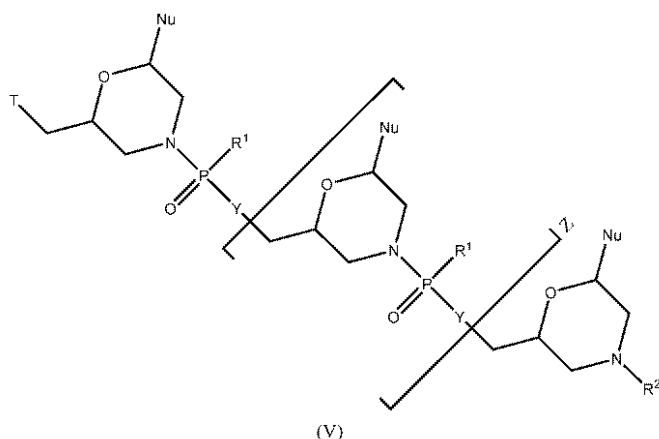
【請求項 2 2】

Z が 2 3 であり、前記ターゲティング配列が配列番号 3 7 である、請求項 7 から 1 5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 2 3】

式 (V)：

【化 3 2 0】



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、

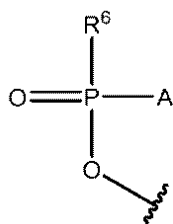
各 Nu は、一緒になってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

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 3 2 1】



の部分から選択され、式中、

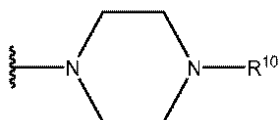
A は、-OH、-N(R⁷)₂R⁸ および R¹ から選択され、式中、

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 3 2 2】



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^{11} 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；

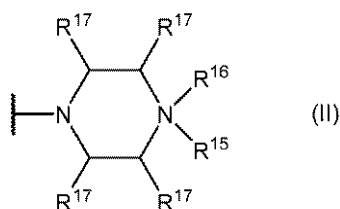
R^{12} は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

R^{13} の各例は、

- N (R^{13})₂ R^{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 (II) :

【化 3 2 3】



の部分 [式中、

R^{15} 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 NHC (O) (CH₂)₅ NR¹⁸ C (= NH) NH₂ から選択され、式中、

R^{18} は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

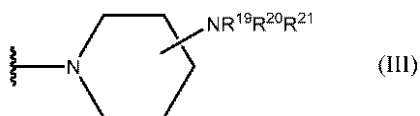
q は、1 ~ 5 の整数であり；

R^{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 (III) :

【化 3 2 4】



の部分 [式中、

R^{19} 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 NHC (= NH) NH₂、- C (O) (CH₂)₂ NHC (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、

R^{22} は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され；

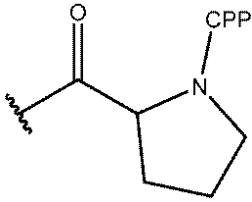
r は、1 ~ 5 の整数であり、

R^{20} は、H および C₁ ~ C₆ アルキルから選択され、 R^{21} 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 C₁ ~ C₆ アルキルから選択され、

ここで、G は、- C (O) (CH₂)₅ NH - CPP、- C (O) (CH₂)₂ NH - CPP、- C (O) (CH₂)₂ NHC (O) (CH₂)₅ NH - CPP、および - C (O) CH₂ NH - 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 2 5】



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、

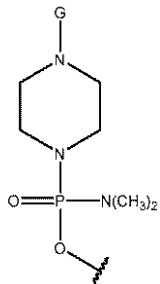
該ターゲティング配列は、(a) 配列番号 4 ~ 16 から選択される配列を含むか、(b) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるか、(c) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも 90 % の配列同一性を有する改変体であり、ここで、各 X は、ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、各 Y は、シトシン (C) または 5 - メチルシ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

d) R^2 が G であるか、または T が

【化 3 2 6】

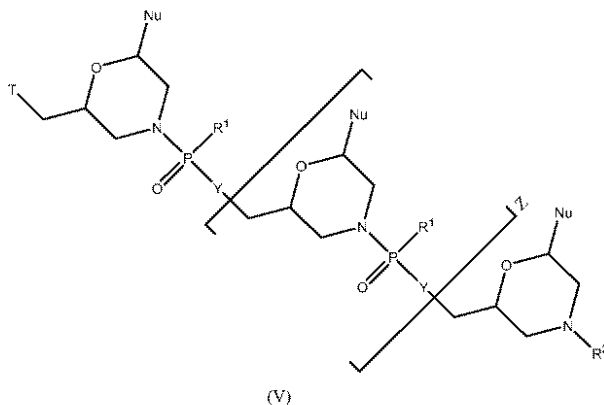


である、医薬組成物。

【請求項 24】

式 (V)：

【化 3 2 7】



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、

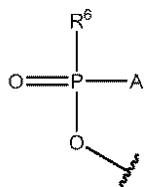
各 Nu は、一緒になってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

Z は、6 ~ 38 の整数であり；

各 Y は、O および $-NR^4$ から独立に選択され、式中、各 R^4 は、H、 $C_1 \sim C_6$ 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 $C_1 \sim C_6$ 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 3 2 8】



の部分から選択され、式中、

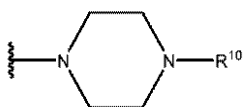
A は、 $-OH$ 、 $-N(R^7)_2R^8$ および R^1 から選択され、式中、

各 R^7 は、H および $C_1 \sim C_6$ 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、OH、 $-N(R^9)CH_2C(O)NH_2$ 、および式：

【化 3 2 9】



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 $-(O-アルキル)_y-$ 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；

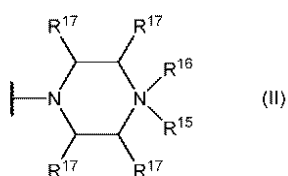
R^{12} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

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 (II)：

【化 3 3 0】



の部分 [式中、

R^{15} は、H、G、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_q NR^{18}C(=NH)NH_2$ 、および $-C(O)(CH_2)_2 NHC(O)(CH_2)_5 NR^{18}C(=NH)NH_2$ 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；

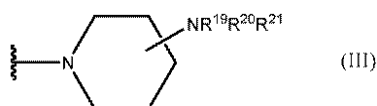
q は、1 ~ 5 の整数であり；

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 (III) :

【化 3 3 1】



の部分 [式中、

R^{19} は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_r NR^{22}C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)CH(NH_2)(CH_2)_3 NHC(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_2 NHC(O)(CH_2)_5 NR^{22}C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)CH(NH_2)(CH_2)_4 NH_2$ 、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、

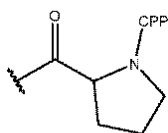
R^{20} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され、 R^{21} は、電子対および H から選択される]

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、 $-C(O)(CH_2)_5 NH - CPP$ 、 $-C(O)(CH_2)_2 NH - CPP$ 、 $-C(O)(CH_2)_2 NHC(O)(CH_2)_5 NH - CPP$ 、および $-C(O)CH_2 NH - CPP$ 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、

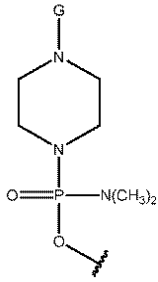
該ターゲティング配列は、(a) 配列番号 4 ~ 16 から選択される配列を含むか、(b) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるか、(c) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも 90 % の配列同一性を有する改変体であり、ここで、各 X は、ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、各 Y は、シトシン (C) または 5 - メチルシトシン (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) 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 3 3 3】



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、例えば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、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、ロケット核酸 (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 - メトキシエチルサブユニット、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。

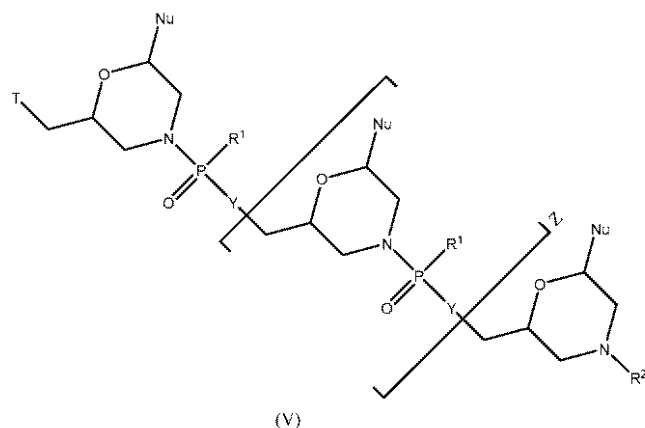
(項目 6)

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、C 5 - 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 3 0 2】



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、

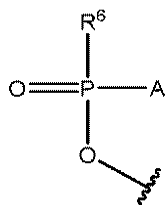
各 Nu は、一緒になってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

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 3 0 3】



の部分から選択され、式中、

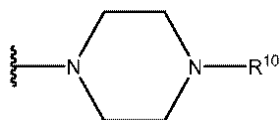
A は、- OH、- N(R⁷)₂ R⁸ および R¹ から選択され、式中、

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 3 0 4】



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 $-(O-アルキル)_y-$ 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；

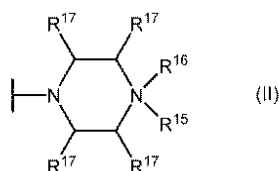
R^{12} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

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 3 0 5】



(II)

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；

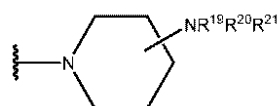
q は、1 ~ 5 の整数であり；

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 3 0 6】



(III)

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、

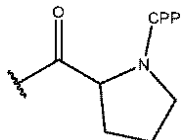
R^{20} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され、 R^{21} は、電子対および H から選択される]

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、 $-C(O)(CH_2)_5NH-CPP$ 、 $-C(O)(CH_2)_2NH-CPP$ 、 $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NH-CPP$ 、および $-C(O)CH_2NH-CPP$ 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、

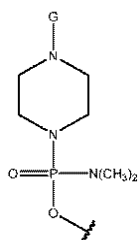
該ターゲティング配列は、(a) 配列番号 4 ～ 16 から選択される配列を含むか、(b) 配列番号 4 ～ 16 または 33 ～ 45 から選択されるか、(c) 配列番号 4 ～ 16 または 33 ～ 45 から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d) 配列番号 4 ～ 16 または 33 ～ 45 から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも 90 % の配列同一性を有する改変体であり、ここで、各 X は、ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、各 Y は、シトシン (C) または 5 - メチルシ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

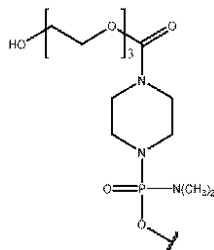


である、化合物または薬学的に許容されるその塩。

(項目 8)

T が式：

【化 309】

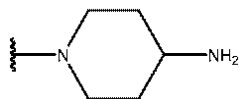


であり、 R^2 が H である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 9)

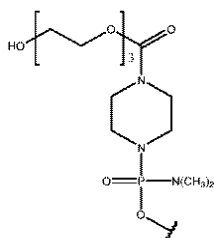
各 R^1 が

【化 3 1 0】



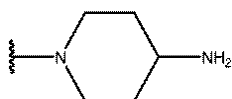
および -N(CH₃)₂ から独立に選択され、T が

【化 3 1 1】



であり、 R^2 が H であり、ここで、少なくとも 1 つの R^1 が

【化 3 1 2】

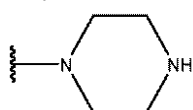


である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 1 0)

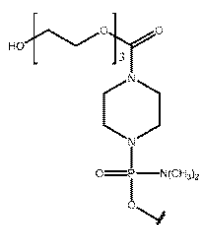
各 R^1 が

【化 3 1 3】



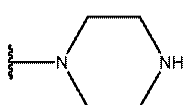
および -N(CH₃)₂ から独立に選択され、T が

【化 3 1 4】



であり、 R^2 が H であり、ここで、少なくとも 1 つの R^1 が

【化 3 1 5】

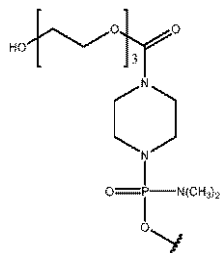


である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 1 1)

各 R^1 が $-N(CH_3)_2$ であり、 R^2 が H およびアシルから選択され、T が式：

【化 3 1 6】

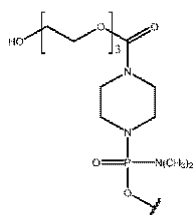


である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 1 2)

R^2 が G であり、T が式：

【化 3 1 7】

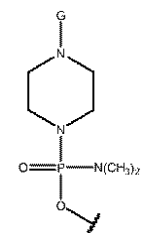


であり、各 R^1 が $-N(CH_3)_2$ である、項目 7 に記載の化合物。

(項目 1 3)

R^2 が H またはアシルから選択され、T が式：

【化 3 1 8】

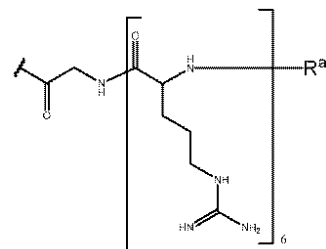


であり、各 R^1 が $-N(CH_3)_2$ である、項目 7 に記載の化合物。

(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。

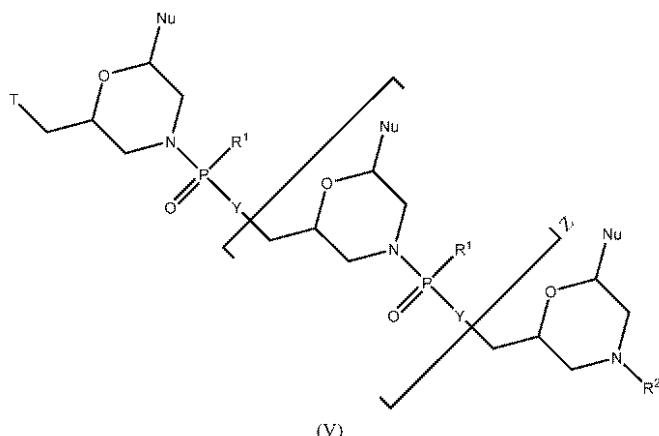
(項目 22)

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、

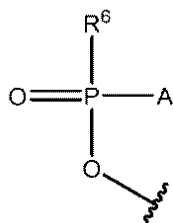
各 Nu は、一緒になってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

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 3 2 1】



の部分から選択され、式中、

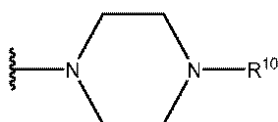
A は、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 R^8 および R^1 から選択され、式中、

各 R^7 は、 H および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ 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、 OH 、 $-\text{N}(\text{R}^9)\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、および式：

【化 3 2 2】



の部分から選択され、式中、

R^9 は、 H および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルから選択され；

R^{10} は、 G 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}^{11}\text{OH}$ 、アシル、トリチル、4-メトキシトリチル、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{12}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、および $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NR}^{12}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ から選択され、式中、

m は、1 ~ 5 の整数であり、

R^{11} は、式 $-(\text{O}-\text{アルキル})_y-$ 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、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_6$ アルキルから独立に選択され；

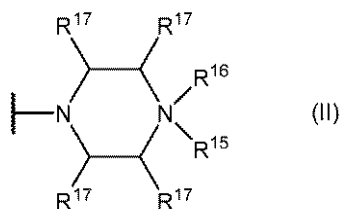
R^{12} は、 H および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルから選択され；

R^1 の各例は、

$-\text{N}(\text{R}^{13})_2$ 、 R^{14} [式中、各 R^{13} は、 H および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ 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 (II)：

【化 3 2 3】



(II)

の部分 [式中、

R^{15} は、 H 、 G 、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_q\text{NR}^{18}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、および $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NR}^{18}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ から選択され、式中、

R^{18} は、 H および $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルから選択され；

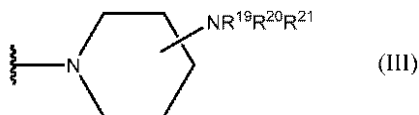
q は、1 ~ 5 の整数であり；

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 (III)：

【化 3 2 4】



の部分 [式中、

R^{19} は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_r NR^{22}C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)CH(NH_2)(CH_2)_3 NHC(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)(CH_2)_2 NHC(O)(CH_2)_5 NR^{22}C(=NH)NH_2$ 、 $-C(O)CH(NH_2)(CH_2)_4 NH_2$ 、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、

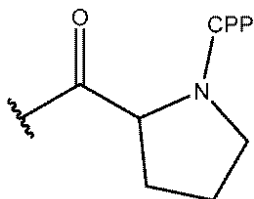
R^{20} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され、 R^{21} は、電子対および H から選択される]

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、 $-C(O)(CH_2)_5 NH - CPP$ 、 $-C(O)(CH_2)_2 NH - CPP$ 、 $-C(O)(CH_2)_2 NHC(O)(CH_2)_5 NH - CPP$ 、および $-C(O)CH_2 NH - CPP$ 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 2 5】



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、

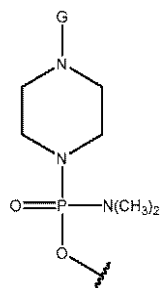
該ターゲティング配列は、(a) 配列番号 4 ~ 16 から選択される配列を含むか、(b) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるか、(c) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d) 配列番号 4 ~ 16 または 33 ~ 45 から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも 90 % の配列同一性を有する改変体であり、ここで、各 X は、ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、各 Y は、シトシン (C) または 5 - メチルシ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

d) R^2 が G であるか、または T が

【化 3 2 6】

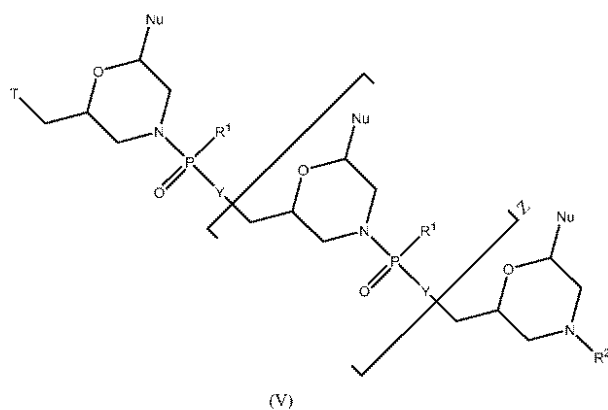


である、医薬組成物。

(項目 2 4)

有効量の式 (V) :

【化 3 2 7】



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、

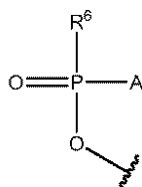
各 Nu は、一緒になってターゲティング配列を形成するヌクレオ塩基であり；

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 3 2 8】



の部分から選択され、式中、

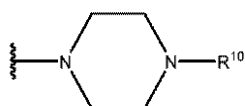
A は、- OH、- N(R⁷)₂R⁸ および R¹ から選択され、式中、

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

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

【化 3 2 9】



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 $-(O-アルキル)_y-$ 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；

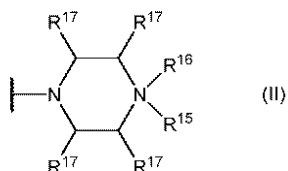
R^{12} は、 H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され；

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 3 3 0】



(II)

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；

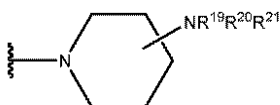
q は、1～5の整数であり；

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 3 3 1】



(III)

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；

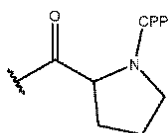
r は、1 ～ 5 の整数であり、

R^{20} は、H および $C_1 \sim C_6$ アルキルから選択され、 R^{21} 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、 $-C(O)(CH_2)_5NH-CPP$ 、 $-C(O)(CH_2)_2NH-CPP$ 、 $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NH-CPP$ 、および $-C(O)CH_2NH-CPP$ 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、

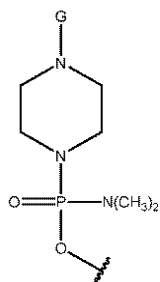
該ターゲティング配列は、(a) 配列番号 4 ～ 16 から選択される配列を含むか、(b) 配列番号 4 ～ 16 または 33 ～ 45 から選択されるか、(c) 配列番号 4 ～ 16 または 33 ～ 45 から選択されるターゲティング配列のうちの、少なくとも 8 連続ヌクレオチドの断片であるか、または、(d) 配列番号 4 ～ 16 または 33 ～ 45 から選択されるターゲティング配列に対する、少なくとも 90 % の配列同一性を有する改変体であり、ここで、各 X は、ウラシル (U) またはチミン (T) から独立に選択され、各 Y は、シトシン (C) または 5 - メチルシ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

SMN2 対立遺伝子を増幅するために、SuperScript III One - S

tep RT-PCR system (Invitrogen) を使用して逆転写酵素 PCR を実施した。ヌ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。