



(52) CPC특허분류

*A61K 45/06* (2013.01)  
*A61K 9/0019* (2013.01)  
*A61P 1/16* (2018.01)  
*C12N 15/113* (2013.01)  
*A61K 2300/00* (2013.01)  
*C12N 2310/315* (2013.01)  
*C12N 2310/321* (2013.01)  
*C12N 2310/322* (2013.01)  
*C12N 2310/332* (2013.01)

(72) 발명자

**해밀턴, 제임스**

미국 91105 캘리포니아주 파사데나 스위트 700 이.  
콜로라도 블러버드 177 애로우헤드 파마슈티컬스  
인코포레이티드

**리, 쟈**

미국 07090 뉴저지주 웨스트필드 호손 드라이브 6

**주, 뤼**

미국 92130 캘리포니아주 산디에고 카멜 크리크 로  
드 11784 아파트먼트 204

**우드렐, 크리스틴**

미국 53719 위스콘신주 매디슨 에스. 로사 로드  
502 애로우헤드 파마슈티컬스 인코포레이티드

**페이, 타오**

미국 53719 위스콘신주 매디슨 에스. 로사 로드  
502 애로우헤드 파마슈티컬스 인코포레이티드

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

알파-1 항트립신 결핍증(AATD)의 치료가 필요한 인간 대상체에서 알파-1 항트립신 결핍증을 치료하는 방법으로서, 표 2에 기재된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하는 약제학적 조성물을 AAT RNAi 약물 물질 약 5 mg 내지 약 300 mg의 용량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 약제학적 조성물은 피하 주사로 매월 1회 투여되는 것인 방법.

#### 청구항 2

알파-1 항트립신 결핍증(AATD)의 치료가 필요한 인간 대상체에서 알파-1 항트립신 결핍증을 치료하는 방법으로서, 표 2에 기재된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하는 약제학적 조성물을 AAT RNAi 약물 물질 약 5 mg 내지 약 300 mg의 용량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 약제학적 조성물은 피하 주사로 3개월마다 1회 투여되는 것인 방법.

#### 청구항 3

알파-1 항트립신 결핍증(AATD)의 치료가 필요한 인간 대상체에서 알파-1 항트립신 결핍증을 치료하는 방법으로서,

- a. 표 2에 기재된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하는 약제학적 조성물의 초기 용량을 피하 투여로 AAT RNAi 약물 물질 약 5 mg 내지 약 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여하는 단계,
- b. 초기 용량 후 약 1개월에 약제학적 조성물의 제2 용량을 대상체에게 투여하는 단계, 및
- c. 제2 용량 후 약 3개월에 약제학적 조성물의 제3 용량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, AAT RNAi 약물 물질의 용량이 약 25 mg 내지 약 300 mg인 방법.

#### 청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, AAT RNAi 약물 물질의 용량이 약 25 mg 내지 약 200 mg인 방법.

#### 청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, AAT RNAi 약물 물질의 용량이 약 100 mg 내지 약 200 mg인 방법.

#### 청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, AAT RNAi 약물 물질의 용량이 약 25 mg인 방법.

#### 청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, AAT RNAi 약물 물질의 용량이 약 35 mg인 방법.

#### 청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, AAT RNAi 약물 물질의 용량이 약 100 mg인 방법.

#### 청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, AAT RNAi 약물 물질의 용량이 약 200 mg인 방법.

#### 청구항 11

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, AAT RNAi 약물 물질의 용량이 약 200 mg 이하인 방법.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, AATD에 의해 유발된 병태 또는 질환이 간 질환인 방법.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 간 질환이 만성 간염, 간경변, 간세포 암종의 위험 증가, 아미노전이염, 담즙 정체, 섬유증 또는 전격성 간부전인 방법.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 AATD 치료를 위한 추가 치료제가 추가로 투여되는 것인 방법.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 폐 손상, 폐기종, 또는 내인성 분비 AAT 단백질의 결핍에 의해 야기되는 기타 폐 질환 또는 장애의 치료를 위한 치료제가 추가로 투여되는 것인 방법.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 추가 치료제가 인간 AAT 단백질, 정제된 인간 알파-1 프로테이나제 억제제, 또는 재조합 AAT 단백질을 포함하는 것인 방법.

**청구항 17**

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 조성물이 키트, 용기, 팩(pack), 디스펜서, 사전 충전형 주사기 또는 바이알에 포장되는 것인 방법.

**청구항 18**

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 조성물이 표 3에 기재된 제형화된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하거나, 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 본질적으로 이루어지는 것인 방법.

**청구항 19**

제3항에 있어서, 제3 용량 후에 추가 용량을 투여하는 단계를 추가로 포함하고, 추가 용량은 약 3개월 간격으로 투여되는 것인 방법.

**청구항 20**

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 조성물 1회 이상의 용량의 투여가 대상체에 의해 수행되는 것인 방법.

**청구항 21**

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 조성물 1회 이상의 용량의 투여가 의료 전문가에 의해 수행되는 것인 방법.

**청구항 22**

알파-1 항트립신 결핍증(AATD)의 치료가 필요한 인간 대상체에서 표 2에 기재된 AAT RNAi 약물 물질의 알파-1 항트립신 결핍증 치료용 용도로서, 용도가 표 2에 기재된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하는 약제학적 조성물을 AAT RNAi 약물 물질 약 5 mg 내지 약 300 mg 용량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 약제학적 조성물은 피하 주사로 매월 1회 투여되는 것인 방법.

**청구항 23**

알파-1 항트립신 결핍증(AATD)의 치료가 필요한 인간 대상체에서 표 2에 기재된 AAT RNAi 약물 물질의 알파-1

항트립신 결핍증 치료용 용도로서, 용도가 표 2에 기재된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하는 약제학적 조성물을 AAT RNAi 약물 물질 약 5 mg 내지 약 300 mg 용량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 약제학적 조성물은 피하 주사로 3개월마다 1회 투여되는 것인 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] **서열 목록**

[0002] 본 출원은 ASCII 형식으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이의 전문은 참조로서 본 명세서에 포함된다. ASCII 카피는 30674\_W01\_SequenceListing.txt로 명명되며, 6kb크기이다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 알파-1 항트립신 유전자 발현을 억제하는 RNA 간섭(RNAi) 작용제를 포함하는 약제학적 조성물을 사용하여, 알파-1 항트립신 결핍증(AATD)에 의해 유발되는 증상 및 질환의 치료를 비롯하여 인간 대상체에서의 AATD의 치료 방법이 본원에 개시된다.

**배경 기술**

[0005] **배경**

[0006] 알파-1 항트립신(AAT, α1-항트립신, 또는 A1AT)은 *SERPINA1* 유전자에 의해 인간에서 인코딩되는 세르핀 상과에 속하는 프로테아제 억제제이다. 정상 AAT 단백질은 간세포에 의해 간에서 일차적으로 합성되어 혈액으로 분비되는 순환 당단백질 프로테아제 억제제이다. AAT의 알려진 생리학적 기능은 호중구 프로테아제를 억제하는 것이며, 이는 염증 기간 동안 비특이적 손상으로부터 숙주 조직을 보호하는 역할을 한다.

[0007] 알파-1 항트립신 결핍증(AATD)은 AAT의 낮은 순환 수준을 초래하고 성인에게서 조기 폐질환 및 어린이와 성인에게서 간질환을 유발하는 상염색체의 공동우성 유전질환이다. AAT 결핍증(AATD)의 유병률 범위는 1,500 내지 5,000명의 개체 당 약 1명이고, 유럽계 조상을 가진 사람을 가장 흔하게 이환시킨다.

[0008] AATD의 가장 임상적으로 유의한 형태는 Z 돌연변이에 의해 유발된다. 한점 돌연변이를 통한 Z 돌연변이 대립 유전자는, 돌연변이체 Z가 비정상적인 절첩을 일으키기 쉬운 AAT 단백질 ("Z-AAT 단백질")을 형성하도록 하여 간세포의 소포체(ER) 내의 세포내 잔류를 유발한다. 다른 희귀 돌연변이는 또한 간세포에서 잘못절첩된 축적 단백질을 초래한다. 돌연변이체 Z-AAT 단백질 단량체는 중합체 응집체로 축적될 수 있으며, 이는 때때로 "구체(globule)"로 지칭된다. 상기 중합체성 구체 질량은 ER에 스트레스를 가하고, 지속적인 간세포 손상 및 치유의 주기를 촉발하여, 섬유증, 간경변증 및 간세포 암종 위험성 증가로 이끈다. 또한, 특히 폐 염증의 설정에서, 순환 항-프로테아제 활성이 없으면 폐가 호중구 엘라스타제에 의해 쉽게 손상되어, 폐기종 또는 다른 폐 질환과 같은 호흡기 합병증을 발생시킨다.

[0009] 동종접합성 PiZZ 유전자형을 갖는 개체는 기능성 AAT가 심하게 결여되어 있다. 정제된 인간 AAT를 사용하는 AAT 증강 요법의 매우 이용은 이환된 개체에서의 폐 손상 예방을 돕는다. 현재 시판되는 제품은 예를 들어 Prolastin®-C, Prolastin®, Glassia™, Aralast® NP, 및 Zemaira®를 포함한다. 그러나, 정제된 AAT의 투여가 내인성으로 분비된 AAT의 부재 또는 낮은 수준에 의해 유발되는 폐 손상을 경감시키거나 예방하는 것을 도울 수 있지만, AATD 환자(중합체 형성을 초래하는 AAT-돌연변이를 가짐)는 과도하게 비정상적으로 절첩된 AAT 단백질의 침착 및 축적에 의해 유발되는 소포체 간 저장 질환에 여전히 취약하다. 간세포 내에 "구체" 형상으로 축적된 Z-AAT 단백질은 AATD 간 질환의 잘 알려진 조직학적 특징이며, AATD를 갖는 개체에서의 간 세포 손상 및 사멸 및 만성 간 손상을 포함하는 간 손상의 유도를 담당하는 단백질독성 (proteotoxic) 효과에 이를 것으로 여겨진다 (예를 들어, D Lindblad 등, *Hepatology* 2007, 46: 1228-1235 참조). AAT를 생산하지 않는 널(null)/널 환자는 종종 폐 질환으로 발전되지만 정상적인 간을 가지고 있어, 순환 AAT의 결핍이 아닌 돌연변이 AAT의 축적이 간 질환(Feldman, G. 등, *The Ultrastructure of Hepatocytes in alpha-1 antitrypsin deficiency with genotype Pi<sub>0</sub>*, *Gut*. 1975; 16:796-799)으로 이어진다는 증거를 제공한다고 보고되었다.

[0010] AATD는 어린이와 성인의 간 질환 및 성인의 조기 발병 폐기종에 걸리기 쉽게 한다. AATD 환자는 심지어 유년기에도 종종 간 질환이 발달되는데, 이는 종종 또는 치사성일 수 있다. 초기에 AATD 환자는 검출하지 못하여 결국 섬유증이 축적되고 임상적으로 명백한 간 질환을 초래한다. 간손상의 임상적 제시는 만성 간염, 간경변, 간세포

암종의 위험 증가, 아미노전이염, 담즙 정체, 섬유증, 및 심지어는 전격성 간부전을 포함한다.

[0011] 간세포 내에서 Z-AAT 단백질 구체 축적은 AATD 환자에서의 진행성 간 질환의 원인으로서 명확하게 확인되었다. 간세포 내에서 돌연변이 단백질 축적의 제거는 간 질환의 진행을 정지시킬 수 있다. 돌연변이 단백질 배설물의 제거는 또한 이미 존재하는 섬유증의 퇴행을 허용할 수 있다. 현재, AATD에 의해 유발된 간 질환의 진행의 발병을 예방하거나 또는 이의 진행을 늦추는 임상적으로 승인된 치료법은 없다.

[0012] RNAi 제제는 AATD 환자를 치료하는 유망한 수단으로 떠올랐다. 투여 전략은 RNAi 제제를 사용하는 AATD의 치료에 있어서 중요한 고려사항이다. 투여 빈도의 감소가 환자에게 중요하고, 순응성을 증가시키고, 더 적은 용량은 약물의 전체 안전성 프로파일에서 유리할 수 있다. 따라서, AATD의 치료를 위해 저용량의 드문 방법에 대한 필요성이 존재한다.

**발명의 내용**

[0013] **요약**

[0014] 본원에는 알파-1 항트립신 결핍증(AATD)의 치료가 필요한 인간 대상체에서 알파-1 항트립신 결핍증을 치료하는 방법이 기술된다. 일 측면에서, 상기 방법은 표 2에 기재된 조성물(즉, AAT RNAi 약물 물질, 여기서는 ADS-001로도 지칭됨)을, AAT RNAi 약물 물질 약 5 mg 내지 약 300 mg의 용량으로 포함하는 약제학적 조성물을 인간 개체에게 투여하는 단계를 포함하고, 약제학적 조성물은 피하 주사로 투여되고 투여 사이에 적어도 약 1개월이 존재한다(즉, 적어도 월별로 투여됨). 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 사용되는 약제학적 조성물은 표 3에 기술된 바와 같이 제형화된 AAT RNAi 약물 물질 (본원에서 ADS-001-1로도 지칭됨)을 포함하거나, 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 본질적으로 이루어진다.

[0015] 추가로, 본원에는 AATD의 치료가 필요한 인간 대상체에서 AATD를 치료하는 방법으로서, 표 2에 기술된 바와 같은 AAT RNAi 약물 물질 (즉, ADS-001)을 포함하는 약제학적 조성물을 인간 대상체에게 약 5 mg 내지 약 200 mg의 용량으로 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 약제학적 조성물은 피하 투여되며, 용량 투여 사이에 적어도 약 1 개월이 존재하는(즉, 월별 투여되는) 방법이 기술된다.

[0016] 본원에는 AATD의 치료가 필요한 인간 대상체에서 AATD를 치료하는 방법으로서, 표 2에 기술된 바와 같은 AAT RNAi 약물 물질 (즉, ADS-001)을 포함하는 약제학적 조성물을 인간 대상체에게 약 5 mg 내지 약 300 mg의 용량으로 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 약제학적 조성물은 피하 투여되며, 용량 투여 사이에 약 3개월이 존재하는(즉, 분기별 투여되는) 방법이 추가적으로 기술된다.

[0017] 본원에는 AATD의 치료가 필요한 인간 대상체에서 AATD를 치료하는 방법으로서, 표 2에 기술된 바와 같은 AAT RNAi 약물 물질 (즉, ADS-001)을 포함하는 약제학적 조성물을 인간 대상체에게 약 5 mg 내지 약 200 mg의 용량으로 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 약제학적 조성물은 피하 투여되며, 투여 사이에 약 3개월이 존재하는(즉, 분기별 투여되는) 방법이 또한 기술된다.

[0018] 본원에는 AATD의 치료가 필요한 인간 대상체에서 AATD를 치료하는 방법으로서, 표 2에 기술된 바와 같은 AAT RNAi 약물 물질 (즉, ADS-001)을 포함하는 약제학적 조성물을 인간 대상체에게 약 5 mg 내지 약 300 mg의 용량으로 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 약제학적 조성물은 피하 투여되며, 초기 용량 후 약 1개월에 제2 용량이 투여되고, 그 후 후속 용량의 경우, 투여 사이에 약 3개월이 있는 방법이 기술된다.

[0019] 본원에는 AATD의 치료가 필요한 인간 대상체에서 AATD를 치료하는 방법으로서, 표 2에 기술된 바와 같은 AAT RNAi 약물 물질 (즉, ADS-001)을 포함하는 약제학적 조성물을 인간 대상체에게 약 5 mg 내지 약 200 m의 용량으로 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 약제학적 조성물은 피하 투여되며, 초기 용량 후 약 1개월에 제2 용량이 투여되고, 그 후 후속 용량의 경우, 투여 사이에 약 3개월이 있는 방법이 기술된다.

[0020] 일부 구현예에서, 각 용량으로 투여되는 AAT RNAi 약물 물질의 용량은 약 25 mg 내지 약 200 mg이다. 일부 구현예에서, 각 용량으로 투여되는 AAT RNAi 약물 물질의 용량은 약 100 mg 내지 약 200 mg이다. 일부 구현예에서, 각 용량으로 투여되는 AAT RNAi 약물 물질의 용량은 약 100 mg이다. 일부 구현예에서, 각 용량으로 투여되는 AAT RNAi 약물 물질의 용량은 약 200 mg이다. 일부 구현예에서, 각 용량으로 투여되는 AAT RNAi 약물 물질의 용량은 200 mg 이하이다.

[0021] 본원에 개시된 치료 방법은 AATD를 갖는 인간 대상체에서 간 질환의 진행을 늦추거나 정지시킬 수 있으며, 이는 섬유증 조직 재생을 허용할 수 있다. 본원에 개시된 방법은 일부 구현예에서 섬유증, 간경변, 간세포 암종의 위

험 증가, 만성 간염, 아미노전이염, 담즙 정체, 전격성 간 부전, 및 AATD에 의해 유발된 기타 간-관련 병태 및 질환을 포함하는 AATD 간 질환을 치료할 수 있다.

[0022] 본원에 개시된 AAT RNAi 제제를 포함하는 약제학적 조성물은 대상체에게서 알파-1 항트립신 유전자의 발현을 억제하기 위해 인간 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 AATD가 있는 것으로 이전에 진단되었던 인간이다.

[0023] 본 발명의 또 다른 측면은 알파-1 항트립신 결핍증(AATD)의 치료가 필요한 인간 대상체에서 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질의 알파-1 항트립신 결핍증 치료용 용도로서, 상기 용도는 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하는 약제학적 조성물을 AAT RNAi 약물 물질 약 5 mg 내지 약 300 mg의 용량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 약제학적 조성물은 피하 주사로 매일 1회씩 투여된다.

[0024] 본 발명의 또 다른 측면은 알파-1 항트립신 결핍증(AATD)의 치료가 필요한 인간 대상체에서 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질의 알파-1 항트립신 결핍증 치료용 용도로서, 용도는 약 5 mg 내지 약 300 mg의 AAT RNAi 약물 물질의 용량으로 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하는 약제학적 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 약제학적 조성물은 피하 주사로 매 3개월마다 1회 투여된다.

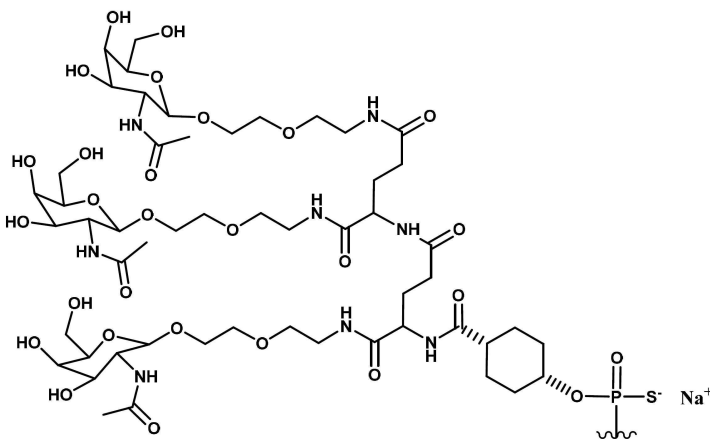
[0025] 본 발명의 기타 목적, 특징, 측면 및 이점은 하기의 상세한 설명, 첨부 도면 및 청구범위로부터 명백하게 될 것이다.

**도면의 간단한 설명**

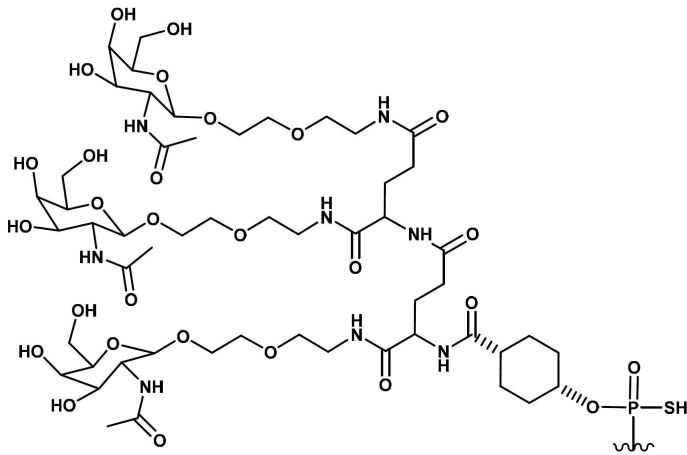
[0026] 도 1a 내지 1e. 나트륨 염 형태로 도시된, 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질(본원에서 ADS-001로 지칭됨; 즉, 센스 가닥의 5' 말단 단부에서 트리텐테이트 N-아세틸-갈락토사민 표적화 기에 접합된 AAT RNAi 제제)의 화학 구조식.

도 2a 내지 도 2e. 유리산 형태로 도시된 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질의 화학 구조식.

도 3. 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질의 변형된 센스 및 안티센스 가닥 (본원에서 ADS-001로 지칭됨; 즉, 센스 가닥의 5' 말단 단부에서 트리텐테이트 N-아세틸-갈락토사민 표적화 기에 접합된 AAT RNAi 제제)의 개략도이다. 하기 약어가 도 3에 이용된다: a, c, g, 및 u는 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드이고; Af, Cf, Gf 및 Uf는 2'-플루오로 (당업계에서 2'-데옥시-2'-플루오로로도 지칭됨) 변형된 뉴클레오티드이고; o는 포스포디에스테르 연결이고; s는 포스포로티오에이트 연결이고; invAb는 역전된 무염기성 잔기 또는 서브유닛이고; (NAG37)s는 하기 화학 구조식을 갖는 트리텐테이트 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드이다:



(나트륨염 형태로 도시됨),



(유리산 형태로 도시됨).

도 4. 실시예 2에 기술된 I상 임상 연구를 위한 최종 I상 연구 설계 및 용량 증가 스케줄.

도 5. 실시예 2에 기술된 I상 임상 연구에서 위약 (모든 코호트) 또는 35 mg의 AAT RNAi 약물 물질 (코호트 1)이 투여된 정상 건강한 인간 지원자 (NHV)에서의 혈청 AAT 수준을 도시하는 그래프. 도 5 내지 11에 도시된 바와 같이, "활성"은 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질(표 3에 기술된 바와 같이 제형화된 AAT RNAi 약물 물질로서 투여됨)을 지칭한다.

도 6. 실시예 2에 기술된 I상 임상 연구에서 위약(모든 코호트) 또는 단일 100 mg 용량의 AAT RNAi 약물 물질 (코호트 2b)이 투여된 NHV에서의 혈청 AAT 수준을 도시하는 그래프.

도 7. 실시예 2에 기술된 I상 임상 연구에서 위약(모든 코호트) 또는 단일 200 mg 용량의 AAT RNAi 약물 물질 (코호트 3b)이 투여된 NHV에서의 혈청 AAT 수준을 도시하는 그래프.

도 8. 실시예 2에 기술된 I상 임상 연구에서 위약(모든 코호트) 또는 단일 300 mg 용량의 AAT RNAi 약물 물질 (코호트 4b)이 투여된 NHV에서의 혈청 AAT 수준을 도시하는 그래프.

도 9. 실시예 2에 기술된 I상 임상 연구에서 위약(모든 코호트) 또는 매달 3회 100 mg 용량의 AAT RNAi 약물 물질(코호트 2)이 투여된 NHV에서의 혈청 AAT 수준을 도시하는 그래프.

도 10. 실시예 2에 기술된 I상 임상 연구에서 위약(모든 코호트) 또는 매달 3회 200 mg 용량의 AAT RNAi 약물 물질(코호트 3)이 투여된 NHV의 혈청 AAT 수준을 도시하는 그래프.

도 11. 실시예 2에 기술된 I상 임상 연구에서 위약(모든 코호트) 또는 매달 3회 300 mg 용량의 AAT RNAi 약물 물질(코호트 4)이 투여된 NHV의 혈청 AAT 수준을 도시하는 그래프.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 상세한 설명

[0028] RNAi 제제

[0029] 본원에 기술된 방법은 인간 대상체에게 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 약제학적 조성물은 AAT 유전자의 발현을 억제할 수 있는 RNA 간섭 (RNAi) 제제 (본 명세서 및 당업계에서 RNAi 제제 또는 RNAi 트리거로서 지칭됨)를 함유하는 조성물을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 방법은 인간 대상체에게 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 약제학적 조성물은 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질(ADS-001으로도 지칭됨)을 포함한다. 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 조성물은 인간 대상체에서 AAT 유전자의 발현을 억제하는 RNAi 제제, 및 표적화 모이어티 또는 표적화 기로 구성된다. 일부 구현예에서, RNAi 제제는 표 1A 및 1B에 제공된 뉴클레오티드 서열을 포함하며, RNAi 제제의 센스 가닥은 3개의 N-아세틸-갈락토사민 표적화 모이어티를 포함하는 표적화 기에 추가적으로 연결 또는 접합된다 (예를 들어, 표 B 참조). 인간 대상체에서 AAT 유전자의 발현을 억제하는 RNAi 제제를 "AAT RNAi 제제"라 지칭한다.

[0030] 일반적으로, AAT RNAi 제제는 어닐링되어 듀플렉스를 형성하는 센스 가닥(패신저 가닥으로도 지칭됨) 및 안티센

스 가닥(가이드 가닥으로도 지칭됨)을 포함한다. 본원에 개시된 AAT RNAi 제제는 서열 특이적인 방식으로 AAT mRNA의 메신저 RNA(mRNA) 전사체의 번역을 분해 또는 억제할 수 있는 RNA 또는 RNA-유사(예를 들어, 화학적으로 변형된 RNA) 올리고뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 본원에 개시된 AAT RNAi 제제는 RNA 간섭 메커니즘을 통해 (즉, 포유동물 세포의 RNA 간섭 경로 기구(RNA-유도된 침묵 복합체 또는 RISC)와의 상호작용을 통해 RNA 간섭을 유도함), 또는 임의의 대안적인 메커니즘(들) 또는 경로(들)에 의해 작동할 수 있다. AAT RNAi 제제는, 이 용어가 본원에서 사용될 때, 주로 RNA 간섭 메커니즘을 통해 작동하는 것으로 여겨지지만, 개시된 RNAi 제제는 임의의 특정 경로 또는 작용 메커니즘에 의해 구속되거나 이에 제한되지 않는다. RNAi 제제는 일반적으로 길이가 각각 16 내지 49개의 뉴클레오타이드인 센스 가닥 및 안티센스 가닥으로 구성되고, 짧은 또는 작은 간섭 RNA(siRNA), 이중 가닥 RNA(dsRNA), 마이크로 RNA(miRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 및 다이스 기질을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0031] AAT RNAi 제제 센스 가닥의 길이는 전형적으로 뉴클레오타이드 16 내지 49개 길이이고, AAT RNAi 제제 안티센스 가닥의 길이는 전형적으로 뉴클레오타이드 18 내지 49개 길이이다. 일부 구현예에서, 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 뉴클레오타이드 17 내지 26개 길이이다. 일부 구현예에서, 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 뉴클레오타이드 21 내지 26개 길이이다. 일부 구현예에서, 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 뉴클레오타이드 21 내지 24개 길이이다. 일부 구현예에서, 센스 및/또는 안티센스 가닥은 독립적으로 뉴클레오타이드 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30개 길이이다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 둘 다 뉴클레오타이드 21개 길이이다. 센스 및 안티센스 가닥은 동일한 길이 또는 상이한 길이일 수 있다. 센스 및 안티센스 가닥은 또한 AAT RNAi 제제의 한쪽 또는 양쪽 단부 상에 오버행 뉴클레오타이드를 형성할 수 있다.

[0032] AAT RNAi 제제는 AAT 유전자 발현을 억제하거나, 침묵시키거나, 또는 녹다운시킨다. 본원에서 사용된, 용어 "침묵", "감소", "억제", "하향-조절" 또는 "녹다운"은 AAT 발현을 지칭할 때, 유전자가 전사되는 세포, 세포 군, 조직, 기관 또는 대상체가 RNAi 제제로 치료될 때 상기 상기 세포, 세포 군, 조직, 기관 또는 대상체에서 유전자로부터 전사된 RNA의 수준 또는 mRNA로부터 번역된 폴리펩티드, 단백질 또는 단백질 서브유닛의 수준에 의해 측정된 유전자 발현이 비치료의 제2 세포, 세포군, 조직, 기관 또는 대상체에 비해 감소됨을 의미한다. 일부 예에서, 유전자 발현의 감소는 AAT RNAi 제제를 포함하는 조성물의 투여 전에 인간 대상체의 AAT mRNA 또는 AAT 단백질의 기준선 수준을, 치료제 투여 후에 AAT mRNA 또는 AAT 단백질 수준과 비교함으로써 측정된다.

[0033] AAT 유전자 억제, 침묵, 또는 녹다운은 당업계에서 공지된 임의의 적절한 분석 또는 방법에 의해 측정될 수 있다. 본원에 기술된 제한된 실시예뿐만 아니라, 본원에 전문이 참고로 포함된 국제 특허 출원 공개 번호 제WO 2018/132432호(특허 출원 번호 제PCT/US2018/013102호)에 기술된 실시예는 AAT 유전자 발현 억제를 측정하기 위한 적절한 분석의 소정의 실시예를 제공한다. 정상 인간을 위한 기준 AAT mRNA 유전자 전사체(SERPINA1)(전사체 변이체 1; GenBank NM\_000295.4로 지칭됨)는 서열번호 1에서 발견될 수 있다.

[0034] 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 AAT RNAi 제제는 하나 이상의 N-아세틸-갈락토사민 모이어티를 포함하는 표적화 기에 공유적으로 연결 또는 접합될 수 있다. 구현예에서, 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 AAT RNAi 제제는 하나 이상의 N-아세틸-갈락토사민 모이어티를 포함하는 표적화 기에 공유적으로 연결 또는 접합되어, 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질을 형성한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 방법은 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질의 투여를 포함한다. 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질은 표 1A (안티센스 가닥) 및 표 1B (센스 가닥)에 도시된 AAT RNAi 제제를 포함한다. N-아세틸-갈락토사민 모이어티는 간세포의 표면 상에 쉽게 존재하는 아시알로당단백질 수용체 (ASGPr)에 대한 AAT RNAi 제제의 표적화를 용이하게 하여, 엔도사이토시스 또는 다른 수단에 의해 AAT RNAi 제제의 내재화를 유도한다.

[0035] 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합할 수 있는 AAT RNAi 제제는 AAT mRNA의 적어도 일부에 대한 상보성 영역을 갖는 안티센스 가닥을 포함한다. 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 AAT RNAi 제제 및 AAT RNAi 약물 물질은 국제 특허 출원 공개 번호 제WO 2018/132432호(특허 출원번호 제PCT/US2018/013102호)에 기술되어 있으며, 이는 이전에 언급된 바와 같이 이의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0036] 본원에서 사용될 때 용어 "서열" 및 "뉴클레오타이드 서열"은 표준 명명법을 사용하여 일련의 문자로 기술된, 일련의 또는 연속된 핵염기 또는 뉴클레오타이드를 의미한다. 본원에서 사용된, 용어 "핵염기" 및 "뉴클레오타이드"는 당업계에서 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0037] 본원에서 사용될 때 용어 "상보적"은 제1 뉴클레오타이드 서열(예를 들어, RNAi 제제 안티센스 가닥)을 제2 뉴클레오타이드 서열(예를 들어, RNAi 제제 센스 가닥 또는 표적화된 mRNA 서열)과 관련하여 기술하기 위해 사용될 때, 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 특정 표준 조건 하에 제2 뉴클레오타이드 서열을 포

합하는 올리고뉴클레오타이드와 혼성화하고(포유류의 생리적 조건(또는 다른 적합한 조건)하에 염기쌍 수소 결합을 형성), 듀플렉스 또는 이중 나선 구조를 형성하는 능력을 의미한다. 당업자는 혼성화 시험에 가장 적합한 조건 세트를 선택할 수 있을 것이다. 적어도 상기 혼성화 요건이 충족되는 한, 상보적 서열은 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기쌍 또는 비-왓슨-크릭 염기쌍을 포함하고, 천연 또는 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 모방체를 포함한다. 서열 동일성 또는 상보성은 변형과 무관하다. 예를 들어, 본 명세서에 정의된 바와 같은 a 및 Af는 U (또는 T)에 상보적이고, 동일성 또는 상보성을 결정하기 위한 목적으로 A와 동일하다.

[0038] 본원에서 사용될 때 "완벽하게 상보적" 또는 "완전히 상보적"은 제1 올리고뉴클레오타이드의 연속 서열 내의 모든 (100%) 염기가 제2 올리고뉴클레오타이드의 연속 서열 내의 동일한 개수의 뉴클레오타이드와 혼성화할 것임을 의미한다. 상기 연속 서열은 제1 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다.

[0039] 본원에서 사용될 때 "부분적으로 상보적"은 뉴클레오타이드 서열의 혼성화된 쌍에서, 제1 올리고뉴클레오타이드의 연속 서열 내의 염기의 모두가 아니라 이의 적어도 70%가 제2 폴리뉴클레오타이드의 연속 서열 내의 동일한 개수의 염기와 혼성화할 것임을 의미한다.

[0040] 본원에서 사용될 때 "실질적으로 상보적"은 뉴클레오타이드 서열의 혼성화된 쌍에서, 제1 올리고뉴클레오타이드의 연속 서열 내의 염기의 모두가 아니라 이의 적어도 85%가 제2 폴리뉴클레오타이드의 연속 서열 내의 동일한 개수의 염기와 혼성화할 것임을 의미한다. 본원에서 용어 "상보적", "완전히 상보적", "부분적으로 상보적", 및 "실질적으로 상보적"은 RNAi 제제의 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이, 또는 RNAi 제제의 안티센스 가닥과 AAT mRNA의 서열 사이의 매칭되는 뉴클레오타이드에 관하여 사용된다.

[0041] 본원에서 사용될 때 용어 "실질적으로 동일성" 또는 "실질적으로 동일성"이 핵산 서열에 적용되는 경우에, 핵산 서열이 기준 서열과 비교하여 적어도 약 85% 이상의 서열 동일성, 예를 들어, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다는 것을 의미한다. 서열 동일성의 백분율은 최적으로 정렬된 서열 2개를 비교 윈도우 상에서 비교함으로써 결정된다. 상기 백분율은, 동일한 핵산 염기가 서열 둘 모두에서 발생하는 위치의 개수를 결정하여 매칭 위치의 개수를 산출하고, 상기 매칭된 위치의 개수를 비교 윈도우 내의 위치의 총 개수로 나누고, 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산된다. 본원에 개시된 발명은 본원에 개시된 것과 실질적으로 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0042] **변형된 뉴클레오타이드 및 변형된 뉴클레오타이드간 연결**

[0043] 본원에 개시된 AAT RNAi 제제는 RNAi 제제의 활성을 보존할 수 있는 동시에 혈청 안정성을 증가시킬 수 있을 뿐만 아니라 인간에게서 인터페론 활성을 활성화시킬 가능성을 최소화할 수 있는 변형된 뉴클레오타이드로 구성될 수 있다. 본원에서 사용될 때 "변형된 뉴클레오타이드"는 리보뉴클레오타이드(2'-하이드록실 뉴클레오타이드) 이외의 뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 뉴클레오타이드의 적어도 50% (예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%)가 변형된 뉴클레오타이드이다. 본원에서 사용될 때 변형된 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 모방체, 2'-변형된 뉴클레오타이드, 역전 뉴클레오타이드, 변형된 핵염기-포함 뉴클레오타이드, 가교된 뉴클레오타이드, 펩티드 핵산 (PNA), 2',3'-세코 뉴클레오타이드 모방체 (언락트(unlocked) 핵염기 유사체), 락트(locked) 뉴클레오타이드, 3'-O-메톡시 (2'뉴클레오타이드간 연결된) 뉴클레오타이드, 2'-F-아라비노 뉴클레오타이드, 5'-Me, 2'-플루오로 뉴클레오타이드, 모르폴리노 뉴클레오타이드, 비닐 포스포네이트-함유 뉴클레오타이드, 및 시클로프로필 포스포네이트-함유 뉴클레오타이드를 포함하지만 이에 제한되지 않는, 당업계에 공지된 임의의 공지된 변형 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-변형된 뉴클레오타이드(즉, 5원 당 고리의 2'-위치에 하이드록실기 이외의 기를 갖는 뉴클레오타이드)이다. 2'-변형된 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 뉴클레오타이드, 2'-데옥시-2'-플루오로 뉴클레오타이드(통상적으로 단순히 2'-플루오로 뉴클레오타이드로 지칭됨), 2'-데옥시 뉴클레오타이드, 2'-메톡시에틸(2'-O-2-메톡시에틸) 뉴클레오타이드, 2'-아미노 뉴클레오타이드 및 2'-알킬 뉴클레오타이드를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 추가적인 2'-변형된 뉴클레오타이드는 당업계에 공지되어 있다. 주어진 RNAi 제제 내의 모든 뉴클레오타이드가 균일하게 변형될 필요는 없다. 추가로, 하나보다 많은 변형이 단일 AAT RNAi 제제 또는 심지어는 이의 단일 뉴클레오타이드에 포함될 수 있다. AAT RNAi 제제 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 당업계에 공지된 방법에 의해 합성 및/또는 변형될 수 있다. 하나의 뉴클레오타이드에서의 변형은 다른 뉴클레오타이드에서의 변형과 무관하다.

[0044] 일부 구현예에서, 핵염기(중중 단지 "염기"로 지칭됨)가 변형될 수 있다. 당업계에서 통상적으로 사용되는 바와 같이, 천연 핵염기는 1차 퓨린 염기 아데닌 및 구아닌, 및 1차 피리미딘 염기 시토신, 티민 및 우라실을 포함한다. 핵염기는 비제한적으로 유니버설 염기(universal base), 소수성 염기, 다중 염기(promiscuous base), 크기

-확장된 염기, 및 플루오르화된 염기를 포함하도록 변형될 수 있다. (예를 들어, Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed Wiley-VCH, 2008 참조). 이러한 변형된 핵염기 (변형된 핵염기를 포함하는 포스포르아미다이트 화합물 포함)의 합성은 당업계에 공지되어 있다.

[0045] 변형된 핵염기는 예를 들어 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린 (예를 들어, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실 또는 5-프로피닐시토신), 5-메틸시토신 (5-me-C), 5-하이드록시메틸시토신, 이노신, 크산틴, 하이포크산틴, 2-아미노아데닌, 아데닌 및 구아닌의 6-알킬 (예를 들어, 6-메틸, 6-에틸, 6-이소프로필 또는 6-n-부틸) 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-알킬 (예를 들어, 2-메틸, 2-에틸, 2-이소프로필 또는 2-n-부틸) 및 기타 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민, 2-티오시토신, 5-할로우라실, 시토신, 5-프로피닐 우라실, 5-프로피닐 시토신, 6-아조 우라실, 6-아조 시토신, 6-아조 티민, 5-우라실 (슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-설프히드릴, 8-티오알킬, 8-하이드록실 및 기타 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로 (예를 들어, 5-브로모), 5-트리플루오로메틸, 및 기타 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌, 7-데아자아데닌, 3-데아자구아닌 및 3-데아자아데닌을 포함한다.

[0046] 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제의 모든 또는 실질적으로 모든 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드이다. 본원에서 사용될 때 존재하는 실질적으로 모든 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인 RNAi 제제는 센스 가닥 및 안티센스 가닥 둘 다에서 4개 이하 (즉, 0, 1, 2, 3 또는 4개)의 뉴클레오티드가 리보뉴클레오티드 (즉, 비변형)인 RNAi 제제이다. 본원에서 사용될 때 존재하는 실질적으로 모든 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인 센스 가닥은 센스 가닥에서 2개 이하(즉, 0, 1 또는 2개)의 뉴클레오티드가 리보뉴클레오티드인 센스 가닥이다. 본원에서 사용될 때 존재하는 실질적으로 모든 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인 안티센스 센스 가닥은 센스 가닥에서 2개 이하(즉, 0, 1 또는 2개)의 뉴클레오티드가 리보뉴클레오티드인 안티센스 가닥이다.

[0047] 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제의 하나 이상의 뉴클레오티드는 비표준 연결 또는 백본(즉, 변형된 뉴클레오시드간 연결 또는 변형된 백본)에 의해 연결된다. 변형된 뉴클레오시드간 연결 또는 백본은 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 티오포스페이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬-포스포트리에스테르, 알킬 포스포네이트 (예를 들어, 메틸 포스포네이트 또는 3'-알킬렌 포스포네이트), 키랄 포스포네이트, 포스포네이트, 포스포라미데이트 (예를 들어, 3'-아미노 포스포라미데이트, 아미노알킬포스포라미데이트, 또는 티오노포스포라미데이트), 티오노알킬-포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 모르폴리노 연결, 정상적인 3'-5' 연결을 갖는 보라노포스페이트, 보라노포스페이트의 2'-5' 연결된 유사체, 또는 역극성을 갖는 보라노포스페이트를 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 여기서 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍은 3'-5' 내지 5'-3' 또는 2'-5' 내지 5'-2'에 연결된다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오시드간 연결 또는 백본은 인 원자가 결여되어 있다. 인 원자가 결여된 변형된 뉴클레오시드간 연결은 단쇄 알킬 또는 시클로알킬 당간 연결, 혼합된 헤테로원자 및 알킬 또는 시클로알킬 당간 연결, 또는 하나 이상의 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로사이클릭 당간 연결을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오시드간 백본은 실록산 백본, 설파이드 백본, 설폭사이드 백본, 설폰 백본, 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본, 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본, 알켄-함유 백본, 설파메이트 백본, 메틸렌히드라지노 백본, 설포네이트 및 설폰아미드 백본, 아미드 백본, 및 혼합된 N, O, S 및 CH<sub>2</sub> 성분을 갖는 기타 백본을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0048] 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제의 센스 가닥은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 포스포로티오에이트 연결을 함유할 수 있거나, AAT RNAi 제제의 안티센스 가닥은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 포스포로티오에이트 연결을 함유할 수 있거나, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 둘 모두는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 포스포로티오에이트 연결을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제의 센스 가닥은 1, 2, 3, 또는 4개의 포스포로티오에이트 연결을 함유할 수 있거나, AAT RNAi 제제의 안티센스 가닥은 1, 2, 3, 또는 4개의 포스포로티오에이트 연결을 함유할 수 있거나, 또는 센스 가닥 및 안티센스 가닥 둘 모두는 독립적으로 1, 2, 3, 또는 4개의 포스포로티오에이트 연결을 함유할 수 있다.

[0049] 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제 센스 가닥은 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결은 센스 가닥의 3' 단부로부터 위치 1-3의 뉴클레오티드 사이에 있다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결은 센스 가닥의 5' 단부로부터 위치 1-3, 2-4, 3-5, 4-6, 4-5, 또는 6-8의 뉴클레오티드 사이에 있다. 일부 구현예에서, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결은 센스 가닥 내의 말단 뉴클레오티드를 뉴클레오티드 서열

의 5'-단부, 3'-단부, 또는 5'- 및 3'-단부 둘 다에 존재하는 캡핑(capping) 잔기에 연결하는데 사용된다. 일부 구현예에서, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결은 표적화 기를 센스 가닥에 연결하는데 사용된다.

[0050] 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제 안티센스 가닥은 3개 또는 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 함유한다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제 안티센스 가닥은 3개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 함유한다. 일부 구현예에서, 3개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결은 안티센스 가닥의 5' 단부로부터 위치 1-3의 뉴클레오티드 사이 및 5' 단부로부터 위치 19-21, 20-22, 21-23, 22-24, 23-25, 또는 24-26의 뉴클레오티드 사이에 있다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제는 센스 가닥에 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 및 안티센스 가닥에 3개 또는 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 함유한다.

[0051] 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제는 하나 이상의 변형된 뉴클레오티드 및 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결을 함유한다. 일부 구현예에서, 2'-변형된 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드간 연결과 조합된다.

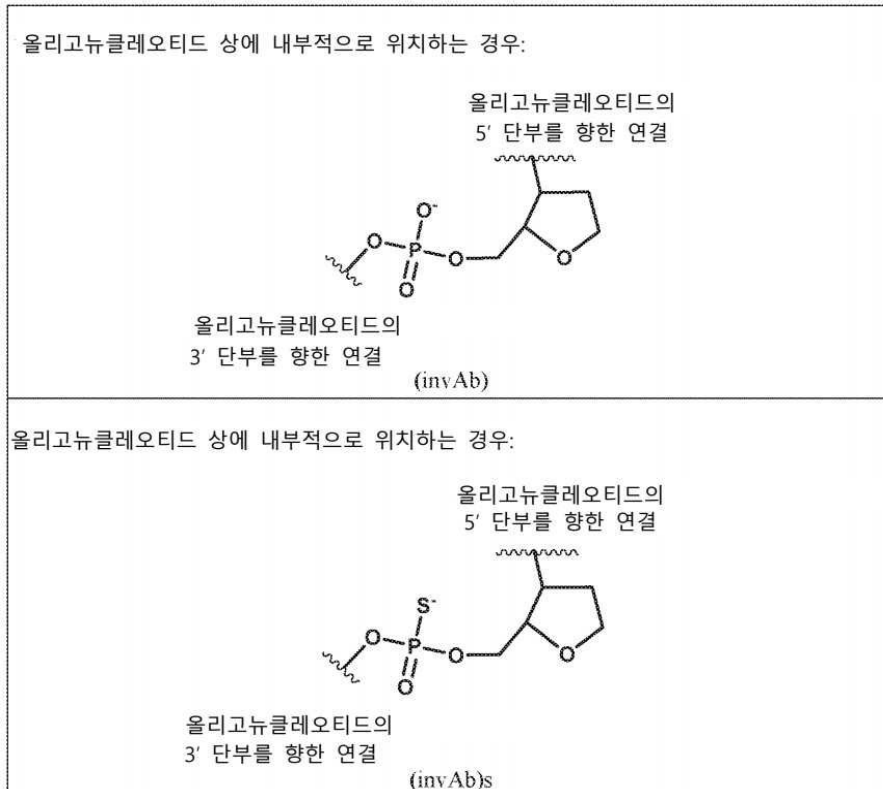
[0052] **캡핑 잔기 또는 모이어티**

[0053] 일부 구현예에서, 센스 가닥은 당업계에서 때때로 "캡," "말단 캡," 또는 "캡핑 잔기"로 지칭되는 하나 이상의 캡핑 잔기 또는 모이어티를 포함할 수 있다. 본원에서 사용될 때 "캡핑 잔기"는 본원에 개시된 RNAi 제제의 뉴클레오티드 서열의 하나 이상의 말단에 포함될 수 있는 비-뉴클레오티드 화합물 또는 기타 모이어티이다. 캡핑 잔기는, 일부 경우에, 예를 들어, 엑소뉴클레아제 분해에 대한 보호와 같은 소정의 유익한 특성을 갖는 RNAi 제제를 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 역전 무염기성 잔기(invAb) (또한 당업계에서 "역전 무염기성 부위"로 지칭됨)는 캡핑 잔기로서 추가된다(표 A 참조). (예를 들어, F. Czuderna, *Nucleic Acids Res.*, 2003, 31(11), 2705-16 참조). 캡핑 잔기는 일반적으로 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 말단 C<sub>6</sub>H<sub>7</sub> (프로필), C<sub>6</sub>H<sub>13</sub> (헥실), 또는 C<sub>12</sub>H<sub>25</sub> (도데실) 기와 같은 탄소 쇄뿐만 아니라 역전 무염기성 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 캡핑 잔기는 센스 가닥의 5' 말단 단부, 3' 말단 단부, 또는 5' 및 3' 말단 단부 둘 모두에 존재한다. 일부 구현예에서, 센스 가닥의 5' 단부 및/또는 3' 단부는 캡핑 잔기로서 하나보다 많은 역전 무염기성 테옥시리보스 모이어티를 포함할 수 있다.

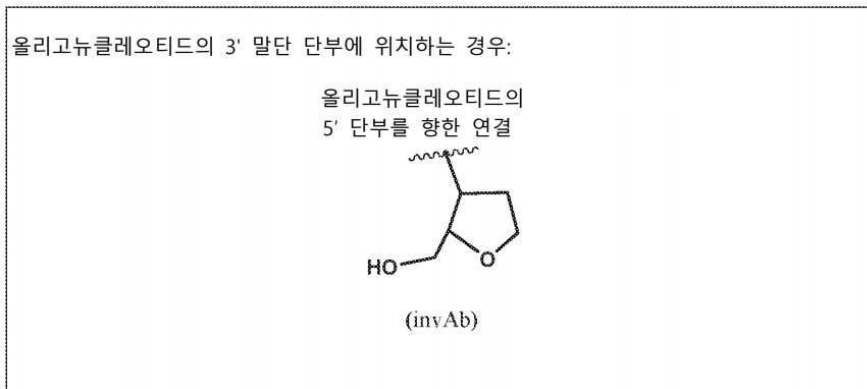
[0054] 일부 구현예에서, 하나 이상의 역전 무염기성 잔기(invAb)는 센스 가닥의 3' 단부에 추가된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 역 비염기성 잔기(invAb)가 센스 가닥의 5' 단부에 추가된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 역전 무염기성 잔기 또는 역전 무염기성 부위는 표적화 리간드와 RNAi 제제의 센스 가닥의 뉴클레오티드 서열 사이에 삽입된다. 일부 구현예에서, RNAi 제제의 센스 가닥의 말단 단부 또는 말단 단부(들)에서 또는 이의 근처에서 하나 이상의 역전 무염기성 잔기 또는 역전 무염기성 부위를 포함하는 것은 RNAi 제제의 향상된 활성 또는 기타 바람직한 특성을 허용한다.

[0055] 일부 구현예에서, 하나 이상의 역전 무염기성 잔기(invAb)는 센스 가닥의 5' 단부에 추가된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 역전 무염기성 잔기는 표적화 리간드와 RNAi 제제의 센스 가닥의 뉴클레오티드 서열 사이에 삽입될 수 있다. 역전 무염기성 잔기는 포스페이트, 포스포로티오에이트(예를 들어, 본원에서(invAb)s)로 도시됨), 또는 기타 뉴클레오시드간 결합을 통해 연결될 수 있다. 역전 무염기성 테옥시리보스 잔기에 대한 화학 구조는 하기 표 A에 도시되어 있을 뿐만 아니라, 도 1a 내지 1e 및 도 2a 내지 2e에 도시된 화학 구조에도 도시되어 있다.

[0056] 표 A. 역전 무염기성 (데옥시리보스) 화학 구조.



[0057]



[0058]

[0059] 표적화 모이어티 및 기

[0060] AAT RNAi 제제는 표적화 모이어티 또는 표적화 기를 포함하지만 이에 제한되지 않는 하나 이상의 비-뉴클레오타이드 기에 접합될 수 있다. 표적화 모이어티 또는 표적화 기는 RNAi 제제의 표적화 또는 전달을 향상시킬 수 있다. 표적화 모이어티 및 표적화 기의 예는 당업계에 공지되어 있다. 3개의 N-아세틸-갈락토사민 표적화 모이어티를 포함하는, 본원의 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질에 사용된 (NAG37)s 표적화 기의 구체적인 예는 표 b에 제공된다. 표적화 모이어티 또는 표적화 기는 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥의 3' 및/또는 5' 단부에 공유적으로 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제는 센스 가닥의 3' 및/또는 5' 단부에 연결된 표적화 기를 함유한다. 일부 구현예에서, 표적화 기는 AAT RNAi 제제 센스 가닥의 5' 단부에 연결된다. 일부 구현예에서, 표적화 기는 구조 (NAG37)s를 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, AAT RNAi 제제 센스 가닥의 5' 단부에 연결된다. 표적화 기는 링커/연결 기를 통해 RNAi 제제에 직접적 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적화 기는 불안정하거나, 절단가능하거나, 또는 가역성인 결합 또는 링커를 통해 RNAi 제제에 연결된다. 일부 구현예에서, 표적화 기는 센스 가닥의 5' 단부에서 역전 무염기성 잔기에 연결된다.

[0061] 표적화 기 또는 표적화 모이어티는 자신이 부착된 접합체 또는 RNAi 제제의 약동학적 또는 생체분포 특성을 향상시켜 접합체 또는 RNAi 제제의 세포-특이적 분포 및 세포-특이적 흡수를 개선할 수 있다. 일부 구현예에서,

표적화 기는 RNAi 제제의 엔도시토시스를 개선시킨다. 표적화 기는 지시되는 표적에 대해 1가, 2가, 3가, 4가, 또는 더 높은 원자가를 가질 수 있다. 대표적인 표적화 기는 세포 표면 분자에 친화성을 갖는 화합물, 세포 수용체 리간드, 항체, 항체, 모노클로날 항체, 항체 단편, 및 세포 표면 분자에 친화성을 갖는 항체 모방체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0062] 일부 구현예에서, 표적화 기는 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, 아시알로당단백질 수용체 리간드는 하나 이상의 갈락토스 유도체를 포함하거나 또는 이들로 이루어진다. 본원에서 사용될 때 용어 갈락토스 유도체는 갈락토스, 및 아시알로당단백질 수용체에 대하여 갈락토스와 동일하거나 이보다 더 큰 친화성을 갖는 갈락토스의 유도체 둘 다를 포함한다. 갈락토스 유도체는 갈락토스, 갈락토사민, N-포르밀갈락토사민, N-아세틸-갈락토사민, N-프로피오닐-갈락토사민, N-n-부타노일-갈락토사민, 및 N-이소-부타노일-갈락토사민을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다 (예를 들어, S.T. Iobst 및 K. Drickamer, J.B.C., 1996, 271, 6686 참조). 간에 대한 올리고뉴클레오티드 및 기타 분자의 생체내 표적화에 유용한 갈락토스 유도체 및 갈락토스 유도체 클러스터가 당업계에서 공지되어 있다 (예를 들어, Baenziger 및 Fiete, 1980, Cell, 22, 611-620; Connolly 등, 1982, J. Biol. Chem., 257, 939-945 참조).

[0063] 갈락토스 유도체는 간세포의 표면 상에서 발견된 아시알로당단백질 수용체에 대한 결합을 통해 생체 내에서 간세포에 분자를 표적화하는데 사용되었다. 아시알로당단백질 수용체(들)에 대한 아시알로당단백질 수용체 리간드의 결합은 간세포로의 세포-특이적 표적화 및 간세포 내로 분자의 엔도시토시스를 용이하게 한다. 아시알로당단백질 수용체 리간드는 단량체 (예를 들어, 단일 갈락토스 유도체를 가짐) 또는 다량체 (예를 들어, 다중 갈락토스 유도체를 가짐)일 수 있다. 갈락토스 유도체 또는 갈락토스 유도체 "클러스터"는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 RNAi 제제의 센스 또는 안티센스 가닥의 3' 또는 5' 단부에 부착될 수 있다.

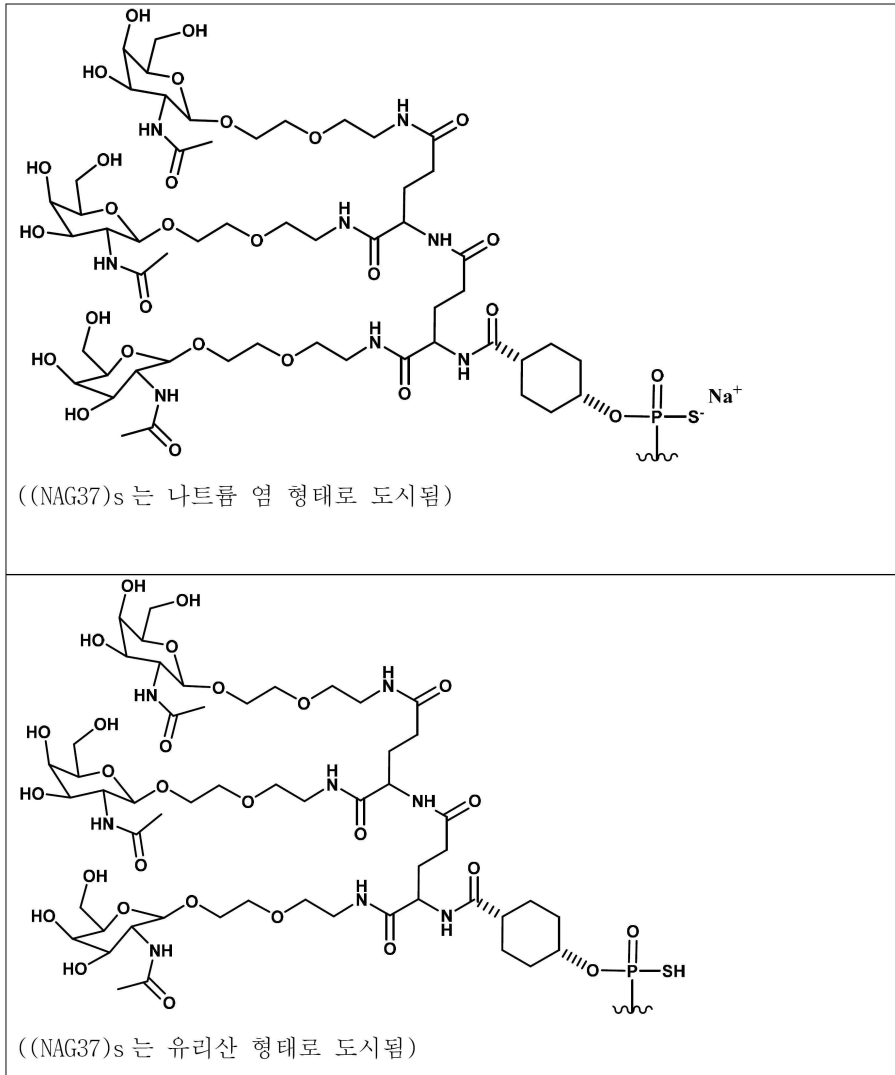
[0064] 일부 구현예에서, 표적화 기는 갈락토스 유도체 클러스터를 포함한다. 본원에서 사용될 때 갈락토스 유도체 클러스터는 2 내지 4개의 말단 갈락토스 유도체를 갖는 분자를 포함한다. 말단 갈락토스 유도체는 이의 C-1 탄소를 통해 분자에 부착된다. 일부 구현예에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 갈락토스 유도체 삼량체 (3-안테나 갈락토스 유도체 또는 3가 갈락토스 유도체로도 지칭됨)이다. 일부 구현예에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 N-아세틸-갈락토사민을 포함한다. 일부 구현예에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 3개의 N-아세틸-갈락토사민을 포함한다. 일부 구현예에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 갈락토스 유도체 사량체(4-안테나 갈락토스 유도체 또는 4가 갈락토스 유도체로도 지칭됨)이다. 일부 구현예에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 4개의 N-아세틸-갈락토사민을 포함한다.

[0065] 본원에서 사용될 때 갈락토스 유도체 삼량체는 각각 중앙 분지점에 연결된 3개의 갈락토스 유도체를 함유한다. 본원에서 사용될 때 갈락토스 유도체 사량체는 각각 중앙 분지점에 연결된 4개의 갈락토스 유도체를 함유한다. 갈락토스 유도체는 당류의 C-1 탄소를 통해 중앙 분지점에 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 갈락토스 유도체는 링커 또는 스페이서를 통해 분지점에 연결된다. 일부 구현예에서, 링커 또는 스페이서는 연성(flexible) 친수성 스페이서, 예컨대, PEG 기이다 (예를 들어, 미국 특허 제5,885,968호; Biessen 등. J. Med. Chem. 1995 Vol. 39 p. 1538-1546 참조). 분지점은 3개의 갈락토스 유도체의 부착을 허용하고 또한 RNAi 제제에 분지점 부착을 허용하는 임의의 소분자일 수 있다. 분지점 기의 예는 디-리신 또는 디-글루타메이트이다. RNAi 제제에 대한 분지점 부착은 링커 또는 스페이서를 통해 발생할 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 또는 스페이서는 PEG 스페이서와 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 연성 친수성 스페이서를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 강성 링커, 예컨대 고리형 기를 포함한다. 일부 구현예에서, 갈락토스 유도체는 N-아세틸-갈락토사민을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 갈락토스 유도체 사량체로 포함되며, 이는 예를 들어 N-아세틸-갈락토사민 사량체일 수 있다.

[0066] N-아세틸-갈락토사민을 포함하는 갈락토스 유도체 클러스터와 같은 표적화 기의 제조가 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2018/044350 (특허 출원 번호 PCT/US2017/021147) 및 국제 특허 출원번호 WO 2017/156012 (특허 출원 번호 PCT/US2017/021175)에 기술되어 있으며, 둘 모두의 내용은 그 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0067] 예를 들어, 하기 표 1A 및 1B에 기술된 AAT RNAi 제제에 접합된 표적화 리간드는 하기 표 b에 도시된 바와 같은 (NAG37)s의 화학 구조를 갖는다.

[0068] 표 B. ((NAG37)<sub>s</sub>)의 화학 구조.



[0069]

[0070] AAT RNAi 제제 및 AAT RNAi 약물 물질 (ADS-001)

[0071] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 사용된 AAT RNAi 제제는 표 2에 나타난 AAT RNAi 약물 물질(ADS-001)의 뉴클레오티드 서열을 갖는다. AAT RNAi 약물 물질에서 발견되는 AAT RNAi 제제의 뉴클레오티드 서열은 하기 표 1A에 제시된 안티센스 가닥 뉴클레오티드 서열, 및 하기 표 1B에 제시된 센스 가닥 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0072] 표 1A. AAT RNAi 제제 안티센스 가닥 서열.

| 서열 번호 | 안티센스 서열 (변형됨)<br>(5' → 3')       | 서열 번호 | 기저 염기 서열<br>(5' → 3') |
|-------|----------------------------------|-------|-----------------------|
| 2     | usGfsuUfaAfacaugCfcUfaAfaCfgCfsu | 3     | UGUUAACAUGCCUAAACGCU  |

[0073]

[0074] 표 1B. AAT RNAi 제제 센스 가닥 뉴클레오티드 서열 (AAT RNAi 약물 물질에 존재하는 역전 무염기성 잔기 또는 NAG 표적화 기가 없는 변형된 형태로 도시됨).

| 서열 번호 | 센스 서열 (변형됨)<br>(5' → 3') | 서열 번호 | 기저 염기 서열<br>(5' → 3') |
|-------|--------------------------|-------|-----------------------|
| 4     | agcguuuuGfGfCfauguuuuaca | 5     | AGCGUUUAGGCAUGUUUACA  |

[0075]

[0076] 본원의 표 1A, 1B, 및 2에서 사용될 때 하기 표기는 변형된 뉴클레오티드, 표적화 기 및 연결 기를 나타내는 데

사용된다: A, G, C 및 U는 아데노신, 시티딘, 구아노신 또는 우리딘을 나타내고; a, c, g 및 u는 각각 2'-0-메틸 아데노신, 시티딘, 구아노신 또는 우리딘을 나타내고; Af, Cf, Gf 및 Uf는 각각 2'-플루오로 아데노신, 시티딘, 구아노신 또는 우리딘을 나타내고; s는 포스포로티오에이트 연결을 나타내고; (invAb)는 역전 무염기성 테옥시리보스 잔기 (표 A 참조)를 나타내고; (NAG37)s는 상기 표 B에 도시된 구조를 나타낸다.

[0077] 당업자가 쉽게 이해할 바와 같이, 서열에 의해 달리 명시되지 않는 한(예를 들어, 포스포로티오에이트 연결 "s"에 의해), 단량체는 가닥에 존재하는 경우에 5'-3'-포스포디에스테르 결합에 의해 상호 연결된다. 당업자가 명확하게 이해할 바와 같이, 본원에 개시된 변형된 뉴클레오티드 서열에 도시된 바와 같은 포스포로티오에이트 연결의 포함은 올리고뉴클레오티드에 전형적으로 존재하는 포스포디에스테르 연결을 대체한다. 또한, 당업자는 주어진 올리고뉴클레오티드 서열의 3' 단부에 있는 말단 뉴클레오티드가 전형적으로 생체의 포스페이트 모이어티 대신에 주어진 단량체의 각각의 3' 위치에 하이드록실 (-OH) 기를 가질 것이라는 것을 쉽게 이해할 것이다. 추가로, 본원에 개시된 구현예의 경우, 각각의 가닥 5'→3'을 볼 때, 역전 무염기성 잔기는 삽입되어, 디옥시리보스의 3' 위치가 각각의 가닥 상의 선행 단량체의 3' 단부에 연결된다. 더욱이, 당업자가 쉽게 이해하고 인식할 바와 같이, 본 명세서에 도시된 포스포로티오에이트 화학 구조는 전형적으로 황 원자 상에서 음이온을 나타내지만, 본원에 개시된 발명은 모든 포스포로티오에이트 호변이성질체(예를 들어, 황 원자가 이중 결합을 갖고 음이온이 산소 원자 상에 있음)를 포함한다. 본원에서 달리 명시되지 않는 한, 당업자의 이러한 이해는 본원에 개시된 AAT RNAi 제제 및 AAT RNAi 제제를 포함하는 조성물을 설명할 때 사용된다.

[0078] 각각의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 서열의 5' 및/또는 3' 단부에 접합된, 상기 열거된 임의의 표적화 기 또는 연결 기뿐만 아니라 기타 표적화 기 또는 연결 기를 가질 수 있다.

[0079] AAT RNAi 제제 안티센스 가닥 서열은 정상 및 돌연변이 AAT 유전자 둘 다로부터 mRNA 전사체를 표적화하여 AATD가 있는 인간 대상체에 대하여 RNA 간섭 메커니즘을 사용하여 돌연변이 Z-AAT 단백질의 번역을 침묵하도록 설계되었다.

[0080] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 하기 표 2에 제시된 AAT RNAi 약물 물질을 사용한다:

[0081] 표 2. AAT RNAi 약물 물질 (ADS-001).

|  |  |
|--|--|
| 센스 및 안티센스 가닥(센스 및 안티센스 가닥은 어닐링되어 듀플렉스를 형성함): |  |
| 센스 가닥(변형된 서열) (5' → 3' ):                    | (NAG37)s(invAb)sagcguuuaGfGfCfauguuaacas(invAb) (서열번호:6)   |
| 안티센스 가닥(변형된 서열) (5' → 3' ):                  | usGfsuUfaAfacaugCfcUfaAfaCfGcfsu (서열번호:2)  |
| 화학식:   | C <sub>498</sub> H <sub>610</sub> F <sub>11</sub> N <sub>163</sub> Na <sub>43</sub> O <sub>312</sub> P <sub>43</sub> S <sub>6</sub> (Na <sup>+</sup> 형태)<br>C <sub>498</sub> H <sub>633</sub> F <sub>11</sub> N <sub>163</sub> O <sub>312</sub> P <sub>43</sub> S <sub>6</sub> (H <sup>+</sup> 형태) |
| 분자량:   | 16532.9 Da (Na <sup>+</sup> 형태)<br>15587.6 Da (H <sup>+</sup> 형태)  |
| 물리적 외관:                                      | 백색 내지 오프-백색 분말   |

[0082]

[0083] AAT RNAi 약물 물질 (ADS-001)의 도식적 표현은 도 3에 도시되고, 전체 화학 구조 표현은 도 1a 내지 1e (나트륨 염 형태) 및 도 2a 내지 2e (유리산 형태)에 도시된다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 약물 물질은 염, 혼합염, 또는 유리산으로 제조되거나 제공된다. 바람직한 구현예에서, 상기 형태는 나트륨 염이다.

[0084] **약제학적 조성물 및 제형**

[0085] 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 AAT RNAi 제제는 인간 대상체에 투여하기 위한 약제학적 조성물 또는 제형으로서 제조될 수 있다. 상기 약제학적 조성물은 AAT mRNA 발현의 억제 또는 AAT 단백질 수준의 감소가 이로울 질환 또는 장애가 있는 대상체, 예컨대 AATD가 있는 인간 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 표적화 기 또는 표적화 리간드에 연결된 AAT RNAi 제제를 치료에 필요한 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제(비히클, 담체, 희석제 및/또는 전달 중합체를 포함)가 AAT RNAi 제제를 포함하는 약제학적 조성물에 첨가되고, 이에 의해 인간 대상체로의 생체내 전달에 적합한 약제학적 제형을 형성한다.

[0086] 본원에 개시된 방법을 사용하여 인간 대상체에게 투여될 때, AAT RNAi 제제를 포함하는 약제학적 조성물은 대상

체에서 AAT mRNA의 수준을 감소시킨다.

- [0087] 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제를 포함하는 기술된 약제학적 조성물은 AATD, 예컨대, 만성 간염, 간경변, 간세포 암종의 위험 증가, 아미노전이염, 담즙 정체, 섬유증, 및 심지어 전격성 간부전이 있는 대상체에서의 임상적 제시를 치료 또는 관리하는데 사용된다. 일부 구현예에서, 치료적 또는 예방적 유효량의 하나 이상의 약제학적 조성물이 이러한 치료가 필요한 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 임의의 개시된 AAT RNAi 제제의 투여는 대상체에서 질환 증상의 수, 중증도, 및/또는 빈도를 감소시키는데 사용될 수 있다.
- [0088] AAT RNAi 제제를 포함하는 기술된 약제학적 조성물은 AAT mRNA의 발현의 감소 또는 억제에 이로울 질환 또는 장애가 있는 대상체에게서 하나 이상의 증상을 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 AAT RNAi 제제를 포함하는 하나 이상의 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 투여받고, 이에 의해 증상을 치료한다. 다른 구현예에서, 대상체는 예방적 유효량의 하나 이상의 AAT RNAi 제제를 투여받고, 이에 의해 적어도 하나의 증상을 예방한다.
- [0089] 본원에 개시된 AAT RNAi 제제는 특정 경로에 적합하게 맞춰진 제조물로 임의의 적합한 경로를 통해 투여될 수 있다. 따라서, 본원에 기술된 약제학적 조성물은 주사, 예를 들어 정맥내로 또는 피하로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 약제학적 조성물은 피하 주사를 통해 투여된다.
- [0090] 본원에서 사용될 때 약제학적 조성물 또는 약제는 약리학적 유효량의 적어도 하나의 AAT RNAi 제제 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 약제학적으로 허용되는 부형제(부형제)는 약물 전달 시스템에 의도적으로 포함되는, 활성 약제학적 성분(API, 치료 제품, 예를 들어, AAT RNAi 제제) 이외의 물질이다. 부형제는 의도된 용량에서 치료 효과를 발휘하지 않거나 또는 발휘하도록 의도되지 않는다. 부형제는 a) 제작 동안 약물 전달 시스템의 프로세싱의 보조, b) API의 안정성, 생체이용률 또는 환자 허용성의 보호, 지원 또는 향상, c) 제품 식별의 보조, 및/또는 d) 저장 또는 사용 동안 API 전달의 전반적인 안전성, 유효성의 임의의 다른 속성의 향상을 위해 작용할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 부형제는 불활성 물질일 수 있거나 또는 불활성 물질이 아닐 수 있다.
- [0091] 부형제는 흡수 증진제, 항부착제, 소포제, 항산화제, 결합제, 완충제, 담체, 코팅제, 색소, 전달 증진제, 전달 중합체, 텍스트란, 텍스트로스, 희석제, 분해제, 유화제, 증량제, 충전제, 풍미제, 활제, 보습제, 윤활제, 오일, 중합체, 보존제, 식염수, 염, 용매, 당, 현탁제, 서방형 매트릭스, 감미제, 증점제, 긴장제, 비히클, 발수제 및 습윤제를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0092] 주사 용도에 적합한 약제학적 조성물은 멸균된 수용액(수용성인 경우)을 포함한다. 피하 또는 정맥내 투여를 위해 적합한 담체로는 생리식염수, 정균수, Cremophor® ELTM(BASF, 뉴저지주 파시패니) 또는 포스페이트 완충 식염수(PBS)를 포함할 수 있다. 이는 제작 및 저장 조건에서 안정적이어야 하며, 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염 작용으로부터 보존되어야 한다. 담체는 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜), 및 이의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다.
- [0093] 활성 화합물 필요량을 상기 열거된 성분 중 하나 또는 이의 조합물과 함께 적합한 용매 내에 혼입시킨 후 필터 멸균함으로써 멸균된 주사가능한 용액이 제조될 수 있다. 일반적으로, 합성 화합물을 염기성 분산 매질 및 상기 열거된 것으로부터의 필요한 기타 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 혼입시킴으로써 분산액이 제조된다.
- [0094] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 약제학적 조성물은 하기 표 3에 제공된 제형된 AAT RNAi 약물 물질에서 확인된 구성요소를 포함한다.
- [0095] AAT RNAi 제제는 투여 용이성 및 용량 균일성을 위해 용량 단위 형태의 조성물에서 제형될 수 있다. 용량 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단위 용량으로 적합한 물리적으로 분리된 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 필요한 약제학적 담체와 함께 원하는 치료 효과를 일으키도록 계산된 소정량의 활성 화합물을 함유한다. 일부 구현예에서, 용량 단위는 AAT RNAi 약물 물질 약 5 mg 내지 약 300 mg이다. 일부 구현예에서, 용량 단위는 AAT RNAi 약물 물질 약 25 mg 내지 약 200 mg이다. 일부 구현예에서, 용량 단위는 AAT RNAi 약물 물질 약 100 mg 내지 약 200 mg이다. 일부 구현예에서, 용량 단위는 AAT RNAi 약물 물질 약 100 mg이다. 일부 구현예에서, 용량 단위는 AAT RNAi 약물 물질 약 200 mg이다.
- [0096] 약제학적 조성물은 약제학적 조성물에서 통상적으로 발견되는 기타 추가적인 구성성분을 함유할 수 있다. 이러한 추가적인 구성성분은 항소양제, 수렴제, 국소 마취제, 또는 항염증제(예를 들어, 항히스타민, 디펜히드라민 등)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0097] 본원에서 사용될 때 "약리학적 유효량", "치료적 유효량", 또는 간단히 "유효량"은 약리학적, 치료적 또는 예방적 결과를 일으키는 RNAi 제제의 양을 지칭한다.

[0098] 기술된 약제학적으로 허용되는 제형은 키트, 용기, 팩 또는 디스펜서 내로 포장될 수 있다. 본원에 기술된 약제학적 조성물은 사전 충전형 주사기 또는 바이알에 포장될 수 있다.

[0099] **제형화된 AAT RNAi 약물 물질**

[0100] 일부 구현예에서, 표 2에 제공된 바와 같은 AAT RNAi 약물 물질(ADS-001)은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 제형화되어, 인간 대상체에게 투여하기 적합한 약제학적 조성물을 형성한다. 일부 구현예에서, 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질은 수성 소듐 포스페이트 완충액 (0.5 mM 소듐 포스페이트 일염기성, 0.5 mM 소듐 포스페이트 이염기성)에서 230 mg/mL로 제형화되어, 표 3에 도시된 제형화된 AAT RNAi 약물 물질 (ADS-001-1)을 형성한다:

[0101] **표 3.** 1.0 mL 당 제형화된 AAT RNAi 약물 물질의 조성물.

| 구성요소                 | 기능    | 품질/등급        | 농도       |
|----------------------|-------|--------------|----------|
| ADS-001              | 활성 성분 | 인-하우스        | 230 mg   |
| 나트륨 포스페이트 일염기성, 일수화물 | 현탁제   | USP, Ph. Eur | 0.061 mg |
| 나트륨 포스페이트 이염기성, 무수   | 현탁제   | USP, Ph. Eur | 0.062 mg |
| 주사용수(WFI)            | 비히클   | USP, Ph. Eur | 879.2 mg |

[0102]

[0103] 표 3에 따른 제형화된 AAT RNAi 약물 물질은 멸균된 제형으로 제조된다. 일부 구현예에서, 제형화된 AAT RNAi 약물 물질은 유리 바이알과 같은 용기에 포장된다. 일부 구현예에서, 제형화된 AAT RNAi 약물 물질은 약 1.1 mL의 충전 부피를 갖는 유리 바이알에 포장되고, 바람직한 투여 부피는 투여될 바람직한 용량 수준에 기초하여 계산될 수 있다.

[0104] 일부 구현예에서, 표 3에 기술된 제형화된 AAT RNAi 약물 물질은 본원에 개시된 방법을 사용하여 인간 대상체에게 투여된다.

[0105] **AATD가 있는 인간 대상체 및 AATD 진단**

[0106] 본원에 개시된 방법은 표 2에 기술된 AAT RNAi 약물 물질을 포함하는 약제학적 조성물을 사용하여, 인간 대상체에서 AATD에 의해 유발된 증상 및 질환의 치료를 포함하여 이의 치료가 필요한 인간 대상체에서 알파-1 항트립신 결핍증 (AATD)을 치료하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 대상체는 투여 전에 AATD로 진단된다. 본원에서 언급된 바와 같이, AATD는 유전자 전사체에서의 돌연변이에 의해 유발되는 유전적 장애로, AAT 단백질의 돌연변이 형태의 번역을 초래하고, 이로 인한 비정상 질점되기 쉬운 일부 돌연변이 형태가 간 세포에서의 세포 내 잔류를 유도한다. *SERPINA1* 유전자의 다양한 돌연변이가 확인되었지만, 가장 일반적이고 심각한 형태의 AATD인 PiZZ 유전자형은 단일 염기쌍 치환에 의해 발생한다. PiZZ 유전자형을 가진 대상체에서 순환 AAT 수준은 종종 정상 인간 수준의 15% 미만으로 보고된다. 많은 경우에, 환자는 기저 원인의 확인 없이 COPD, 천식, 또는 기타 폐 질환으로 초기에 진단된다. 시간이 지남에 따라, 섬유증 및 간경화와 같은 간질환은 오절첩된("Z-AAT") 단백질의 세포간 잔류 및 간세포로부터 단백질을 적절하게 분비할 수 없는 능력으로 인해 발생할 수 있다. 소아 환자는 일반적으로 무증상 만성 간염, 성장 장애, 영양 부족, 또는 간비대 및 비장 비대를 포함할 수 있는 간질환의 임상적 증상을 나타낸다. AATD는 대상체의 혈액 샘플의 표준 유전자형 분석을 통해 진단되고 확인될 수 있다.

[0107] **AAT 유전자 발현의 투여 및 억제**

[0108] 일반적으로, AAT RNAi 제제의 유효량은 하루에 체중 1kg당 약 0.1 내지 약 10 mg, 예를 들어, 하루에 체중 1kg당 약 0.25 내지 약 5 mg 범위일 것이다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 제제의 유효량은 용량 당 체중 1kg당 약 0.5 내지 약 4 mg 범위일 것이다. 일부 구현예에서, 유효량은 고정 용량이다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 약물 물질 5 mg 내지 300 mg의 고정 용량이 유효 용량이다. 일부 구현예에서, AAT RNAi 약물 물질 25 mg 내지 200 mg의 고정 용량이 유효 용량이다. 투여되는 양은 환자의 또한 전반적인 연령 및 건강 상태, 전달되는 화합물의

상대적인 생물학적 효능, 약물의 제형, 제형 내의 부형제의 존재 및 유형, 및 투여 경로와 같은 변수에 좌우될 것이다. 일부 구현예에서, 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260 또는 280 mg 내지 약 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280 또는 300 mg의 고정 용량이 유효 용량이다. 일부 구현예에서, 약 25 mg, 약 100 mg, 또는 약 200 mg의 고정 용량이 유효 용량이다.

[0109] 또한, 투여된 초기 용량은, 일부 경우에 원하는 혈액 수준 또는 조직 수준을 신속하게 달성하기 위해 전술한 상한 상위 수준 너머로 증가될 수 있거나, 또는 일부 경우에는 초기 용량이 최적값보다 작을 수 있음을 이해해야 한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, AAT RNAi 약물 물질 약 25 mg 내지 약 200 mg의 초기 용량이 투여되고, 이어서 약 1개월 후에 AAT RNAi 약물 물질 약 25 내지 200 mg의 제 2 용량이 투여되며, 그 후에 추가 용량("유지 용량"과 유사한 개념)이 3개월마다 1회 (즉, 분기당 1회) 투여된다.

[0110] 질환 치료를 위해, 또는 질환 치료를 위한 약제 또는 조성물의 형성을 위해, AAT RNAi 제제를 포함하는 본원에 기술된 약제학적 조성물은 부형제와 또는 제2 또는 다른 RNAi 제제, 소분자 약물, 항체, 항체 단편, 펩티드 및/또는 앵타머를 포함하지만 이에 제한되지 않는 제2 치료제 또는 요법과 함께 조합될 수 있다.

[0111] 일부 구현예에서, 기술된 AAT RNAi 제제가 투여된 대상체에서 AAT 유전자의 유전자 발현 수준 및/또는 mRNA 수준이 AAT RNAi 제제가 투여되기 전의 대상체 또는 AAT RNAi 제제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과만큼 감소된다. 대상체에서의 유전자 발현 수준 및/또는 mRNA 수준은 대상체의 세포, 세포 군, 및/또는 조직에서 감소된다.

[0112] 일부 구현예에서, 기술된 AAT RNAi 제제가 투여된 대상체에서의 AAT의 단백질 수준이 AAT RNAi 제제가 투여되기 전의 대상체 또는 AAT RNAi 제제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과만큼 감소된다. 대상체에서의 단백질 수준은 대상체의 세포, 세포 군, 조직, 혈액 및/또는 기타 체액에서 감소된다.


[0113] 일부 구현예에서, 기술된 AAT RNAi 제제가 투여된 AATD가 있는 대상체에서의 Z-AAT 중합체 단백질 수준이 AAT RNAi 제제가 투여되기 전의 대상체 또는 AAT RNAi 제제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 기술된 AAT RNAi 제제가 투여된 대상체에서의 Z-AAT 중합체 단백질 수준이 AAT RNAi 제제가 투여되기 전의 대상체 또는 AAT RNAi 제제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과만큼 감소된다.

[0114] AAT 유전자 발현, AAT mRNA, 또는 AAT 단백질 수준의 감소는 당업계에 공지된 일반적인 방법에 의해 평가 및 정량화될 수 있다. 본원에 개시된 실시예에는 AAT 유전자 발현의 억제 및 AAT 단백질 수준의 감소를 평가하기 위한 일반적으로 공지된 방법을 기술된다. AAT mRNA 수준 및/또는 단백질 수준(Z-AAT 중합체 및/또는 단량체 포함)의 감소 또는 저하는 본원에서 AAT의 감소 또는 저하 또는 AAT의 발현의 억제 또는 감소로 총칭된다.

[0115] 본원에서 사용된, 용어 "치료하다", "치료" 등은 대상체에서 질환의 하나 이상의 증상이 경감하거나 그의 수, 중증도, 및/또는 빈도가 감소되도록 취해지는 방법 또는 단계를 의미한다. 본원에서 사용될 때 "치료하다" 및 "치료"는 대상체에서의 질환의 하나 이상의 증상의 수, 중증도 및/또는 빈도의 예방, 관리, 예방 치료, 및/또는 억제를 포함할 수 있다.

[0116] 본원에서 사용될 때 "월별 투여(dosing)" 또는 "월별" 투여는 28일마다를 의미한다. 본원에서, "분기별 투여(dosing)" 또는 "분기별" 투여는 84일마다를 의미한다. 월별 투여와 관련하여 사용되는 용어 "약"은 월별 투여 +/- 3일을 의미한다. 분기별 투여와 관련하여 사용되는 용어 "약"은 분기별 투여 +/- 9일을 의미한다.

[0117] 본원에서 사용된, 구절 "세포 내로 도입"은 RNAi 제제를 지칭할 때, RNAi 제제를 세포 내로 기능적으로 전달하는 것을 의미한다. "기능적 전달"이라는 구절은 예상되는 생물학적 활성, 예를 들어 유전자 발현의 서열-특이적 억제를 RNAi 제제가 갖도록 하는 방식으로 RNAi 제제를 세포에 전달하는 것을 의미한다.

[0118] 달리 언급되지 않는 한, 본원에서 사용된 바와 같은 기호  의 사용은 본원에 기술된 발명의 범위에 따른 임의의 기 또는 기(들)가 여기에 연결될 수 있다는 것을 의미한다.

- [0119] 본원에서 사용될 때 특정 형태를 갖는 것으로 구조 면에서 구체적으로 확인되지 않는 한, 비대칭 중심이 존재하고 따라서 거울상 이성질체, 부분입체 이성질체 또는 기타 입체 이성질체의 형태가 발생하는 각각의 구조의 경우에, 본원에 개시된 각각의 구조는 이의 광학적으로 순수한 형태 및 라세미 형태를 포함한 모든 이러한 가능한 이성질체를 대표하도록 의도된다. 예를 들어, 본원에 개시된 구조는 부분 입체 이성질체뿐만 아니라 단일 입체 이성질체의 혼합물을 망라하도록 의도된다.
- [0120] 본원에서 사용될 때 구절 "-로 이루어지는"은 청구범위에 명시되지 않은 임의의 요소, 단계, 또는 성분을 배제한다. 본원 청구범위에서 사용될 때, "로 본질적으로 이루어지는"은 청구범위를 명시된 물질 또는 단계 및 청구된 발명의 기본적인이고 신규한 특징(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것들에 한정한다.
- [0121] 당업자는 본원에 개시된 화합물 및 조성물이, 화합물 또는 조성물이 놓이는 환경에 따라 양성자화 또는 탈양성자화된 상태의 소정의 원자 (예를 들어, N, O 또는 S 원자)를 가질 수 있음을 쉽게 이해하고 인지할 것이다. 따라서, 본원에서 사용될 때 본원에 개시된 구조는 소정의 작용기, 예를 들어, OH, SH, 또는 NH가 양성자화 또는 탈양성자화될 수 있는 것으로 예상된다. 본원의 개시내용은 당업자가 쉽게 이해될 수 있는 바와 같이, 개시된 화합물 및 조성물을 환경 (예컨대, pH)에 기반한 이들의 양성자화 상태와 관계없이 망라하도록 의도된다.
- [0122] 달리 규정되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당업자가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실행 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질이 하기에 기술된다. 본원에서 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고문헌은 전문이 참조로 포함된다. 충돌이 있는 경우에 정의를 포함하는 본 명세서가 우선한다. 또한, 물질, 방법 및 예는 단지 예시를 위한 것이며, 제한하려는 것이 아니다.
- [0123] 상기 제공된 구현예 및 물질이 하기의 비제한적인 실시예와 함께 예시된다.
- [0124] **실시예**
- [0125] **실시예 1. AAT RNAi 약물 물질(ADS-001)의 합성 및 제형**
- [0126] 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 AAT RNAi 약물 물질은 당업계에 공지된 바와 같이 고체상 올리고뉴클레오티드 합성에서의 포스포라미다이트 기술을 사용하여 합성될 수 있다. 시판되는 올리고뉴클레오티드 합성제(예를 들어, MerMade96E®(Bioautomation) 또는 MerMade12®(Bioautomation)가 사용될 수 있다. 합성은 제어된 세공(pore) 유리(CPG, 500 Å 또는 600 Å, Prime Synthesis, 미국 펜실베이니아주 애스톤에서 취득됨)로 만들어진 고체 지지체 상에서 수행될 수 있다. 각 가닥의 3' 단부에 위치한 단량체는 합성을 위한 시작점으로 고체 지지체에 부착될 수 있다. 모든 RNA, 2'-변형된 RNA 포스포라미디트, 및 역전 무염기성 포스포라미디트는 상업적으로 구입할 수 있다. 센스 가닥의 5' 단부에 첨가하기에 적합한 표적화 기-함유 포스포라미디트가 합성될 수 있다. 표준 절단, 탈보호, 정제, 및 어닐링 단계는 당업계에 공지된 바와 같이 이용될 수 있다. AAT RNAi 제제의 합성에 관련된 추가적인 설명은 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2018/132432호(출원 제 PCT/US2018/013102호) 및 WO 2018/044350호(PCT/US2017/021147호)에서 찾을 수 있으며, 이의 각각은 그 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다. AAT RNAi 약물 물질은 당업계에 일반적으로 공지된 표준 약제학적으로 허용되는 부형제에 용해시킴으로써 제형화될 수 있다. 예를 들어, 표 3은 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 제형화된 AAT RNAi 약물 물질을 도시한다.
- [0127] **실시예 2. 정상 건강한 인간 지원자 (NHV)를 대상으로 한 AAT RNAi 약물 물질 (ADS-001)의 I상 임상 실험.**
- [0128] 건강한 지원자(NHV)의 혈청 AAT 수준에 대한 AAT RNAi 약물 물질(ADS-001)의 안전성, 내약성, 약동학 및 효과를 평가하기 위하여 I상의 단일 및 다중 용량-증가 용량 연구가 수행되었다. 연구 대상 집단은 19.0 내지 35.0 kg/m<sup>2</sup>의 BMI를 갖는 18-52세의 건강한 성인 남성 및 여성을 포함하였다.
- [0129] NHV 대상체는 총 7개의 코호트로 나누어졌다. 피하 주사로서 투여된 35 mg의 단일 증가 용량(코호트 1) 및 100 mg (코호트 2), 200 mg (코호트 3) 및 300 mg (코호트 4)의 다중 증가 용량에서 AAT RNAi 약물 물질 또는 위약(4 활성: 4 위약)을 투여하기 위해 코호트 1 내지 4가 무작위배치되었다. 코호트 1 내지 4는 이중 맹검이었다. 코호트 2b, 3b 및 4b는 AAT RNAi 약물 물질 100, 200, 및 300 mg을 단일 투여받은 4명의 대상체로 이루어진 오픈 레이블이었다. 총 44명의 대상체가 상기 연구를 마쳤다. 도 4는 I상 임상 실험에 대한 최종 연구 설계를 보여준다. 연구 파라미터를 정리하면 하기 표 4와 같다.

[0130] 표 4. I상 임상 연구 파라미터

|        |  |
|--------|--|
| 개발 단계  | 1 상: 인간에서의 최초  |
| 연구 목적  | <p>1 차 목적:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 정상 건강한 인간 지원자(NHV)에서 증가하는 단일 용량 및 증가하는 다중 용량을 사용하여 AAT RNAi 약물 물질(ADS-001)의 안전성 및 내약성의 척도로서 치료와 관련되거나 아마도 관련된 이상반응의 발생률 및 빈도를 결정하기 위한 것이다.</li> </ul> <p>2 차 목적:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● NHV 에서 AAT RNAi 약물 물질의 단일-용량 및 다중-용량 약동학을 평가하기 위한 것이다.</li> <li>● 약물 활성의 측정으로서 AAT RNAi 약물 물질에 반응하여 혈청 AAT 의 감소를 측정하기 위한 것이다.</li> </ul> <p>탐색적 목적:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● NHV 에서 사이토카인(사이토카인 패널 A: 인터루킨-6 [IL-6], 단핵구 화학유인물질 단백질-1 [MCP-1], 종양 괴사 인자-알파 [TNF-알파], 인터루킨-8 [IL-8], 인터루킨-1 베타 [IL-1 베타], 인터페론 알파 [IFN 알파], IL-10, IL-12 [p40], IL-12 [p70], 대식세포 염증성 단백질-1 알파 [Mip-1 알파])에 대한 AAT RNAi 약물 물질의 단일 용량의 효과를 평가하기 위한 것이다.</li> <li>● NHV 에서 상보 인자 Bb, CH50, C5a, C4a, 및 C3a 에 대한 AAT RNAi 약물 물질의 단일 증가 용량의 효과를 평가하기 위한 것이다.</li> <li>● 후속적인 대사산물 확인을 위해 NHV 에서 혈장 샘플을 수집하기 위한 것이다(본 연구 외부의 별도의 보고서로 보고됨).</li> <li>● 소변 샘플을 NHV 에게서 수집하여 소변 배설 및 대사산물 동정(본 연구 외부의 별도의 보고서로 보고됨)의 후속 결정을 위한 것이다.</li> </ul> |
| 연구 설계  | <p>코호트 1 내지 4: 무작위화, 이중맹검, 위약-제어.</p> <p>코호트 2b, 3b, 4b: 오픈 레이블</p>  |
| 연구 모집단 | 본 연구는 18-52 세의 성인 남성 및 여성인 NHVs 에서 수행되었으며, BMI 는 19.0 내지 35.0 kg/m 이다.   |
| 시험용 제품 | 제형화된 AAT RNAi 약물 물질(표 3 참조)로서 투여되는 AAT RNAi 약물 물질(ADS-001)(표 2 참조)   |

[0131]

|           |   |
|-----------|---|
| 용량 및 빈도   | <p>코호트 1: 단일 피하 주사로서 투여된 35 mg의 단일 용량으로 AAT RNAi 약물 물질 (ADS-001) 또는 위약 (4 활성: 4 위약)을 투여받기 위해 무작위화하였다.</p> <p>코호트 2 내지 4: 피하 주사를 통해 100 mg (코호트 2), 200 mg (코호트 3), 또는 300 mg (코호트 4) AAT RNAi 약물 물질 또는 위약 (4 활성: 4 위약)의 3개월 (즉, 1, 29, 및 57일차) 용량을 투여하기 위해 무작위화하였다.</p> <p>코호트 2b, 3b, 및 4b: 단일 피하 주사로서 투여된 100 mg (코호트 2b), 200 mg (코호트 3b), 또는 300 mg (코호트 4b) AAT RNAi 약물 물질 (4 활성)의 단일 용량을 투여받기 위해 등록되었다.</p>   |
| 기준 제형     | 위약(PBO): 정상 식염수(0.9%)를 매칭 부피로 피하 투여하였다.   |
| 안전성 평가 기준 | <ul style="list-style-type: none"> <li>안전성은 이상반응, 심각한 이상반응, 신체 검사, 활력 징후 측정(혈압, 심박수, 온도 및 호흡률), 휴지 ECG 측정, 임상 실험실 시험, 수반되는 의약/요법, 주사 부위 반응(ISR), 치료 중단 이유, 및 90일 29일 후(코호트 1) 및 113일 후(모든 기타 코호트) 임신 추적에 의해 평가하였다.</li> </ul>   |
| 약동학적 평가   | 혈액 샘플은 1회 용량 후(코호트 1) 및 1 및 3회 용량 후(코호트 2, 3, 및 4)의 약동학적 분석을 위해 각각의 대상체로부터 수집될 것이다.   |
| 데이터 분석    | <p>스크리닝, 준수, 내약성 및 안전성 데이터: 안전성 분석이 수행되고 결과가 코호트로 요약된다. 이상반응(AEs), 심각한 이상반응(SAEs), 관련된 AEs, 관련된 SAEs, 및 중증도에 따른 AEs의 발생 및 빈도는 SOC, PT, 및 중증도에 따른 코호트에 의해 요약될 것이다. 기타 안전 파라미터는 각각의 스케줄링된 시간에 요약될 것이다.</p> <p>약동학 (NHV 대상체만): AAT RNAi 약물 물질 구성성분의 혈장 농도를 사용하여 하기와 같이 PK 파라미터를 계산할 것이다: 최대 관찰된 혈장 농도 (C<sub>max</sub>), 0 내지 24시간의 혈장 농도 시간 곡선 하 면적 (AUC) (AUC<sub>0-24</sub>), 0 내지 무한대로 외삽된 시간 (AUC<sub>inf</sub>)의 AUC, 및 말단 제거 반감기 (t<sub>1/2</sub>). 약동학적 파라미터는 비-구획 방법을 사용하여 결정될 것이다. PK 파라미터의 기술 통계는 평균, 표준편차(SD), 변동 계수, 중앙값, 최소값, 및 최대값을 포함할 것이다. PK 결과는 용량 비례성 및 성별 차이에 대해 분석될 것이다.</p> |

[0132]

[0133]

연구로부터의 혈청 AAT 감소 결과는 35 내지 300 mg의 용량에서 AAT RNAi 약물 물질의 투여가 혈청 AAT의 깊은 감소를 초래하였음을 보여주었다. 초기에, 임상 실험 프로토콜의 일부로 용량 당 AAT RNAi 약물 물질 400 mg에 대한 코호트가 제안되었다. 그러나, 35, 100, 200 및 300 mg 용량에서의 예상치 못한 효능을 고려하여, 400 mg 코호트가 연구 프로토콜로부터 제거되었다. 35 mg, 100 mg 및 200 mg의 용량은 실질적인 혈청 AAT 감소를 발생 시켰고, 100 mg 및 200 mg 둘 다 I상 연구에서 다중 투여 후 대략 90% 평균 혈청 AAT 감소에 이르렀다. 도 5 내지 11은 I상 연구에서 다양한 코호트의 혈청 AAT 감소를 보고한다.

[0134]

놀랍게도 그리고 예상외로, 100 mg 및 200 mg에서의 용량 수준이 보다 높은 300 mg 용량과 유사한 실질적인 (대략 90%에 도달함) 녹다운을 생성하였기 때문에, 모든 용량 수준에 걸쳐 명확한 용량-의존성 반응은 없었다. 35 mg의 최저 용량이 매우 활성이지만, 단일 용량으로 투여된 100 mg만큼 활성이 아니었으며, 이는 어느 정도의 용량 반응을 나타낸다.

[0135]

35 mg의 단일-용량으로부터 혈청 AAT 감소(>58%)의 기간은 처음에 예상된 것보다 더 오래 지속되었고, 투여 후 16주까지 지속되었으며, 이후에 기준선쪽으로 돌아섰다. 예를 들어, 35 mg의 단일 투여 34주 후에, 한 대상체의 혈청 AAT 수준은 90 mg/dL 이상으로 회복되었고, 반면 두 번째 대상체의 혈청 AAT 수준은 40 mg/dL(기준선으로부터 60.4% 감소됨)로 유지되었다. AAT RNAi 약물 물질 100 mg 내지 300 mg의 단일-투여로부터 반응의 지속기간에 유의한 차이가 없었으며, 단일-투여 후 8 내지 16주 사이에 기준선쪽으로 돌아섰다.

[0136]

다중-용량의 AAT RNAi 약물 물질은 일반적으로 단일 용량보다 더 오랜 기간 동안 혈청 AAT의 깊은 감소를 유지한다. 이 데이터는 29일에 받은 제 2 용량(즉, 초기 용량으로부터 한 달 후)이 혈청 AAT 수준을 추가로 감소시키거나 감소를 유지할 수 있고, 후속 용량이 매 12주마다(즉, 분기별) 최대 감소된 혈청 AAT를 유지하기 위해 투여될 수 있음을 시사한다.

[0137]

I상 연구에서, 사망, 심각한 이상반응(SAE) 및 중증 강도로 평가된 이상반응(AE)은 없었다. 2명의 대상체는 AAT RNAi 약물 물질(상기도 감염, 비루, 흉통 일반)을 투여받은 대상체에서 중간 강도 AE 3가지를 보고하였다. 3명의 대상체는 위약을 투여받은 대상체에서 중간 강도인 AE 3가지를 보고하였다 (2-위장염, 근골격성 흉통-좌측).

기타 모든 AE는 경증으로 보고되었다. 대상체의 대부분은 연구 치료와 관련이 없는 AE를 보고하였다. 하나의 AE는 AAT를 받은 대상체에서 발생하여 치료의 조기 중단을 초래했지만, 해당 대상체는 연구에서 계속 추적관찰되었다. AE 94가지가 적어도 단일 용량의 제형화된 AAT RNAi 약물 물질을 투여받은 28명의 대상체에게서 보고되었다. AE 46가지가 위약을 투여받은 17명의 대상체에게서 보고되었다. 용량 증가에 따른 AE의 빈도 또는 강도의 증가에 대한 명확한 패턴은 없다.

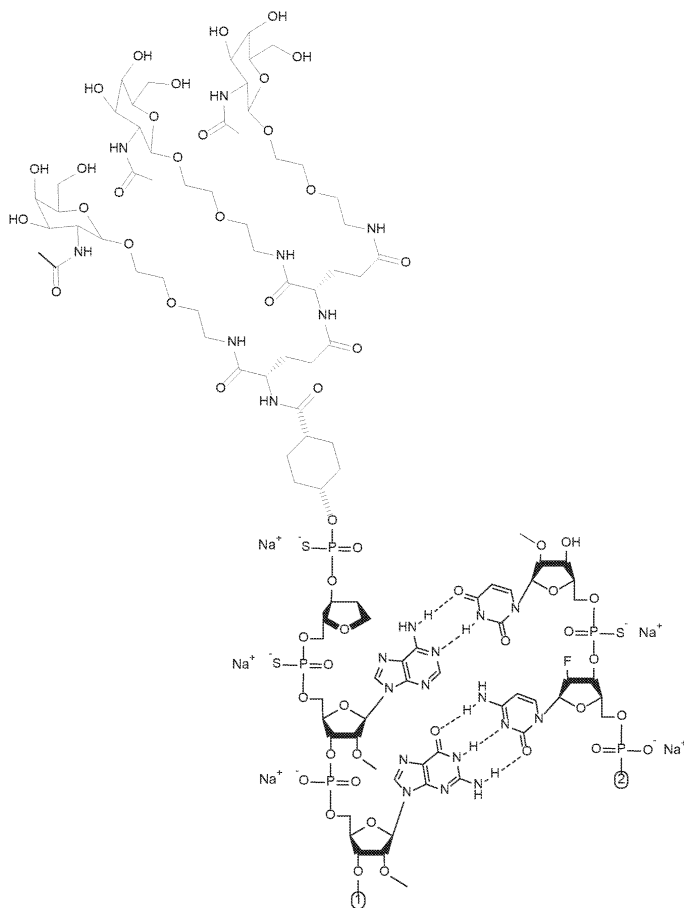
[0138] 모든 제형화된 AAT ENAi 약물 물질 코호트에서 6명의 대상체에게서 주사 부위에서 AEs 6가지가 발생하였고, 이는 모두 약물을 투여받은 대상체에게서 발생하였다. 위약 대상체에서는 주사 부위 AE가 없었다. 보고된 주사 부위 반응은 주사 부위 타박상, 홍반 및 통증을 포함하였다. 주사 부위에서 이들 조합된 AE는 제형화된 AAT RNAi 약물 물질을 투여받은 대상체의 21.4%에서 보고되었다. 제형화된 AAT RNAi 약물 물질의 50회 주사 중 6회에서 또는 12%에서 주사 부위 AE가 발생하였다. 한 명의 대상체에서 주사 부위 AE가 1회 초과하여 보고되지 않았다. 모든 주사 부위 AE는 경증 강도로 간주되었다.

[0139] 기타 구현예

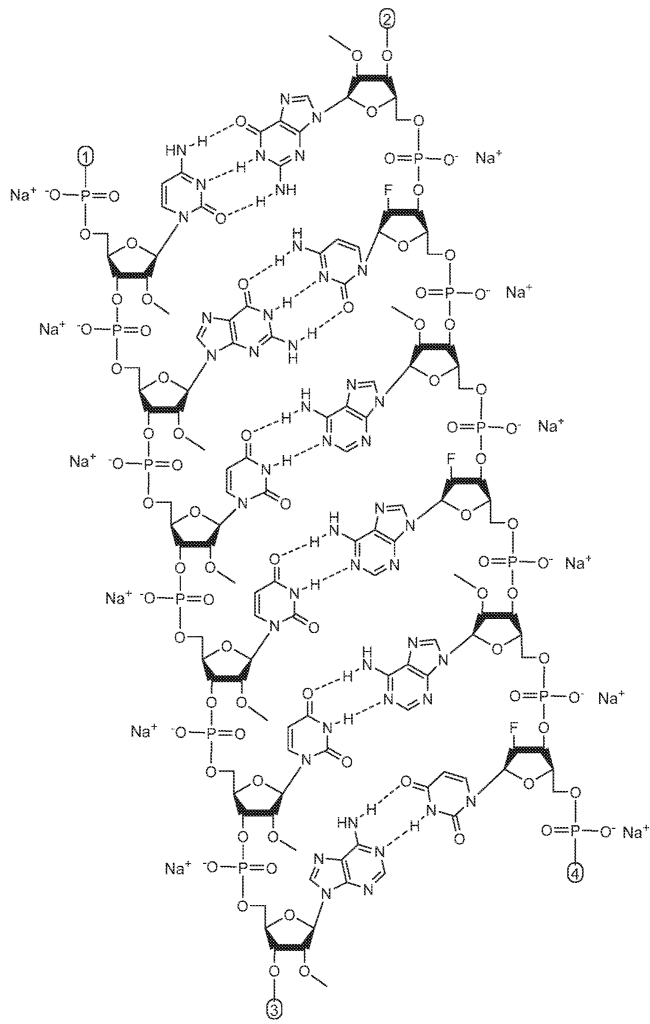
[0140] 본 발명이 이의 상세한 설명과 함께 기술되었지만, 상기 설명은 본 발명을 예시하기 위한 것이며, 청구범위에 의해 정의되는 본 발명 범위를 제한하려는 것이 아니다. 기타 측면, 이점 및 변형은 하기의 청구범위의 범주 내에 속한다.

**도면**

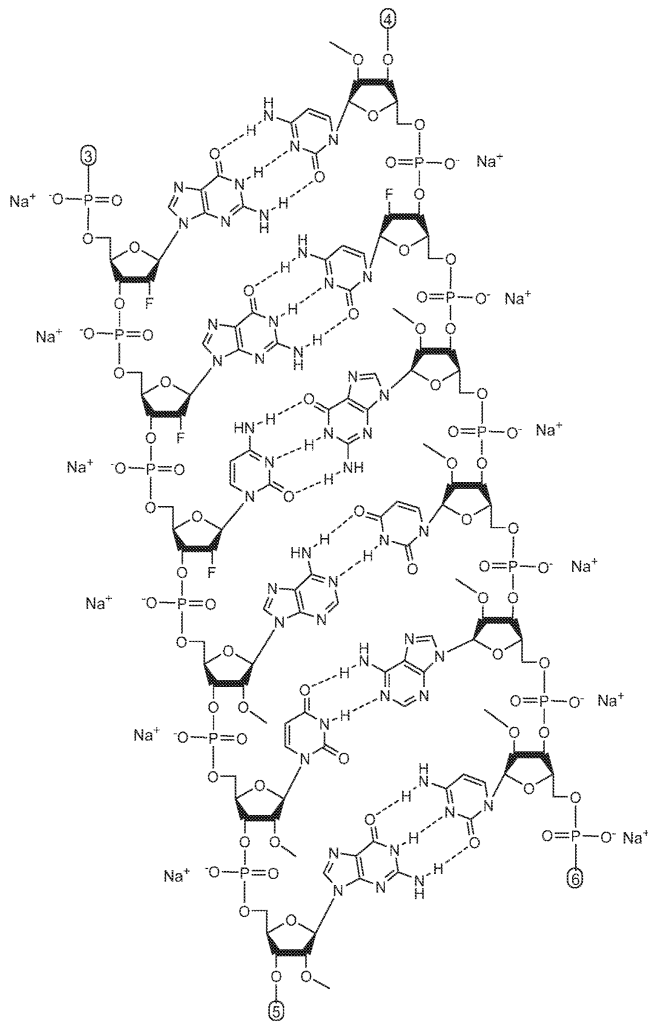
**도면 1a**



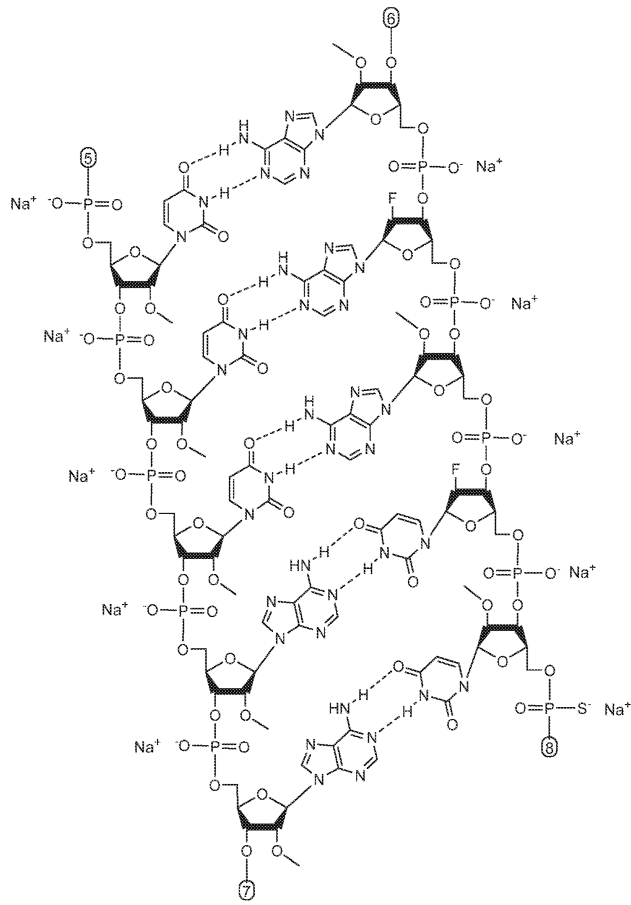
도면1b



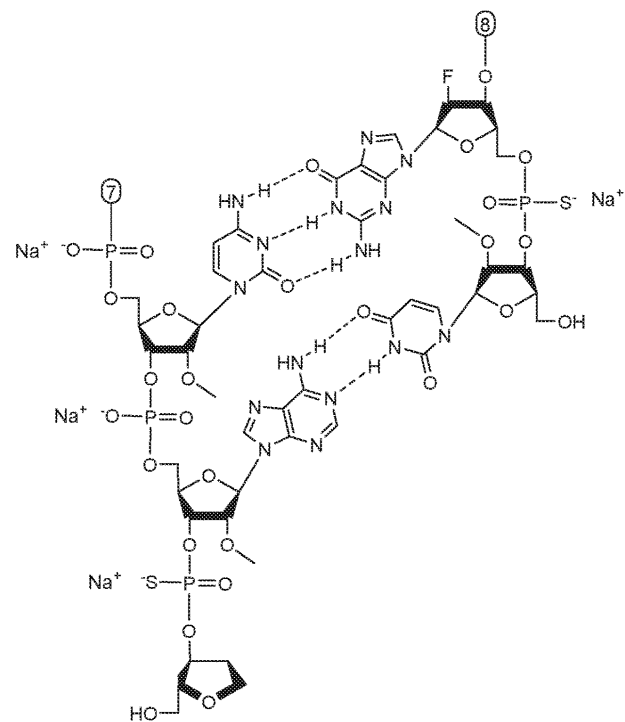
도면1c



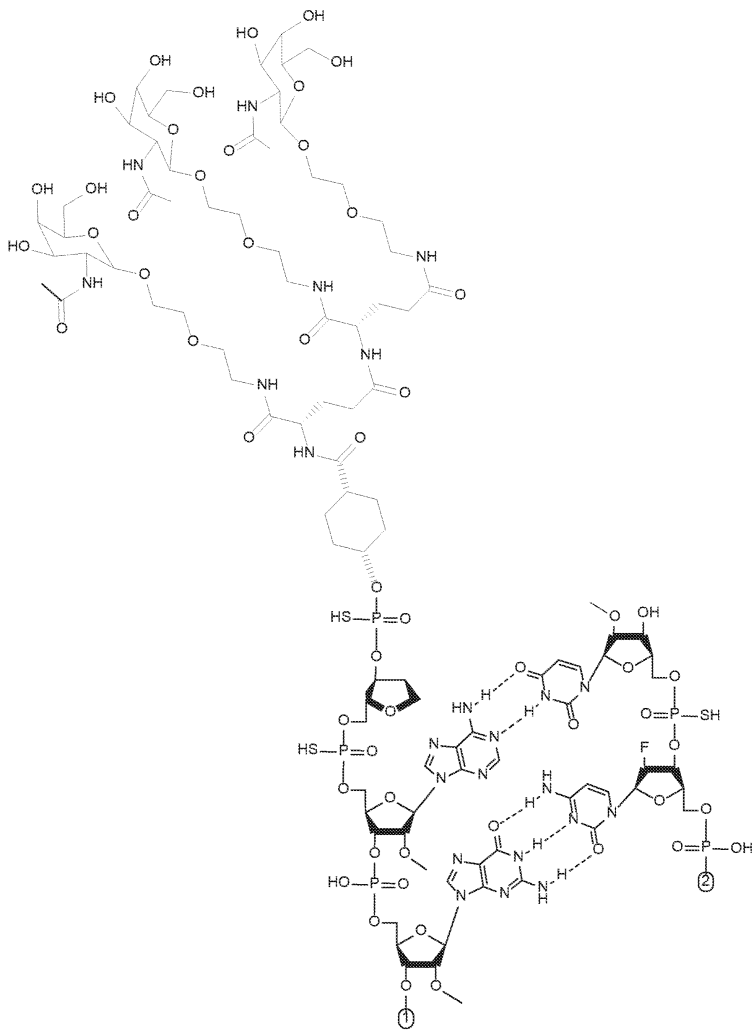
도면1d



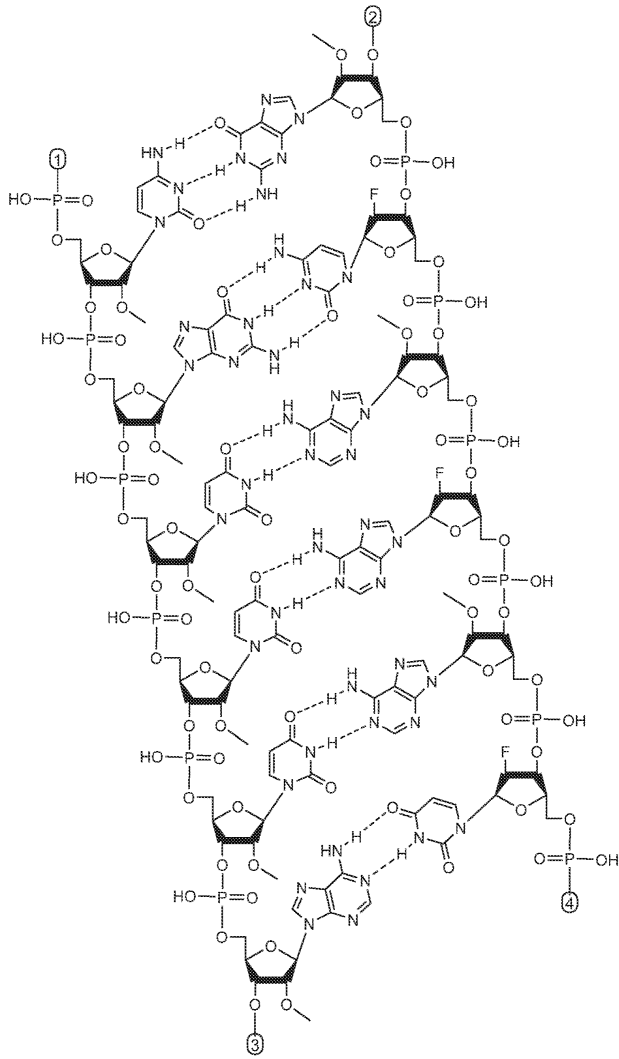
도면1e



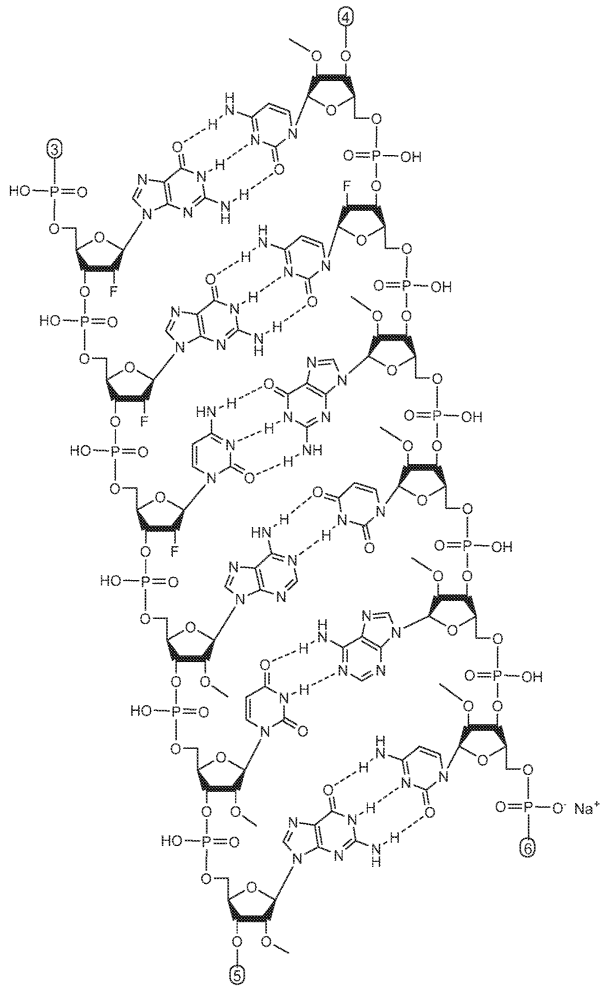
도면2a



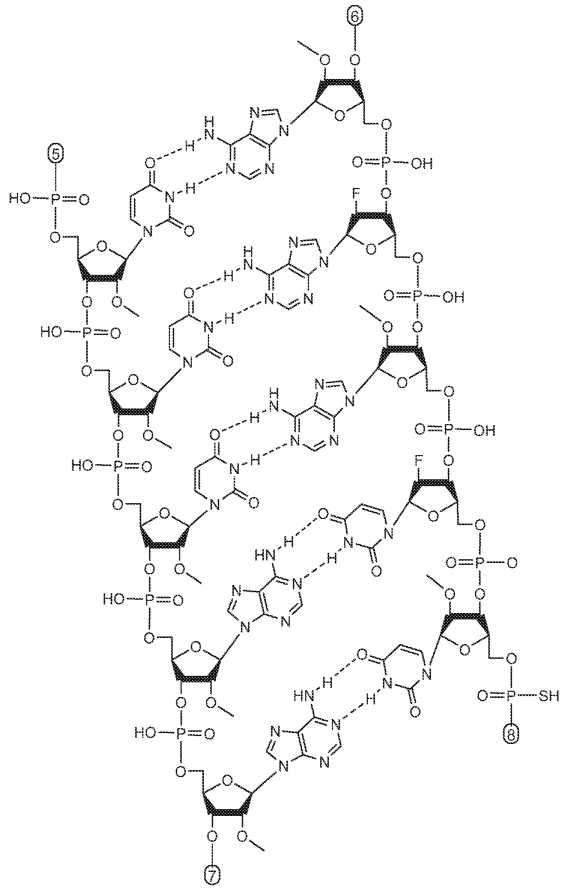
도면2b



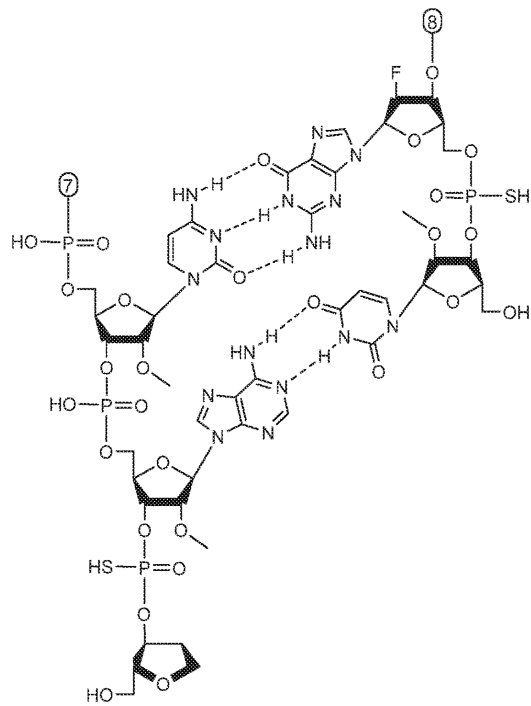
도면2c



도면2d



도면2e

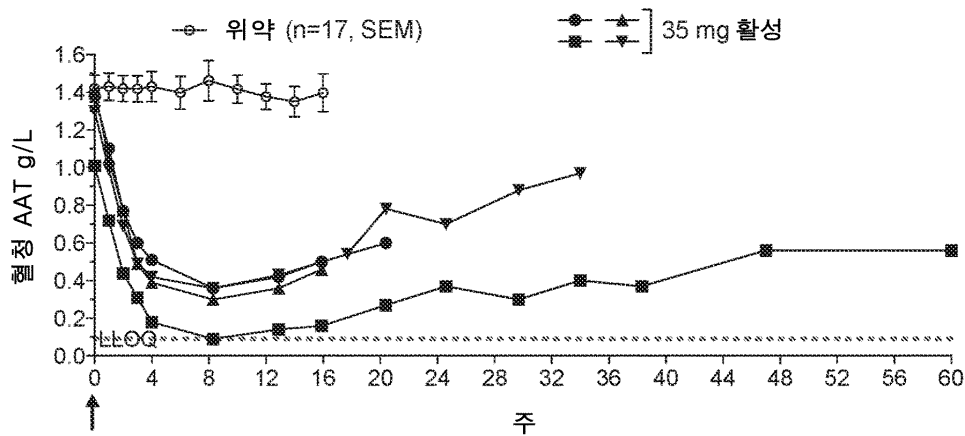




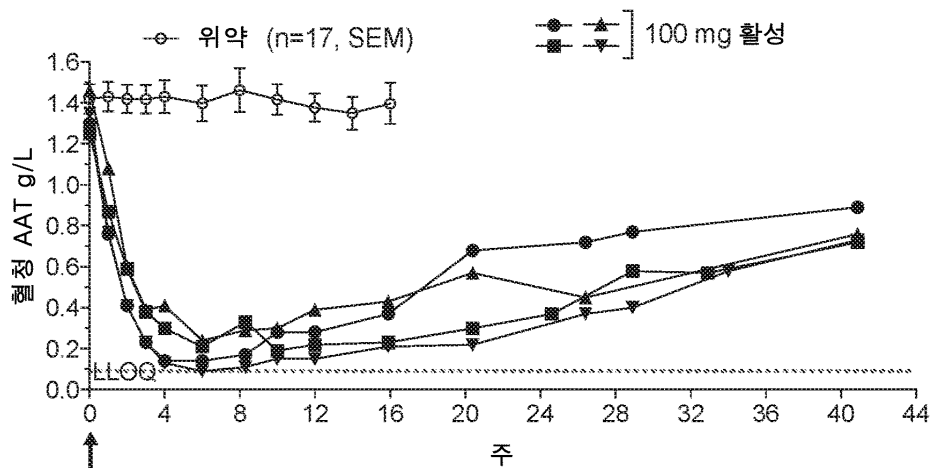
도면4

| 단일 용량의 건강한 정상 지원자<br>(코호트 1, 2, 3, 4는 이중맹검이다;<br>코호트 2b, 3b, 4b는 오픈 레이블이다) |             |                | 다중-용량의 건강한 정상 지원자<br>(이중맹검)                     |
|--|-------------|----------------|---|
| 코호트  | 용량<br>(1일차) | 15일차<br>안전성 평가 | 투여 요법   |
| 코호트 1  | 35 mg       |                | 해당없음  |
| 코호트 2/2b   | 100 mg      |                | 29, 57일차 100 mg 용량투여/<br>코호트 2b: 오직 단일 용량 (1일차) |
| 코호트 3/3b   | 200 mg      |                | 29, 57일차 200 mg 용량투여/<br>코호트 3b: 오직 단일 용량 (1일차) |
| 코호트 4/4b   | 300 mg      |                | 29, 57일차 300 mg 용량투여/<br>코호트 4b: 오직 단일 용량 (1일차) |

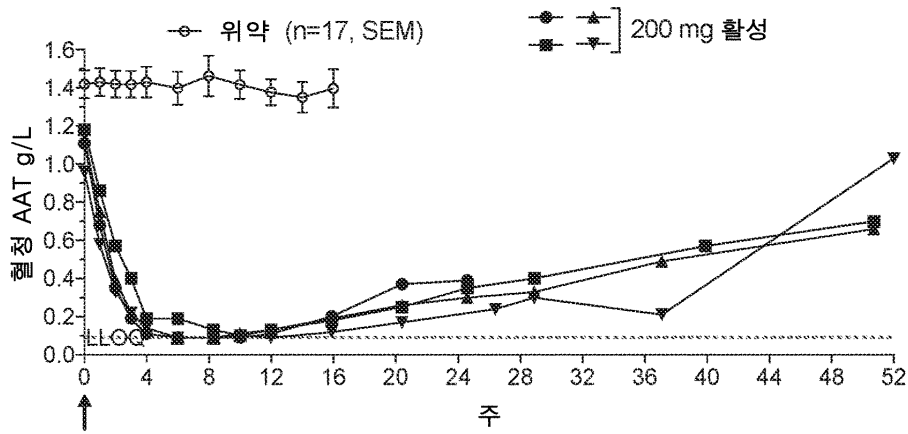
도면5



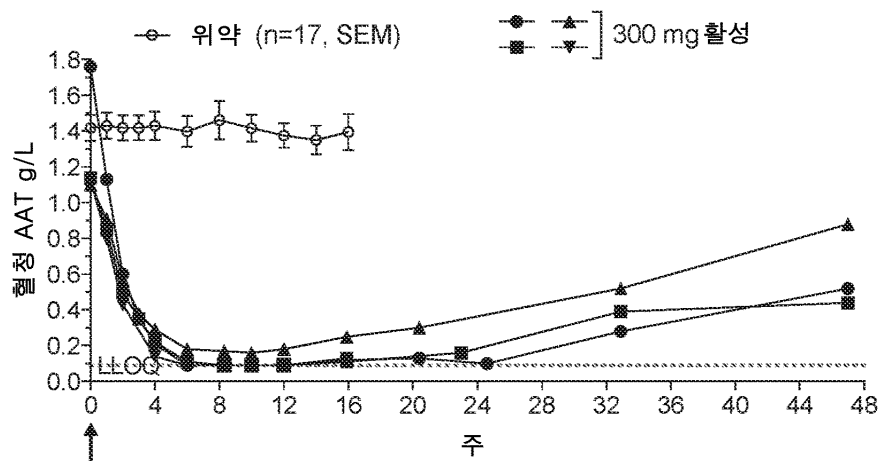
도면6



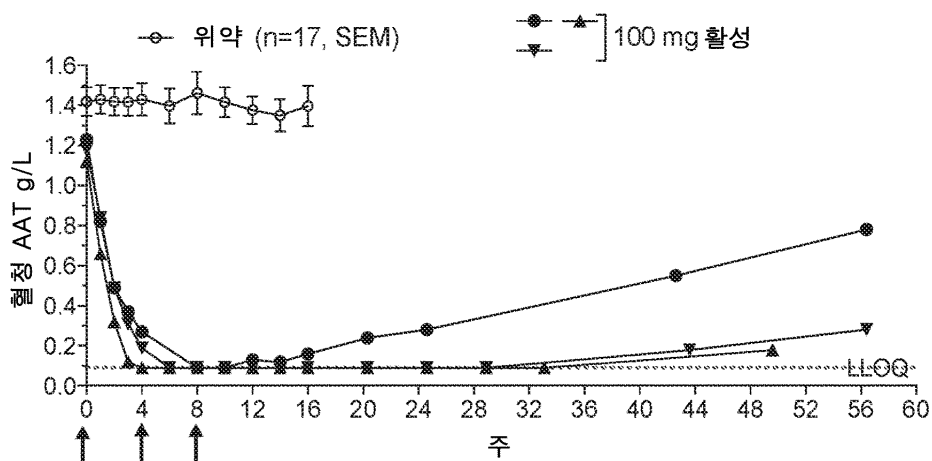
도면7



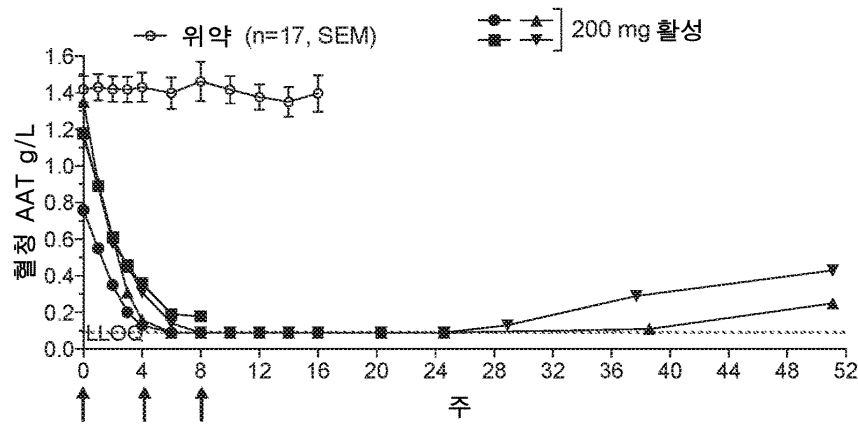
도면8



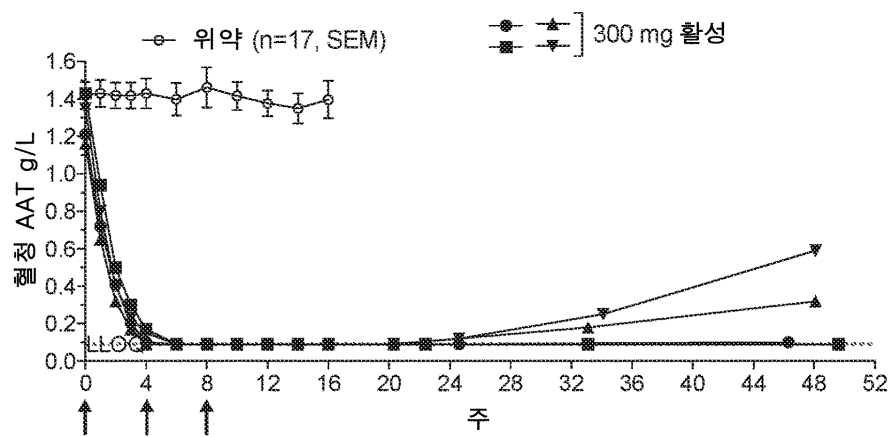
도면9



도면10



도면11



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> ARROWHEAD PHARMACEUTICALS, INC.

<120> Methods For The Treatment of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency (AATD)

<130> 30674-W01

<160> 6

<210> 1

<211> 3220

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Homo sapiens serpin family A member 1 (SERPINA1),

gene transcript variant 1 (NM\_000295.4)

<400> 1

acaatgactc ctttcggtaa gtgcagtgga agctgtacac tgcccaggca aagcgtccgg 60

gcagcgtagg cgggcgactc agatcccagc cagtggactt agcccctgtt tgctcctccg 120  
ataactgggg tgaccttggg taatattcac cagcagcctc ccccgttgcc cctctggatc 180

cactgcttaa atacggacga ggacagggcc ctgtctctc agcttcaggc accaccactg 240  
acctgggaca gtgaatcgac aatgccgtct tctgtctcgt ggggcatcct cctgctggca 300  
ggcctgtgct gcectggccc tgtctccctg gctgaggatc cccagggaga tgctgcccag 360  
aagacagata catcccacca tgatcaggat cacccaacct tcaacaagat caccccacaac 420  
ctggctgagt tcgcttcagc cctataccgc cagctggcac accagtcaa cagcaccaat 480  
atcttcttct ccccagtgag catcgtaca gcctttgcaa tgctctccct ggggaccaag 540  
gctgacactc acgatgaaat cctggagggc ctgaattca acctcacgga gattccggag 600

gctcagatcc atgaaggctt ccaggaactc ctccgtacc tcaaccagcc agacagccag 660  
ctccagctga ccaccggcaa tggcctgttc ctcagcgagg gcctgaagct agtggataag 720  
tttttggagg atgttaaaaa gttgtaccac tcagaagcct tcactgtcaa cttcggggac 780  
accgaagagg ccaagaaaca gatcaacgat tacgtggaga agggfactca agggaaaatt 840  
gtggatttgg tcaaggagct tgacagagac acagtttttg ctctgggtgaa ttacatcttc 900  
tttaaaggca aatgggagag accctttgaa gtcaaggaca ccgaggaaga ggacttccac 960  
gtggaccagg tgaccaccgt gaaggtgcct atgatgaagc gtttaggcat gtttaacatc 1020

cagcactgta agaagctgtc cagctgggtg ctgctgatga aatacctggg caatgccacc 1080  
gccatcttct tctgcctga tgaggggaaa ctacagcacc tggaaaatga actcaccac 1140  
gatatcatca ccaagttctt ggaaaatgaa gacagaaggt ctgccagctt acatttacc 1200  
aaactgtcca ttactggaac ctatgatctg aagagcgtcc tgggtcaact gggcatcact 1260  
aaggtcttca gcaatggggc tgacctctcc ggggtcacag aggaggcacc cctgaagctc 1320  
tccaaggccg tgcataaggc tgtgtgacc atcgacgaga aagggactga agctgctggg 1380  
gccatgtttt tagaggccat acctatgtct atccccccg aggtcaagtt caacaaacc 1440

tttgtcttct taatgattga acaaaatacc aagtctcccc tcttcatggg aaaagtgggtg 1500  
aatcccacc aaaataact gcctctcgt cctcaacccc tcccctccat cctggcccc 1560  
ctccctggat gacattaag aagggttgag ctggctcctg cctgcatgtg actgtaaatc 1620  
ctcccattgt ttctctgag tctccctttg cctgctgagg ctgtatgtgg gctccaggta 1680  
acagtctgt cttcgggccc cctgaactgt gttcatggag catctggctg ggtaggcaca 1740  
tgctgggctt gaatccaggg gggactgaat cctcagctta cggacctggg cccatctgtt 1800  
tctggagggc tccagtcttc cttgtcctgt cttggagtcc ccaagaagga atcacagggg 1860

aggaaccaga taccagccat gaccccagc tccaccaagc atcttcatgt cccccgtctc 1920  
atccccact cccccacc cagagttgct catcctgcc gggctggctg tgccacccc 1980  
aaggctgccc tctgggggc cccagaactg cctgatcgtg ccgtggcca gttttgtggc 2040  
atctgcagca acacaagaga gaggacaatg tctctctt gaccctgt cacctaacca 2100  
gactcgggccc ctgcacctt caggcacttc tggaaaatga ctgaggcaga ttcttctga 2160  
agcccattct ccatggggca acaaggacac ctattctgtc cttgtcttc catcgtgcc 2220  
ccagaaagcc tcacatatct ccgttagaa tcaggtcctt tctcccaga tgaaggagg 2280

ggctctgtct ttgtttctc tatctctcc tcagacttga ccaggcccag caggcccag 2340  
aagaccatta cctatatcc cttctctcc ctagtccat ggccatagc ctgctgatgg 2400

ctcaggaagg ccattgcaag gactcctcag ctatgggaga ggaagccat cacccattga 2460  
ccccgcaac cctcccttt cctctctga gtcccactg gggccacatg cagcctgact 2520  
tctttgtgcc tgttctgtc cctgcagtct tcagaggcc accgcagctc cagtgccacg 2580  
gcaggaggct gttctgaat agcccctgtg gtaaggcca ggagagtct tccatctcc 2640  
aaggccctgc taaaggacac agcagccagg aagtccctg ggccctagc tgaaggacag 2700

ctgtctcct ccgtctctac caggaatggc cttgtctat ggaaggcact gcccacccc 2760  
aaactaatct aggaatcact gtctaaccac tctactgcat gaatgtgtac ttaaaggatg 2820  
aggttgagtc ataccaata gtgatttca tagttcaaaa tggtgaaatt agcaattcta 2880  
catgattcag tctaatcaat ggataccgac tgtttccac acaagtctcc tgttctctta 2940  
agcttactca ctgacagcct ttaactctcc acaatacat taaagatag gccatcacca 3000  
agcccctag gatgacacca gacctgagag tctgaagacc tggatccaag ttctgacttt 3060  
tcccctgac agctgtgtga ccttctgaa gtcgccaac ctctctgagc cccagtcatt 3120

gctagtaaga cctgccccttg agttggatg atgttcaagt tagataaaa aatgtttata 3180  
cccattagaa cagagaataa atagaactac atttcttgca 3220

<210> 2

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> AAT RNAi agent antisense strand modified sequence

<400> 2

uguuaaaca u gccuaaacgc u

21

<210> 3

<211> 21  
 <212> RNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> AAT RNAi agent antisense strand underlying base sequence  
 <400> 3  
 uguuaaacau gccuaaacgc u 21

<210> 4  
 <211> 21  
 <212> RNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> AAT RNAi agent sense strand modified sequence  
 <400> 4  
 agcguuuagg cauguuuac a 21

<210> 5  
 <211> 21  
 <212> RNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> AAT RNAi agent sense strand underlying base sequence  
 <400> 5  
 agaugcugcc cagaagacac a 21

<210> 6  
 <211> 21  
 <212> RNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> AAT RNAi agent sense strand modified sequence  
 <400> 6  
 agcguuuagg cauguuuac a 21