(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0104200
(43) 공개일자 2023년07월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 48/00* (2006.01) *A61K 31/713* (2006.01)
*A61K 47/54* (2017.01) *A61P 3/06* (2006.01)
*A61P 9/00* (2006.01) *A61P 9/10* (2006.01)
*C12N 15/113* (2010.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 48/00* (2013.01)
*A61K 31/713* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7018395
(22) 출원일자(국제) 2021년11월04일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년05월31일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/058012
(87) 국제공개번호 WO 2022/098841
국제공개일자 2022년05월12일
(30) 우선권주장
63/110,309 2020년11월05일 미국(US)

(71) 출원인
**암젠 인크**
미국 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크, 원 암젠 센터 드라이브
(72) 발명자
**손 위니**
미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스, 엠에스 28-5-에이, 로 디파트먼트 - 페이턴트 오퍼레이션즈, 원 암젠 센터 드라이브, 씨/오 암젠 인크.
**존스 재커리**
미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스, 엠에스 28-5-에이, 로 디파트먼트 - 페이턴트 오퍼레이션즈, 원 암젠 센터 드라이브, 씨/오 암젠 인크.
**카사훈 헬리나**
미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스, 엠에스 28-5-에이, 로 디파트먼트 - 페이턴트 오퍼레이션즈, 원 암젠 센터 드라이브, 씨/오 암젠 인크.
(74) 대리인
**특허법인한얼**

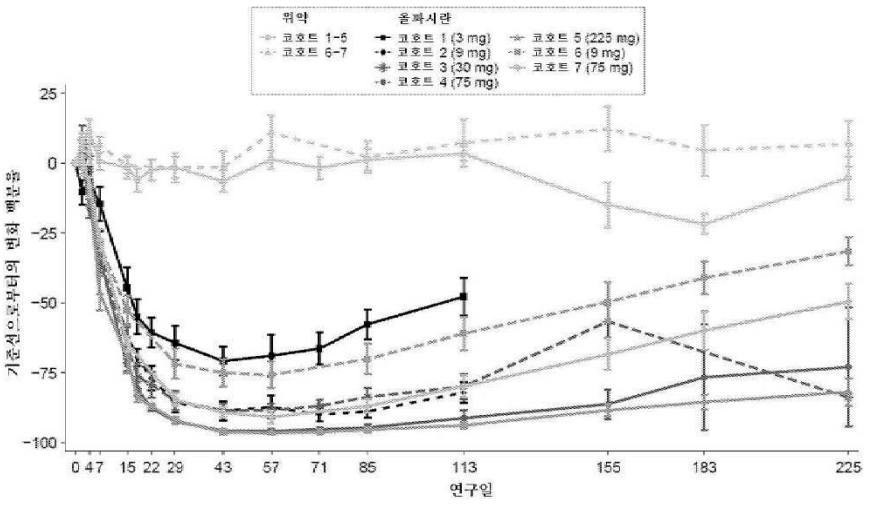
전체 청구항 수 : 총 156 항

(54) 발명의 명칭 **LPA-표적화된 RNAi 작제물을 이용하여 죽상경화성 심혈관질환을 치료하는 방법**

## (57) 요 약

본 발명은 Lp(a) 입자의 구성성분인 아포지방단백질(a)을 암호화하는 *LPA* 유전자를 표적화하는 RNAi 작제물을 이용하여 죽상경화성 심혈관질환 및 지방단백질(a)(Lp(a))의 상승된 수준과 관련된 다른 병태를 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 특정 투약 요법에 따라 *LPA*-표적화된 RNAi 작제물을 투여하는 단계를 포함하는 Lp(a) 수준이 상승된 환자에서, 혈청 Lp(a) 수준을 감소시키고 심혈관 사건의 위험을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법에서 사용하기 위한 *LPA*-표적화된 RNAi 작제물을 포함하는 약제학적 조성물이 또한 개시된다.

*대 표 도* - 도2



(52) CPC특허분류
***A61K 47/549*** (2017.08)
***A61P 3/06*** (2018.01)
***A61P 9/00*** (2018.01)
***A61P 9/10*** (2018.01)
***C12N 15/113*** (2013.01)
*C12N 2310/11* (2013.01)
*C12N 2310/14* (2013.01)

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

죽상동맥경화증의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 죽상동맥경화증을 치료, 감소 또는 예방하는 방법으로서, 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎ 용량의 LPA RNAi 작제물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, 방법.

### 청구항 2

혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준의 감소를 필요로 하는 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는 방법으로서, 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎ 용량의 LPA RNAi 작제물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, 방법.

### 청구항 3

제2항에 있어서, 상기 환자는 심혈관 질환으로 진단되거나 심혈관 질환의 위험이 있는, 방법.

### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 관상동맥질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증인, 방법.

### 청구항 5

제2항에 있어서, 상기 환자는 만성 신장병으로 진단된, 방법.

### 청구항 6

제2항에 있어서, 상기 환자는 심근경색증의 병력을 갖는, 방법.

### 청구항 7

제2항에 있어서, 상기 환자는 급성 관상동맥 증후군으로 진단된, 방법.

### 청구항 8

심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 심혈관 질환을 치료, 감소 또는 예방하는 방법으로서, 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎ 용량의 LPA RNAi 작제물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, 방법.

### 청구항 9

제8항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 관상동맥질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증인, 방법.

### 청구항 10

죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자의 심혈관 사건의 위험을 감소시키는 방법으로서, 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎ 용량의 LPA RNAi 작제물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, 방법.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 상기 심혈관 사건은 심혈관 사망, 심근경색증, 뇌졸중 및/또는 관상동맥 재개통술인, 방법.

**청구항 12**

제10항 또는 제11항에 있어서, 상기 환자는 관상동맥 재개통술의 이력, 관상동맥우회술 이력, 관상동맥질환의 진단, 죽상경화성 뇌혈관 질환의 진단, 말초동맥질환의 진단 및/또는 심근경색증의 병력을 갖는, 방법.

**청구항 13**

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 1년 이내에 심근경색증을 경험한 적이 있는, 방법.

**청구항 14**

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 급성 관상동맥 증후군 또는 불안정 협심증으로 인해 입원한, 방법.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 70 nmol/ℓ 이상인, 방법.

**청구항 16**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 100 nmol/ℓ 이상인, 방법.

**청구항 17**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 125 nmol/ℓ 이상인, 방법.

**청구항 18**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 150 nmol/ℓ 이상인, 방법.

**청구항 19**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 175 nmol/ℓ 이상인, 방법.

**청구항 20**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 200 nmol/ℓ 이상인, 방법.

**청구항 21**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 225 nmol/ℓ 이상인, 방법.

**청구항 22**

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투약 간격은 약 12주인, 방법.

**청구항 23**

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투약 간격은 약 24주인, 방법.

**청구항 24**

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 10 mg 내지 약 225 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 25**

제24항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 50 mg 내지 약 100 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 26**

제24항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 150 mg 내지 약 225 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 27**

제24항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 75 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 28**

제24항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 150 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 29**

제24항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 225 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 30**

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 24주마다 1회 약 225 mg 내지 약 675 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 31**

제30항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 24주마다 1회 약 225 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 32**

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 지질-저하 요법을 투여받고 있는, 방법.

**청구항 33**

제32항에 있어서, 상기 지질-저하 요법은 스타틴, 에제티미브, PCSK9 저해제, 벰페도익산, 또는 이들의 조합인, 방법.

**청구항 34**

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 수준이 약 100 mg/dℓ 이하인, 방법.

**청구항 35**

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 수준이 약 70 mg/dℓ 이하인, 방법.

**청구항 36**

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 추정 사구체여과율이 약 30 ㎖/분/1.73 ㎡ 이상인, 방법.

**청구항 37**

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 휴식 시 평균 수축기 혈압이 약 160 mmHg 미만이고 평균 확장기 혈압이 약 100 mmHg 미만인, 방법.

**청구항 38**

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 당화 헤모글로빈 A1c 수준이 약 8.5% 미만인, 방법.

**청구항 39**

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 트리글리세라이드 수준이 약 400 ㎎/㎗ 미만인, 방법.

**청구항 40**

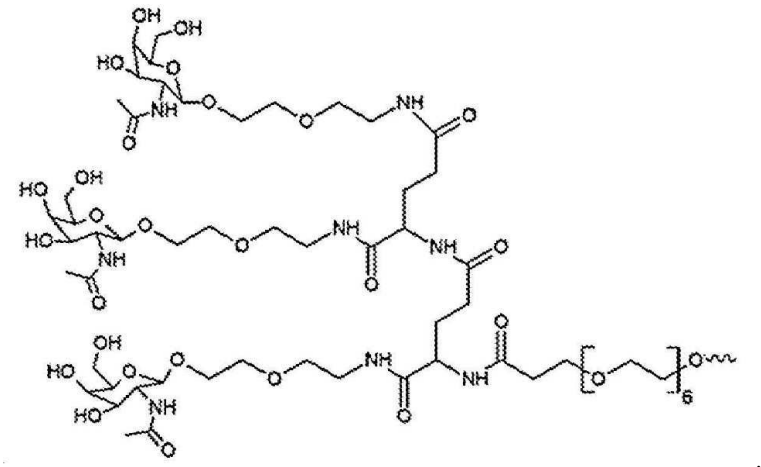
제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 센스 가닥은 서열번호 3의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어지고, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 안티센스 가닥은 서열번호 4의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진, 방법.

**청구항 41**

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 센스 가닥은 서열번호 5에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어지고, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 안티센스 가닥은 서열번호 6에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진, 방법.

**청구항 42**

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 표적화 모이어티는 하기 구조식을 갖는, 방법:



**청구항 43**

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 올파시란(olpasiran)인, 방법.

**청구항 44**

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 50% 초과만큼 감소시키

는, 방법.

**청구항 45**

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 80% 초과만큼 감소시키는, 방법.

**청구항 46**

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 90% 초과만큼 감소시키는, 방법.

**청구항 47**

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 100 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, 방법.

**청구항 48**

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 75 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, 방법.

**청구항 49**

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 50 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, 방법.

**청구항 50**

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 인산칼륨 및 염화나트륨을 포함하는 약제학적 조성물로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 51**

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 피하 주사에 의해 상기 환자에게 투여되는, 방법.

**청구항 52**

제51항에 있어서, 상기 주사 용적은 약 1 ㎖ 이하인, 방법.

**청구항 53**

죽상동맥경화증의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 죽상동맥경화증을 치료, 감소 또는 예방하는 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물로서, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎ 용량의 상기 LPA RNAi 작제물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 54**

혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준의 감소를 필요로 하는 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물로서, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎ 용량의 LPA RNAi 작제물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는,

LPA RNAi 작제물.

**청구항 55**

제54항에 있어서, 상기 환자는 심혈관 질환으로 진단되거나 심혈관 질환의 위험이 있는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 56**

제55항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 관상동맥질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 57**

제54항에 있어서, 상기 환자는 만성 신장병으로 진단된, LPA RNAi 작제물.

**청구항 58**

제54항에 있어서, 상기 환자는 심근경색증의 병력을 갖는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 59**

제54항에 있어서, 상기 환자는 급성 관상동맥 증후군으로 진단된, LPA RNAi 작제물.

**청구항 60**

심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 심혈관 질환을 치료, 감소 또는 예방하는 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물로서, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎ 용량의 LPA RNAi 작제물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 61**

제60항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 관상동맥질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 62**

죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자의 심혈관 사건의 위험을 감소시키는 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물로서, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎의 용량으로 상기 LPA RNAi 작제물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 63**

제62항에 있어서, 상기 심혈관 사건은 심혈관 사망, 심근경색증, 뇌졸중 및/또는 관상동맥 재개통술인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 64**

제62항 또는 제63항에 있어서, 상기 환자는 관상동맥 재개통술의 이력, 관상동맥우회술 이력, 관상동맥질환의 진단, 죽상경화성 뇌혈관 질환의 진단, 말초동맥질환의 진단 및/또는 심근경색증의 병력을 갖는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 65**

제62항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 1년 이내에 심근경색증을 경험한 적이 있는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 66**

제62항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 급성 관상동맥 증후군 또는 불안정 협심증으로 인해 입원한, LPA RNAi 작제물.

**청구항 67**

제53항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 70 nmol/ℓ 이상인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 68**

제53항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 100 nmol/ℓ 이상인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 69**

제53항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 125 nmol/ℓ 이상인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 70**

제53항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 150 nmol/ℓ 이상인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 71**

제53항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 175 nmol/ℓ 이상인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 72**

제53항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 200 nmol/ℓ 이상인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 73**

제53항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 225 nmol/ℓ 이상인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 74**

제53항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투약 간격이 약 12주인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 75**

제53항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투약 간격이 약 24주인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 76**

제53항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 10 mg 내지 약 225 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 77**

제76항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 50 mg 내지 약 100 mg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 78**

제76항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 150 ㎎ 내지 약 225 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 79**

제76항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 75 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 80**

제76항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 150 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 81**

제76항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 약 225 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 82**

제53항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 24주마다 1회 약 225 ㎎ 내지 약 675 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 83**

제82항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 24주마다 1회 약 225 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 84**

제53항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 지질-저하 요법을 투여받고 있는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 85**

제84항에 있어서, 상기 지질-저하 요법은 스타틴, 에제티미브, PCSK9 저해제, 벰페도익산, 또는 이들의 조합인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 86**

제53항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 수준이 약 100 ㎎/㎗ 이하인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 87**

제53항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 수준이 약 70 ㎎/㎗ 이하인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 88**

제53항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 추정 사구체여과율이 약 30 ㎖/분/1.73 ㎡ 이상인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 89**

제53항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 휴식 시 평균 수축기 혈압이 약 160 ㎜Hg 미만이고 평균 확장기 혈압이 약 100 ㎜Hg 미만인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 90**

제53항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 당화 헤모글로빈 A1c 수준이 약 8.5% 미만인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 91**

제53항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 트리글리세라이드 수준이 약 400 mg/dℓ 미만인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 92**

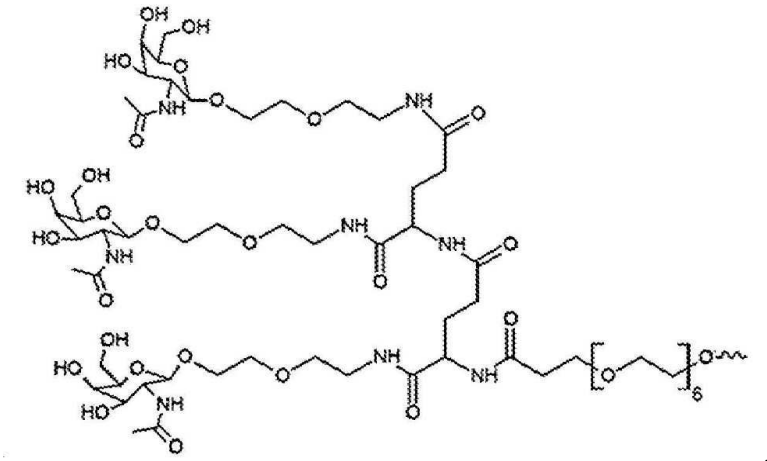
제53항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 센스 가닥은 서열번호 3의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어지고, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 안티센스 가닥은 서열번호 4의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진, LPA RNAi 작제물.

**청구항 93**

제53항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 센스 가닥은 서열번호 5에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어지고, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 안티센스 가닥은 서열번호 6에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진, LPA RNAi 작제물.

**청구항 94**

제53항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 표적화 모이어티는 하기 구조식을 갖는, LPA RNAi 작제물:



**청구항 95**

제53항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 올파시란인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 96**

제53항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 50% 초과만큼 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 97**

제53항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 80% 초과만큼 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 98**

제53항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈

장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 90% 초과만큼 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 99**

제53항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 100 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 100**

제53항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 75 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 101**

제53항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 50 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 102**

제53항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 인산칼륨 및 염화나트륨을 포함하는 약제학적 조성물로 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 103**

제53항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 피하 주사에 의해 상기 환자에게 투여되는, LPA RNAi 작제물.

**청구항 104**

제103항에 있어서, 상기 주사 용적은 약 1 ㎖ 이하인, LPA RNAi 작제물.

**청구항 105**

죽상동맥경화증의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 죽상동맥경화증을 치료, 감소 또는 예방하기 위한 의약의 제조를 위한, LPA RNAi 작제물의 용도로서, 상기 의약은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎의 용량으로 투여되거나 투여용으로 제형화되되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, 용도.

**청구항 106**

혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준의 감소를 필요로 하는 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키기 위한 의약의 제조를 위한, LPA RNAi 작제물의 용도로서, 상기 의약은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎의 용량으로 투여되거나 투여용으로 제형화되되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, 용도.

**청구항 107**

제106항에 있어서, 상기 환자는 심혈관 질환으로 진단되거나 심혈관 질환의 위험이 있는, 용도.

**청구항 108**

제107항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 관상동맥질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증인, 용도.

**청구항 109**

제106항에 있어서, 상기 환자는 만성 신장병으로 진단된, 용도.

**청구항 110**

제106항에 있어서, 상기 환자는 심근경색증의 병력을 갖는, 용도.

**청구항 111**

제106항에 있어서, 상기 환자는 급성 관상동맥 증후군으로 진단된, 용도.

**청구항 112**

심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 심혈관 질환을 치료, 감소 또는 예방하기 위한 의약의 제조를 위한, LPA RNAi 작제물의 용도로서, 상기 의약은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎의 용량으로 투여되거나 투여용으로 제형화되되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, 용도.

**청구항 113**

제112항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 관상동맥질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증인, 용도.

**청구항 114**

죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자에서 심혈관 질환의 위험을 감소시키기 위한 의약의 제조를 위한, LPA RNAi 작제물의 용도로서, 상기 의약은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 ㎎ 내지 약 675 ㎎의 용량이 투여되거나 투여용으로 제형화되되, 상기 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥, 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥 및 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 표적화 모이어티는 상기 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착되는, 용도.

**청구항 115**

제114항에 있어서, 상기 심혈관 사건은 심혈관 사망, 심근경색증, 뇌졸중 및/또는 관상동맥 재개통술인, 용도.

**청구항 116**

제114항 또는 제115항에 있어서, 상기 환자는 관상동맥 재개통술의 이력, 관상동맥우회술 이력, 관상동맥질환의 진단, 죽상경화성 뇌혈관 질환의 진단, 말초동맥질환의 진단 및/또는 심근경색증의 병력을 갖는, 용도.

**청구항 117**

제114항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전 1년 이내에 심근경색증을 경험한 적이 있는, 용도.

**청구항 118**

제114항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 급성 관상동맥 증후군 또는 불안정 협심증으로 인해 입원한, 용도.

**청구항 119**

제105항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 70 ㎚ol/ℓ 이상인, 용도.

**청구항 120**

제105항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 100 ㎚ol/ℓ 이상인, 용도.

**청구항 121**

제105항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 125 nmol/ℓ 이상인, 용도.

**청구항 122**

제105항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 150 nmol/ℓ 이상인, 용도.

**청구항 123**

제105항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 175 nmol/ℓ 이상인, 용도.

**청구항 124**

제105항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 200 nmol/ℓ 이상인, 용도.

**청구항 125**

제105항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 225 nmol/ℓ 이상인, 용도.

**청구항 126**

제105항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투약 간격은 약 12주인, 용도.

**청구항 127**

제105항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투약 간격은 약 24주인, 용도.

**청구항 128**

제105항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약은 12주마다 1회 약 10 ㎎ 내지 약 225 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 129**

제128항에 있어서, 상기 의약은 12주마다 1회 약 50 ㎎ 내지 약 100 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 130**

제128항에 있어서, 상기 의약은 12주마다 1회 약 150 ㎎ 내지 약 225 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 131**

제128항에 있어서, 상기 의약은 12주마다 1회 약 75 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 132**

제128항에 있어서, 상기 의약은 12주마다 1회 약 150 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 133**

제128항에 있어서, 상기 의약은 12주마다 1회 약 225 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형

화된, 용도.

**청구항 134**

제105항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약은 24주마다 1회 약 225 ㎎ 내지 약 675 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 135**

제134항에 있어서, 상기 의약은 24주마다 1회 약 225 ㎎의 용량으로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 136**

제105항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 지질-저하 요법을 투여받고 있는, 용도.

**청구항 137**

제136항에 있어서, 상기 지질-저하 요법은 스타틴, 에제티미브, PCSK9 저해제, 벰페도익산, 또는 이들의 조합인, 용도.

**청구항 138**

제105항 내지 제137항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 수준이 약 100 ㎎/㎗ 이하인, 용도.

**청구항 139**

제105항 내지 제137항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 혈청 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 수준이 약 70 ㎎/㎗ 이하인, 용도.

**청구항 140**

제105항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전에 추정 사구체여과율이 약 30 ㎖/분/1.73 ㎡ 이상인, 용도.

**청구항 141**

제105항 내지 제140항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전 휴식 시 평균 수축기 혈압이 약 160 ㎜Hg 미만이고 평균 확장기 혈압이 약 100 ㎜Hg 미만인, 용도.

**청구항 142**

제105항 내지 제141항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전 당화 헤모글로빈 A1c 수준이 약 8.5% 미만인, 용도.

**청구항 143**

제105항 내지 제142항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 의약의 첫 투여 전 혈청 트리글리세라이드 수준이 약 400 ㎎/㎗ 미만인, 용도.

**청구항 144**

제105항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 센스 가닥은 서열번호 3의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어지고, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 안티센스 가닥은 서열번호 4의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진, 용도.

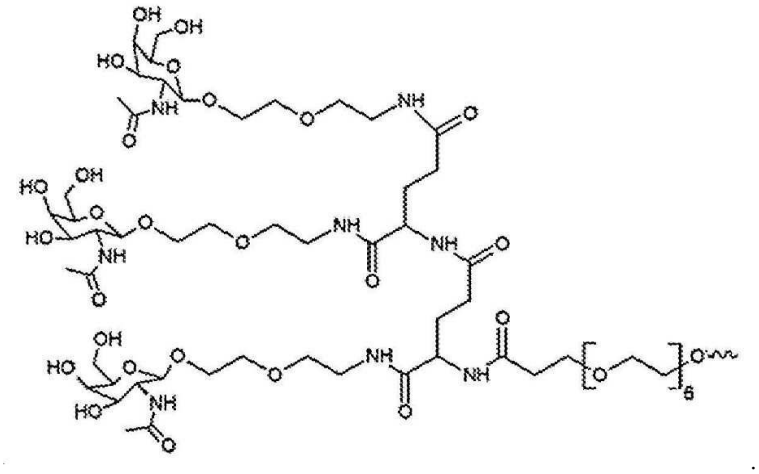
**청구항 145**

제105항 내지 제144항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 센스 가닥은 서열번호 5에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어지고, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 안티센스 가닥은

서열번호 6에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진, 용도.

**청구항 146**

제105항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물의 상기 표적화 모이어티는 하기 구조식을 갖는, 용도:



**청구항 147**

제105항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LPA RNAi 작제물은 올파시란인, 용도.

**청구항 148**

제105항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 50% 초과만큼 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는, 용도.

**청구항 149**

제105항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 80% 초과만큼 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는, 용도.

**청구항 150**

제105항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약의 투여는 상기 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주 동안 90% 초과만큼 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는, 용도.

**청구항 151**

제105항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 100 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, 용도.

**청구항 152**

제105항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 75 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, 용도.

**청구항 153**

제105항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약의 투여는 상기 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 약 50 nmol/ℓ 이하까지 감소시키는, 용도.

**청구항 154**

제105항 내지 제153항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약은 인산칼륨 및 염화나트륨을 포함하는 약제학적 조성물로 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 155**

제105항 내지 제154항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의약은 피하 주사에 의해 상기 환자에게 투여되거나 투여용으로 제형화된, 용도.

**청구항 156**

제155항에 있어서, 상기 주사 용적은 약 1 ㎖ 이하인, 용도.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2020년 11월 5일자로 출원된 미국 가출원 제63/110,309호의 유익을 주장하며, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0003] **전자로 제출된 텍스트 파일의 설명**

[0004] 본 출원에는 ASCII 형식으로 전자 제출되었고 그 전체가 본 명세서에 참조에 의해 원용되는 서열 목록이 포함된다. 2021년 11월 1일자로 생성된 서열목록의 컴퓨터 판독 가능한 형식의 사본은 A-2694-WO-PCT_ST25로 명명되며, 용량이 3.5 킬로바이트이다.

[0005] **기술분야**

[0006] 본 발명은 죽상경화성 심혈관질환 및 상승된 지방단백질(a)(Lp(a))과 관련된 다른 병태를 치료하기 위한 약제학적 조성물 및 방법에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 특정 투약 요법에 따라 *LPA*-표적화된 RNAi 작제물을 투여함으로써 Lp(a)가 상승된 환자에서, Lp(a)의 혈청 수준을 감소시키고 심혈관 사건, 예컨대, 심혈관 사망, 심근경색증, 뇌졸중, 및 관상동맥 재개통술의 위험을 감소시키는 방법에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0007] 죽상경화성 심혈관질환은 저밀도 지방단백질(LDL)-저하 요법의 광범위한 사용에도 불구하고 매우 만연해 있으며 계속해서 가장 높은 사망 원인이 되고 있다. LDL-저하 요법이 주요 심장 사건의 위험을 감소시키지만, LDL 수준이 낮은 일부 환자에서 발생되는 잔여 심혈관 위험은 심혈관 병리의 다른 메커니즘을 암시한다. 지난 10년에 걸쳐, 역학 연구 및 메타-분석, 멘델 무작위 연구, 및 게놈 와이드 연관 연구로부터의 설득력 있는 증거는 상승된 혈청 Lp(a) 농도가 관상동맥질환 및 죽상동맥경화증-관련 장애의 더 높은 위험과 관련이 있다는 것을 보여주었다(Clarke *et al.*, N. Engl. J. Med., Vol. 361:2518-2528, 2009; Kamstrup *et al.*, JAMA, Vol. 301:2331-2339, 2009; Nordestgaard *et al.*, European Heart Journal, Vol. 31:2844-2853, 2010; Helgadottir *et al.*, J. Am. Coll. Cardiol, Vol. 60:722-729, 2012; Thanassoulis *et al.*, J. Am. Coll. Cardiol., Vol. 55:2491-2498, 2010; Kamstrup *et al.*, J. Am. Coll. Cardiol., Vol. 63:470-477, 2014; Kral *et al.*, Journal of Cardiology, Vol. 118:656-661, 2016; Thanassoulis *et al.*, J. Lipid Res., Vol. 57: 917-924, 2016; Tsimikas *et al.*, J. Am. Coll. Cardiol., Vol. 69:692-711,2017). 특히, Lp(a) 수준과 관상동맥질환, 심근경색증, 뇌졸중, 말초혈관질환 및 대동맥판막 협착증 사이의 관계는 여러 유전적 및 관찰 연구에서 설명되었다(문헌[Schmidt *et al.*, J. Lipid Res., Vol. 57:1339-1359, 2016]에서 검토됨). 이런 위험 관계는 지속적이고 Lp(a) 수준이 높을수록 비례적으로 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 다른 지질 파라미터에 대한 보정 후에도 연관이 지속된다(Emerging Risk Factors Collaboration, JAMA, Vol. 302:412-423, 2009).

[0008] Lp(a)는 이황화 결합에 의해 LDL 입자의 아포지질단백질 B에 연결된 당단백질 아포지질단백질(a)(apo(a))와 LDL 입자로 구성된 저밀도 지질단백질이다(Schmidt *et al.*, 상기 참조). Apo(a)는 *LPA* 유전자에 의해 암호화되고, 인간을 포함하는 영장류에서 거의 배타적으로 발현된다. Apo(a)는 플라스미노겐에 상동성을 나타내고, 가변적 수의 크링글-IV, 2형(kringle-IV, type 2: KIV-2) 도메인 반복부에 의해 야기되는 유전자의 크기 다형성으로 인해 다양한 이소형으로 존재한다(문헌[Kronenberg and Utermann, J. Intern. Med., Vol. 273:6-30, 2013] 참조). apo(a) 이소형의 크기와 Lp(a) 입자의 혈장 수준 사이에 역상관이 관찰되었다(Sandholzer *et al.*, Hum. Genet., Vol. 86: 607-614, 1991). Lp(a)는 죽종형성 효과에 기여하는 전염증성 산화된 인지질을 함유한다(Tsimikas *et al.*, J. Am. Coll. Cardiol., Vol. 63:1724-1734, 2014).

[0009] 높은 혈장 Lp(a) 농도는 유전적으로 정의되고, 안정적인 수준으로 유지되며, 습성 변화(식이요법, 운동 또는 환경 인자)에 의해 제어될 수 없으며, 임의의 현재 이용 가능한 지질 감소 의약에 의해 효과적으로 제어되지 않는다. 현재, Lp(a)의 감소를 통해 심혈관 사건의 위험을 감소시키기 위한 것으로 나타난 승인된 요법은 없다. 프로단백질 전환효소 서브틸리신/켁신 9형(PCSK9) 저해제, 니아신 또는 미포멀슨(mipomersen)에 의해 Lp(a)의 적당한 감소(약 20 내지 30%)가 관찰되었다(문헌[Santos *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 35:689-699, 2015; Yeang *et al.*, Curr. Opin. Lipidol., Vol. 26:169-178, 2015; 및 Landray *et al.*, N. Engl. J. Med., Vol. 371:203-212, 2014]). 성분채집술은 Lp(a)를 낮추는 데 효과적이지만, 현재는 접근이 제한된 소수의 국가에서만 사용된다(Julius, J. Cardiovasc. Dev. Dis., Vol. 5:27-37, 2018). 또한, 이는 빈번한 내원을 필요로 하는 침습적이며, 매우 비용이 드는 절차이어서, 평생 치료를 필요로 하는 대상체에 대한 장기 치료로서는 실행될 수 없게 한다(Khan *et al.*, Eur. Heart J., Vol. 38:1561-1569, 2017; Roeseler *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 36:2019-2027, 2016; Leebmann *et al.*, Circulation, Vol. 128:2567-2576, 2013; Safarova *et al.*, Atheroscler. Suppl., Vol. 14:93-99, 2013).

[0010] apo(a) 전령 RNA 전사체를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드(AKCEA-APO(a)-LRx; ISIS 681257 및 TQJ230으로도 알려짐)가 개발되었고, 현재 임상 연구 중이다(문헌[Graham *et al.*, J Lipid Res., Vol. 57: 340-351, 2016]에서 검토됨). 제1일, 제3일, 제5일, 제8일, 제15일 및 제22일에 75 nmol/ℓ 이상의 기준선 Lp(a) 수준을 갖는 건강한 대상체에게 10 mg, 20 mg 또는 40 mg의 용량으로 투여될 때, 이 분자는 Lp(a) 농도를 제36일에 각각 평균 66%, 80% 및 92%로 그리고 제113일에 각각 평균 39%, 53% 및 58%로 낮추는 것으로 보고되었다(Viney *et al.*, Lancet, Vol. 388:2239-2253, 2016). 후속 2상 연구에서, AKCEA-APO(a)-LRx는, 각각 20 mg, 40 mg 또는 60 mg의 용량으로 4주마다 1회 환자에게 투여되었을 때, 150 nmol/*?*이상의 기준선 Lp(a) 수준을 갖는 심혈관 질환이 확립된 환자에서 Lp(a) 수준을 제25주에 평균 35%, 56% 및 72%로 감소시켰다(Tsimikas *et al.*, New England Journal of Medicine, Vol. 382:244-255, 2020). 이 분자가 매달 80 mg의 용량으로 투여되는 3상 심혈관 결과 시험은 계속 진행 중이다(ClinicalTrials.gov identifier NCT04023552).

[0011] 그러나, 죽상경화성 심혈관질환의 치료 및 예방을 위한 저용량, 저빈도의 투여 요법을 가능하게 하기 위해 장기적인 지속기간 동안 Lp(a) 농도를 강력하게 낮추는 새로운 치료제에 대한 당업계의 요구가 남아있다.

## *발명의 내용*

[0012] 본 발명은 죽상경화성 심혈관질환의 치료를 위해 순환 Lp(a) 수준을 효과적으로 감소시키기 위한, *LPA*-표적화된 RNAi 작제물, 특히 올파시란(olpasiran)의 치료 요법의 확인에 부분적으로 기반한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물을 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준의 감소를 필요로 하는 환자에서 이를 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 이러한 실시형태에서, LPA RNAi 작제물을 투여한 환자는 심혈관 질환, 예컨대, 관상동맥질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증으로 진단되거나 이들이 발생될 위험이 있다. 환자는 심근경색증의 병력 또는 가족력을 가질 수 있고/있거나 급성 관상동맥 증후군으로 진단될 수 있다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 만성 신장병으로 진단된다.

[0013] 특정 실시형태에서, 본 발명은 죽상동맥경화증의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 죽상동맥경화증을 치료, 감소, 예방하거나, 심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 심혈관 질환을 치료, 감소, 예방하기 위한 방법을 제공한다. 이러한 실시형태에서, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량의 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명의 방법에 의해 치료, 개선, 감소 또는 예방될 심혈관 질환은 관상동맥질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증을 포함할 수 있다.

[0014] 본 발명은 또한 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자의 심혈관 사건의 위험을 감소시키는 방법을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량의 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 심혈관 사건은 주요 심혈관 사건, 예컨대, 심혈관 사망, 비치명적 심근경색증, 비치명적 뇌졸중 또는 불안정 협심증으로 인한 입원일 수 있다. 일부 실시형태에서, 심혈관 사건은 주요 사지 이상 사례, 예컨대, 급성 사지 허혈, 대절단(major amputation) 또는 허혈로 인한 말초 혈관재개통일 수 있다. 특정 실시형태에서, 심혈관 사건은 심혈관 사망, 심근경색증, 뇌졸중

및/또는 관상동맥 재개통술이다. LPA RNAi 작제물이 투여될 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자는 관상동맥 재개통술의 이력, 관상동맥우회술 이력, 관상동맥질환의 진단, 죽상경화성 뇌혈관 질환의 진단, 말초동맥질환의 진단 및/또는 심근경색증의 병력을 가질 수 있다. 일 실시형태에서, LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 최근의 심근경색증 사례를 경험한 적이 있고, 예를 들어, 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 1년 이내에 심근경색증을 경험한 적이 있다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 급성 관상동맥 증후군 또는 불안정 협심증으로 인해 입원한다.

[0015] 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 Lp(a)의 상승된 혈청 또는 혈장 수준을 갖는다. 일부 실시형태에서, 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 70 nmol/ℓ 이상이다. 다른 실시형태에서, 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 150 nmol/ℓ 이상이다. 특정 실시형태에서, 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 175 nmol/ℓ 이상이다. 특정 다른 실시형태에서, 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준이 약 200 nmol/ℓ 이상이다.

[0016] 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는, 예를 들어, 환자의 LDL-C 수준을 감소시키기 위해 지질-저하 요법을 투여받는 중이다. 지질-저하 요법은 PCSK9 저해제, 예컨대, PCSK9 길항제 단클론성 항체(예를 들어, 에볼루쿠맙, 알리로쿠맙), 스타틴(예를 들어, 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 메바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴, 심바스타틴), 콜레스테롤 흡수 저해제(예를 들어, 에제티미브), 벰페도익산, 니코틴산(예를 들어, 니아신), 피브린산(예를 들어, 겜피브로질, 페노피브레이트), 담즙산 격리제(예를 들어, 콜레스티라민, 콜레스티폴, 콜레세벨람), LDL 성분채집술 또는 이들의 조합일 수 있다. 이들 및 다른 실시형태에서, 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전에 혈청 LDL-C 수준이 약 100 mg/dℓ 이하 또는 약 70 mg/dℓ 이하일 수 있다.

[0017] 본 발명의 방법의 특정 실시형태에서, 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물이 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 환자에게 투여된다. 일부 이러한 실시형태에서, 고정된 용량은 약 10 mg 내지 약 225 mg, 약 75 mg 내지 약 225 mg, 약 50 mg 내지 약 100 mg, 또는 약 150 mg 내지 약 225 mg일 수 있다. 일 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 10 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여된다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 75 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여된다. 또 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 150 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여된다. 또 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 225 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여된다.

[0018] 본 발명의 방법의 특정 다른 실시형태에서, 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물이 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 환자에게 투여된다. 일부 이러한 실시형태에서, 고정된 용량은 약 225 mg 내지 약 675 mg, 약 225 mg 내지 약 450 mg, 또는 약 200 mg 내지 약 300 mg일 수 있다. 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 225 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여된다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 300 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여된다. 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 450 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여된다. 특정 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 675 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여된다.

[0019] 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 장기간의 시간 동안 환자의 혈장 또는 혈청 Lp(a)를 실질적으로 감소시킨다. 예를 들어, 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주, 적어도 16주 또는 적어도 24주 동안 80% 초과만큼 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시킨다. 본 발명의 방법의 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준과 비교할 때 적어도 12주, 적어도 16주 또는 적어도 24주 동안 90% 초과만큼 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시킨다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈장 또는 혈청 Lp(a) 수준을 약 100 nmol/ℓ 이하까지 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈장 또는 혈청 Lp(a) 수준을 약 75 nmol/ℓ 이하까지 감소시킨다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈장 또는 혈청 Lp(a) 수준을 약 50 nmol/ℓ 이하까지 감소시킨다.

[0020] 본 명세서에 개시된 방법의 임의의 실시형태에서, 환자에게 투여된 LPA RNAi 작제물은 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 이중-가닥 RNA 분자, 예컨대, siRNA 분자일 수 있되, 안티센스 가닥은 *LPA* mRNA 서열에 상보성인 서열을 갖는 영역을 포함한다. 바람직하게는, 센스 가닥은 안티센스 가닥의 서열에 충분히 상보성인 서열을

포함하여 약 15 내지 약 30개 염기쌍 길이의 듀플렉스 영역을 형성한다. 본 발명의 방법의 특정 실시형태에서, 환자에게 투여되는 LPA RNAi 작제물은 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 이들 각각은 약 19 내지 약 23개의 뉴클레오티드 길이이되, 안티센스 가닥은 *LPA* mRNA 서열에 상보성인 서열을 포함하고, 센스 가닥은 안티센스 가닥의 서열에 상보성인 서열을 포함한다. 하나의 이러한 실시형태에서, LPA RNAi 작제물의 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 21개의 뉴클레오티드 길이일 수 있고 서로 혼성화되어, RNAi 작제물이 2개의 평활 말단을 갖도록 21개의 염기쌍 길이인 듀플렉스 영역을 형성한다. 다른 이러한 실시형태에서, LPA RNAi 작제물의 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 19개의 뉴클레오티드 길이일 수 있고 서로 혼성화되어, RNAi 작제물이 2개의 평활 말단을 갖도록 19개의 염기쌍 길이인 듀플렉스 영역을 형성한다.

[0021] 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, 환자에게 투여되는 LPA RNAi 작제물은 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 추가로 포함하되, 표적화 모이어티는 센스 가닥에, 예를 들어, 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된다. 표적화 모이어티는 3가 GalNAc 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 기재된 구조 1의 구조식을 갖는 모이어티를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 환자에게 투여되는 LPA RNAi 작제물은 서열번호 1의 서열을 포함하는 센스 가닥 및 서열번호 2의 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 서열번호 3의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 센스 가닥 및 서열번호 4의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다. 특정 바람직한 실시형태에서, LPA RNAi 작제물의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 하나 이상의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 이러한 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 서열번호 5에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 센스 가닥 및 서열번호 6에 따른 변형된 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다. 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에게 투여되는 LPA RNAi 작제물은 올파시란이다.

[0022] 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 발명의 방법에서 사용하기 위한, LPA RNAi 작제물을 포함하는 약제학적 조성물, 예컨대, 올파시란을 제공한다. 약제학적 조성물은 1종 이상의 약제학적으로 허용 가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 약제학적 조성물은 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 인산칼륨 완충제 및 염화나트륨을 포함하되, 조성물은 pH가 약 6.6 내지 약 7.0, 바람직하게는 약 6.8이다. 본 명세서에 기재된 임의의 약제학적 조성물은 본 명세서에 기재된 방법에 따라 환자에 투여하기 위해(예를 들어, 피하 투여) 주사 장치, 예컨대, 사전 충전형 주사기, 자동주사기, 주사 펌프, 장착형 주사기(on-body injector) 및 주사펜에 혼입될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 환자에 대한 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란) 또는 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란)을 포함하는 약제학적 조성물의 투여는 피하 주사에 의한다. 이러한 실시형태에서, 주사 용적은 약 2 ㎖ 이하 또는 약 1 ㎖ 이하, 예를 들어, 약 1 ㎖이다.

[0023] 본 명세서에 개시된 임의의 방법에서의 또는 본 명세서에 개시된 임의의 방법에 따른 투여를 위한 의약의 제조를 위한, LPA RNAi 작제물의 용도가 구체적으로 고려된다. 예를 들어, 본 발명은 죽상동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자에서 죽상동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료, 감소 또는 예방하기 위한 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물을 포함하되, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명은 또한 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키기 위한 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물을 포함하되, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자의 심혈관 사건의 위험을 감소시키기 위한 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물을 제공하되, 상기 방법은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0024] 본 발명은 또한 죽상동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자에서 죽상동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 LPA RNAi 작제물의 용도를 포괄하되, 의약은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량으로 투여되거나 투여용으로 제형화된다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자에서 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키기 위한 의약의 제조에서의 LPA RNAi 작제물의 용도를 제공하되, 의약은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량으로 투여되거나 또는 투여용으로 제형화된다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자의 심혈관 사건의 위험을 감소시키기 위한 의약의 제조에서의 LPA RNAi 작제물의 용도를 제공하되, 의약은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 용량으로 투여되거나 투여용으로 제형화된다.

## *도면의 간단한 설명*

[0025] **도 1**은 LPA RNAi 작제물인 올파시란의 구조를 개략적으로 도시한다. 5'에서 3'의 방향으로 열거된 윗 가닥은 센스 가닥(서열번호 5)이고 3'에서 5'의 방향으로 열거된 아랫 가닥은 안티센스 가닥(서열번호 6)이다. 검은색 원은 2'-O-메틸 변형을 갖는 뉴클레오티드를 나타내고, 백색 원은 2'-데옥시-2'-플루오로 변형을 갖는 뉴클레오티드를 나타내며, 회색 원은 3'-3' 연결을 통해(즉, 역전됨) 인접한 뉴클레오티드에 연결된 데옥시 아데노신 뉴클레오티드를 나타낸다. 원을 연결하는 회색 선은 포스포디에스테르 연결을 나타내고, 원을 연결하는 검은색 선은 포스포로티오에이트 연결을 나타낸다. 도시된 구조를 갖는 3가 GalNAc 모이어티는 R1로 나타내고, 포스포로티오에이트 연결에 의해 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된다.

**도 2**는 연구일에 걸쳐 코호트 1 내지 7 각각에 표시된 용량으로 위약 또는 올파시란의 단일 피하 용량 후 인간 대상체에서의 혈장 Lp(a) 수준의 기준선으로부터의 변화 백분율을 나타내는 선 그래프이다. 기준선 값은 선별 Lp(a)의 평균 및 제1일 투약 전 Lp(a) 수준이었다. 1개의 값만이 이용 가능하였다면, 값을 기준선 값으로서 사용하였다.

**도 3a 내지 도 3f**는 기준선 Lp(a) 수준이 150 nmol/ℓ 이상인 대상체의 경우 10 mg(**도 3a**), 30 mg(**도 3b**), 50 mg(**도 3c**), 75 mg(**도 3d**), 150 mg(**도 3e**) 및 225 mg(**도 3f**)의 용량으로 올파시란의 연 4회(Q3M) 투약을 위한 기준선의 백분율로서 예측된 Lp(a) 수준을 나타낸다. 그래프 각각에서의 수평선은 기준선으로부터의 Lp(a) 수준의 80% 감소를 나타낸다. 예측된 Lp(a) 수준은 10,000명의 대상체에 대한 PK/PD 모델 시뮬레이션에 기반한다. 예측된 데이터는 음영으로 나타내는 95% 예측 구간에 의해 중앙값(실선)으로 나타낸다. 도 3d의 민무늬 원은 실시예 1에 기재한 코호트 7로부터의 관찰 데이터를 나타낸다.

**도 4a 내지 도 4f**는 기준선 Lp(a) 수준이 150 nmol/ℓ 이상인 대상체의 경우 10 mg(**도 4a**), 75 mg(**도 4b**), 150 mg(**도 4c**), 225 mg(**도 4d**), 450 mg(**도 4e**) 및 675 mg(**도 4f**)의 용량으로 올파시란의 연 2회(Q6M) 투약을 위한 기준선의 백분율로서 예측된 Lp(a) 수준을 나타낸다. 그래프 각각에서의 수평선은 기준선으로부터의 Lp(a) 수준의 80% 감소를 나타낸다. 예측된 Lp(a) 수준은 10,000명의 대상체에 대한 PK/PD 모델 시뮬레이션에 기반한다. 예측된 데이터는 음영으로 나타내는 95% 예측 구간에 의해 중앙값(실선)으로 나타낸다. 도 4b의 민무늬 원은 실시예 1에 기재한 코호트 7로부터의 관찰 데이터를 나타낸다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0026] Lp(a)는 심근경색증, 뇌졸중, 말초동맥질환 및 대동맥판막 협착증을 포함하는 다양한 형태의 심혈관 질환에 대한 원인이 되는 위험 인자인 것으로 보고되었다. LDL 콜레스테롤(LDL-C) 농도와 달리, Lp(a) 농도는 유전적으로 결정되고, 식이요법, 운동 또는 다른 생활 방식 변화에 의해 변형될 수 없다. 현재, apo(a)를 선택적으로 표적화하고 Lp(a) 수준을 실질적으로 감소시키는 승인된 요법은 없다. 본 발명은 죽상동맥경화증 및 관련된 심혈관 병태의 치료 또는 예방을 위한 Lp(a) 수준의 지속적 억제를 위해, apo(a) 단백질을 암호화하는 *LPA* 유전자로부터 전사된 mRNA를 표적화하는 RNAi 작제물의 신규한 투약 요법을 제공한다. 특정 *LPA*-표적화된 RNAi 작제물인 올파시란은 단일 용량 후 기준선 Lp(a) 수준이 70 nmol/ℓ 이상인 인간 대상체에서의 Lp(a) 농도를 71% 내지 96%까지 감소시키며, 90% 초과의 최대 백분율 감소시키며, 효과는 9 mg 이상의 단일 용량에서 6개월 초과 동안 지속된다는 것이 관찰되었다(실시예 1 참조). 구체적으로, 9 mg의 올파시란만큼 낮은 단일 용량은 인간 대상체에서 Lp(a) 수준을 3개월 초과 동안 80% 초과만큼 감소시킨 반면, 75 mg 및 225 mg의 단일 올파시란 용량은 6개월 초과 동안 Lp(a) 수준을 80% 초과만큼 억제하였다. 올파시란은 이들 용량에서 잘 용인되며, 치료-관련 심각한 이상 사례가 없었다(실시예 1 참조). 8-배 더 높은 용량(예를 들어, 75 mg 대 9 mg)이 사이노몰거스 원숭이에서 평가된 올파시란 용량의 상대성장 스케일링(allometric scaling)에 기반하여 1개월 동안 Lp(a)의 80% 감소를 생성하는 데 필요한 것으로 예측되었기 때문에, 이 투약량 범위에서 Lp(a)의 강하고 지속적인 억제가 예상되지 않았다.

[0027] 인간 대상체에서 올파시란에 의한 Lp(a) 억제의 깊이 및 지속기간은 또한 apo(a)를 표적화하는 다른 핵산 치료에 의해 인간 대상체에서 보고된 결과를 고려할 때 놀라웠다. AKCEA-APO(a)-LRx, 즉, 안티센스 올리고뉴클레오티드 표적화 apo(a)는 치료 6개월 후 인간 대상체에서 Lp(a) 수준이 35%에서 80%까지 감소되는 것으로 보고되었다. 그러나, AKCEA-APO(a)-LRx의 20 mg의 매주 용량 또는 60 mg의 매달 용량이 Lp(a) 수준의 각각 80% 감소 및 72% 감소를 달성하는 데 필요하였다(문헌[Tsimikas *et al.*, New England Journal of Medicine, Vol. 382:244-255, 2020] 참조). 대조적으로, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 단일 용량의 올파시란은 6개월 이상 동안 Lp(a) 수준의 80% 초과의 감소를 생성하여, 올파시란의 투여를 더 낮은 용량 및 더 긴 투약 간격, 예컨대, 3개월마다 1회 또는 6개월마다 1회로 가능하게 하였다. 따라서, 본 발명의 방법은, 예를 들어, 개선된 환자 처방준수, 감소된 의약 비용 및 감소된 용적 및 주사 수를 비롯하여 죽상경화성 심혈관질환에 대해 인간을 치료함에 있어서

유의미한 개선을 제공한다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 바와 같은 특정 투약 요법에 따라 유효량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 심혈관 질환의 치료, 예방 또는 발생 위험의 감소를 필요로 하는 환자에서 심혈관 질환의 치료하거나, 예방하거나 또는 발생 위험을 감소시키기 위한 방법을 제공한다.

[0028] 죽상동맥경화증은 플라크가 신체의 다양한 동맥에서의 지방 물질, 콜레스테롤, 칼슘, 피브린 및 세포 노폐물 축적을 구성하는 질환이다. 시간에 따라, 플라크는 경화되고 동맥의 내강을 좁히고, 이에 의해, 신체 내 기관 및 조직까지의 혈류를 제한한다. 죽상동맥경화증은 죽상경화성 플라크 축적에 의해 영향받는 특정 동맥에 기반하여, 심혈관 질환, 뇌혈관 질환 또는 만성 신장병과 같은 다수의 다른 질환의 발생을 야기할 수 있다. 예를 들어, 관상동맥질환은 관상동맥에서 플라크가 축적되고 심장까지의 혈류를 부분적으로 차단할 때 발생되며, 이는 협심증 및 심근경색증을 야기할 수 있다. 뇌까지 산소-풍부 혈액을 공급하는 경동맥에서의 죽상경화성 플라크 축적은 경동맥 질환을 초래하고, 혈류가 감소되거나 차단된다면 일과성 허혈 발작 또는 뇌졸중을 야기할 수 있다. 말초동맥질환은 혈류를 사지 및 골반까지 공급하는 주요 동맥에서 플라크가 축적될 때 발생되며, 손발 저림 및 통증의 원인이 되는 복부대동맥류 및 하지 허혈을 야기할 수 있다. 신장동맥에서 죽상경화성 플라크가 축적될 때, 만성 신장병이 발생되며, 신부전을 야기할 수 있는 시간에 따라 감소된 신장 기능으로 이어질 수 있다. Lp(a)는 죽종형성성 지방단백질이며, 이의 상승된 수준은 특히 관상동맥질환, 말초동맥질환, 심근경색증 및 뇌졸중의 증가된 위험과 연관되었다. 본 발명의 방법은 순환 Lp(a) 수준을 감소시킴으로써 환자에서 죽상동맥경화증을 치료, 감소 또는 예방하는 데 유용하다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 유효량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 죽상동맥경화증의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 죽상동맥경화증을 치료, 감소 또는 예방하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 발명은 죽상동맥경화증의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 죽상동맥경화증을 치료, 감소 또는 예방하기 위한 의약의 제조를 위한 본 명세서에 기재된 임의의 LPA RNAi 작제물의 용도를 포함하되, 의약은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 투여되거나 투여용으로 제형화된다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 죽상동맥경화증의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 죽상동맥경화증을 치료, 감소 또는 예방하기 위한 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물, 예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 LPA RNAi 작제물을 제공하되, 상기 방법은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 LPA RNAi 작제물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0029] 특정 실시형태에서, 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 유효량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 심혈관 질환의 치료, 감소, 개선 또는 예방을 필요로 하는 환자의 심혈관 질환을 치료, 감소, 개선 또는 예방하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 심혈관 질환을 치료, 감소 또는 예방하기 위한 의약의 제조를 위한 본 명세서에 기재된 임의의 LPA RNAi 작제물의 용도를 포함하되, 의약은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 투여되거나 투여용으로 제형화된다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 심혈관 질환의 치료, 감소 또는 예방을 필요로 하는 환자의 심혈관 질환을 치료, 감소 또는 예방하기 위한 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물, 예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 LPA RNAi 작제물을 제공하되, 상기 방법은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 LPA RNAi 작제물을 투여하는 단계를 포함한다. 심혈관 질환은 혈관 또는 심장에 영향을 미치는 질환 및 병태 부류이고, 심근경색증, 심부전, 일과성 허혈 발작, 뇌졸중(허혈성 및 출혈성), 죽상동맥경화증, 관상동맥질환, 말초혈관질환(예를 들어, 말초동맥질환), 동맥류(예를 들어, 복부대동맥류), 경동맥 질환, 뇌혈관 질환, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 고지혈증, 가족성 고콜레스테롤혈증(이형접합 및 동형접합), 취약성 죽상반 및 대동맥판막 협착증을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료될 환자는 심혈관 질환으로 진단되거나 또는 심혈관 질환이 발생될 위험이 있다. 심혈관 질환이 발생될 위험이 있는 환자는 심혈관 질환의 가족력을 가질 수 있고/있거나 심혈관 질환에 대해 하나 이상의 위험 인자를 가질 수 있다. 이러한 위험 인자에는 고혈압, 비-HDL 콜레스테롤 수준 상승, 트리글리세라이드 수준 상승, 당뇨병, 비만 또는 흡연이 포함되지만, 이들로 제한되지 않는다. 죽상동맥경화증 및 심혈관 질환의 진단은 당업자에게 알려진 다양한 방법을 이용하여 이루어질 수 있고, 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 환자 의학적 병력 및 가족력, 환자의 위험 인자, 신체검사, 다양한 바이오마커, 예컨대, 지질 수준(예를 들어, LDL-C, 트리글리세라이드, Lp(a), 당화 헤모글로빈 A1C, C-반응성 단백질, 아포지방단백질 B, 심장 트로포닌-T 등)을 측정하기 위한 혈액 검사, 심전도, 심초음파검사, 스트레스 검사, 흉부 X-선, 컴퓨터 단층촬영(CT) 스캔(예를 들어, 심장 CT 스캔) 및 혈관조영술.

[0030] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료, 감소, 개선 또는 예방되는 심혈관 질환은 관상 동맥 질환이다. 관상동맥질환의 징후 및 증상은 흉통(예를 들어, 협심증), 숨이참, 심근경색증, 하나 이상의 관상동

맥의 협착증, 팔 또는 어깨의 통증 또는 불편함, 쇠약, 현기증, 구역 및 관상동맥 우회 및/또는 경피적 관상동맥 개입의 병력을 포함할 수 있다. 관련 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료, 감소, 개선 또는 예방되는 심혈관 질환은 심근경색증이다.

[0031] 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료, 감소, 개선 또는 예방되는 심혈관 질환은 뇌혈관 질환, 특히 죽상경화성 뇌혈관 질환이다. 뇌혈관 질환은 뇌의 영역이 뇌혈관 중 하나 이상에 의한 기능장애 또는 합병증으로 인한 허혈 또는 출혈에 의해 일시적 또는 영구적으로 영향받는 장애를 지칭한다. 뇌혈관 질환은 일과성 허혈 발작, 뇌졸중(허혈성 또는 출혈성), 경동맥 협착증, 척추동맥 협착증, 두개강내 동맥 협착증, 동맥류 및 혈관기형형성을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 뇌혈관 질환의 징후 및 증상은 현기증, 구역, 구토, 보통과 다른 중증의 두통, 착란상태, 방향감장애, 기억상실, 손발저림 또는 팔, 다리 또는 안면의 특히 한쪽의 쇠약, 비정상적 또는 어눌한 말투, 이해의 어려움, 시력손실 또는 보는 것의 어려움, 균형, 협응 또는 보행 능력의 상실, 경동맥 협착증, 및 일과성 허혈 발작 및/또는 경동맥 혈관재개통의 병력을 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료, 감소, 개선 또는 예방되는 심혈관 질환은 뇌졸중이다.

[0032] 특정 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료 또는 예방되는 심혈관 질환은 말초동맥질환이다. 말초동맥질환의 징후 및 증상은 다리 또는 팔의 통증 또는 근육 떨림(파행), 다리 손발저림 또는 쇠약, 하퇴 또는 발의 차가움, 치유되지 않는 발가락, 발 또는 다리의 상처, 다리 색의 변화, 탈모 또는 보다 느린 발 및 다리의 털 성장, 보다 느린 발톱 성장, 다리의 반짝이는 피부, 다리 또는 발에서의 맥박 없음 또는 약한 맥박, 0.90 이하의 발목상완지수, 및 복부대동맥류의 병력, 복대동맥 치료(경피적 또는 수술) 및/또는 말초 동맥 혈관재개통(경피적 또는 수술)을 포함할 수 있다.

[0033] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물의 투여는 죽상동맥경화증 및 기타 심혈관 질환 및 병태의 치료를 위한 것이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "치료" 또는 "치료하다"는 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환, 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환의 하나 이상의 증상, 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환의 위험 또는 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환에 대한 소인을 낮게 하거나, 치유하거나, 완화하거나, 변경하거나, 개선시키거나 향상시킬 목적을 위해 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환을 갖거나 이것으로 진단되거나, 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환의 증상을 갖거나, 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환의 위험이 있거나, 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환에 대한 소인을 갖는 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 적용 또는 투여를 지칭한다. 용어 "치료"는 환자에서 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환의 진행의 늦춤 또는 중단, 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환 증상의 수 또는 중증도의 감소, 또는 환자가 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환의 증상이 없는 기간의 빈도 또는 지속기간의 증가를 포함하는, 환자에서의 질환의 임의의 개선을 포괄한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "환자"는 인간을 포함하는 포유류를 지칭하고, 용어 "대상체"와 상호 호환적으로 사용될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 환자는 인간 환자이다.

[0034] 특정 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 임의의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 기준선 Lp(a) 수준/농도)의 투여 전에 환자에서의 순환 Lp(a) 수준과 비교할 때 또는 LPA RNAi 작제물을 투여받지 않는 환자에서의 순환 Lp(a) 수준/농도와 비교할 때 환자의 순환 Lp(a) 수준 또는 농도(예를 들어, 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준/농도)를 감소시킨다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 투약 요법에 따라 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)의 감소를 필요로 하는 환자에서 이를 감소시키는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 발명은 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)의 감소를 필요로 하는 환자에서 이를 감소시키기 위한 의약의 제조를 위한 본 명세서에 기재된 임의의 LPA RNAi 작제물의 용도를 포함하되, 의약은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 투여되거나 투여용으로 제형화된다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)의 감소를 필요로 하는 환자에서 이를 감소시키기 위한 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물, 예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 LPA RNAi 작제물을 제공하되, 상기 방법은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 LPA RNAi 작제물을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)의 감소를 필요로 하는 환자는 심혈관 질환, 예컨대, 상기 기재한 임의의 심혈관 질환으로 진단되거나 또는 심혈관 질환의 위험이 있는 환자이다. 일부 이러한 실시형태에서, 심혈관 질환은 관상동맥 질환, 경동맥 질환, 말초동맥질환, 심근경색증, 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 대동맥판막 협착증, 안정 또는 불안정 협심증, 심방세동, 심부전, 고지혈증, 이형접합 가족성 고콜레스테롤혈증 또는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증이다. 하나의 특정 실시형태에서, 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)의 감소를 필요로 하는 환자는 심근경색증의 병력을 갖거나 또는 심근경색증의 가족력을 갖는다.

[0035] 특정 실시형태에서, 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)의 감소를 필요로 하는 환자는 급성 관상동맥 증후군

으로 진단된다. 급성 관상동맥 증후군은 관상동맥의 죽상경화성 플라크 및 부분적 또는 완전한 혈전증의 파열에 의해 종종 야기되는 심장에 대한 혈류의 갑작스러운 감소와 연관된 병태를 지칭한다. 급성 관상동맥 증후군은 비-ST-상승 심근경색증(NSTEMI) 및 ST-상승 MI(STEMI)뿐만 아니라 불안정 협심증과 같은 급성 심근허혈 또는 경색을 포함한다. 급성 관상동맥 증후군이 경색증을 초기에 초래하지 않는다고 해도, 이는 경색증 발생의 고위험 징후이며, 즉시 진단되고 치료되어야 한다. 급성 관상동맥 증후군의 징후 및 증상은 전형적으로 갑자기 시작되며, 흉통(협심증) 또는 불편함, 흉부로부터 어깨, 팔, 상복부상복부, 등, 목 또는 턱까지 퍼지는 통증, 구역 또는 구토, 소화불량증, 숨이참, 갑작스러운 심한 발한, 가벼운 현기증, 현기증 또는 실신발작, 흔치 않은 또는 이유 없는 피로 및 안절부절하거나 불안한 느낌을 포함할 수 있다.

[0036] 특정 다른 실시형태에서, 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)의 감소를 필요로 하는 환자는 만성 신장병으로 진단된다. 만성 신장병은 일반적으로 신장에 대한 점진적 손상 및 기능 상실을 지칭한다. 만성 신장병이 시간에 따라 악화됨에 따라, 환자는 다른 심혈관 질환에 대해 증가된 위험이 있을 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료될 환자는 3기 만성 신장병을 갖는다. 신장병의 병기는 추정 사구체여과율(eGFR)에 의해 결정되며, 이는 혈액 중 크레아티닌의 양에 기반하는 값이다. 3기 만성 신장병은 약 30 ㎖/분/1.73 ㎡ 내지 약 59 ㎖/분/1.73 ㎡의 eGFR을 특징으로 하고, 일부 초기 증상, 예컨대, 손발 부종, 요통 및 정상보다 많거나 적은 소변을 수반할 수 있다. 3기 만성 신장병을 갖는 환자는 또한 고혈압, 빈혈 및 골질환과 같은 다른 건강-관련 문제를 가질 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료될 환자는 4기 만성 신장병을 갖는다. 4기 만성 신장병을 갖는 환자는 eGFR이 약 15 ㎖/분/1.73 ㎡ 내지 약 29 ㎖/분/1.73 ㎡일 수 있고, 전형적으로 손발 부종, 요통 및 정상보다 많거나 적은 소변과 같은 증상을 나타낼 것이다.

[0037] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 RNAi 작제물(예를 들어, 기준선 Lp(a) 수준 또는 농도) 투여 전 환자의 혈청 또는 혈장 중 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 또는 RNAi 작제물을 투여받지 않는 환자의 혈청 또는 혈장 중 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 혈청 또는 혈장 중 Lp(a) 수준(또는 농도)을 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94% 또는 적어도 약 95%만큼 감소시킨다. 이들 및 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물의 투여(예를 들어, 단일 용량의 LPA RNAi 작제물의 투여) 후, 순환 Lp(a) 수준 또는 농도는 환자에서 적어도 4주, 적어도 6주, 적어도 8주, 적어도 10주, 적어도 12주, 적어도 14주, 적어도 16주, 적어도 18주, 적어도 20주, 적어도 22주, 적어도 24주, 적어도 26주, 적어도 28주, 적어도 30주, 적어도 32주, 적어도 36주 또는 적어도 48주 동안 감소된다.

[0038] 본 발명의 방법의 일 실시형태에서, LPA RNAi 작제물(예를 들어, 단일 용량의 LPA RNAi 작제물)의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 50% 초과만큼 적어도 12주 동안 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)을 감소시킨다. 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)은 LPA RNAi 작제물의 투여 전 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)(즉, 치료 전 수준 또는 농도)을 지칭한다. 기준선 수준/농도는 환자가 LPA RNAi 작제물을 투여받기 전에 취한 단일 측정일 수 있거나 또는 기준선 수준/농도는 환자가 LPA RNAi 작제물을 투여받기 전에 취한 2회 이상의 측정의 평균일 수 있다. 본 발명의 방법의 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물(예를 들어, 단일 용량의 LPA RNAi 작제물)의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 50% 초과만큼 적어도 24주 동안 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)을 감소시킨다. 본 발명의 방법의 또 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물(예를 들어, 단일 용량의 LPA RNAi 작제물)의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 80% 초과만큼 적어도 12주 동안 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)을 감소시킨다. 본 발명의 방법의 또 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물(예를 들어, 단일 용량의 LPA RNAi 작제물)의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 80% 초과만큼 적어도 24주 동안 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)을 감소시킨다. 본 발명의 방법의 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물(예를 들어, 단일 용량의 LPA RNAi 작제물)의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 80% 초과만큼 적어도 32주 동안 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)을 감소시킨다. 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물(예를 들어, 단일 용량의 LPA RNAi 작제물)의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 90% 초과만큼 적어도 12주 동안 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)을 감소시킨다. 본 발명의 방법의 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물(예를 들어, 단일 용량의 LPA RNAi 작제물)의 투여는 환자의 기준선 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)에 비해 90% 초과만큼 적어도 16주 동안 환자의 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)을 감소시킨다.

[0039] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈청 또는 혈장 중

절대 Lp(a) 수준(또는 농도)을 약 150 , 약 125 nmol/ℓ 이하, 약 100 nmol/ℓ 이하, 약 75 nmol/ℓ 이하, 약 70 nmol/ℓ 이하, 약 65 nmol/ℓ 이하, 약 60 nmol/ℓ 이하, 약 55 nmol/ℓ 이하, 약 50 nmol/ℓ 이하, 약 45 nmol/ℓ 이하, 약 40 nmol/ℓ 이하, 약 35 nmol/ℓ 이하, 또는 약 30 nmol/ℓ 이하까지 감소시킨다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈청 또는 혈장 중 절대 Lp(a) 수준(또는 농도)을 약 125 nmol/ℓ 이하까지 감소시킨다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈청 또는 혈장 중 절대 Lp(a) 수준(또는 농도)을 약 100 nmol/ℓ 이하까지 감소시킨다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈청 또는 혈장 중 절대 Lp(a) 수준(또는 농도)을 약 75 nmol/ℓ 이하까지 감소시킨다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈청 또는 혈장 중 절대 Lp(a) 수준(또는 농도)을 약 50 nmol/ℓ 이하까지 감소시킨다.

[0040] Lp(a) 수준/농도를 입자 농도 단위(예를 들어, nmol/*로 측정하는 것을 선호하지만(예를 들어, 문헌[Wilson *et al.*, Journal of Clinical Lipidology, Vol. 13: 374-392, 2019] 참조), Lp(a) 수준은 질량 농도 단위(예를 들어, mg/dℓ)로 측정될 수 있다. 이러한 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에 대한 LPA RNAi 작제물의 투여는 환자의 혈청 또는 혈장 중 Lp(a) 수준(또는 농도)을 약 100 mg/dℓ 이하, 약 90 mg/dℓ 이하, 약 80 mg/dℓ 이하, 약 70 mg/dℓ 이하, 약 60 mg/dℓ 이하, 약 50 mg/dℓ 이하, 약 45 mg/dℓ 이하, 약 40 mg/dℓ 이하, 약 35 mg/dℓ 이하, 약 30 mg/dℓ 이하, 약 25 mg/dℓ 이하, 약 20 mg/dℓ 이하, 또는 약 15 mg/dℓ 이하까지 감소시킨다.

[0041] Lp(a) 수준은 상업적으로 입수 가능한 키트, 예컨대, Mercodia AB(스웨덴 웁살라 소재)로부터의 Lp(a) ELISA 분석 키트, Randox Laboratories Ltd.(영국 크럼린 소재)로부터의 Lp(a) 면역비탁 분석, 또는 F. Hoffmann- La Roche Ltd.(스위스 바젤)로부터의 Tina-quant® Lp(a) Gen. 2 분석을 이용하여 또는 당업계에 공지된 다른 방법, 예컨대, 문헌[Marcovina and Albers, J. Lipid Res., Vol. 57:526-537, 2016]에 기재된 것을 이용하여 혈장 또는 혈청 샘플에서 측정될 수 있다. 특정 실시형태에서, Lp(a) 수준은 apo(a) 이소형 크기와 독립적으로 Lp(a) 입자를 검출하고 정량화하도록 표준화된 비탁 면역분석을 이용하여 측정된다. 이들 및 다른 실시형태에서, Lp(a) 수준을 측정하기 위해 사용되는 분석은 IFCC 참조 물질 SRM2B에 대해 nmol/*로 표준화된다(Marcovina *et al.*, Clin. Chem., Vol. 46: 1946-1967, 2000).

[0042] 상기 기재한 바와 같이, 순환 Lp(a)의 상승된 수준은 심혈관 질환의 증가된 위험과 관련된다. 따라서, 본 발명의 방법은 또한 Lp(a)의 상승된 혈청 또는 혈장 수준을 갖는 환자의 심혈관 사건 위험을 감소시키는 데 유용하다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 투약 요법에 따라 유효량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자의 심혈관 사건 위험을 감소시키는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 발명은 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자에서 심혈관질환 사건의 위험을 감소시키기 위한 의약의 제조를 위한 본 명세서에 기재된 임의의 LPA RNAi 작제물의 용도를 포함하되, 의약은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 투여되거나 투여용으로 제형화된다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자의 심혈관 사건의 위험을 감소시키기 위한 방법에서 사용하기 위해, LPA RNAi 작제물, 예컨대, 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물을 제공하되, 상기 방법은 본 명세서에 기재된 임의의 투약 요법에 따라 LPA RNAi 작제물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0043] 일부 실시형태에서, 심혈관 사건은 다음 중 하나 이상이다: 심혈관 사망, 심근경색증, 뇌졸중(예를 들어, 허혈성 뇌졸중), 관상동맥 재개통술, 불안정 협심증으로 인한 입원, 심부전으로 인한 입원, 말초 혈관재개통, 급성 사지 허혈, 일과성 허혈 발작, 허혈로 인한 주요 사지 절단, 뇌혈관 혈관재개통, 및 모든 사망 원인. 특정 실시형태에서, 심혈관 사건은 심혈관 사망, 심근경색증, 뇌졸중(예를 들어, 허혈성 뇌졸중) 및/또는 관상동맥 재개통술이다. 일부 이러한 실시형태에서, 심혈관 사건은 심혈관 사망, 심근경색증 및/또는 관상동맥 재개통술이다. 다른 이러한 실시형태에서, 심혈관 사건은 심근경색증 및/또는 관상동맥 재개통술이다. 다른 실시형태에서, 심혈관 사건은 심혈관 사망, 비치명적 심근경색증, 비치명적 뇌졸중 및 불안정 협심증으로 인한 입원으로부터 선택되는 주요 심혈관 사건이다. 또 다른 실시형태에서, 심혈관 사건은 급성 사지 허혈, 대절단 또는 허혈로 인한 말초 혈관재개통으로부터 선택되는 주요 사지 이상 사례이다. 일 실시형태에서, 심혈관 사건은 심혈관 사망이다. 다른 실시형태에서, 심혈관 사건은 비치명적 심근경색증이다. 또 다른 실시형태에서, 심혈관 사건은 비치명적 뇌졸중(예를 들어, 허혈성 뇌졸중)이다. 또 다른 실시형태에서, 심혈관 사건은 관상동맥 재개통술이다.

[0044] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 LPA RNAi 작제물을 투여받지 않는 환자에 비해 위에 기재한 임의의 심혈관 사건에 대해 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25% 또는 적어도 30%의

상대 위험 감소를 갖는다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 LPA RNAi 작제물을 투여받지 않는 환자에 비해 심혈관 사망, 심근경색증, 및 허혈성 뇌졸중 중 어느 하나에 대해 약 15% 내지 약 25%의 상대 위험 감소를 갖는다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 LPA RNAi 작제물을 투여받지 않는 환자에 비해 심혈관 사망, 심근경색증, 및 허혈성 뇌졸중 중 어느 하나에 대해 약 20% 내지 약 30%의 상대 위험 감소를 갖는다.

[0045] 특정 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 위에 기재한 임의의 심혈관 사건에 대해 적어도 1.5%, 적어도 1.8%, 적어도 2.0%, 적어도 2.2%, 적어도 2.5%, 적어도 2.8%, 적어도 3.0%, 적어도 3.2% 또는 적어도 3.5%의 절대 위험 감소를 갖는다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 심혈관 사망, 심근경색증, 및 허혈성 뇌졸중 중 어느 하나에 대해 약 1.5% 내지 약 3.0%의 절대 위험 감소를 갖는다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 심혈관 사망, 심근경색증, 및 허혈성 뇌졸중 중 어느 하나에 대해 약 2.0% 내지 약 3.5%의 절대 위험 감소를 갖는다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 심혈관 사망, 심근경색증, 및 허혈성 뇌졸중 중 어느 하나에 대해 약 2.0% 내지 약 3.0%의 절대 위험 감소를 갖는다.

[0046] 임의의 위에 기재한 실시형태에서, 심혈관 사건을 감소시키기 위해 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 관상동맥 재개통술의 이력, 관상동맥우회술 이력, 관상동맥질환의 진단, 죽상경화성 뇌혈관 질환의 진단, 말초동맥질환의 진단 및/또는 심근경색증의 병력을 가질 수 있다. 특정 실시형태에서, 심혈관 사건을 감소시키기 위해 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 심근경색증을 경험한 적이 있다. 예를 들어, 일부 이러한 실시형태에서, 심혈관 사건을 감소시키기 위해 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여를 받고 1년, 2년, 3년, 4년 또는 5년 이내에 심근경색증을 경험한 적이 있다. 하나의 이러한 실시형태에서, 심혈관 사건을 감소시키기 위해 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여를 받고 1년 이내에 심근경색증을 경험한 적이 있다. 특정 다른 실시형태에서, 심혈관 사건을 감소시키기 위해 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된 환자는 급성 관상동맥 증후군 또는 불안정 협심증으로 인해 병원에 입원하거나 최근에 병원에 입원한 적이 있다.

[0047] 특정 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 Lp(a)의 상승된 순환 수준 또는 농도(예를 들어, Lp(a)의 상승된 혈청 또는 혈장 수준/농도)를 갖는 환자이다. 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 기준선 순환 Lp(a) 수준 또는 농도가 약 50 nmol/*이상, 약 55 nmol/*이상, 약 60 nmol/*이상, 약 65 nmol/*이상, 약 70 nmol/*이상, 약 75 nmol/*이상, 약 100 nmol/*이상, 약 125 nmol/*이상, 약 150 nmol/*이상, 약 175 nmol/*이상, 약 200 nmol/*이상, 약 225 nmol/*이상, 또는 약 250 nmol/*이상일 수 있다. 일 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 70 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된다. 다른 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 100 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 125 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 150 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된다. 일부 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 175 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된다. 다른 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 200 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된다. 특정 다른 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 225 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여된다.

[0048] 순환 Lp(a) 수준(또는 농도)이 질량 농도 단위로 측정되는 덜 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 순환 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 30 mg/dℓ 이상, 약 35 mg/dℓ 이상, 약 40 mg/dℓ 이상, 약 45 mg/dℓ 이상, 약 50 mg/dℓ 이상, 약 55 mg/dℓ 이상, 약 60 mg/dℓ 이상, 약 65 mg/dℓ 이상, 약 70 mg/dℓ 이상, 약 75 mg/dℓ 이상, 약 90 mg/dℓ 이상, 또는 약 100 mg/dℓ 이상일 수 있다. 일 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 50 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 RNAi 작제물이 투여된다. 다른 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 60 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 RNAi 작제물이 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 70 nmol/*이상

이라면, 환자에게는 본 발명의 RNAi 작제물이 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 환자에 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준(또는 농도)이 약 90 nmol/*이상이라면, 환자에게는 본 발명의 RNAi 작제물이 투여된다.

[0049] 위에 논의한 바와 같이, Lp(a) 수준(또는 농도)은 상업적으로 입수 가능한 키트, 예컨대, Mercodia AB(스웨덴 웁살라 소재)로부터의 Lp(a) ELISA 분석 키트, Randox Laboratories Ltd.(영국 크럼린 소재)로부터의 Lp(a) 면역비탁 분석, 또는 F. Hoffmann- La Roche Ltd.(스위스 바젤)로부터의 Tina-quant® Lp(a) Gen. 2 분석을 이용하여 또는 당업계에 공지된 다른 방법, 예컨대, 문헌[Marcovina and Albers, J. Lipid Res., Vol. 57:526-537, 2016]에 기재된 것을 이용하여 혈장 또는 혈청 샘플에서 측정될 수 있다. 특정 실시형태에서, Lp(a) 수준은 apo(a) 이소형 크기와 독립적으로 Lp(a) 입자를 검출하고 정량화하도록 표준화된 비탁 면역분석을 이용하여 측정된다. 이들 및 다른 실시형태에서, Lp(a) 수준을 측정하기 위해 사용되는 분석은 IFCC 참조 물질 SRM2B에 대해 nmol/*로 표준화된다(Marcovina *et al.*, Clin. Chem., Vol. 46: 1946-1967, 2000).

[0050] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 혈청 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 수준을 정상 범위 내에서 가질 수 있거나 또는 한 가지 이상의 지질-저하 요법을 이용하는 치료를 통해 정상 범위 내에서 제어될 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 LDL-C 수준이 약 100 mg/dℓ 이하이다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 LDL-C 수준이 약 70 mg/dℓ 이하이다. 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 한 가지 이상의 지질-저하 요법을 투여받고 있다. 지질-저하 요법은 PCSK9 저해제, 예컨대, PCSK9 길항제 단클론성 항체(예를 들어, 에볼루쿠맙, 알리로쿠맙) 및 PCSK9-표적화된 siRNA(예를 들어, 인클리시란), 스타틴(예를 들어, 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 메바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴, 심바스타틴), 콜레스테롤 흡수 저해제(예를 들어, 에제티미브), 벰페도익산, 니코틴산(예를 들어, 니아신), 피브린산(예를 들어, 겜피브로질, 페노피브레이트), 담즙산 격리제(예를 들어, 콜레스티라민, 콜레스티폴, 콜레세벨람), LDL 성분채집술, 또는 이들의 조합을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 PCSK9 길항제 단클론성 항체, 스타틴, 에제티미브, 벰페도익산, 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 지질-저하 요법을 투여받고 있다.

[0051] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 트리글리세라이드 수준이 약 500 mg/dℓ 미만이다. 예를 들어, 환자는 기준선(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전)에서 혈청 트리글리세라이드 수준이 약 400 mg/dℓ 미만, 약 375 mg/dℓ 미만, 약 350 mg/dℓ 미만, 약 325 mg/dℓ 미만, 약 300 mg/dℓ 미만, 약 275 mg/dℓ 미만, 약 250 mg/dℓ 미만, 약 225 mg/dℓ 미만, 약 200 mg/dℓ 미만, 약 175 mg/dℓ 미만 또는 약 150 mg/dℓ 미만일 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 트리글리세라이드 수준이 약 400 mg/dℓ 미만이다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 트리글리세라이드 수준이 약 50 mg/dℓ 내지 약 400 mg/dℓ이다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 혈청 트리글리세라이드 수준이 약 150 mg/dℓ 내지 약 375 mg/dℓ이다.

[0052] LDL-C, 트리글리세라이드, 총 콜레스테롤, 고밀도 지방단백질 콜레스테롤(HDL-C), 초저밀도 지방단백질 콜레스테롤(VLDL-C) 및 기타 지질 바이오마커, 예컨대, 아포지방단백질 A1 및 아포지방단백질 B의 측정은 환자로부터의 혈액 샘플을 이용하여 표준 지질 패널에 의해 측정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 환자는 샘플을 채취하기 전에 적어도 9시간, 바람직하게는 12시간 동안 금식한다. 따라서, 위에 기재한 지질 바이오마커(예를 들어, LDL-C, 트리글리세라이드)에 대한 수준/농도는 금식 수준일 수 있다.

[0053] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 치료되지 않은 또는 불량하게 제어된 2형 진성 당뇨병을 나타내는 당화 헤모글로빈 A1C 수준을 갖지 않는다. 예를 들어, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 기준선에서(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전) 당화 헤모글로빈 A1C 수준이 약 10.0% 미만, 약 9.5% 미만, 약 9.0% 미만, 약 8.5% 미만, 약 8.0% 미만, 약 7.5% 미만, 약 7.0% 미만, 약 6.5% 미만, 약 6.0% 미만 또는 약 5.5% 미만이다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 당화 헤모글로빈 A1C 수준이 약 8.5% 미만이다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 당화 헤모글로빈 A1C 수준이 약 7.0% 미만이다.

[0054] 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 제어되지 않은 고혈압을 나타내는 수축기 및/또는 확장기 혈압을 갖지 않는다. 예를 들어, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 기준선에서(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전) 평균 휴식 중 수축기 혈압이 약 180 mmHg 미만, 약 160 mmHg 미만, 약 140 mmHg 미만, 약 135 mmHg 미만, 약 130 mmHg 미만, 약 125 mmHg 미만, 또는 약 120 mmHg 미만이고, 기준선에서(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전) 평균 휴식 중 확장기 혈압이 약 120 mmHg 미만, 약 110 mmHg 미만, 약 100 mmHg 미만, 약 90 mmHg 미만, 약 85 mmHg 미만 또는 약 80 mmHg 미만이다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 휴식 시 평균 수축기 혈압이 약 180 mmHg 미만이고 평균 확장기 혈압이 약 110 mmHg 미만이다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 휴식 시 평균 수축기 혈압이 약 160 mmHg 미만이고 평균 확장기 혈압이 약 100 mmHg 미만이다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 휴식 시 평균 수축기 혈압이 약 140 mmHg 미만이고 평균 확장기 혈압이 약 90 mmHg 미만이다.

[0055] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 중증의 신기능장애 징후를 갖지 않는다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 기준선에서(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전) eGFR이 적어도 약 30 ㎖/분/1.73 ㎡, 적어도 약 45 ㎖/분/1.73 ㎡, 적어도 약 60 ㎖/분/1.73 ㎡, 적어도 약 75 ㎖/분/1.73 ㎡ 또는 적어도 약 90 ㎖/분/1.73 ㎡이다. 하나의 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전 eGFR이 약 30 ㎖/분/1.73 ㎡ 이상이다.

[0056] 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 활성 간 질환 또는 간 기능장애의 징후를 갖지 않는다. 활성 간 질환은 간 기능의 하나 이상의 바이오마커, 예컨대, 알부민, 알칼리성 포스파타제(ALP), 알라닌 트랜스아미나제(ALT), 아스파르테이트 아미노기전달효소(AST), 감마-글루타밀 트랜스펩티다제(GGT), 빌리루빈 및 락트산 탈수소효소(LD)를 비롯하여 간 기능 검사 또는 간 패널에 포함된 것을 측정함으로써 결정될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 기준선에서(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전)의 ALT 수준이 정상상한(ULN)의 3배 이하이다. 관련 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 기준선에서(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전)의 AST 수준이 ULN의 3배 이하이다. 이들 및 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 기준선에서(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전)의 총 빌리루빈 수준이 ULN의 2배 이하이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물이 투여될 환자는 기준선에서(예를 들어, LPA RNAi 작제물의 첫 투여 전): (i) 혈청의 약 170 단위/*미만의 ALT 수준, (ii) 혈청의 약 150 단위/*미만의 AST 수준, 및/또는 (iii) 약 2.0 mg/dℓ 미만의 총 빌리루빈 수준을 갖는다.

[0057] 일 양상에서, 본 발명의 방법은 유효량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. "유효량"은 심혈관 질환 또는 심혈관 질환의 하나 이상의 증상, 특히 심혈관 질환과 관련된 상태 또는 증상을 치료하거나, 감소시키거나 또는 개선시키거나, 또는 다르게는 어떤 식으로든 심혈관 질환 또는 심혈관 질환과 관련된 임의의 다른 바람직하지 않은 증상의 진행을 예방하거나, 방해하거나, 지연시키거나 또는 반전시키는 데 충분한 양을 지칭한다. 유효량은 또한 심혈관 질환으로부터 초래된 후유증의 발생 또는 중증도를 감소시키는 데 충분한 양을 지칭할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 유효량의 LPA RNAi 작제물은 죽상동맥경화증 또는 다른 심혈관 질환을 갖는 환자에서 심혈관 사건, 예컨대, 심근경색증, 뇌졸중, 또는 관상 동맥, 뇌 또는 말초 동맥의 혈관재개통의 발생 또는 중증도를 감소시키는 데 충분한 양이다.

[0058] 본 발명의 방법의 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 고정된 용량으로 환자에게 투여된다. "고정된 용량"은 환자-특이적 인자, 예컨대, 체중과 상관없이 모든 환자에게 투여되는 용량을 지칭한다. 따라서, 고정된 용량은 환자의 체중에 기반하여 환자에 따라 조절되지 않는다. 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 적어도 8주의 투약 간격으로 약 9 mg 내지 약 675 mg의 고정된 용량으로 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, LPA RNAi 작제물의 고정된 용량은 약 9 mg, 약 10 mg, 약 15 mg, 약 30 mg, 약 50 mg, 약 60 mg, 약 70 mg, 약 75 mg, 약 80 mg, 약 90 mg, 약 100 mg, 약 125 mg, 약 150 mg, 약 175 mg, 약 200 mg, 약 225 mg, 약 250 mg, 약 300 mg, 약 350 mg, 약 400 mg, 약 450 mg, 약 500 mg, 약 550 mg, 약 600 mg, 약 650 mg, 또는 약 675 mg일 수 있되, 용량은 적어도 8주의 투약 간격으로 투여된다. 임의의 이들 종점과 모든 이들 종점 간의 범위가 또한 생각되며, 예를 들어, 본 발명의 방법에서 환자에게 투여되는 LPA RNAi 작제물의 고정된 용량은 약 10 mg 내지 약 225 mg, 약 50 mg 내지 약 100 mg, 약 150 mg 내지 약 225 mg, 약 225 mg 내지 약 675 mg, 약 75 mg 내지 약 150 mg, 약 225 mg 내지 약 450 mg, 약 75 mg 내지 약 225 mg, 약 10 mg 내지 약 75 mg, 또는

약 200 ㎎ 내지 약 300 ㎎일 수 있되, 용량은 적어도 8주의 투약 간격으로 투여된다.

[0059] 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물의 임의의 용량은 바람직하게는 적어도 8주의 용량 간격으로 투여되며 - 즉, 용량은 8주마다 1회(또는 2개월마다 1회)보다 더 빈번하게 환자에게 투여되지 않는다. 예를 들어, 투약 간격은 약 8주, 약 12주, 약 16주, 약 20주, 약 24주, 약 28주 또는 약 32주일 수 있다. 특정 실시형태에서, 투약 간격은 약 12주이고, 예를 들어, 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물이 환자에게 12주마다 1회(또는 3개월마다 1회) 투여된다. 특정 다른 실시형태에서, 투약 간격은 약 24주이고, 예를 들어, 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물이 환자에게 24주마다 1회(또는 6개월마다 1회) 투여된다.

[0060] 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물은 각각의 투약 간격에서 단일 볼루스 투여로서(예를 들어, 단일 피하 주사로) 또는 2회 이상의 연속 볼루스 투여(예를 들어, 2회 이상의 피하 주사)로서 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물의 전체량은 단일 볼루스 주사에서, 예를 들어, 본 명세서에 추가로 기재되는 바와 같은 사전 충전형 주사기 또는 주사 장치를 이용하여 각 투약 간격에서 환자에게 투여된다. 예를 들어, LPA RNAi 작제물의 225 ㎎의 고정된 용량이 각 투약 간격에서(예를 들어, 12주마다 1회) 225 ㎎의 단일 볼루스 주사로서, 선택적으로 225 ㎎ 용량이 들어있는 자동주사기, 펜 주사기 또는 사전 충전형 주사기를 이용하여 환자에게 투여될 수 있다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물의 고정된 용량의 전체량은 2회 이상의 연속 볼루스 주사로서 환자에게 투여된다. 예로서, LPA RNAi 작제물의 225 ㎎의 고정된 용량은 각각 75 ㎎의 3회 연속 주사로, 선택적으로 각 투약 간격에서(예를 들어, 12주마다 1회) 각각 75 ㎎ 용량이 들어있는 3종의 주사 장치(예를 들어, 자동주사기, 펜 주사기 또는 사전 충전형 주사기)로 환자에게 투여될 수 있다. 하루의 기간 이내에 주어진 연속 주사는 본 발명의 내용 내의 단일 투여로 간주된다. 다시 말해서, 예로서, 12주마다 1회 225 ㎎의 고정된 용량의 투여는 12주마다 1회 환자에게 투여되는 225 ㎎의 단일 볼루스 주사로서 또는 12주마다 1회 1일의 기간 내에 환자에게 각각 투여되는 75 ㎎의 3회 연속 볼루스 주사로서 주어질 수 있다.

[0061] 본 발명의 방법의 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물의 고정된 용량은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 투여된다. 일부 이러한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 10 ㎎ 내지 약 225 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 50 ㎎ 내지 약 100 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 75 ㎎ 내지 약 225 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 150 ㎎ 내지 약 225 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 10 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 30 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 75 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 100 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 125 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 150 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 175 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 200 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 12주마다 1회 또는 3개월마다 1회 약 225 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0062] 본 발명의 방법의 특정 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물의 고정된 용량은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 투여된다. 일부 이러한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 225 ㎎ 내지 약 675 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 225 ㎎ 내지 약 450 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 200 ㎎ 내지 약 300 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 225 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 24주마다 1회 또는 6

개월마다 1회 약 300 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 450 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 24주마다 1회 또는 6개월마다 1회 약 675 ㎎의 고정된 용량의 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0063] 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 세트 치료 기간의 과정에 걸쳐 환자에게 투여된다. "치료 기간"은 LPA RNAi 작제물의 첫 용량의 투여 시 시작되고, LPA RNAi 작제물의 마지막 용량의 투여 시 종료된다. 치료 기간은 약 12주 내지 약 240주, 약 24주 내지 약 144주, 약 3개월 내지 약 60개월, 약 6개월 내지 약 48개월, 예컨대, 약 12주, 약 24주, 약 36주, 약 48주, 약 60주, 약 72주, 약 84주, 약 96주, 약 108주, 약 120주, 약 132주, 약 144주, 약 156주, 약 168주, 약 180주, 약 192주, 약 204주, 약 216주, 약 228주, 약 240주, 약 3개월, 약 6개월, 약 9개월, 약 12개월, 약 15개월, 약 18개월, 약 21개월, 약 24개월, 약 27개월, 약 30개월, 약 33개월, 약 36개월, 약 39개월, 약 42개월, 약 45개월, 약 48개월, 약 51개월, 약 54개월, 약 57개월 또는 약 60개월일 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 기간은 약 48주이다. 다른 실시형태에서, 치료 기간은 약 192주이다. 또 다른 실시형태에서, 치료 기간은 약 12개월이다. 또 다른 실시형태에서, 치료 기간은 약 48개월이다. 특정 실시형태에서, 치료 기간은 240주 또는 60개월보다 길 수 있고, 예를 들어, 치료 기간은 5년 초과, 예컨대, 6, 7, 8, 9 또는 10년 이상일 수 있다. 하나의 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 적어도 약 36주의 치료 기간 동안 투여되고, LPA RNAi 작제물을 투여받지 않는 대상체에 비해 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준에서 기준선으로부터의 통계적으로 유의미한 감소 백분율을 생성한다. 다른 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 적어도 약 48주의 치료 기간 동안 투여되고, LPA RNAi 작제물을 투여받지 않는 대상체에 비해 혈청 또는 혈장 Lp(a) 수준에서 기준선으로부터의 통계적으로 유의미한 감소 백분율을 생성한다.

[0064] 본 명세서에 기재된 방법은 LPA RNAi 작제물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "LPA RNAi 작제물"은 세포 내로 도입될 때 RNA 간섭 메커니즘을 통해 LPA 유전자의 발현을 하향조절할 수 있는 RNA 분자를 포함하는 작용제를 지칭한다. RNA 간섭은 핵산 분자가 표적 RNA 분자(예를 들어, 전령 RNA 또는 mRNA 분자)의 절단 및 분해를 서열-특이적 방식으로, 예를 들어 RNA 유도된 침묵 복합체(RISC) 경로를 통해 유도하는 방법이다. 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 혼성화되어 듀플렉스 영역을 형성하기 위해 서로에 대해 충분히 상보성인 연속 뉴클레오티드의 2개의 역평행 가닥을 포함하는 이중-가닥 RNA 분자를 포함한다. "혼성화되는" 또는 "혼성화"는 통상적으로 2개의 폴리뉴클레오티드의 상보적 염기들 사이의 수소 결합(예를 들어, 왓슨-크릭(Watson-Crick), 후그스틴(Hoogsteen) 또는 역 후그스틴 수소 결합)을 통해 상보성인 폴리뉴클레오티드의 짝짓기를 지칭한다. 표적 *LPA* 서열(예를 들어, 표적 *LPA* mRNA)에 실질적으로 상보적인 서열을 갖는 영역을 포함하는 가닥은 "안티센스 가닥"으로 지칭된다. "센스 가닥"은 안티센스 가닥의 영역에 실질적으로 상보성인 영역을 포함하는 가닥을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 센스 가닥은 표적 서열과 실질적으로 동일한 서열을 갖는 영역을 포함할 수 있다.

[0065] 이중-가닥 RNA 분자는 리보뉴클레오티드의 리보스 당, 염기 또는 골격 구성성분, 예컨대, 본 명세서에 기술되거나 당업계에 공지된 것에 대한 변형을 포함하는, 리보뉴클레오티드에 대한 화학적 변형을 포함할 수 있다. 이중-가닥 RNA 분자(예를 들어, siRNA, shRNA, 등)에 사용된, 임의의 상기 변형은 본 개시내용의 목적 상 용어 "이중-가닥 RNA"에 포함된다.

[0066] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 제1 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드가 제2 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 혼성화되어 특정 조건, 예컨대, 생리학적 조건 하에서 듀플렉스 영역을 형성할 수 있는 경우, 제1 서열은 제2 서열에 대해 "상보성"이다. 다른 이러한 조건은 당업자에게 공지된 보통 또는 엄격한 혼성화 조건을 포함할 수 있다. 제1 서열 염기쌍을 포함하는 폴리뉴클레오티드가 임의의 미스매치 없이 하나 또는 두 뉴클레오티드 서열의 전체 길이에 걸쳐 제2 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드와 쌍을 이루는 경우, 제1 서열은 제2 서열에 대해 완전히 상보성인(100% 상보성인) 것으로 간주된다. 서열이 표적 서열에 대해 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 상보성인 경우, 서열은 표적 서열에 대해 "실질적으로 상보성"이다. 상보성 백분율은 제2 또는 표적 서열의 상응하는 위치에서 염기에 상보성인 제1 서열의 염기 수를 제1 서열의 총 길이로 나눔으로써 계산될 수 있다. 또한, 2개의 서열이 혼성화될 때 30개의 염기쌍 듀플렉스 영역에 대해 5, 4, 3, 또는 2개 이하의 미스매치가 존재하면, 서열은 또 다른 서열에 실질적으로 상보성이라고 말할 수 있다. 일반적으로, 본 명세서에 정의된 바와 같이, 임의의 뉴클레오티드 돌출부가 존재하는 경우, 이러한 돌출부의 서열은 두 서열 사이의 상보성 정도를 결정할 때 고려되지 않는다. 예를 들어, 혼성화되어 각 가닥의 3' 말단에 2개의 뉴클레오티드 돌출부를 갖는 19개의 염기쌍 듀플렉스 영역을 형성하는 21개 뉴클레오티드 길이의 센스 가닥 및 21개 뉴클레오티드 길이의 안티센스 가닥은 본 명세서에서 사용되는 용어와 완전히 상보성인 것으로 간주된다.

[0067] 일부 실시형태에서, 안티센스 가닥의 영역은 표적 *LPA* RNA 서열(예를 들어, *LPA* mRNA)의 영역에 실질적으로 또는 완전히 상보적인 서열을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 센스 가닥은 안티센스 가닥의 서열에 완전히 상보성인 서열을 포함할 수 있다. 이러한 다른 실시형태에서, 센스 가닥은 센스 및 안티센스 가닥에 의해 형성된 듀플렉스 영역에서 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 미스매치를 갖는 안티센스 가닥의 서열에 실질적으로 상보성인 서열을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 임의의 미스매치는 말단 영역 내에서 (예를 들어, 가닥의 5' 및/또는 3' 말단의 6, 5, 4, 3, 또는 2개의 뉴클레오티드 내에서) 발생하는 것이 바람직하다. 일 실시형태에서, 센스 및 안티센스 가닥으로부터 형성된 듀플렉스 영역에서 임의의 미스매치는 안티센스 가닥의 5' 말단의 6, 5, 4, 3, 또는 2개의 뉴클레오티드 내에서 발생한다.

[0068] 특정 실시형태에서, 이중-가닥 RNA의 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 듀플렉스 영역을 형성하기 위해 혼성화되지만 그렇지 않으면 연결되지 않은 2개의 분리된 분자일 수 있다. 2개의 분리된 가닥으로부터 형성된 이러한 이중-가닥 RNA 분자는 "작은 간섭 RNA" 또는 "짧은 간섭 RNA"(siRNA)로 지칭된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 siRNA를 포함한다.

[0069] 다른 실시형태에서, 혼성화되어 듀플렉스 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 단일 RNA 분자의 일부일 수 있으며, 즉 센스 및 안티센스 가닥은 단일 RNA 분자의 자기-상보성 영역의 일부이다. 이러한 경우에, 단일 RNA 분자는 듀플렉스 영역(줄기 영역으로도 지칭됨) 및 루프 영역을 포함한다. 센스 가닥의 3' 말단은 짝지어지지 않은 뉴클레오티드의 인접 서열에 의해 안티센스 가닥의 5' 말단에 연결되며, 이는 루프 영역을 형성할 것이다. 루프 영역은 전형적으로 안티센스 가닥이 센스 가닥과 염기쌍을 형성하여 듀플렉스 또는 줄기 영역을 형성할 수 있도록 RNA 분자가 그 자체로 접히는 것을 허용하기에 충분한 길이를 갖는다. 루프 영역은 약 3 내지 약 25개, 약 5 내지 약 15개, 또는 약 8 내지 약 12개의 짝지어지지 않은 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 적어도 부분적으로 자기-상보성 영역을 갖는 이러한 RNA 분자는 "짧은 헤어핀 RNA"(shRNA)로 지칭된다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 shRNA를 포함한다. 단일의, 적어도 부분적으로 자기-상보성 RNA 분자의 길이는 약 40개 뉴클레오티드 내지 약 100개 뉴클레오티드, 약 45개 뉴클레오티드 내지 약 85개 뉴클레오티드, 또는 약 50개 뉴클레오티드 내지 약 60개 뉴클레오티드일 수 있으며, 각각 본 명세서에 열거된 길이를 갖는 듀플렉스 영역 및 루프 영역을 포함한다.

[0070] 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 상기 안티센스 가닥은 LPA 전령 RNA(mRNA) 서열에 실질적으로 또는 완전히 상보적인 서열을 갖는 영역을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "*LPA* mRNA 서열"은 apo(a) 단백질 변이체 또는 임의의 종(예를 들어 비-인간 영장류, 인간)으로부터의 이소형을 포함하는, apo(a) 단백질을 암호화하는, 대립 유전자 변이체 및 스플라이스 변이체를 포함하는 임의의 전령 RNA 서열을 지칭한다. *LPA* 유전자(AK38, APOA 및 LP로도 알려짐)는 지방단백질(a) 또는 Lp(a)로도 알려진 저밀도 지방단백질 입자의 주요 구성성분인 apo(a) 단백질을 암호화한다. 인간에서, *LPA* 유전자는 염색체 6의 유전자좌위 6q25.3-q26에서 발견된다. *LPA* 유전자는 크링글 IV 2형(KIV-2) 도메인의 복제물 수가 다른 유전자의 대립유전자에 의해 고도로 다형성이며, 이는 개체 중에서 2개에서 40개 이상의 범위일 수 있다(예를 들어, 문헌[Kronenberg and Utermann, J. Intern. Med., Vol. 273:6-30, 2013] 참조).

[0071] *LPA* mRNA 서열은 또한 이의 상보적 DNA(cDNA) 서열로서 발현된 전사체 서열을 포함한다. cDNA 서열은 RNA 염기(예를 들어, 구아닌, 아데닌, 우라실, 및 시토신)보다는 DNA 염기(예를 들어, 구아닌, 아데닌, 티민, 및 시토신)로서 발현된 mRNA 전사체의 서열을 지칭한다. 따라서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 안티센스 가닥은 표적 LPA mRNA 서열 또는 LPA cDNA 서열에 실질적으로 또는 완전히 상보적인 서열을 갖는 영역을 포함할 수 있다. *LPA* mRNA 또는 cDNA 서열은 NCBI 참조 서열 NM_005577.4(인간), XM_015448520.1(사이노몰거스 원숭이), XM_028847001.1(레서스 원숭이), XM_024357489.1(침팬지) 및 XM_031012244.1(고릴라)로부터 선택된 임의의 *LPA* mRNA 또는 cDNA 서열을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, *LPA* mRNA 서열은 참조 서열 NM_005577.4로서 NCBI 데이터베이스에 열거된 인간 전사체이다.

[0072] LPA RNAi 작제물의 센스 가닥은 전형적으로 안티센스 가닥의 서열에 충분히 상보성인 서열을 포함하여, 2개의 가닥이 생리학적 조건 하에서 혼성화되어 듀플렉스 영역을 형성한다. "듀플렉스 영역"은 두 폴리뉴클레오티드 사이에 듀플렉스를 생성하기 위해 왓슨-크릭 염기쌍 형성 또는 다른 수소 결합 상호작용에 의해 서로 염기쌍을 형성하는 2개의 상보성 또는 실질적으로 상보성인 폴리뉴클레오티드의 영역을 지칭한다. 예를 들어, 다이서(Dicer) 효소 및/또는 RISC 복합체를 관여시킴으로써, LPA RNAi 작제물의 듀플렉스 영역은 LPA RNAi 작제물이 RNA 간섭 경로에 진입할 수 있도록 충분한 길이를 가져야 한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 듀플렉스 영역은 약 15 내지 약 30개 염기쌍 길이이다. 듀플렉스 영역에 대한 이 범위 내의 다른 길이도 또한 적합하며, 예컨대, 약 15 내지 약 28개 염기쌍, 약 15 내지 약 26개 염기쌍, 약 15 내지 약 24개 염기쌍, 약 15 내지 약 22개

염기쌍, 약 17 내지 약 28개 염기쌍, 약 17 내지 약 26개 염기쌍, 약 17 내지 약 24개 염기쌍, 약 17 내지 약 23개 염기쌍, 약 17 내지 약 21개 염기쌍, 약 19 내지 약 25개 염기쌍, 약 19 내지 약 23개 염기쌍, 또는 약 19 내지 약 21개 염기쌍 길이이다. 특정 실시형태에서, 듀플렉스 영역은 약 17 내지 약 26개 염기쌍 길이이다. 다른 실시형태에서, 듀플렉스 영역은 약 19 내지 약 21개 염기쌍 길이이다. 일 실시형태에서, 듀플렉스 영역은 약 19개 염기쌍 길이이다. 다른 실시형태에서, 듀플렉스 영역은 약 21개 염기쌍 길이이다.

[0073] 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 2개의 별개의 분자(예를 들어, RNAi 작제물이 siRNA를 포함함)인 실시형태의 경우, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 듀플렉스 영역의 길이와 동일한 길이일 필요는 없다. 예를 들어, 하나 또는 양쪽 모두의 가닥은 듀플렉스 영역보다 길 수 있고, 듀플렉스 영역에 인접한 하나 이상의 짝지어지지 않은 뉴클레오티드 또는 미스매치를 갖는다. 따라서, 일부 실시형태에서, RNAi 작제물은 적어도 하나의 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "뉴클레오티드 돌출부"는 가닥의 말단에서 짝지어지지 않은 뉴클레오티드 또는 듀플렉스 영역을 넘어 연장되는 뉴클레오티드를 지칭한다. 뉴클레오티드 돌출부는 전형적으로 한 가닥의 3' 말단이 다른 가닥의 5' 말단을 넘어 연장될 때 또는 한 가닥의 5' 말단이 다른 가닥의 3' 말단을 넘어 연장될 때 생성된다. 뉴클레오티드 돌출부는 일반적으로 1 내지 6개 뉴클레오티드 길이, 1 내지 5개 뉴클레오티드 길이, 1 내지 4개 뉴클레오티드 길이, 1 내지 3개 뉴클레오티드 길이, 2 내지 6개 뉴클레오티드 길이, 2 내지 5개 뉴클레오티드 길이, 또는 2 내지 4개 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시형태에서, 뉴클레오티드 돌출부는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 뉴클레오티드를 포함한다. 일 특정 실시형태에서, 뉴클레오티드 돌출부는 1 내지 4개의 뉴클레오티드를 포함한다. 특정 실시형태에서, 뉴클레오티드 돌출부는 2개의 뉴클레오티드를 포함한다. 다른 특정 실시형태에서, 뉴클레오티드 돌출부는 단일 뉴클레오티드를 포함한다. 뉴클레오티드 돌출부가 안티센스 가닥에 존재할 경우, 돌출부의 뉴클레오티드는 표적 유전자 서열에 상보성일 수 있거나, 표적 유전자 서열과 미스매치를 형성할 수 있거나, 또는 일부 다른 서열(예를 들어, 폴리피리미딘 또는 폴리퓨린 서열, 예컨대, UU, TT, AA, GG 등)을 포함할 수 있다.

[0074] 뉴클레오티드 돌출부는 하나 또는 양쪽 모두의 가닥의 5' 말단 또는 3' 말단에 있을 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 안티센스 가닥의 5' 말단 및 3' 말단에 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 센스 가닥의 5' 말단 및 3' 말단에 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 센스 가닥의 5' 말단 및 안티센스 가닥의 5' 말단에 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 센스 가닥의 3' 말단 및 안티센스 가닥의 3' 말단에 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다.

[0075] RNAi 작제물은 이중-가닥 RNA 분자의 한쪽 말단에 뉴클레오티드 돌출부를 포함하고, 다른 쪽에 평활 말단을 포함할 수 있다. "평활 말단"은 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 분자의 말단에서 완전히 염기쌍을 이루고 듀플렉스 영역을 넘어 연장되는 짝지어지지 않은 뉴클레오티드가 없음을 의미한다. 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 센스 가닥의 3' 말단에 뉴클레오티드 돌출부를 포함하고, 센스 가닥의 5' 말단 및 안티센스 가닥의 3' 말단에 평활 말단을 포함한다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 안티센스 가닥의 3' 말단에 뉴클레오티드 돌출부를 포함하고, 안티센스 가닥의 5' 말단 및 센스 가닥의 3' 말단에 평활 말단을 포함한다. 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 이중-가닥 RNA 분자의 양쪽 말단에 평활 말단을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 길이가 동일하고, 듀플렉스 영역은 센스 및 안티센스 가닥과 길이가 동일하다(즉, 분자는 전체 길이에 걸쳐 이중 가닥임).

[0076] 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 독립적으로 약 15 내지 약 30개 뉴클레오티드 길이, 약 19 내지 약 30개 뉴클레오티드 길이, 약 18 내지 약 28개 뉴클레오티드 길이, 약 19 내지 약 27개 뉴클레오티드 길이, 약 19 내지 약 25개 뉴클레오티드 길이, 약 19 내지 약 23개 뉴클레오티드 길이, 약 19 내지 약 21개 뉴클레오티드 길이, 약 21 내지 약 25개 뉴클레오티드 길이, 또는 약 21 내지 약 23개 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 특정 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 독립적으로 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 또는 약 25개 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 길이가 동일하지만, LPA RNAi 작제물이 2개의 뉴클레오티드 돌출부를 갖도록 가닥보다 짧은 듀플렉스 영역을 형성한다. 예를 들어, 일 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 (i) 각각 21개 뉴클레오티드 길이인 센스 가닥 및 안티센스 가닥, (ii) 19개 염기쌍 길이인 듀플렉스 영역, 및 (iii) 센스 가닥의 3' 말단 및 안티센스 가닥의 3' 말단 모두의 2개의 짝지어지지 않은 뉴클레오티드의 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 (i) 각각 23개 뉴클레오티드 길이인 센스 가닥 및 안티센스 가닥, (ii) 21개 염기쌍 길이인 듀플렉스 영역, 및 (iii) 센스 가닥의 3' 말단 및 안티센스 가닥의 3' 말단 모두의 2개의 짝지어지지 않은 뉴클레오티드의 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 다른 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스

가닥은 동일한 길이를 가지며, 이중-가닥 분자의 양쪽 말단에 뉴클레오티드 돌출부가 없도록 전체 길이에 걸쳐 듀플렉스 영역을 형성한다. 하나의 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 평활 말단이며, (i) 각각 21개의 뉴클레오티드 길이인, 센스 가닥 및 안티센스 가닥, 및 (ii) 21개 염기쌍 길이의 듀플렉스 영역을 포함한다. 다른 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 평활 말단이며, (i) 각각 19개의 뉴클레오티드 길이인, 센스 가닥 및 안티센스 가닥, 및 (ii) 19개 염기쌍 길이의 듀플렉스 영역을 포함한다.

[0077] 다른 실시형태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥은 다른 가닥보다 길고, 두 가닥은 LPA RNAi 작제물이 적어도 하나의 뉴클레오티드 돌출부를 포함하도록 짧은 가닥의 길이와 동일한 길이를 갖는 듀플렉스 영역을 형성한다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 (i) 19개 뉴클레오티드 길이인, 센스 가닥, (ii) 21개 뉴클레오티드 길이인, 안티센스 가닥, (iii) 19개 염기쌍 길이의 듀플렉스 영역, 및 (iv) 안티센스 가닥의 3' 말단에서 2개의 짝지어지지 않은 뉴클레오티드의 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 (i) 21개 뉴클레오티드 길이인, 센스 가닥, (ii) 23개 뉴클레오티드 길이인, 안티센스 가닥, (iii) 21개 염기쌍 길이의 듀플렉스 영역, 및 (iv) 안티센스 가닥의 3' 말단에서 2개의 짝지어지지 않은 뉴클레오티드의 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다.

[0078] 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 하나 이상의 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. "변형된 뉴클레오티드"는 뉴클레오시드, 핵염기, 펜토스 고리, 또는 포스페이트 기에 하나 이상의 화학적 변형을 갖는 뉴클레오티드를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 변형된 뉴클레오티드는 아데노신 모노포스페이트, 구아노신 모노포스페이트, 우리딘 모노포스페이트, 및 시티딘 모노포스페이트를 함유하는 리보뉴클레오티드를 포함하지 않는다. 그러나, LPA RNAi 작제물은 변형된 뉴클레오티드 및 리보뉴클레오티드의 조합을 포함할 수 있다. 변형된 뉴클레오티드를 이중-가닥 RNA 분자의 하나 또는 양쪽 가닥에 통합하면, 예를 들어, 뉴클레아제 및 다른 분해 과정에 대한 분자의 감수성을 감소시킴으로써 RNA 분자의 생체내 안정성을 향상시킬 수 있다. *LPA* 유전자의 발현을 감소시키기 위한 LPA RNAi 작제물의 효능은 또한 변형된 뉴클레오티드의 혼입에 의해 향상될 수 있다.

[0079] 특정 실시형태에서, 변형된 뉴클레오티드는 리보스 당의 변형을 갖는다. 이러한 당 변형은 펜토스 고리의 2' 및/또는 5' 위치에서의 변형은 물론 이환식 당 변형을 포함할 수 있다. 2'-변형된 뉴클레오티드는 OH 이외의 2' 위치에 치환기를 갖는 펜토스 고리를 갖는 뉴클레오티드를 지칭한다. 이러한 2'-변형은 2'-H(예를 들어, 데옥시리보뉴클레오티드), 2'-O-알킬(예를 들어, O-$C_1$-$C_{10}$ 또는 O-$C_1$-$C_{10}$ 치환된 알킬), 2'-O-알릴(O-$CH_2CH=CH_2$), 2'-C-알릴, 2'-데옥시-2'-플루오로(2'-F 또는 2'-플루오로로도 지칭됨), 2'-O-메틸($OCH_3$), 2'-O-메톡시에틸(O-$(CH_2)_2OCH_3$), 2'-$OCF_3$, 2'-O$(CH_2)_2SCH_3$, 2'-O-아미노알킬, 2'-아미노(예를 들어, $NH_2$), 2'-O-에틸아민 및 2'-아지도를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 펜토스 고리의 5' 위치에서의 변형은 5'-메틸(R 또는 S); 5'-비닐, 및 5'-메톡시를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0080] "이환식 당 변형"은 브릿지가 고리의 두 원자를 연결하여 제2 고리를 형성하여 이환식 당 구조를 생성하는 펜토스 고리의 변형을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 이환식 당 변형은 펜토스 고리의 4' 및 2' 탄소 사이의 브릿지를 포함한다. 이환식 당 변형을 갖는 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오티드는 본 명세서에서 이환식 핵산 또는 BNA로 지칭된다. 예시적인 이환식 당 변형은 -L-메틸렌옥시(4'-$CH_2$-O-2') 이환식 핵산(BNA); -D-메틸렌옥시(4'-$CH_2$-O-2') BNA(잠금 핵산 또는 LNA로도 지칭됨); 에틸렌옥시(4'-$(CH_2)_2$-O-2') BNA; 아미노옥시(4'-$CH_2$-O-N(R)-2') BNA; 옥시아미노(4'-$CH_2$-N(R)-O-2') BNA; 메틸(메틸렌옥시)(4'-CH($CH_3$)-O-2') BNA(구속된 에틸 또는 cEt로도 지칭됨); 메틸렌-티오(4'-$CH_2$-S-2') BNA; 메틸렌-아미노(4'-CH2-N(R)-2') BNA; 메틸 카복실산(4'-$CH_2$-CH($CH_3$)-2') BNA; 프로필렌 카복실산(4'-$(CH_2)_3$-2') BNA; 및 메톡시(에틸렌옥시)(4'-CH($CH_2$OMe)-O-2') BNA(구속된 MOE 또는 cMOE로도 지칭됨)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물에 혼입될 수 있는 이들 및 다른 당-변형된 뉴클레오티드는 미국 특허 제9,181,551호, 미국 특허 공개 제2016/0122761호, 및 문헌[Deleavey and Damha, Chemistry and Biology, Vol. 19: 937-954, 2012]에 기재되어 있다.

[0081] 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 하나 이상의 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-알킬 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-알릴 변형된 뉴클레오티드, 이환식 핵산(BNA), 데옥시리보뉴클레오티드, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 하나 이상의 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-메톡시에틸 변

형된 뉴클레오티드, 데옥시리보뉴클레오티드 또는 이들의 조합을 포함한다. 하나의 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 하나 이상의 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 데옥시리보뉴클레오티드, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 데옥시리보뉴클레오티드는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 3' 말단 및/또는 5' 말단에서의 말단의 뉴클레오티드일 수 있다. 데옥시리보뉴클레오티드가 말단 뉴클레오티드인 이러한 실시형태에서, 이는 반전된 뉴클레오티드일 수 있다 - 즉, 천연의 3'-5' 뉴클레오티드간 연결 대신 3'-3' 뉴클레오티드간 연결(가닥의 3' 말단에 있을 때)을 통해 또는 5'-5' 뉴클레오티드간 연결(가닥의 5' 말단에 있을 때)을 통해 인접 뉴클레오티드에 연결될 수 있다.

[0082] LPA RNAi 작제물의 센스 및 안티센스 가닥 둘 다는 1개 또는 다수의 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 센스 가닥은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 특정 실시형태에서, 센스 가닥내 모든 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드이다. 일부 실시형태에서, 안티센스 가닥은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 다른 실시형태에서, 안티센스 가닥내 모든 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드이다. 다른 특정 실시형태에서, 센스 가닥내 모든 뉴클레오티드 및 안티센스 가닥내 모든 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드이다. 이러한 실시형태 및 다른 실시형태에서, 변형된 뉴클레오티드는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0083] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 가닥 중 하나 또는 둘 모두에 혼입된 변형된 뉴클레오티드는 핵염기(본 명세서에서 "염기"로도 지칭됨)의 변형을 갖는다. "변형된 핵염기" 또는 "변형된 염기"는 자연 발생 퓨린 염기 아데닌 (A) 및 구아닌 (G) 및 피리미딘 염기 티민(T), 시토신(C), 및 우라실(U) 이외의 염기를 지칭한다. 변형된 핵염기는 합성 및 천연 변형일 수 있고, 유니버셜 염기, 5-메틸시토신(5-me-C), 5-하이드록시메틸 시토신, 잔틴(X), 하이포잔틴, 2-아미노아데닌, 6-메틸아데닌, 6-메틸구아닌, 및 아데닌 및 구아닌의 다른 알킬 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-프로필 및 다른 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오시토신, 5-할로우라실 및 시토신, 5-프로피닐 우라실 및 시토신, 6-아조 우라실, 시토신 및 티민, 5-우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-하이드록실 및 다른 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 특히 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 다른 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌 및 7-데아자아데닌 및 3-데아자구아닌 및 3-데아자아데닌을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0084] 일부 실시형태에서, 변형된 염기는 보편적인 염기이다. "보편적인 염기"는 듀플렉스 영역의 이중 나선 구조를 변경하지 않고 RNA 및 DNA에서 모든 천연 염기와 염기쌍을 무차별적으로 형성하는 염기 유사체를 지칭한다. 보편적인 염기는 당업자에게 공지되어 있으며, 이노신, C-페닐, C-나프틸 및 다른 방향족 유도체, 아졸 카복사미드, 및 니트로아졸 유도체, 예컨대, 3-니트로피롤, 4-니트로인돌, 5-니트로인돌, 및 6-니트로인돌을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0085] LPA RNAi 작제물에 포함될 수 있는 다른 적합한 변형된 염기는 문헌[Herdewijn, Antisense Nucleic Acid Drug Dev., Vol. 10: 297-310, 2000 및 Peacock *et al.*, J. Org. Chem., Vol. 76: 7295-7300, 2011]에 기재되어 있는 것을 포함한다. 당업자는 구아닌, 시토신, 아데닌, 티민, 및 우라실이 이러한 대체 핵 염기를 보유하는 뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드의 염기쌍 특성을 실질적으로 변경시키지 않으면서 다른 핵염기, 예컨대, 상기 기재된 변형된 핵염기에 의해 대체될 수 있음을 잘 알고 있다.

[0086] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 센스 및 안티센스 가닥은 하나 이상의 무염기 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. "무염기 뉴클레오티드" 또는 "무염기 뉴클레오시드"는 리보스 당의 1' 위치에 핵염기가 결여된 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드이다. 특정 실시형태에서, 무염기 뉴클레오티드는 RNAi 작제물의 센스 및/또는 안티센스 가닥의 말단으로 혼입된다. 일 실시형태에서, 센스 가닥은 이의 3' 말단, 이의 5' 말단, 또는 이의 3' 및 5' 말단 둘 다에서 말단 뉴클레오티드로서 무염기 뉴클레오티드를 포함한다. 다른 실시형태에서, 안티센스 가닥은 이의 3' 말단, 이의 5' 말단, 또는 이의 3' 및 5' 말단 둘 다에서 말단 뉴클레오티드로서 무염기 뉴클레오티드를 포함한다. 무염기 뉴클레오티드가 말단 뉴클레오티드인 이러한 실시형태에서, 이는 반전된 뉴클레오티드일 수 있다 - 즉, 천연의 3'-5' 뉴클레오티드간 연결 대신 3'-3' 뉴클레오티드간 연결(가닥의 3' 말단에 있을 때)을 통해 또는 5'-5' 뉴클레오티드간 연결(가닥의 5' 말단에 있을 때)을 통해 인접 뉴클레오티드에 연결될 수 있다. 또한, 무염기 뉴클레오티드는 당 변형, 예컨대, 전술한 임의의 당 변형을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 무염기 뉴클레오티드는 2'-변형, 예컨대, 2'-플루오로 변형, 2'-O-메틸 변형, 또는 2'-H (데옥시) 변형을 포함한다. 일 실시형태에서, 무염기 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형을 포함한다. 다

른 실시형태에서, 무염기 뉴클레오티드는 2'-H 변형을 포함한다(즉, 데옥시 무염기 뉴클레오티드임).

[0087] 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 또한 하나 이상의 변형된 뉴클레오티드 결합을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "변형된 뉴클레오티드간 연결"은 천연 3'에서 5'의 포스포디에스테르 연결 이외의 뉴클레오티드간 연결을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 인-함유 뉴클레오티드간 연결, 예컨대, 포스포트리에스테르, 아미노알킬 포스포트리에스테르, 알킬포스포네이트(예를 들어, 메틸포스포네이트, 3'-알킬렌 포스포네이트), 포스피네이트, 포스포라미데이트(예를 들어, 3'-아미노포스포라미데이트 및 아미노알킬포스포라미데이트), 포스포로티오에이트(P=S), 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 티오노포스포라미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 보라노포스페이트이다. 일 실시형태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 2' 내지 5' 포스포디에스테르 연결이다. 다른 실시형태에서, 변형된 뉴클레오티드간 연결은 비-인-함유 뉴클레오티드간 연결이므로, 변형된 뉴클레오시드간 연결로 지칭될 수 있다. 이러한 비-인-함유 연결은 모르폴리노 연결(뉴클레오시드의 당 부분으로부터 부분적으로 형성됨); 실록산 연결($-O-Si(H)_2-O-$); 설파이드, 설폭사이드 및 설폰 연결; 포름아세틸 및 티오포름아세틸 연결; 알켄 함유 골격; 설파메이트 골격; 메틸렌메틸이미노($-CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-$) 및 메틸렌하이드라지노 연결; 설포네이트 및 설폰아미드 연결; 아미드 연결; 및 N, O, S 및 $CH_2$ 성분 부분이 혼합된 다른 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, 변형된 뉴클레오시드간 연결은 펩티드-기반 연결(예를 들어, 아미노에틸글리신), 이어서, 펩티드 핵산 또는 PNA, 예컨대, 미국 특허 제5,539,082호; 제5,714,331호; 및 제5,719,262호에 기재된 것들을 생성한다. 다른 적당한 변형된 뉴클레오티드간 및 LPA RNAi 작제물에 사용될 수 있는 뉴클레오시드간 연결은 미국 특허 제6,693,187호, 미국 특허 제9,181,551호, 미국 특허 공개 제2016/0122761호, 및 문헌[Deleavey and Damha, Chemistry and Biology, Vol. 19: 937-954, 2012]에 기재되어 있다.

[0088] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 하나 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결은 LPA RNAi 작제물의 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 가닥에 존재할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 센스 가닥은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개, 또는 그 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 다른 실시형태에서, 안티센스 가닥은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개, 또는 그 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 양쪽 가닥은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개, 또는 그 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. LPA RNAi 작제물은 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 가닥의 3'-말단, 5'-말단, 또는 3'- 및 5'-말단 양쪽에 하나 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함할 수 있다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 가닥의 3'-말단에 약 1 내지 약 6개 또는 그 이상의 (예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6개 또는 그 이상의) 연속 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 가닥의 5'-말단에 약 1 내지 약 6개 또는 그 이상의 (예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6개 또는 그 이상의) 연속 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 하나 또는 둘 모두의 가닥이 하나 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결을 포함하는 임의의 실시형태에서, 가닥 내의 나머지 뉴클레오티드간 연결은 천연 3'에서 5'의 포스포디에스테르 연결일 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 센스 및 안티센스 가닥의 각각의 뉴클레오티드간 연결은 포스포디에스테르 및 포스포로티오에이트로부터 선택되며, 여기서 적어도 하나의 뉴클레오티드간 연결은 포스포로티오에이트이다.

[0089] 본 발명의 RNAi 작제물의 일부 실시형태에서, 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 안티센스 및 센스 가닥 둘 다의 5' 말단은 포스페이트 모이어티를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "포스페이트 모이어티"는 변형되지 않은 포스페이트(-O-P=O)(OH)OH)는 뿐만 아니라 변형된 포스페이트를 포함하는 말단 포스페이트 기를 지칭한다. 변형된 포스페이트는 하나 이상의 O 및 OH 기가 H, O, S, N(R) 또는 알킬로 대체된 포스페이트를 포함하며, 여기서 R은 H, 아미노 보호 기 또는 치환되지 않은, 또는 치환된 알킬이다. 예시적인 포스페이트 모이어티는 5'-모노포스페이트; 5'디포스페이트; 5'-트리포스페이트; (7-메틸화 또는 비-메틸화된) 5'-구아노신 캡; 5'-아데노신 캡 또는 임의의 다른 변형된 또는 변형되지 않은 뉴클레오티드 캡 구조; 5'-모노티오포스페이트(포스포로티오에이트); 5'-모노디티오포스페이트(포스포로디티오에이트); 5'-알파-티오트리포스페이트; 5'-감마-티오트리포스페이트, 5'-포스포라미데이트; 5'-비닐포스페이트; 5'-알킬포스포네이트(예를 들어, 알킬 = 메틸, 에틸, 이소프로필, 프로필 등); 5'-사이클로프로필 포스포네이트 및 5'-알킬에테르포스포네이트(예를 들어, 알킬에테르 = 메톡시메틸, 에톡시메틸, 등)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0090] 본 발명의 방법에서 사용하는 데 적합한 LPA RNAi 작제물에 혼입될 수 있는 변형된 뉴클레오티드는 본 명세서에 기재된 하나 초과의 화학적 변형을 가질 수 있다. 예를 들어, 변형된 뉴클레오티드는 리보스 당에 대한 변형은 물론 핵염기에 대한 변형을 가질 수 있다. 예로서, 변형된 뉴클레오티드는 2' 당 변형(예를 들어, 2'-플루오로 또는 2'-O-메틸)을 포함할 수 있으며, 변형된 염기(예를 들어 5-메틸 시토신 또는 슈도우라실)를 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, 변형된 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드가 폴리뉴클레오티드에 통합될 때 변형된 뉴클레오티드간 또는 뉴클레오시드간 연결을 생성하는 5' 포스페이트에 대한 변형과 조합된 당 변형을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 변형된 뉴클레오티드는 당 변형, 예컨대, 2'-플루오로 변형, 2'-O-메틸 변형, 또는 이환식 당 변형, 뿐만 아니라 5' 포스포로티오에이트 기를 포함할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 RNAi 작제물의 하나 또는 둘 모두의 가닥은 2' 변형된 뉴클레오티드 또는 BNA 및 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결의 조합을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 RNAi 작제물의 센스 및 안티센스 가닥 둘 모두는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 및 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결의 조합을 포함한다.

[0091] *LPA* 유전자는 대부분 간에서 발현된다. 따라서, 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물을 간 세포에 특이적으로 전달하는 것이 바람직하다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 아래에 더욱 상세하게 기재되는 바와 같이 다양한 접근을 이용하여 LPA RNAi 작제물을 간세포(예를 들어, 간세포)에 특이적으로 보내는 표적화 모이어티를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 표면-발현 아시알로당단백질 수용체(ASGR) 또는 이들의 구성성분(예를 들어, ASGR1, ASGR2)에 결합하는 리간드를 포함하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0092] 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 간 세포 표면에 발현된 단백질에 결합하거나 이와 상호작용하는 리간드를 사용함으로써 간을 특이적으로 표적화할 수 있다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 리간드는 간세포상에서 발현된 수용체, 예컨대, 아시알로당단백질 수용체 및 LDL 수용체에 특이적으로 결합하는 항원 결합 단백질(예를 들어, 항체 또는 이의 결합 단편(예를 들어, Fab, scFv))을 포함할 수 있다. 일 특정 실시형태에서, 리간드는 ASGR1 및/또는 ASGR2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 다른 실시형태에서, 리간드는 ASGR1 및/또는 ASGR2에 특이적으로 결합하는 항체의 Fab 단편을 포함한다. "Fab 단편"은 1개의 면역글로불린 경쇄(즉, 경쇄 가변 영역(VL) 및 불변 영역(CL)) 및 1개의 면역글로불린 중쇄의 CH1 영역 및 가변 영역(VH)으로 구성된다. 다른 실시형태에서, 리간드는 ASGR1 및/또는 ASGR2에 특이적으로 결합하는 항체의 단쇄 가변 항체 단편(scFv 단편)을 포함한다. "scFv 단편"은 항체의 VH 및 VL 영역을 포함하고, 여기서 이들 영역은 단일 폴리펩티드 쇄에 존재하고, 선택적으로 Fv가 항원 결합을 위하여 원하는 구조를 형성할 수 있게 하는 펩티드 링커를 VH 및 VL 영역 사이에 포함한다. 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 표적화 모이어티에서 아시알로당단백질 수용체 리간드로서 사용될 수 있는 ASGR1에 특이적으로 결합하는 예시적인 항체 및 이의 결합 단편은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용되는 WIPO 공개 번호 WO 2017/058944에 기재되어 있다. LPA RNAi 작제물에서 표적화 모이어티로서 사용하는 데 적합한 ASGR1, LDL 수용체, 또는 다른 간 표면-발현 단백질에 특이적으로 결합하는 다른 항체 또는 이의 결합 단편은 상업적으로 입수 가능하다.

[0093] 특정 실시형태에서, 표적화 모이어티는 탄수화물을 포함한다. "탄수화물"은 각각의 탄소 원자에 결합된 산소, 질소 또는 황 원자를 갖는 적어도 6개의 탄소 원자(선형, 분지형 또는 환식일 수 있음)를 갖는 하나 이상의 단당류 단위로 이루어진 화합물을 지칭한다. 탄수화물은 당(예를 들어, 단당류, 이당류, 삼당류, 사당류 및 약 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개의 단당류 단위를 함유하는 올리고당류) 및 다당류, 예컨대, 전분, 글리코겐, 셀룰로스 및 다당류 검을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티에 혼입되는 탄수화물은 펜토스, 헥소스, 또는 헵토스로부터 선택된 단당류 및 이러한 단당류 단위를 포함하는 이당류 및 삼당류이다. 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티에 혼입된 탄수화물은 아미노 당, 예컨대, 갈락토사민, 글루코사민, N-아세틸갈락토사민, 및 N-아세틸글루코사민이다.

[0094] 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 글루코스, 갈락토스, 갈락토사민, 글루코사민, N-아세틸글루코사민, N-아세틸-갈락토사민, 또는 임의의 앞서 언급한 것의 유도체를 포함하는 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함한다. 특정 실시형태에서, 아시알로당단백질 수용체 리간드는 N-아세틸-갈락토사민(GalNAc) 또는 이의 유도체를 포함한다. 글루코스, 갈락토스, 및 GalNAc를 포함하는 리간드는 간세포의 표면에서 발현된 ASGR에 결합하므로 이러한 리간드가 화합물을 간세포로 표적화하는 데 특히 효과적이다. 예를 들어, 문헌[D'Souza and Devarajan, J. Control Release, Vol. 203: 126-139, 2015]을 참조한다. 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 표적화 모이어티에 혼입될 수 있는 GalNAc- 또는 갈락토스-함유 리간드의 예는 미국 특허 제7,491,805호; 제8,106,022호; 및 제8,877,917호; 및 제10,246,709호; 미국 특허 공개 번호 20030130186; 및 WIPO 공개 번호

WO2013166155에 기재되어 있으며, 이들 모두는 그 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0095] 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물에서 표적화 모이어티는 다가 탄수화물 모이어티를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "다가 탄수화물 모이어티"는 다른 분자와 독립적으로 결합하거나 상호작용할 수 있는 2개 이상의 탄수화물 단위를 포함하는 모이어티를 지칭한다. 예를 들어, 다가 탄수화물 모이어티는 2개 이상의 상이한 분자 또는 동일한 분자 상의 2개 이상의 상이한 부위에 결합할 수 있는 탄수화물로 조성된 둘 이상의 결합 도메인을 포함한다. 탄수화물 모이어티의 원자가는 탄수화물 모이어티 내의 개별 결합 도메인의 수를 나타낸다. 예를 들어, 탄수화물 모이어티와 관련하여 용어 "1가", "2가", "3가" 및 "4가"는 각각 1, 2, 3 및 4개의 결합 도메인을 갖는 탄수화물 모이어티를 지칭한다. 다가 탄수화물 모이어티는 다가 락토스 모이어티, 다가 갈락토스 모이어티, 다가 글루코스 모이어티, 다가 N-아세틸-갈락토사민 모이어티, 다가 N-아세틸-글루코사민 모이어티, 다가 만노스 모이어티, 또는 다가 푸코스 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 다가 갈락토스 모이어티를 포함한다. 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티는 다가 N-아세틸-갈락토사민 모이어티를 포함한다. 이러한 실시형태 및 다른 실시형태에서, 다가 탄수화물 모이어티는 2가, 3가, 또는 4가일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 다가 탄수화물 모이어티는 바이-안테너리(bi-antennary) 또는 트리-안테너리(tri-antennary)일 수 있다. 일 특정 실시형태에서, 다가 N-아세틸-갈락토사민 모이어티는 3가 또는 4가이다. 다른 특정 실시형태에서, 다가 갈락토스 모이어티는 3가 또는 4가이다.

[0096] 표적화 모이어티는 LPA RNAi 작제물의 RNA 분자에 직접적 또는 간접적으로 부착 또는 접합될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 LPA RNAi 작제물의 센스 또는 안티센스 가닥에 직접 공유적으로 부착된다. 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티는 링커를 통해 LPA RNAi 작제물의 센스 또는 안티센스 가닥에 공유적으로 부착된다. 표적화 모이어티는 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 폴리뉴클레오티드(예를 들어, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥)의 핵염기, 당 모이어티, 또는 뉴클레오티드간 연결에 부착될 수 있다. 퓨린 핵염기 또는 이의 유도체에 대한 접합 또는 부착은 내환식 및 외환식 원자를 포함하는 임의의 위치에서 일어날 수 있다. 특정 실시형태에서, 퓨린 핵염기의 2-, 6-, 7-, 또는 8-위치는 표적화 모이어티에 부착된다. 피리미딘 핵염기 또는 이의 유도체에 대한 접합 또는 부착은 또한 임의의 위치에서 일어날 수 있다. 일부 실시형태에서, 피리미딘 핵염기의 2-, 5- 및 6-위치는 표적화 모이어티에 부착될 수 있다. 뉴클레오티드의 당 모이어티에 대한 접합 또는 부착은 임의의 탄소 원자에서 일어날 수 있다. 표적화 모이어티에 부착될 수 있는 당 모이어티의 예시적인 탄소 원자는 2', 3', 및 5' 탄소 원자를 포함한다. 1' 위치는 또한 무염기 뉴클레오티드와 같은 표적화 모이어티에 부착될 수 있다. 뉴클레오티드간 연결은 또한, 표적화 모이어티 부착을 지지할 수 있다. 인-함유 연결(예를 들어, 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로아미데이트 등)의 경우, 표적화 모이어티는 인 원자에 직접 또는 인 원자에 결합된 O, N, 또는 S 원자에 부착될 수 있다. 아민- 또는 아미드-함유 뉴클레오시드간 연결(예를 들어, PNA)의 경우, 표적화 모이어티는 아민 또는 아미드의 질소 원자 또는 인접한 탄소 원자에 부착될 수 있다.

[0097] 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 또는 안티센스 가닥의 3' 또는 5' 말단에 부착될 수 있다. 특정 바람직한 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된다. 이러한 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 5'-말단의 뉴클레오티드에 부착된다. 이러한 실시형태 및 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 5'-말단 뉴클레오티드의 5'-위치에 부착된다. 반전된 무염기 뉴클레오티드 또는 반전된 데옥시리보뉴클레오티드가 센스 가닥의 5' 말단 뉴클레오티드이고 5'-5' 뉴클레오티드간 연결을 통해 인접 뉴클레오티드에 연결되는 실시형태에서, 표적화 모이어티는 반전된 무염기 뉴클레오티드 또는 반전된 데옥시리보뉴클레오티드의 3'-위치에 부착될 수 있다. 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 3' 말단에 공유적으로 부착된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 3'-말단 뉴클레오티드에 부착된다. 이러한 특정 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 3'-말단 뉴클레오티드의 3'-위치에 부착된다. 반전된 무염기 뉴클레오티드 또는 반전된 데옥시리보뉴클레오티드가 센스 가닥의 3' 말단 뉴클레오티드이고 3'-3' 뉴클레오티드간 연결을 통해 인접 뉴클레오티드에 연결되는 실시형태에서, 표적화 모이어티는 반전된 무염기 뉴클레오티드 또는 반전된 데옥시리보뉴클레오티드의 5'-위치에 부착될 수 있다. 대안적인 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 3' 말단 근처에, 그러나 하나 이상의 말단 뉴클레오티드 전에(즉 1, 2, 3, 또는 4 말단 뉴클레오티드 전에) 부착된다. 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 3'-말단 뉴클레오티드의 당의 2'-위치에 부착된다. 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티는 센스 가닥의 5'-말단 뉴클레오티드의 당의 2'-위치에 부착된다.

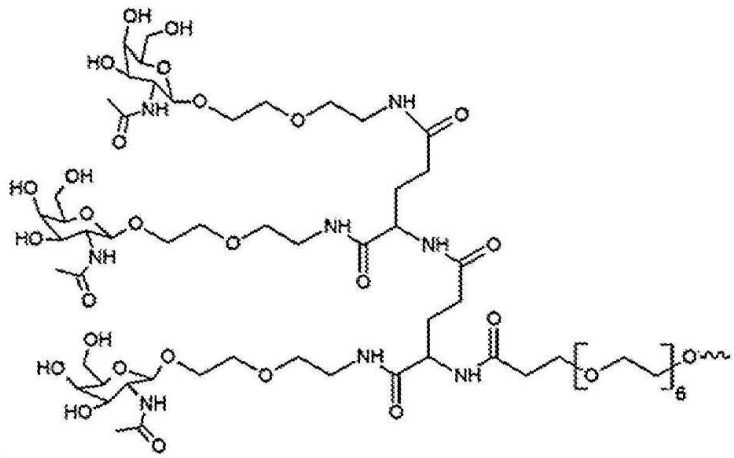
[0098] 특정 실시형태에서, 표적화 모이어티는 링커를 통해 센스 또는 안티센스 가닥에 부착된다. "링커"는 리간드를 LPA RNAi 작제물의 폴리뉴클레오티드 성분에 공유 결합시키는 원자 또는 원자 그룹이다. 링커는 약 1 내지 약

30개 원자 길이, 약 2 내지 약 28개 원자 길이, 약 3 내지 약 26개 원자 길이, 약 4 내지 약 24개 원자 길이, 약 6 내지 약 20개 원자 길이, 약 7 내지 약 20개 원자 길이, 약 8 내지 약 20개 원자 길이, 약 8 내지 약 18개 원자 길이, 약 10 내지 약 18개 원자 길이, 및 약 12 내지 약 18개 원자 길이일 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 이작용성 연결 모이어티를 포함할 수 있으며, 이는 일반적으로 2개의 작용기를 갖는 알킬 모이어티를 포함한다. 작용기 중 하나는 관심 화합물(예를 들어, RNAi 작제물의 센스 또는 안티센스 가닥)에 결합하도록 선택되고, 다른 하나는 본 명세서에 기재된 표적화 모이어티 또는 이의 구성성분과 같은 임의의 선택된 기를 본질적으로 결합하도록 선택된다. 특정 실시형태에서, 링커는 사슬 구조 또는 반복 단위의 올리고머, 예컨대, 에틸렌 글리콜 또는 아미노산 단위를 포함한다. 이작용성 연결 모이어티에 전형적으로 사용될 수 있는 작용기의 예는 친핵성 기와 반응하기 위한 친전자체 및 친전자성기와 반응하기 위한 친핵체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 이작용성 연결 모이어티는 아미노, 하이드록실, 카복실산, 티올, 불포화(예를 들어, 이중 또는 삼중 결합) 등을 포함한다.

[0099] 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물에서 센스 또는 안티센스 가닥에 표적화 모이어티를 부착하기 위해 사용될 수 있는 링커는 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥탄산, 석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트, 6-아미노헥산산, 치환된 $C_1$-$C_{10}$ 알킬, 치환 또는 비치환된 $C_2$-$C_{10}$ 알케닐 또는 치환 또는 비치환된 $C_2$-$C_{10}$ 알키닐을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이러한 링커에 대한 바람직한 치환기는 하이드록실, 아미노, 알콕시, 카복시, 벤질, 페닐, 니트로, 티올, 티오알콕시, 할로겐, 알킬, 아릴, 알케닐 및 알키닐을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물에서 센스 또는 안티센스 가닥에 표적화 모이어티를 부착하기에 적합한 다른 유형의 링커는 당업계에 공지되어 있으며, 미국 특허 제7,723,509호; 제8,017,762호; 제8,828,956호; 제8,877,917호; 및 제9,181,551호에 기재되어 있는 링커를 포함할 수 있다.

[0100] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 센스 또는 안티센스 가닥에 공유적으로 부착된 표적화 모이어티는 GalNAc 모이어티, 예를 들어 다가 GalNAc 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 다가 GalNAc 모이어티는 3가 GalNAc 모이어티이며, 센스 가닥의 3' 말단에 부착된다. 다른 실시형태에서, 다가 GalNAc 모이어티는 3가 GalNAc 모이어티이며, 센스 가닥의 5' 말단에 부착된다. 또 다른 실시형태에서, 다가 GalNAc 모이어티는 4가 GalNAc 모이어티이며, 센스 가닥의 3' 말단에 부착된다. 또 다른 실시형태에서, 다가 GalNAc 모이어티는 4가 GalNAc 모이어티이며, 센스 가닥의 5' 말단에 부착된다.

[0101] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 다음의 구조식[구조 1]을 갖는 표적화 모이어티를 포함한다:



[0102]

[0103] 바람직한 실시형태에서, 이 구조를 갖는 표적화 모이어티는 포스포로티오에이트 또는 포스포디에스테르 결합을 통해 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된다.

[0104] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용하기에 적합한 LPA RNAi 작제물은,

[0105] 각각 약 19 내지 약 23개의 뉴클레오티드 길이이되, 안티센스 가닥이 *LPA* mRNA 서열에 상보성인 서열을 포함하고, 센스 가닥이 안티센스 가닥의 서열에 상보성인 서열을 포함하는, 센스 가닥 및 안티센스 가닥; 및

[0106] 표적화 모이어티가 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된, 아시알로당단백질 수용체 리간드를 포함하는 표

적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 2개의 평활 말단을 갖는다. 예를 들어, 일부 이러한 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 21개의 뉴클레오티드 길이이고, 서로 혼성화되어 21개 염기쌍 길이인 듀플렉스 영역을 형성한다. 다른 이러한 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 19개의 뉴클레오티드 길이이고, 서로 혼성화되어 19개 염기쌍 길이인 듀플렉스 영역을 형성한다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 2개의 뉴클레오티드 돌출부를 갖는다. 하나의 이러한 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 (i) 각각 21개 뉴클레오티드 길이인 센스 가닥 및 안티센스 가닥, (ii) 19개 염기쌍 길이인 듀플렉스 영역, 및 (iii) 센스 가닥의 3' 말단 및 안티센스 가닥의 3' 말단 모두의 2개의 짝지어지지 않은 뉴클레오티드의 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다.

[0107] 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 3가 GalNAc 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용된 미국 특허 제10,246,709호에 기재된 임의의 3가 GalNAc 모이어티를 포함한다. 하나의 바람직한 실시형태에서, 표적 모이어티는 위에 기재된 구조 1의 구조식을 갖는다.

[0108] 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물의 안티센스 가닥은 NCBI 참조 서열 NM_005577.4에 제시된 인간 *LPA* mRNA 전사체의 뉴클레오티드 2706 내지 2726, NCBI 참조 서열 NM_005577.4에 제시된 인간 *LPA* mRNA 전사체의 뉴클레오티드 2697 내지 2726, 또는 NCBI 참조 서열 NM_005577.4에 제시된 인간 *LPA* mRNA 전사체의 뉴클레오티드 2708 내지 2725에 실질적으로 상보성 또는 완전히 상보성인 서열을 포함한다. 이러한 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 이 영역을 표적화하는 안티센스 가닥에 실질적으로 상보성 또는 완전히 상보성인 센스 가닥을 포함할 수 있다. 따라서, 이들 실시형태에서, 센스 가닥은 NCBI 참조 서열 NM_005577.4에 제시된 인간 *LPA* mRNA 전사체의 뉴클레오티드 2706 내지 2726, 뉴클레오티드 2697 내지 2726, 또는 뉴클레오티드 2708 내지 2725와 동일한 서열을 포함할 수 있다.

[0109] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 센스 가닥은 5' - GCCCCUUAUUGUUAUACG - 3'(서열번호 1)의 서열을 포함한다. 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물의 안티센스 가닥은 5' - CGUAUAACAAUAAGGGGC - 3'(서열번호 2)의 서열을 포함한다.

[0110] 본 발명의 방법에서 사용하기에 적합한 LPA RNAi 작제물의 예는 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용되는 WO 2017/059223에 기재되어 있다. WO 2017/059223에 기재된 듀플렉스 AD03851, AD03853 및 AD03536은 본 발명의 방법에서 특히 유용하다. 특정 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 5' - CAGCCCCUUAUUGUUAUACGA - 3'(서열번호 3)의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 센스 가닥 및 5' - UCGUAUAACAAUAAGGGGCUG - 3'(서열번호 4)의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다. 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 5' - csagccccuUfAfUfuguuauacgs(invdA) - 3'(서열번호 5)의 서열에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 센스 가닥 및 5' - usCfsgUfaUfaacaaUfaAfgGfgGfcsUfsg - 3'(서열번호 6)의 서열에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하되, a, g, c 및 u는 각각 2'-O-메틸 아데노신, 2'-O-메틸 구아노신, 2'-O-메틸 사이티딘 및 2'-O-메틸우리딘이고; Af, Gf, Cf 및 Uf는 각각 2'-데옥시-2'-플루오로("2'-플루오로") 아데노신, 2'-플루오로 구아노신, 2'-플루오로 사이티딘 및 2'-플루오로 우리딘이며; invdA는 역 데옥시아데노신 (3'-3' 연결된 뉴클레오티드)이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다. 일부 이러한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 구조 1의 구조식을 갖는 표적화 모이어티는 포스포로티오에이트 연결을 통해 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된다.

[0111] 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 5' - GCCCCUUAUUGUUAUACGAUU - 3'(서열번호 7)의 서열을 포함하는 센스 가닥 및 5' - UCGUAUAACAAUAAGGGGCUU - 3'(서열번호 8)의 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다. 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 5' - gsccccuUfAfUfuguuauacgauus(invAb) - 3'(서열번호 9)의 서열에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 센스 가닥 및 5' - usCfsgUfaUfaacaaUfaAfgGfgGfcsusu - 3'(서열번호 10)의 서열에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하되, a, g, c 및 u는 각각 2'-O-메틸 아데노신, 2'-O-메틸 구아노신, 2'-O-메틸 사이티딘 및 2'-O-메틸우리딘이고; Af, Gf, Cf 및 Uf는 각각 2'-데옥시-2'-플루오로 ("2'-플루오로") 아데노신, 2'-플루오로 구아노신, 2'-플루오로 사이티딘 및 2'-플루오로 우리딘이며; invAb는 역 무염기 뉴클레오티드(3'-3' 연결된 뉴클레오티드)이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다. 일부 이러한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 구조 1의 구조식을 갖는 표적화 모이어티는 포스포로티오에이트 연결을 통해 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된다. 다른 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용되는 LPA RNAi 작제물은 5' - (invAb)GfcCfcCfuUfAfUfuGfuUfaUfaCfgausu(invAb) - 3'(서열번호 11)의 서열에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 센스 가닥 및 5' -

usCfsgsUfaUfaAfCfAfauaAfgGfgGfcusu - 3'(서열번호 12)의 서열에 따른 변형된 뉴클레오티드의 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하되, a, g, c 및 u는 각각 2'-O-메틸 아데노신, 2'-O-메틸 구아노신, 2'-O-메틸 사이티딘 및 2'-O-메틸우리딘이고; Af, Gf, Cf 및 Uf는 각각 2'-데옥시-2'-플루오로 ("2'-플루오로") 아데노신, 2'-플루오로 구아노신, 2'-플루오로 사이티딘 및 2'-플루오로 우리딘이며; invAb는 역 무염기 뉴클레오티드(가닥의 5' 말단 상에 있을 때 5'-5' 연결된 뉴클레오티드 및 가닥의 3' 말단 상에 있을 때 3'-3' 연결된 뉴클레오티드)이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다. 일부 이들 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 구조 1의 구조식을 갖는 표적화 모이어티는 포스포디에스테르 연결을 통해 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된다.

[0112] 특정 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따른 환자에게 투여되는 LPA RNAi 작제물은 올파시란이다. 올파시란의 구조는 도 1에서 개략적으로 나타내고, 또한 올파시란이 듀플렉스 번호 AD03851로서 나타나는 WO 2017/059223에 기재되어 있다. 올파시란은 2개의 별개의 가닥 - 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 이중-가닥 siRNA 분자이며, 이들 각각은 21개의 뉴클레오티드 길이이다. 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 핵염기 서열은 서로 완전히 상보성이며, 혼성화되어 21개의 염기쌍 길이의 듀플렉스를 형성한다. 올파시란의 센스 가닥 및 안티센스 가닥에 대한 뉴클레오티드 서열은 각각 서열번호 3 및 서열번호 4에 제시된다. 올파시란의 센스 가닥과 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오티드를 포함하고, 각 가닥에 대해 변형된 서열은 서열번호 5(센스 가닥) 및 서열번호 6(안티센스 가닥)에 제시된다. 구조 1의 구조식을 갖는(그리고 도 1에 R1로서 다시 제시하는) 3가 GalNAc 모이어티는 포스포로티오에이트 연결에 의해 올파시란의 센스 가닥의 5' 말단에 공유적으로 부착된다. 용어 올파시란은 도 1에 나타낸 화합물뿐만 아니라 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 나트륨 염의 유리산을 지칭한다.

[0113] 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물은 당업계에 공지된 기술, 예를 들어 통상적인 핵산 고상 합성법을 사용하여 용이하게 제조될 수 있다. RNAi 작제물의 폴리뉴클레오티드는 표준 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드 전구체(예를 들어, 포스포르아미다이트)를 사용하여 적합한 핵산 합성기에 조립될 수 있다. 자동화된 핵산 합성기는 Applied Biosystems(캘리포니아주 포스터 시티)로부터의 DNA/RNA 합성기, BioAutomation(텍사스주 어빙 소재)로부터의 MerMade 합성기, 및 GE Healthcare Life Sciences(펜실베이니아주 피츠버그 소재)로부터의 OligoPilot 합성기를 포함하여, 여러 공급업체에서 상업적으로 시판된다. LPA RNAi 작제물을 합성할 뿐만 아니라 표적화 모이어티를 선택하기 위한 예시적인 방법은 WO 2017/059223 및 미국 특허 제10,246,709호의 실시예에 기재되어 있으며, 이들 둘 다 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용된다.

[0114] 2' 실릴 보호기는 포스포르아미다이트 화학을 통해 올리고뉴클레오티드를 합성하기 위해 리보뉴클레오시드의 5' 위치에서 산 불안정한 디메톡시트리틸(DMT)과 함께 사용될 수 있다. 최종 탈보호 조건은 RNA 생성물을 현저하게 분해하지 않는 것으로 알려져 있다. 모든 합성은 임의의 자동 또는 수동 합성기에서 대규모, 중규모, 또는 소규모로 수행될 수 있다. 합성은 또한 다수의 웰 플레이트, 칼럼 또는 유리 슬라이드에서 수행될 수 있다.

[0115] 2'-O-실릴기는 플루오라이드 이온에의 노출을 통해 제거될 수 있으며, 플루오라이드 이온의 임의의 공급원, 예를 들어, 무기 반대이온과 짝을 이루는 플루오라이드 이온을 함유하는 염, 예를 들어, 세슘 플루오라이드 및 칼륨 플루오라이드 또는 유기 반대이온과 짝을 이루는 플루오라이드 이온을 함유하는 염, 예를 들어, 테트라알킬암모늄 플루오라이드를 포함할 수 있다. 탈보호 반응에서 크라운 에테르 촉매가 무기 플루오라이드와 함께 사용될 수 있다. 바람직한 플루오라이드 이온 공급원은 테트라부틸암모늄 플루오라이드 또는 아미노하이드로플루오라이드(예를 들어, 이극성 비양자성 용매, 예를 들어, 디메틸포름아미드에서 수성 HF를 트리에틸아민과 조합함)이다.

[0116] 포스파이트 트리에스테르 및 포스포트리에스테르에 사용하기 위한 보호기의 선택은 플루오라이드에 대한 트리에스테르의 안정성을 변경할 수 있다. 포스포트리에스테르 또는 포스파이트 트리에스테르의 메틸 보호는 플루오라이드 이온에 대한 연결을 안정화시키고 공정 수율을 향상시킬 수 있다.

[0117] 리보뉴클레오시드는 반응성 2' 하이드록실 치환기를 갖기 때문에, 5'-O-디메톡시트리틸 보호기에 직교하는 보호기, 예를 들어, 산으로 처리하기에 안정적인 보호기로 RNA에서 반응성 2' 위치를 보호하는 것이 바람직할 수 있다. 실릴 보호기는 이 기준을 만족시키며, 최종 플루오르화물 탈보호 단계에서 용이하게 제거되어 최소 RNA 분해를 초래할 수 있다.

[0118] 테트라졸 촉매는 표준 포스포르아미다이트 커플링 반응에 사용될 수 있다. 바람직한 촉매는 예를 들어, 테트라졸, S-에틸-테트라졸, 벤질티오테트라졸, p-니트로페닐테트라졸을 포함한다.

[0119] 당업자에 의해 이해될 수 있는 바와 같이, 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물을 합성하는 추가의 방법은 당업자에게 명백할 것이다. 또한, 원하는 화합물을 제공하기 위해 다양한 합성 단계가 교대 서열 또는 순서로 수행될 수 있다. RNAi 작제물을 합성하는 데 유용한 다른 합성 화학 변형, 보호기(예를 들어, 하이드록실의 경우, 염기 상에 존재하는 아미노 등) 및 보호기 방법(보호 및 탈보호)은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 문헌 [R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2d. Ed., John Wiley and Sons (1991); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); 및 L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995)] 및 이들의 후속판에 기재된 것을 포함한다. RNAi 제제의 맞춤 합성은 또한 Agilent Technologies(캘리포니아주 산타클라라 소재), Nitto Denko Avecia(매사추세츠주 밀포드 소재), Dharmacon, Inc.(콜로라도주 라파예트 소재), AxoLabs GmbH(독일 쿨바흐 소재) 및 Ambion, Inc.(캘리포니아주 포스터 시티 소재)를 포함하는 여러 상업적 공급업자로부터 입수 가능하다.

[0120] LPA RNAi 작제물은 일반적으로 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 희석제를 포함할 수 있는 약제학적 조성물로 환자에게 투여된다. 따라서, 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 LPA RNAi 작제물 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물 및 제형을 포함한다. 임상적 적용을 위해, 약제학적 조성물 및 제형은 의도한 적용에 적절한 형태로 제조될 수 있다. 일반적으로, 이것은 본질적으로 발열원뿐만 아니라 인간 또는 동물에게 해로울 수 있는 다른 불순물이 없는 조성물의 제조를 수반할 것이다.

[0121] "약제학적으로 허용되는" 또는 "약리학적으로 허용되는"이라는 어구는 동물 또는 인간에게 투여될 때 유해, 알레르기 또는 기타 부반응을 일으키지 않는 분자 개체 및 조성물을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제"는 약제, 예컨대, 인간에게 투여하기에 적합한 약제를 제형화하는데 사용하는데 허용가능한 용매, 완충제, 용액, 분산 매질, 코팅제, 항균제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 약제학적으로 활성인 물질을 위한 이러한 매질 및 작용제의 사용은 당업계에 잘 알려져 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 제제가 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물과 양립할 수 없는 경우를 제외하고는, 치료 조성물에서 이의 사용이 고려된다. 보충 활성 성분은 또한 조성물의 LPA RNAi 작제물을 불활성화시키지 않는다면 조성물에 혼입될 수 있다.

[0122] 약제학적 조성물의 제형화를 위한 조성물 및 방법은 투여 경로, 치료될 질환 또는 장애의 유형 및 정도, 또는 투여량을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다수의 기준에 의존한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 의도된 전달 경로에 기초하여 제형화된다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 약제학적 조성물은 비경구 전달용으로 제형화된다. 비경구 전달 형태는 정맥 내, 동맥 내, 피하, 척수강 내, 복강 내 또는 근육 내 주사 또는 주입을 포함한다. 일 실시형태에서, 약제학적 조성물은 정맥 내 전달용으로 제형화된다. 다른 실시형태에서, 약제학적 조성물은 피하 전달용으로 제형화된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 유효량의 LPA RNAi 작제물을 포함한다. 유효량의 LPA RNAi 작제물, 특히 올파시란은 본 명세서에 기재된 임의의 용량일 수 있다.

[0123] 본 발명의 방법에 따른 LPA RNAi 작제물을 포함하는 약제학적 조성물의 투여는 표적 조직이 상기 경로를 통해 이용 가능한한 임의의 공통 경로를 통해 이루어질 수 있다. 이러한 경로는 비경구(예를 들어, 피하, 근육 내, 복강 내 또는 정맥 내), 경구, 비강, 협측, 피내, 경피 및 설하 경로, 또는 간 조직으로의 직접 주사 또는 간문맥을 통한 전달을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물 또는 LPA RNAi 작제물을 포함하는 약제학적 조성물은 환자에게 비경구로 투여된다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, LPA RNAi 작제물 또는 LPA RNAi 작제물을 포함하는 약제학적 조성물은 정맥내로 투여된다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물 또는 LPA RNAi 약제학적 조성물을 포함하는 약제학적 조성물은 피하로, 예를 들어, 피하 주사에 의해 투여된다. 이러한 실시형태에서, 피하 주사 용적은 약 2 ㎖ 이하, 예를 들어, 약 2 ㎖, 약 1.8 ㎖, 약 1.7 ㎖, 약 1.6 ㎖, 약 1.5 ㎖, 약 1.4 ㎖, 약 1.3 ㎖, 약 1.2 ㎖, 약 1.1 ㎖, 약 1 ㎖, 약 0.9 ㎖, 약 0.8 ㎖, 약 0.7 ㎖, 약 0.6 ㎖, 또는 약 0.5 ㎖이다. 일 실시형태에서, 피하 주사 용적은 약 1 ㎖ 이하이다. 다른 실시형태에서, 피하 주사 용적은 약 1 ㎖이다. 또 다른 실시형태에서, 피하 주사 용적은 약 1.5 ㎖이다.

[0124] 약제학적 조성물이 비경구 주사에 의해 투여되는 실시형태에서, 약제학적 조성물은 주사기로 환자에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 주사기는 약제학적 조성물로 사전 충전된다. 약제학적 조성물이 피하 주사와 같은 비경구 주사에 의해 환자에게 투여되는 다른 실시형태에서, 약제학적 조성물은 자기-투여를 위한 장치를 포함하는 주사 장치에 의해 투여된다. 이러한 장치는 상업적으로 이용 가능하고, 자동주사기, 투약 펜, 미세주입 펌프, 장착형 주사기 및 사전 충전형 주사기를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 본 발명의 방법에 따른

유효량의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란)을 포함하는 약제학적 조성물을 투여하기 위한 예시적인 장치는 자동주사기(예를 들어, SureClick®, EverGentle®, Avanti®, DosePro®, Molly® 및 Leva®), 펜 주사 장치(예를 들어, Madie® 펜 주사기, DCP쎄 펜 주사기, BD Vystra™ 일회용 펜, BD™ 재사용 가능한 펜) 및 사전 충전형 주사기(BD Sterifill™, BD Hypak™, Baxter로부터의 사전 충전형 주사기)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 유효량의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란)을 포함하는 약제학적 조성물은 사전 충전형 주사기에 의해 환자에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 유효량의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란)을 포함하는 약제학적 조성물은 자동주사기에 의해 환자에게 투여된다. 특정 이러한 실시형태에서, 주사기, 자동주사기, 또는 다른 주사 장치의 주사 용적은 약 2 ㎖ 이하, 예를 들어, 약 2 ㎖, 약 1.8 ㎖, 약 1.7 ㎖, 약 1.6 ㎖, 약 1.5 ㎖, 약 1.4 ㎖, 약 1.3 ㎖, 약 1.2 ㎖, 약 1.1 ㎖, 약 1 ㎖, 약 0.9 ㎖, 약 0.8 ㎖, 약 0.7 ㎖, 약 0.6 ㎖, 또는 약 0.5 ㎖이다. 일 실시형태에서, 주사기, 자동주사기, 또는 다른 주사 장치의 주사 용적은 약 1 ㎖ 이하이다. 다른 실시형태에서, 주사기, 자동주사기, 또는 다른 주사 장치의 주사 용적은 약 1 ㎖이다. 또 다른 실시형태에서, 주사기, 자동주사기, 또는 다른 주사 장치의 주사 용적은 약 1.5 ㎖이다.

[0125] 콜로이드 분산 시스템, 예컨대, 거대 분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로스피어, 비드 및 수중유 에멀션, 미셀, 혼합 미셀 및 리포좀을 포함한 지질-기반 시스템이 본 발명의 LPA RNAi 작제물의 전달 비히클로서 사용될 수 있다. 본 발명의 핵산의 전달에 적합한, 상업적으로 이용 가능한 지방 에멀션은 Intralipid®(Baxter International Inc.), Liposyn®(Abbott Pharmaceuticals), Liposyn®II(Hospira), Liposyn®III(Hospira), Nutrilipid(B. Braun Medical Inc.), 및 기타 유사한 지질 에멀션을 포함한다. 생체내에서 전달 비히클로서 사용하기에 바람직한 콜로이드 시스템은 리포솜(즉, 인공 막 비히클)이다. LPA RNAi 작제물은 리포좀 내에 캡슐화될 수 있거나, 또는 리포좀, 특히 양이온성 리포좀과 복합체를 형성할 수 있다. 대안적으로, LPA RNAi 작제물은 지질, 특히 양이온성 지질에 복합체화될 수 있다. 적합한 지질 및 리포좀은 중성(예를 들어, 디올레오일포스파티딜 에탄올아민(DOPE), 디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC), 및 디팔미토일 포스파티딜콜린(DPPC)), 디스테아로일포스파티딜 콜린), 음성(예를 들어, 디미리스토일포스파티딜 글리세롤(DMPG)), 및 양이온성(예를 들어, 디올레오일테트라메틸아미노프로필(DOTAP) 및 디올레오일포스파티딜 에탄올아민(DOTMA))을 포함한다. 이러한 콜로이드 분산 시스템의 제조 및 사용은 당업계에 잘 알려져 있다. 예시적인 제형은 또한 미국 특허 제5,981,505호; 미국 특허 제6,217,900호; 미국 특허 제6,383,512호; 미국 특허 제5,783,565호; 미국 특허 제7,202,227호; 미국 특허 제6,379,965호; 미국 특허 제6,127,170호; 미국 특허 제5,837,533호; 미국 특허 제6,747,014호; 및 WO03/093449에 개시되어 있다.

[0126] 일부 실시형태에서, LPA RNAi 작제물은 예를 들어, SNALP 또는 다른 핵산-지질 입자를 형성하기 위해 지질 제형으로 완전히 캡슐화된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "SNALP"는 안정한 핵산-지질 입자를 지칭한다. SNALP는 일반적으로 양이온성 지질, 비 양이온성 지질, 및 입자의 응집을 방지하는 지질(예를 들어, PEG-지질 접합체)을 함유한다. SNALP는 정맥 주사 후 연장된 순환 수명을 나타내고 말단 부위(예를 들어, 투여 부위와 물리적으로 분리된 부위)에 축적되기 때문에 전신 적용에 매우 유용하다. 핵산-지질 입자는 전형적으로 약 50 nm 내지 약 150 nm, 약 60 nm 내지 약 130 nm, 약 70 nm 내지 약 110 nm, 또는 약 70 nm 내지 약 90 nm의 평균 직경을 가지며, 실질적으로 비독성이다. 또한, 핵산-지질 입자에 존재할 때 핵산은 수용액에서 뉴클레아제에 의한 분해에 내성이 있다. 핵산-지질 입자 및 이의 제조 방법은 예를 들어, 미국 특허 제5,976,567호; 제5,981,501호; 제6,534,484호; 제6,586,410호; 제6,815,432호; 및 PCT 공개 번호 WO96/40964에 개시되어 있다.

[0127] 주사용으로 적합한 LPA RNAi 작제물을 포함하는 약제학적 조성물은 예를 들어, 멸균 수용액 또는 분산액 그리고 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 일반적으로, 이들 제제는 용이한 주사 가능성이 존재하는 정도로 멸균되고 유동적이다. 제제는 제조 및 저장 조건 하에서 안정하여야 하고, 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염 작용으로부터 보존되어야 한다. 적당한 용매 또는 분산 매질은 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 적합한 혼합물 및 식물성 오일을 함유할 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산물의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산, 티메로살 등에 의해 유발될 수 있다. 많은 경우에, 등장화제, 예를 들어, 당 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사 가능한 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 제제의 조성물에서, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴의 사용에 의해 유발될 수 있다.

[0128] 멸균 주사용 용액은 원하는 양의 임의의 다른 성분과 함께(예를 들어 상기 열거한 바와 같이) 적절한 양의 활성

화합물을 용매에 혼입시킨 후 여과 멸균함으로써 제조할 수 있다. 일반적으로, 분산액은 염기성 분산 매질 및 예를 들어, 위에 열거된 것들로부터 원하는 다른 성분을 함유하는 살균 비히클 내에 다양한 살균된 활성 성분을 포함시키는 것에 의해 제조된다. 살균 주사가능 용액의 제조를 위한 살균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 활성 성분(들)에 더하여 임의의 부가적인 요망되는 성분의 분말을 미리 살균-여과한 이의 용액으로부터 생산하는 진공-건조 및 동결-건조 기법을 포함한다.

[0129] 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 조성물은 일반적으로 중성 또는 염 형태로 제형화될 수 있다. 약제학적으로-허용가능한 염은 예를 들어, 무기산(예를 들어, 염산 또는 인산) 또는 유기산(예를 들어, 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 만델산 등)으로부터 유도된 산 부가 염(유리 아미노기로 형성됨)을 포함한다. 유리 카복실기로 형성된 염은 또한 무기 염기(예를 들어, 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 또는 수산화 제2철)로부터 또는 유기 염기(예를 들어, 이소프로필아민, 트리메틸아민, 히스티딘, 프로카인 등)로부터 유래될 수 있다. LPA RNAi 작제물의 나트륨염은 인간 대상체에 대한 치료적 투여에 특히 유용하다. 따라서, 특정 바람직한 실시형태에서, LPA RNAi 작제물, 특히 올파시란은 나트륨 염의 형태이다. 다른 실시형태에서, LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란)은 칼륨염의 형태이다.

[0130] 수용액에서의 비경구 투여를 위해, 예를 들어, 용액은 일반적으로 적절하게 완충되고, 액체 희석제는 먼저 예를 들어 충분한 식염수 또는 글루코스로 등장성이 된다. 이러한 수용액은 예를 들어, 정맥 내, 근육 내, 피하, 및 복강 내 투여에 사용될 수 있다. 바람직하게는, 특히 본 발명에 비추어 당업자에게 공지된 멸균 수성 매질이 사용된다. 예를 들어, 단일 용량을 등장성 NaCl 용액 1 ㎖에 용해시키고 1000 ㎖의 피하주사액에 첨가하거나, 제안된 주입 또는 주사 부위에 주사할 수 있다(예를 들어, 문헌["Remington's Pharmaceutical Sciences" 15th Edition, 페이지 1035-1038 및 1570-1580]). 인간 투여의 경우, 제제는 FDA 표준에서 요구하는 무균성, 발열성, 일반적인 안전 및 순도 표준을 충족해야 한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 약제학적 조성물은 멸균 식염수 용액 및 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란)을 포함하거나, 이들로 이루어진다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 약제학적 조성물은 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란) 및 멸균 수(예를 들어, 주사용수, WFI)를 포함하거나 이로 구성된다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 약제학적 조성물은 본 명세서에 기재된 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란) 및 인산염 완충 식염수(PBS)를 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0131] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 심혈관 질환 위험을 치료하거나, 개선시키거나, 예방하거나 감소시키는 데 유용한 약제학적 조성물은 유효량의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 인산칼륨 완충제 및 염화나트륨을 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 10 ㎎/㎖ 내지 약 200 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 5 mM 내지 약 30 mM 인산칼륨, 및 약 20 mM 내지 약 160 mM 염화나트륨을 포함한다. 다른 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 65 ㎎/㎖ 내지 약 85 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 15 mM 내지 약 25 mM 인산칼륨, 및 약 70 mM 내지 약 90 mM 염화나트륨을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 140 ㎎/㎖ 내지 약 160 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 15 mM 내지 약 25 mM 인산칼륨, 및 약 30 mM 내지 약 50 mM 염화나트륨을 포함한다. 임의의 이들 약제학적 조성물의 pH는 약 6.4 내지 약 7.2(예를 들어, 약 6.4, 약 6.6, 약 6.8, 약 7.0, 또는 약 7.2의 pH)의 범위일 수 있다.

[0132] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 투여될 약제학적 조성물은 6.8 ± 0.2의 pH에서 약 10 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 5 mM 내지 약 15 mM 인산칼륨, 및 약 135 mM 내지 약 155 mM 염화나트륨을 포함한다. 일 실시형태에서, 약제학적 조성물은 6.8의 pH에서 약 10 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 10 mM 인산칼륨, 및 약 145 mM 염화나트륨을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 투여될 약제학적 조성물은 6.8 ± 0.2의 pH에서 약 75 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 15 mM 내지 약 25 mM 인산칼륨, 및 약 70 mM 내지 약 90 mM 염화나트륨을 포함한다. 하나의 이러한 실시형태에서, 약제학적 조성물은 6.8의 pH에서 약 75 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 20 mM 인산칼륨, 및 약 80 mM 염화나트륨을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 투여될 약제학적 조성물은 6.8 ± 0.2의 pH에서 약 150 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 15 mM 내지 약 25 mM 인산칼륨, 및 약 30 mM 내지 약 50 mM 염화나트륨을 포함한다. 하나의 특정 실시형태에서, 약제학적 조성물은 6.8의 pH에서 약 150 ㎎/㎖의 LPA RNAi 작제물(예를 들어, 올파시란), 약 20 mM 인산칼륨, 및 약 40 mM 염화나트륨을 포함한다.

[0133] 본 명세서에 기재된 임의의 LPA RNAi 작제물은 위에 기재된 임의의 약제학적 조성물에 혼입될 수 있고, 본 발명의 방법에 따라 환자에게 투여된다. 특정 실시형태에서, 위에 기재된 임의의 약제학적 조성물에 혼입되고 본 발

명의 방법에 따라 환자에게 투여되는 LPA RNAi 작제물은 올파시란이다.

[0134] 일부 실시형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 투여 장치, 예컨대, 위에 기재된 임의의 주사 장치(예를 들어, 사전 충전형 주사기, 자동주사기, 주사 펌프, 장착형 주사기 및 주사펜)에 의해 패키징되거나 투여 장치 내에 보관된다. 에어로졸화 또는 분말 제형을 위한 장치는 흡입기, 취입기, 흡인기 등을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 따라서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 하나 이상의 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 포함하는 투여 장치를 포함한다.

[0135] 수행된 실험 및 달성된 결과가 포함되는 하기 실시예는 단지 예시적 목적을 위해 제공되며 첨부되는 청구범위의 범위를 제한하는 것으로 간주되어서는 안 된다.

[0136] **실시예**

[0137] **실시예 1. 상승된 혈장 지방단백질(a)을 갖는 대상체에서의 올파시란의 안전성, 내약성, 약물동력학 및 약력학을 평가하기 위한 1상, 무작위, 이중맹검, 위약-통제, 단일 상승 용량 연구**

[0138] 멘델 및 유행병학 무작위화 연구는 심근경색증 및 다른 죽상경화성 합병증에 대한 강한 원인 위험 인자로서 최근에 확립된 지방단백질(a)(Lp(a))을 가진다. Lp(a)를 선택적으로 표적화하고 심혈관 사건에서 감소를 입증한 현재 승인된 의약품은 없다. 올파시란(AMG 890으로도 알려짐)은 *LPA* 유전자로부터 전사된 mRNA를 표적화함으로써 Lp(a)의 생산을 감소시키도록 설계된 siRNA이다. 올파시란의 구조를 도 1에 나타낸다.

[0139] 이런 1상 연구는 미국 및 오스트레일리아의 8개 지역에서 수행한 상승된 혈장 Lp(a)를 갖는 대상체에서 무작위화, 이중맹검, 위약-통제, 단일-상승 용량 연구였다. 대략 80명의 대상체를 9개의 단일 상승 용량 코호트에 등록하도록 계획하였고; 각 코호트에서, 대상체를 올파시란 또는 위약을 투여받도록 3:1로 무작위화하였다.

[0140] 적격 대상체는 임신 가능성이 없는 여성 및 남성이었고, 여성과 남성 모두 코호트 1 내지 5의 경우 18 내지 60세(18세와 60세를 포함)였고; 코호트 6 내지 9의 경우 18 내지 65세(18세와 65세를 포함)였다. 코호트 1 내지 5의 경우, 혈장 Lp(a) 농도는 선별 시 70 nmol/*이상 내지 199 nmol/ℓ 이하였고; 코호트 6 내지 9의 경우, 혈장 Lp(a) 농도는 선별 시 200 nmol/*이상이었고; 코호트 6 내지 9의 경우, 각 코호트에서 적어도 6명의 대상체는 등록 시 적어도 6주 동안 스타틴의 안정적인 용량을 받았다. 대상체는 무작위화 시 의학적 병력의 임의의 임상적으로 유의미한 이상이 없었다.

[0141] 사전동의서를 제공한 후에, 대상체를 28일에 걸쳐 적격에 대해 선별하였고, 제-1일에 연구 시설에 들어갔다. 투약 전 절차의 완료 후, 대상체는 연구 약물(올파시란 또는 위약)의 이들의 용량을 투여받았다. 코호트 1 내지 5의 대상체는 제-1일 내지 제4일에 연구 시설에 머물렀고, 연구 종료까지 평가를 위해 시설로 복귀하였다. 대상체는 코호트 1 내지 5의 경우 각각 3 ㎎, 9 ㎎, 30 ㎎, 75 ㎎ 및 225 ㎎; 및 코호트 6 내지 9의 경우 각각 9 ㎎, 75 ㎎, 225 ㎎ 및 675 ㎎의 단일 피하 용량을 투여받았다(아래의 표 1 참조)).

표 1

단일-상승 용량 연구의 투약 코호트

| 코호트 | 대상체의 수 | 치료 |
|---|---|---|
| 1[a] | 6 | 올파시란 3 mg |
| | 2 | 위약 |
| 2[a] | 6 | 올파시란 9 mg |
| | 2 | 위약 |
| 3[a] | 6 | 올파시란 30 mg |
| | 2 | 위약 |
| 4[a] | 6 | 올파시란 75 mg |
| | 2 | 위약 |
| 5[a] | 6 | 올파시란 225 mg |
| | 2 | 위약 |
| 6[b] | 9 | 올파시란 9 mg |
| | 3 | 위약 |
| 7[b] | 9 | 올파시란 75 mg |
| | 3 | 위약 |
| 8[b] | 6 | 올파시란 225 mg |
| | 2 | 위약 |
| 9[b] | 6 | 올파시란 675 mg |
| | 2 | 위약 |

[a]선별 혈장 Lp(a)가 70 nmol/L 이상 내지 199 nmol/L 이하인 대상체
[b]선별 혈장 Lp(a)가 200 nmol/L 이상인 대상체

[0142]

[0143] 코호트 1 내지 5, 및 코호트 9의 경우, 각 코호트에서 처음 2명의 등록 대상체를 올파시란 또는 위약 중 하나를 1:1비(센티넬 쌍(sentinel pair))로 투여받도록 무작위화하였고, 동일한 연구 현장에서 같은 날에 맹검 방식으로 투약하였다. 연구자가 안전하다고 판단하고 센티넬 쌍의 투약 후 24시간 이상 경과된 경우, 나머지 코호트 대상체에게 동일한 용량을 투여하였다. 코호트 1 내지 5에의 등록은 시차를 두었다. 후속 코호트에는, 용량 수준 검토 팀(Dose Level Review Team: DLRT)이 모든 대상체에 대해 연구 15일 내내 이용 가능한 안전성 데이터에 기반하여 이전 코호트의 용량 요법이 안전하고 합리적으로 잘 용인된다는 것을 확인한 후에 투약하였다. DLRT가 연구 15일 내내 코호트 4에서의 용량 요법이 안전하고 합리적으로 잘 용인된다는 것을 확인한 후에 코호트 5 내지 7에의 등록을 개시하였다. 대상체는 코호트 1 및 2의 경우 제113일에 그리고 코호트 3 내지 7의 경우에 제225일에 치료 종료 평가를 위해 시설에 복귀하였다. 대상체는 Lp(a) 농도가 기준선의 적어도 80%가 될 때까지 (코호트 1 및 2의 경우 대략 2주마다 그리고 코호트 3 내지 7의 경우 매달) 추적을 위해 복귀하였다. 혈액 및 소변 샘플을 올파시란 약물동력학(PK) 및 약력학(PD)의 평가를 위해 연구 내내 수집하였다. 또한 안전성 변수를 정기적으로 평가하였다.

[0144] 1차 종점은 치료 관련(treatment-emergent adverse event: TEAE), 안전성 실험실 분석물, 활력 징후 및 심전도(ECG)에 의해 측정되는 바와 같은 안전성 및 내약성이었다. 2차 종점은 최대 관찰 농도($C_{max}$), 최대 관찰 농도 시간($t_{max}$) 및 농도-시간 곡선하 면적(AUC); 및 각 예정 방문 시 혈장 Lp(a) 수준의 변화 및 변화 백분율을 비롯한 PD 파라미터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 올파시란 PK 파라미터였다. Lp(a)에 대한 기준선 값을 선별 및 제1일 투약 전의 평균으로서 정하였다. 임의의 이유로 하나의 값만을 이용 가능하다면, 해당 값을 기준선으로서 사용하였다. 탐색적 종점은 각 예정 방문 시 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 및 총 아포지방단백질 B(ApoB)의 변화 백분율을 포함하였다.

[0145] 64명의 대상체를 연구에 등록하였고, 올파시란 또는 위약(코호트 1 내지 5: 올파시란, n = 30, 용량: 3 ㎎, 9 ㎎, 30 ㎎, 75 ㎎, 225 ㎎; 위약, n = 10; 코호트 6-7 올파시란, n=18, 용량: 9 ㎎ 및 75 ㎎; 위약, n=6)을 투여하였다. 코호트 1 내지 5(n = 30)에서 올파시란을 투여한 대상체의 경우, 대상체는 평균(SD) 43.9(13.5)세였고, 30.0%는 여성이었으며, 63.3%는 히스패닉 또는 라틴계 인종이었고, 30.0%는 흑인 또는 아프리카계 미국인이었고, 70.0%는 백인이었다. 코호트 1 내지 5(n = 10)에서 위약을 투여한 대상체의 경우, 대상체는 평균(SD) 46.3(8.5)세였고, 30.0%는 여성이었으며, 50.0%는 히스패닉 또는 라틴계 인종이었고, 30.0%는 흑인 또는 아프리

카계 미국인이었고, 70.0%는 백인이었다. 코호트 6 내지 7(n = 18)에서 올파시란을 투여한 대상체의 경우, 대상체는 평균(SD) 52.7(9.4)세였고, 33.3%는 여성이었으며, 27.8%는 히스패닉 또는 라틴계 인종이었고, 88.9%는 백인이었다. 코호트 6 내지 7(n = 6)에서 위약을 투여한 대상체의 경우, 대상체는 평균(SD) 57.8(5.8)세였고, 66.7%는 여성이었으며, 33.3%는 히스패닉 또는 라틴계 인종이었고, 83.3%는 백인이었다. 코호트 6 및 7(n = 24)에 등록한 모든 대상체의 67%는 기준선에서 스타틴을 사용하였다. 대상체는 동반질환이 거의 없었다. 코호트 1 내지 5에서는 지질-조절 의약을 사용하지 않았지만, 코호트 6 및 7에서는 상당한 비율의 대상체에 스타틴 및/또는 에제티미브를 투여하였다. 코호트 1 내지 5에서 위약을 투여받는 대상체에서 중앙값(Q1, Q3) 기준선 Lp(a) 농도는 124 nmol/ℓ(104, 137)였고, 코호트 1 내지 5에서 올파시란을 투여받는 대상체에서 122 nmol/ℓ(97, 146)였다. 코호트 6 내지 7에서 위약을 투여받는 대상체에서 중앙값(Q1, Q3) 기준선 Lp(a) 농도는 272 nmol/ℓ(233, 307)였고, 코호트 6 내지 7에서 올파시란을 투여받는 대상체에서 253 nmol/ℓ(224, 334)였다.

[0146] 올파시란은 잘 용인되는 것으로 나타났다. 치료-관련 심각한 이상 사례는 없었다. 1명의 위약 대상체는 치료와 관련없는 것으로 여겨지는 심각한 비심인성 흉통의 이상 사례가 있었다. 코호트 1 내지 5에서, 가장 통상적인 TEAE는 상기도 감염(10% 위약, 13% 올파시란)이었다. 하기 표 2를 참조한다. 코호트 6 내지 7에서, 가장 통상적인 TEAE는 두통(50% 위약, 28% 올파시란) 및 상기도 감염(17% 위약, 17% 올파시란)이었다(표 2). 연구에서 1명의 대상체만이 주사 부위 반응을 경험하였다. 이상 사례 빈도와의 뚜렷한 용량 관계는 없었다. 간검사, 혈소판 또는 응고 파라미터 또는 신기능의 임상적으로 관련된 변화는 관찰되지 않았다.

*표 2*

**단일 상승 용량 연구에서의 치료 관련 유해 사건**

| | 코호트 1 내지 5<br>70 이상 내지 199 nmol/L 이하의 선별 Lp(a) | | 코호트 6 내지 7<br>200 nmol/L 이상의 선별 Lp(a) | |
|---|---|---|---|---|
| 유해사건 (AE), n (%) | 위약 (N = 10) | 올파시란 (N = 30) | 위약 (N = 6) | 올파시란 (N = 18) |
| 임의의 AE | 5 (50.0) | 12 (40.0) | 4 (66.7) | 10 (55.6) |
| 심각한 AE | 0 | 0 | 1 (16.7) | 0 |
| *코호트에 걸쳐 1명 초과의 대상체에서 생기는 AE* | | | | |
| 두통 | 1 (10.0) | 0 | 3 (50.0) | 5 (27.8) |
| 상기도 감염 | 1 (10.0) | 4 (13.3) | 1 (16.7) | 3 (16.7) |
| 바이러스 상기도 감염 | 0 | 1 (3.3) | 0 | 2 (11.1) |
| 비심인성 흉통 | 1 (10.0) | 1 (3.3) | 1 (16.7) | 0 |
| 증가된 혈액 크레아틴 포스포키나제 | 1 (10.0) | 1 (3.3) | 0 | 0 |
| 요통 | 1 (10.0) | 1 (3.3) | 0 | 3 (16.7) |
| 타박상 | 0 | 1 (3.3) | 0 | 1 (5.6) |
| 피부 찰과상 | 0 | 1 (3.3) | 0 | 1 (5.6) |
| 피로 | 0 | 0 | 1 (16.7) | 1 (5.6) |
| 관절통 | 0 | 1 (3.3) | 0 | 1 (5.6) |
| 비출혈 | 1 (10.0) | 1 (3.3) | 0 | 0 |
| *특별한 관심의 AE* | | | | |
| 주사 부위 반응 | 0 | 1 (3.3) | 0 | 0 |

[0147]

[0148] Lp(a) 억제는 용량-반응 방식으로 일어났다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 코호트 1 내지 5에서, 단일 용량의 올파시란은 제43일에 71 내지 96%(용량 기준) 및 제113일에 80 내지 94%만큼 기준선으로부터의 평균 Lp(a) 수준을 효과적으로 감소시켰다(코호트 2 내지 5). 코호트 6 및 7에서, 단일 용량의 올파시란은 제43일에 각각 75% 및 89%만큼, 그리고 제113일에 각각 61% 및 80%만큼 기준선으로부터의 평균 Lp(a) 수준을 효과적으로 낮추었다(도 2). 제15일에 Lp(a)에서의 급격한 변화가 관찰되었고, 제43일 및 제71일에 최대 Lp(a) 억제가 관찰되었다. Lp(a) 농도는 점진적으로 회복되었지만, 제225일에 위약 수준보다 상당히 낮게 유지되었다. 9 mg 이상의 단일 용량은 Lp(a)의 감소가 3 내지 6개월 동안 지속되도록 야기하였다.

[0149] 7개의 투약 코호트 각각에서 올파시란에 대한 약물동력학 파라미터를 아래의 표 3에 나타낸다. 3, 9, 30, 75 및

225 mg의 단일 용량 후(코호트 1 내지 5), 올파시란은 빠르게 흡수되었고, 기하평균 $C_{max}$는 투약 후 7.5시간 이내에 발생되었다. 기하평균 반감기($t_{1/2}$) 값은 3 내지 8시간의 범위이며, 대대수의 올파시란은 2 내지 3일 이내에 혈청으로부터 제거되었다. 전신 노출은 최대 225 mg의 용량으로 대략 용량 비례 방식으로 증가되었다. 200 nmol/ℓ 이상인 기준선 Lp(a)인 대상체에서의 올파시란 AUC 노출(코호트 6 및 7)은 기준선 Lp(a)가 70 이상 내지 199 nmol/ℓ 이하인 대상체에서 대략 18 내지 33%(코호트 2 및 4)였다.

표 3

단일 상승 용량 연구에서의 올파시란 약물동력학 파라미터

| 용량 | N | $t_{max}$ (hr) | $C_{max}$ (ng/mL) | DN-$C_{max}$ (ng/mL/mg) | $AUC_{inf}$ (hr•ng/mL) | DN-$AUC_{inf}$ (hr•ng/mL/mg) | *$t_{1/2,z}$ (hr) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 mg (코호트1) | 6 | 4.5 (1.0 – 1340) | 11.7 (11.8, 19%) | 3.89 (3.95, 19%) | 172[a] (172, NR%) | 57.3[a] (57.3, NR%) | 7.72[a] (10.2, NR%) |
| 9 mg (코호트2) | 6 | 3.0 (3.0 – 6.0) | 32.7 (36.1, 55%) | 3.63 (4.01, 55%) | 408[b] (427, 34%) | 45.3[b] (47.5, 34%) | 2.83[b] (2.85, 16%) |
| 9 mg (코호트6) | 9 | 3.0 (1.0 – 9.0) | 15.2 (16.8, 41%) | 1.69 (1.87, 41%) | 272[c] (285, 28%) | 30.2[c] (31.6, 28%) | 5.31[c] (5.71, 46%) |
| 30 mg (코호트3) | 6 | 7.5 (1.0 – 9.0) | 71.6 (74.9, 33%) | 2.39 (2.50, 33%) | 1030[c] (1070, 31%) | 33.4[c] (35.7, 31%) | 3.44[c] (3.53, 24%) |
| 75 mg (코호트4) | 6 | 4.5 (0.17 – 9.0) | 218 (252, 61%) | 2.91 (3.36, 61%) | 2500[d] (2520, 17%) | 33.3[d] (33.6, 17%) | 3.63[d] (3.68, 21%) |
| 75 mg (코호트7) | 9 | 6.0 (3.0 – 24) | 97.7 (111, 51%) | 1.30 (1.48, 51%) | 2040[b] (2050, 11%) | 27.2[b] (27.4, 11%) | 5.72[b] (6.22, 43%) |
| 225 mg (코호트5) | 6 | 6.0 (1.0 – 12) | 385 (421, 53%) | 1.71 (1.87, 53%) | 9380[b] (9600, 27%) | 41.7[b] (42.7, 27%) | 6.69 (6.72, 11%) |

중앙값(범위)로 제공되는 $t_{max}$를 제외하고 모든 약물동력학 파라미터의 경우 데이터를 기하평균(평균, CV%)으로서 제공한다. 값은 유효숫자 2개 및 소수점 한 자리로 각각 제공되는 $t_{max}$ 및 CV%를 제외하고 유효숫자 3개로 보고된다.
* 225 mg 용량 그룹에 대한 $t_{½,z}$ 값은 베타 반감기를 나타내고; 다른 용량 그룹은 감마 반감기를 보고한다.
[a]N = 2; [b]N = 4; [c]N = 6; [d]N = 3; [e]N = 5
$t_{max}$, $C_{max}$에 도달하는 시간; $C_{max}$,최대 관찰 약물 농도; DN, 용량 정규화; $AUC_{inf}$,0부터 무한대까지의 혈장 농도 시간 곡선하 면적; $t_{½,z}$,최종 반감기

[0150]

[0151] 1상 연구 결과는 상승된 Lp(a)를 갖는 성인에서, 올파시란의 단일 용량 치료는 잘 용인되며, Lp(a)가 유의하게 감소했으며, 대략 90% 초과의 중앙값 백분율 감소가 관찰되었고, 9 mg 이상의 용량에서 3 내지 6개월 동안 효과가 지속된다는 것을 입증한다. 높은 Lp(a) 그룹(70 이상 내지 199 nmol/ℓ 이하의 Lp(a))에서 75 및 225 mg 용량은 Lp(a) 농도에 대한 효과와 거의 중첩되었고; 유사하게, 9 및 30 mg 용량은 거의 중첩되었다. 그러나, 매우 높은 Lp(a) 그룹(200 nmol/ℓ 이상의 Lp(a))에서 9 및 75 mg 용량은 높은 Lp(a) 코호트에서의 동일한 용량에 비해 기준선으로부터 Lp(a)의 감소된 억제 백분율을 나타냈다.

[0152] 이들 단일, 저용량의 올파시란에 의해 관찰된 Lp(a) 수준 억제의 깊이 및 지속기간은 사이노몰거스 원숭이에서 올파시란의 연구에 기반하여 추정되는 인간 용량으로부터 예상되는 것보다 유의미하게 더 양호하였다. 사이노몰거스 원숭이에서 올파시란에 대한 효능 데이터에 기반하여(예를 들어, WO 2017/059223의 실시예 18), 75 mg의 추정되는 인간 용량은 적어도 1개월 동안 Lp(a) 수준을 약 80%만큼 감소시키는 것으로 예측되었다. 현저하게는, 위에 기재한 바와 같이, 9 mg만큼 낮은 올파시란의 단일 용량은 3개월 초과 동안 인간 대상체에서 Lp(a) 수준을 80% 초과만큼 감소시켰다. 75 mg 및 225 mg의 단일 올파시란 용량은 6개월 초과 동안 Lp(a) 수준을 80% 초과만큼 억제하였다. 따라서, 6개월마다 최대 1회를 포함하여 더 낮은 용량 및 더 긴 투약 간격으로 Lp(a)의 감소를 필요로 하는 인간 환자에게 올파시란을 투여할 수 있다. 이러한 투약 요법은 다수의 상이한 이점, 예컨대, 환자 처방 준수 개선, 의약 비용 감소 및 주사 용적 및 수의 감소를 갖는다.

[0153] **실시예 2. 최적의 Lp(a) 감소에 대한 투약 요법의 설계를 위한 올파시란 PK/PD**

[0154] 실시예 1에 기재한 1상 데이터에 기반하여 상승된 혈장 Lp(a)(코호트 1 내지 5의 경우 70 nmol/*이상 내지 200 nmol/*미만, 코호트 6 내지 7의 경우 200 nmol/*이상)를 갖는 건강한 지원자에서의 올파시란 약물동력학 및 Lp(a) 억제를 특성규명하기 위해 수학적 모델을 개발하였다. 올파시란의 약물동력학(PK)은 피하 투여 부위에서 순환까지의 1차 흡수, 아시알로당단백질 수용체(ASGPR) 흡수를 통한 간까지의 분포, 간으로부터 순환까지 되돌아가는 올파시란의 재순환 및 전신 순환 및 간으로부터의 분해를 통한 제거에 의한 PK 모델을 이용하여 설명하였다. 기준선 Lp(a)을 보정하기 위해 올파시란 혈청 노출을 확인하였다. 따라서, 기준선 Lp(a)에 의해 올파시란 생체이용 가능성을 조절하는 함수를 또한 모델에 포함시켰다. PK/PD 모델을 이용하여 기준선으로부터의 Lp(a)의 억제를 설명하였고, 이에 의해 모델-예측 올파시란 간 농도는 *LPA* mRNA의 분해를 가속화시켜, 간에서의 충분한 올파시란 농도의 지속을 위한 Lp(a)의 감소된 생성 및 억제를 야기하였다. 올파시란 간 농도와 *LPA* mRNA 분해 사이의 관계는 $E_{max}$ 모델을 이용하여 모델링하였다. Lp(a) 억제 정도에 기반하여 *LPA* mRNA 농도의 변화를 추론하였다. Lp(a)의 합성 및 분해 속도는 기준선 Lp(a) 수준에 의해 알려졌으며, 보다 높은 기준선 값은 보다 큰 생산 속도와 관련되었다.

[0155] 모델 개발 동안 그리고 임상 투약 요법 시뮬레이션을 위해 다음의 추정을 하였다:

[0156] a) 150 nmol/ℓ 이상의 기준선 Lp(a) 수준을 갖는 표적 집단의 경우 2상 용량 선택을 위한 시뮬레이션을 수행하였지만, 그러나, 기준선 Lp(a) 값이 70 nmol/ℓ 이상 내지 200 nmol/ℓ 미만 및 200 nmol/ℓ 이상인 대상체로부터 모델 파라미터를 추정함;

[0157] b) 2상 집단에 대한 다회 용량 후 대상체 간 및 대상체 내 가변성은 1상 연구 대상체에 대해 추정된 것과 동일한 것으로 추정함; 및

[0158] c) Lp(a) 억제의 지속기간은 간에서의 모델 예측 올파시란 PK/PD 반감기에 기반하며, 다회 용량 후 반응으로부터의 외삽은 1상 연구로부터 관찰된 억제 및 투약 간격 종료 시 효과의 축적에 기반함.

[0159] 이 모델은 보다 높은 기준선 Lp(a)(150 nmol/ℓ 이상)를 갖는 대상체의 올파시란 노출에서 관찰되는 유의미한 감소를 적절하게 예측할 수 있었고, 이는 이 환자 집단에서 목표 Lp(a) 억제를 달성하기 위해 보다 고용량의 올파시란이 필수적일 수 있다는 것을 시사한다. Q3M 및 Q6M 투약 요법을 탐구하고 다회 용량의 올파시란 후 예측된 Lp(a) 억제를 추론하기 위해 이 모델의 시뮬레이션을 수행하였다. 각각의 제안된 투약 요법의 경우, 목표 Lp(a) 억제(기준선으로부터의 80% 이상 감소)를 달성하는 대상체의 비율 및 투약 간격의 마지막에 50 nmol/ℓ 이하의 절대 Lp(a) 값을 달성하는 대상체의 비율을 계산하였다.

[0160] 도 3a 내지 도 3f는 기준선 Lp(a) 수준이 150 nmol/ℓ 이상인 대상체의 경우 10 mg, 30 mg, 50 mg, 75 mg, 150 mg 및 225 mg 용량의 올파시란의 Q3M 투약을 위한 기준선의 백분율로서 예측된 Lp(a) 수준을 나타낸다. 상기 모델은 10 mg 이상의 용량이 3개월의 투약 간격 내내 Lp(a) 수준을 80% 이상까지 억제할 것임을 예측한다. 아래의 표 4는 각 투약 간격에서 3개월마다 1회(Q3M 투약) 투여한 올파시란의 상이한 용량에 의해 기준선으로부터 Lp(a) 수준의 적어도 80% 감소를 달성하는 대상체의 예측된 비율을 나타내는 반면, 표 5는 동일한 올파시란 투약 요법에 의해 50 nmol/ℓ 이하의 절대 Lp(a) 수준을 달성하는 대상체의 예측 비율을 나타낸다.

표 4

올파시란의 Q3M 투약에 의해 Lp(a)의 80% 이상의 감소를 달성하는 대상체의 예측된 비율

| | 80% 이상의 Lp(a) 감소를 갖는 대상체의 예측% 200회의 시뮬레이션 시험에 대한 중앙값 (95% 예측구간) * | | | |
|---|---|---|---|---|
| 용량 (mg) | 3 개월 | 6 개월 | 9 개월 | 12 개월 |
| 4 | 8 (2 – 14) | 10 (4 – 20) | 12 (4 – 22) | 12 (6 – 20) |
| 6 | 16 (6 – 24) | 20 (14 – 30) | 22 (12 – 30) | 22 (14 – 32) |
| 9 | 28 (16 – 38) | 34 (24 – 44) | 36 (24 – 46) | 38 (28 – 48) |
| 10 | 32 (18 – 40) | 40 (26 – 50) | 42 (30 – 54) | 42 (32 – 54) |
| 30 | 74 (62 – 82) | 78 (68 – 86) | 80 (68 – 86) | 78 (70 – 88) |
| 50 | 86 (78 – 92) | 88 (80 – 94) | 90 (82 – 96) | 90 (82 – 96) |
| 75 | 92 (84 – 96) | 92 (88 – 98) | 94 (88 – 100) | 94 (88 – 100) |
| 150 | 96 (92 – 100) | 96 (92 – 100) | 98 (92 – 100) | 98 (92 – 100) |
| 225 | 98 (94 – 100) | 98 (94 – 100) | 98 (94 – 100) | 98 (94 – 100) |

*시험당 50명의 대상체

[0161]

표 5

올파시란의 Q3M 투약에 의해 50 nmol/L 이하의 절대 Lp(a) 수준을 달성하는 대상체의 예측된 비율

| | 50 nmol/L 이하의 절대 Lp(a) 수준을 달성하는 대상체의 예측% 200회의 시뮬레이션 시험에 대한 중앙값 (95% 예측구간) * | | | |
|---|---|---|---|---|
| 용량 (mg) | 3 개월 | 6 개월 | 9 개월 | 12 개월 |
| 4 | 10 (2 – 16) | 14 (6 – 22) | 14 (6 – 22) | 14 (6 – 22) |
| 6 | 18 (10 – 26) | 22 (12 – 32) | 24 (16 – 32) | 24 (14 – 34) |
| 9 | 28 (20 – 38) | 36 (24 – 46) | 36 (26 – 48) | 36 (26 – 50) |
| 10 | 32 (22 – 42) | 38 (28 – 50) | 40 (30 – 52) | 41 (30 – 52) |
| 30 | 70 (58 – 78) | 74 (62 – 84) | 76 (66 – 84) | 76 (64 – 84) |
| 50 | 82 (72 – 90) | 84 (76 – 92) | 86 (76 – 94) | 86 (76 – 94) |
| 75 | 88 (80 – 96) | 90 (82 – 98) | 90 (84 – 98) | 90 (84 – 96) |
| 150 | 94 (88 – 98) | 96 (90 – 100) | 96 (90 – 100) | 96 (90 – 100) |
| 225 | 96 (92 – 100) | 96 (92 – 100) | 96 (92 – 100) | 96 (92 – 100) |

*시험당 50명의 대상체

[0162]

[0163] 1상 데이터에 기반한 모델 시뮬레이션은 연4회(Q3M) 투여한 10 mg 용량의 올파시란이 150 nmol/*이상의 기준선 Lp(a) 수준을 갖는 대상체의 약 42%가 기준선에서 12개월까지 Lp(a)의 적어도 80% 감소를 달성하게 할 것임을 예측한다. 연4회 투여된 75 mg 이상 용량의 올파시란은 단일 용량의 올파시란을 투여받은 후 3개월만큼 빨리 150 nmol/ℓ 이상의 기준선 Lp(a) 수준을 갖는 대상체의 적어도 90%에서 80% 이상의 Lp(a) 억제를 제공하는 것으로 예측된다. 유사한 비율의 대상체는 이들 동일 투약 요법에 의해 50 nmol/ℓ 이하의 절대 Lp(a) 값을 달성하는 것으로 예측되었다.

[0164] 올파시란의 연2회(Q6M) 투약 요법을 모델링하기 위해 시뮬레이션을 또한 수행하였다. 도 4a 내지 도 4f는 기준선 Lp(a) 수준이 150 nmol/ℓ 이상인 대상체의 경우 10 mg, 75 mg, 150 mg, 225 mg, 450 mg 및 675 mg 용량의

올파시란의 Q6M 투약을 위한 기준선의 백분율로서 예측된 Lp(a) 수준을 나타낸다. 상기 모델은 적어도 75 mg의 용량이 6개월의 투약 간격 내내 Lp(a) 수준을 80% 이상까지 억제할 것임을 예측한다. 아래의 표 6은 각 투약 간격에서 6개월마다 1회(Q6M 투약) 투여한 올파시란의 상이한 용량에 의해 기준선으로부터 Lp(a) 수준의 적어도 80% 감소를 달성하는 대상체의 예측된 비율을 나타내는 반면, 표 7은 동일한 올파시란 투약 요법에 의해 50 nmol/ℓ 이하의 절대 Lp(a) 수준을 달성하는 대상체의 예측 비율을 나타낸다.

표 6

**올파시란의 Q6M 투약에 의해 Lp(a)의 80% 이상의 감소를 달성하는 대상체의 예측된 비율**

| | 80% 이상의 Lp(a) 감소를 갖는 대상체의 예측% 200회의 시뮬레이션 시험에 대한 중앙값(95% 예측구간)* | | | |
|---|---|---|---|---|
| 용량 (mg) | 12 개월 | 24 개월 | 36 개월 | 48 개월 |
| 10 | 4 (2 – 8) | 4 (2 – 9) | 4 (2 – 8) | 4 (2 – 8) |
| 30 | 20 (12 – 30) | 20 (12 – 28) | 20 (12 – 30) | 20 (12 – 30) |
| 50 | 34 (24 – 46) | 36 (26 – 44) | 34 (24 – 46) | 34 (26 – 44) |
| 75 | 48 (36 – 60) | 46 (36 – 60) | 46 (36 – 60) | 47 (36 – 58) |
| 150 | 66 (56 – 76) | 67 (56 – 78) | 68 (56 – 78) | 66 (58 – 78) |
| 225 | 76 (66 – 86) | 76 (66 – 86) | 76 (68 – 86) | 76 (68 – 86) |
| 300 | 82 (72 – 90) | 82 (72 – 90) | 82 (72 – 90) | 82 (72 – 90) |
| 450 | 88 (78 – 94) | 88 (78 – 94) | 88 (78 – 94) | 88 (78 – 94) |
| 675 | 92 (84 – 98) | 92 (84 – 98) | 92 (84 – 98) | 92 (84 – 98) |

* 시험당 50명의 대상체

[0165]

표 7

**올파시란의 Q6M 투약에 의해 50 nmol/L 이하의 절대 Lp(a) 수준을 달성하는 대상체의 예측된 비율**

| | 50 nmol/L 이하의 절대 Lp(a) 수준을 달성하는 대상체의 예측% 200회의 시뮬레이션 시험에 대한 중앙값(95% 예측구간) * | | | |
|---|---|---|---|---|
| 용량 (mg) | 12 개월 | 24 개월 | 36 개월 | 48 개월 |
| 10 | 4 (2 – 10) | 4 (2 – 10) | 5 (2 – 10) | 4 (2 – 10) |
| 30 | 22 (12 – 30) | 22 (12 – 30) | 22 (14 – 32) | 22 (14 – 32) |
| 50 | 34 (24 – 46) | 34 (24 – 46) | 34 (24 – 46) | 34 (24 – 46) |
| 75 | 46 (36 – 58) | 46 (34 – 58) | 46 (36 – 56) | 46 (36 – 58) |
| 150 | 64 (52 – 74) | 64 (54 – 74) | 64 (52 – 74) | 64 (54 – 74) |
| 225 | 72 (62 – 84) | 74 (64 – 82) | 72 (64 – 82) | 74 (62 – 82) |
| 300 | 78 (68 – 86) | 78 (68 – 88) | 78 (70 – 88) | 78 (68 – 88) |
| 450 | 84 (76 – 92) | 84 (76 – 92) | 84 (76 – 94) | 84 (76 – 92) |
| 675 | 88 (80 – 96) | 88 (80 – 96) | 88 (82 – 96) | 88 (80 – 96) |

* 시험당 50명의 대상체

[0166]

[0167] 모델링 데이터는 6개월마다(Q6M) 1회 투여한 적어도 75 mg 용량의 올파시란이 단지 2용량 후(즉, 12개월의 치료 후) 기준선 Lp(a) 수준이 150 nmol/ℓ 이상인 대상체의 약 50%에서 기준선으로부터 Lp(a) 수준을 적어도 80%만큼 감소시키는 것으로 예측된다는 것을 나타낸다. 동일한 비율의 환자는 또한 1년의 치료 후 6개월마다 1회 75 mg의 올파시란 투여에 의해 50 nmol/ℓ 미만의 절대 Lp(a) 수준을 달성하는 것으로 예측된다. 6개월마다 1회 투여한 225 mg 용량의 올파시란이 1년의 치료 후 대상체의 약 76%에서 Lp(a) 수준을 적어도 80%만큼 억제하는 것으

로 예측되는 반면, 6개월마다 1회 투여한 450 mg 이상의 용량은 1년의 치료 후 대상체의 약 90%에서 Lp(a) 수준을 이 역치보다 억제하는 것으로 예측된다.

[0168] 최근의 멘델 무작위 연구에 기반하여, 기준선으로부터 80% 이상의 Lp(a) 수준의 감소는 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 환자에서 임상적으로 의미있는 심혈관 유익을 초래하는 것으로 예상된다(문헌[Burgess *et al.*, JAMA Cardiol., Vol. 3:619-627, 2018; Lamina *et al.*, JAMA Cardiol., Vol. 4: 575-579, 2019; 및 Madsen *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 40:255-266, 2020]). 따라서, 올파시란 PK/PD 모델링은 Lp(a) 수준을 이 역치보다 더 크게 감소시킬 수 있는 올파시란의 투약 요법의 확인에 중점을 두었다. 올파시란 PK/PD 모델링 및 본 실시예에 기재한 시뮬레이션의 결과는 하기를 나타낸다:

[0169] • 3개월마다 1회 또는 12주마다 1회 투여한 10 mg 용량은 12개월까지 기준선 Lp(a) 수준이 150 nmol/ℓ 이상인 대상체의 대략 절반(42%)에서 80% 이상의 Lp(a) 감소를 제공하며, 6 및 12개월에 약 77%의 기준선으로부터의 중앙값 Lp(a) 감소%를 제공함;

[0170] • 3개월마다 1회 또는 12주마다 1회 투여한 75 mg 용량은 대다수(94%)의 대상체에서 2 내지 3회 용량 내에서 기준선으로부터 80% 이상의 Lp(a) 감소를 제공하는 것으로 예상되며, 대략 90%의 대상체는 이 투약 요법에 의해 50 nmol/ℓ 이하의 절대 Lp(a) 농도를 달성하는 것으로 예측됨;

[0171] • 3개월마다 1회 또는 12주마다 1회 투여한 225 mg 용량은 대상체의 98%에서 80% 이상의 Lp(a) 감소를 제공하고 96%의 대상체에서 Lp(a) 수준을 50 nmol/ℓ 이하의 절대 농도로 감소시키는 것으로 예상됨;

[0172] • 10 mg 이상의 용량을 위해 3개월마다 1회 또는 12주마다 1회의 투약 빈도는 150 nmol/ℓ 이상의 기준선 Lp(a) 수준을 갖는 대다수(90% 이상)의 대상체에서 전체 3개월의 투약 간격 내내 기준선의 20% 미만으로 Lp(a) 수준의 억제를 초래함; 및

[0173] • 6개월마다 1회 또는 24주마다 1회 투여한 225 mg의 용량은 기준선으로부터 중앙값 Lp(a)의 88% 감소를 초래하고 대략 74%의 대상체는 50 nmol/ℓ 이하의 절대 Lp(a) 농도를 달성할 것이다.

[0174] **실시예 3. 지방단백질(a)이 상승된 대상체에서 올파시란의 효능, 안전성 및 내약성을 평가하기 위한 이중맹검, 무작위, 위약-통제 2상 연구**

[0175] 이런 2상 연구의 1차 목적은 죽상경화성 심혈관질환 및 상승된 Lp(a)를 갖는 대상체에서 36주의 치료 후 기준선으로부터의 Lp(a) 수준 변화 백분율에 대해 위약과 비교되는 올파시란 12주마다 1회(Q12W)의 피하 투여 효과를 평가하는 것이다. 연구의 2차 목적은: (i) 48주의 치료 후 Lp(a) 수준, (ii) 36 및 48주의 치료 후 저밀도 지방단백질 콜레스테롤(LDL-C) 수준, 및 (iii) 36 및 48주의 치료 후 아포지방단백질 B(ApoB) 수준, 및 올파시란의 약물동력학 특성의 특성규명에서, 기준선으로부터의 변화 백분율에 대해 위약과 비교되는 Q12W 피하로 투여되는 올파시란 효과를 포함한다. 24주마다(Q24W) 1회 올파시란의 투여를 또한 평가한다.

[0176] 대략 240명의 대상체를 1:1:1:1:1비로 무작위화하고, 4개 아암을 올파시란으로 치료하고, 1개의 아암을 위약으로 치료한다. 200 nmol/ℓ 이하 대 200 nmol/ℓ 초과의 Lp(a)를 선별하고 지역에 따라(일본 대 비-일본) 무작위화를 계층화한다. 연구 치료 기간은 48주이며, 용량은 제1일, 제12주, 제24주 및 제36주이다. 48주 후에, 40주 이상 동안 그리고 Lp(a)가 80%의 기준선으로 복귀되는 것 중 더 늦은 시점에 올파시란 또는 위약의 추가 투약 없이 연장된 안전성 추적이 있다. 대상체는 치료 기간 및 연장된 안전성 추적 기간 동안 대상체의 지역 가이드라인에 따라 표준치료(안정적인 지질-변경 요법을 포함)에 남아있다.

[0177] 사전동의서에 서명한 후에, 대상체 적격을 평가하는 동안 대상체는 선별기(최대 4주)에 들어간다. 적격 대상체는 선별 동안 Lp(a)가 150 nmol/ℓ 초과인 죽상경화성 심혈관질환을 갖는 18 내지 80세의 성인을 포함한다. 구체적으로, 대상체는 다음의 핵심 포함 기준을 모두 충족시키는 경우에 연구에 등록한다:

[0178] • 18 내지 80세

[0179] • 중앙 연구소에 의한 선별 동안 150 nmol/ℓ 초과의 Lp(a)

[0180] • 다음 중 하나에 기반한 죽상경화성 심혈관질환:

[0181] o 경피적 관상 동맥 중재술(PCI) 또는 관상동맥우회술(CABG)에 의한 관상동맥 재개통술의 이력;

[0182] o 사전 심근경색증 유무와 상관없이 관상동맥질환의 진단;

[0183] o 죽상경화성 뇌혈관 질환의 진단; 또는

[0184] o 말초동맥질환의 진단

[0185] • 지질-변경 요법(적격에 필요하지 않음)을 투여받는 대상체의 경우, 스타틴 용량을 비롯한 지질 변경 요법이 선별 전 및 선별 동안 4주 이상 동안 지역 가이드라인에 따라 안정적으로 남아있어야 함

[0186] 대상체가 다음의 핵심 배제 기준 중 어느 것을 충족시키는 경우, 대상체를 연구로부터 배제함:

[0187] • 선별 동안 30 ㎖/분/1.73 ㎡ 미만의 추정 사구체여과율(eGFR)로서 정의된 중증의 신기능장애

[0188] • 선별 동안 3X정상상한(ULN) 초과의 아스파르테이트 아미노기전달효소(AST) 또는 알라닌 아미노기전달효소(ALT), 또는 2XULN 초과의 총 빌리루빈(TBL)으로서 정의되는 바와 같은 간 기능장애의 병력 또는 임상 증거

[0189] • 제1일 전 마지막 5년 이내의 악성종양(비-흑색종 피부암, 자궁경부 상피내 암종, 유방 상피내암, 또는 1기 전립선 암종 제외)

[0190] • 휴식 시 160 mmHg 이상의 평균 수축기 혈압 또는 100 mmHg 이상의 평균 확장기 혈압으로서 정의되는, 제1일의 제어되지 않는 고혈압

[0191] • 선별 동안 400 ㎎/dℓ 이상의 공복 트리글리세라이드(4.5 ㎜ol/ℓ)

[0192] • 선별 시 중앙 연구소에 의해 결정된 바와 같이 8.5% 이상의 당화 헤모글로빈(HbA1c)에 의해 결정된 바와 같은 1형 당뇨병 또는 불량하게 제어되는 2형 진성 당뇨병

[0193] 연구에 적격인 대상체는 150 ㎚ol/ℓ 초과의 기준선 Lp(a)를 가진다. 이 역치는 125 ㎚ol/ℓ 초과의 Lp(a)가 일반적 집단 데이터로부터 상승된 것으로 간주된다는 것을 나타내는 이용 가능한 유행병학 데이터에 기반한다(문헌 [Averna *et al*., Atheroscler Suppl., Vol. 26:16-24, 2017; Nordestgaard and Langsted, J. Lipid Res., Vol. 57:1953-75, 2016; Ohro-Melander, J Intern Med., Vol. 278:433-46, 2015; Leebmann *et al*., Circulation, Vol. 128:2567-2576, 2013]). 또한, 심혈관 사건에 대한 대응하는 효과를 입증하는 데 필수적인 절대 Lp(a) 감소 정도에 기반하여, 등록된 집단은 높은 기준선 Lp(a)를 가질 필요가 있다. 따라서, 150 ㎚ol/ℓ 초과의 Lp(a)의 등록 기준은 중앙값 Lp(a)가 대략 200 ㎚ol/ℓ인 연구 집단을 초래하고, 매우 높은 Lp(a)를 갖는 대상체에서의 올파시란의 유효성 및 안전성의 평가를 가능하게 한다.

[0194] 적격 및 등록 대상체를 다음의 5개 처리군 중 하나에 대해 1:1:1:1:1 비로 무작위화하고, 각 그룹에는 대략 48명의 대상체가 있다:

[0195] 그룹 1: 10 ㎎ 올파시란 Q12W

[0196] 그룹 2: 75 ㎎ 올파시란 Q12W

[0197] 그룹 3: 225 ㎎ 올파시란 Q12W

[0198] 그룹 4: 225 ㎎ 올파시란 Q24W

[0199] 그룹 5: 위약 Q12W

[0200] 실시예 2에 기재한 바와 같이, 이들 올파시란 투약 요법은 기준선 Lp(a) 수준이 150 ㎚ol/ℓ 초과인 인간 대상체에서 투약 간격 내내(3개월 또는 6개월) 기준선으로부터 Lp(a) 수준을 적어도 80%만큼 억제하는 것으로 예측된다. 배정된 처리군에 따라 10 ㎎, 75 ㎎ 또는 225 ㎎의 용량에서 12주마다 1회(처리군 1 내지 3) 또는 24주마다 1회(처리군 4) 피하 주사에 의해 올파시란을 투여한다. 혈청 Lp(a), LDL-C 및 ApoB를 평가하기 위한 샘플 및 기타 임상 연구실 분석물을 올파시란의 첫 용량의 투여 전 선별 동안, 그리고 연구 동안 제12주, 제24주, 제36주 및 제48주뿐만 아니라 다른 다양한 시점에 등록 대상체로부터 수집한다. 올파시란 약물동력학 파라미터를 평가하기 위한 연구 동안 다양한 시점에 올파시란의 혈청 농도 측정을 위해 혈액 샘플을 수집한다.

[0201] apo(a) 이소형 크기와 독립적인 Lp(a) 입자를 검출하고 정량화하도록 표준화된 승인 또는 연구 중인 비탁 면역분석, 예컨대, Roche Diagnostics로부터 이용 가능한 Tina-quant® 지방단백질(a) Gen. 2 분석을 이용하여 중앙

연구소에서 Lp(a)에 대한 선별을 수행한다. 검출한계가 7 nmol/ℓ인 혈청 샘플 중 Lp(a)의 nmol/ℓ의 측정을 위해 분석을 입증하고, IFCC 참조 물질 SRM2B에 대해 nmol/ℓ로 표준화한다(Marcovina *et al.*, Clin. Chem., Vol. 46: 1946-1967, 2000). 지질 패널뿐만 아니라 다른 임상 분석물, 예컨대, ApoB, 헤모글로빈 A1C, ALT, AST 및 빌리루빈에 대한 분석을 표준 방법을 이용하여 중앙 연구소가 수행한다.

[0202] 모든 무작위화 대상체가 제36주 평가를 완료할 기회를 갖거나 조기 종결되었을 때 1차 분석이 발생된다. 모든 대상체가 제48주 평가를 완료할 기회를 갖거나 조기 종결되었을 때 치료 기간 분석의 종료가 발생된다. 최종 분석은 마지막 대상체가 연장된 안전성 추적을 완료하고 연구를 종료하거나 연구를 조기에 종결한 후에 발생된다. 1차 종점(제36주에 기준선으로부터의 Lp(a) 변화 백분율)은, 처리군, 계층화 인자, 예정된 방문 및 치료와 예정된 방문의 상호작용을 비롯한 반복 측정 선형 효과 모델을 이용하여 그룹 간에 비교한다. 활성 아암과 위약 아암 사이의 다중 비교를 위해 제일종 오류를 제어하기 위해 호크버그(Hochberg) 절차를 사용한다. 48주에 Lp(a), 36주 및 48주에 ApoB 및 LDL-C의 기준선으로부터의 2차 종점 변화 백분율을 1차 종점과 유사하게 분석하였다. 안전성 종점(예를 들어, 치료 관련 이상 사례)를 기술적으로 요약한다. 기준선 Lp(a)는 연구 전 또는 연구 제1일에 중앙 연구소를 통해 측정한 2개의 가장 최근의 비-상실 Lp(a) 값의 평균으로서 정의한다. 임의의 이유로 하나의 값만을 이용 가능하다면, 해당 값을 기준선으로서 사용한다.

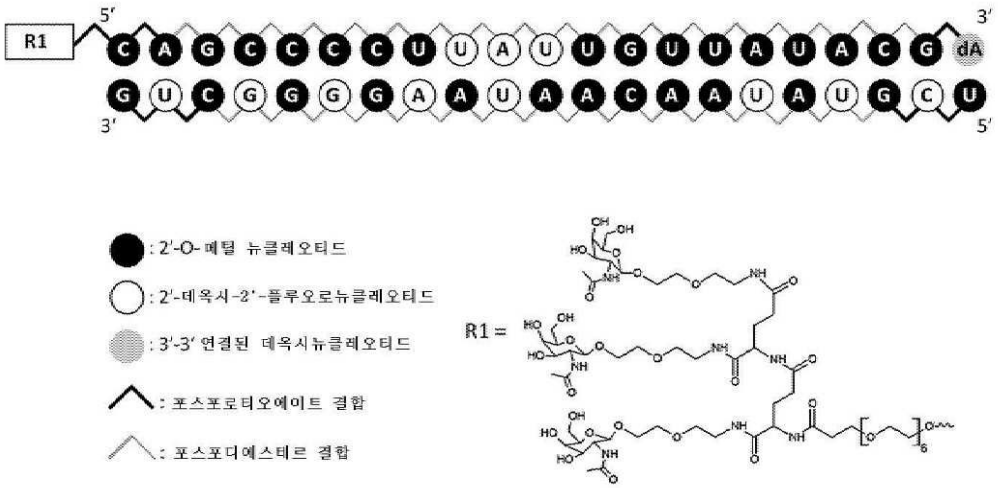
[0203] 3개월 초과 동안 지속되는 단일 용량의 올파시란에 의해 기준선으로부터의 80% 이상의 Lp(a) 감소가 관찰되었고(실시예 1 참조), Lp(a)의 지속적 감소의 이런 수준이 심혈관 사건 위험을 감소시킴으로써 죽상경화성 심혈관질환을 환자에서 임상적으로 의미있는 심혈관 유익을 초래할 수 있다는 것이 예상된다. 최근의 멘델 무작위 연구는 매우 높은 기준선 Lp(a) 농도를 갖는 개체에서, Lp(a)를 80% 내지 90%만큼 감소시키는 것이 심혈관 사건 위험의 임상적으로 의미있는 감소로 해석될 것으로 예상된다는 것을 시사한다(문헌[Burgess *et al.*, JAMA Cardiol., Vol. 3:619-627, 2018; Lamina *et al.*, JAMA Cardiol., Vol. 4: 575-579, 2019; 및 Madsen *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 40:255-266, 2020]). 따라서, 이 연구의 결과는 위약에 비해 올파시란이 시험한 모든 용량에서 죽상경화성 심혈관질환 및 상승된 Lp(a)를 갖는 대상체에서 Lp(a)의 기준선으로부터의 유의미한 감소 백분율을 생성할 것임을 나타내는 것으로 예상된다. 특히, 12주마다 1회 투여한 10 mg만큼 낮은 용량의 올파시란이 Lp(a) 수준을 대다수의 대상체에서 50 nmol/ℓ 미만까지 효과적으로 감소시키고, 이는 이러한 대상체에서 심혈관 사건의 위험 감소를 초래하는 것으로 예상된다는 것이 예상된다. 12주마다 1회 75 mg의 용량을 투여한 올파시란이 실시예 2에 기재한 PK/PD 모델링에 기반한 특히 효과적인 투약 요법인 것으로 예상된다.

[0204] 본 명세서에 논의되고 인용된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 그 전체가 본 명세서에 참고로 포함된다. 개시된 발명은, 기재된 특정 방법, 프로토콜 및 물질이 변할 수 있으므로, 이들로 제한되지 않음이 이해된다. 또한, 본 명세서에 사용된 용어가 단지 특정 실시 형태를 설명하는 목적을 위한 것이며 첨부된 청구범위의 범주를 제한하고자 하는 것이 아님이 이해된다.

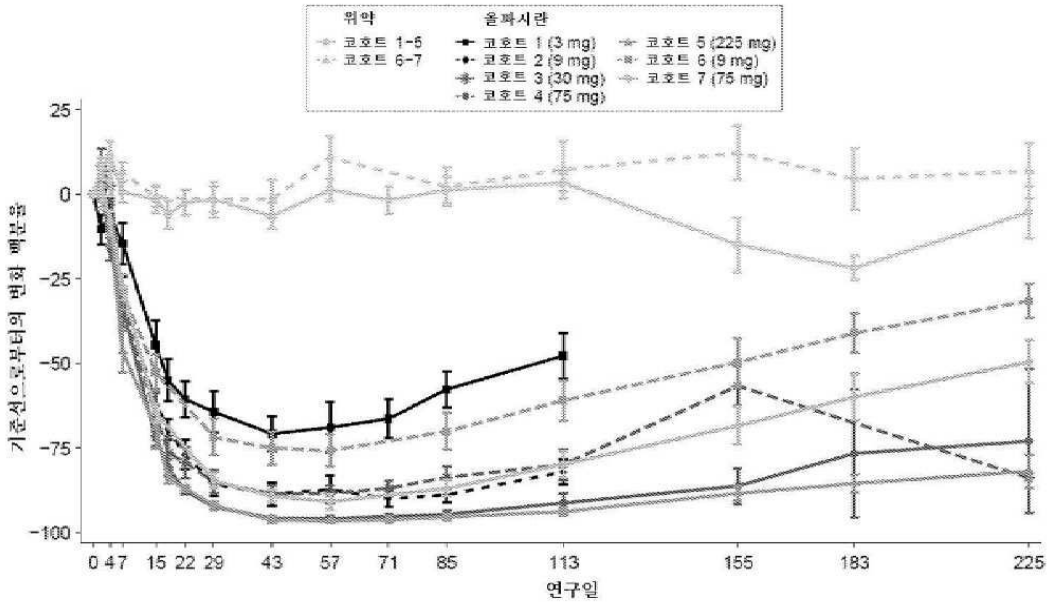
[0205] 당업자는 본 명세서에 기술된 본 발명의 구체적인 실시형태에 대한 많은 균등물을 인식하거나, 일상적인 실험만으로도 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 하기 청구범위에 포함되는 것으로 의도된다.

## 도면

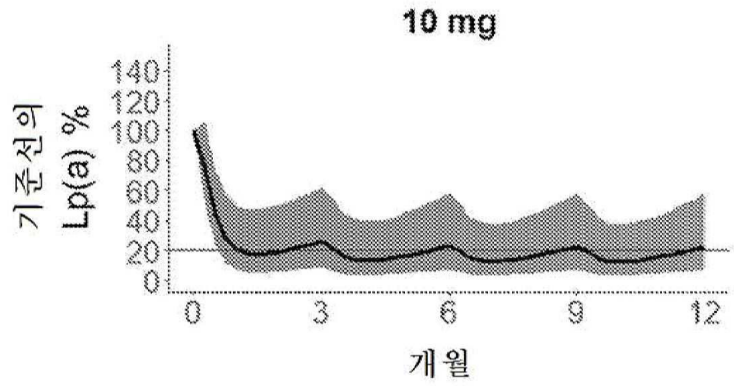
### 도면1


R1
5′
3′
3′
5′
C A G C C C C U U A U U G U U A U A C G dA
G U C G G G G A A U A A C A A U A U G C U
: 2′-O-메틸 뉴클레오티드
: 2′-데옥시-2′-플루오로뉴클레오티드
: 3′-3′ 연결된 데옥시뉴클레오티드
: 포스포로티오에이트 결합
: 포스포디에스테르 결합
R1 =

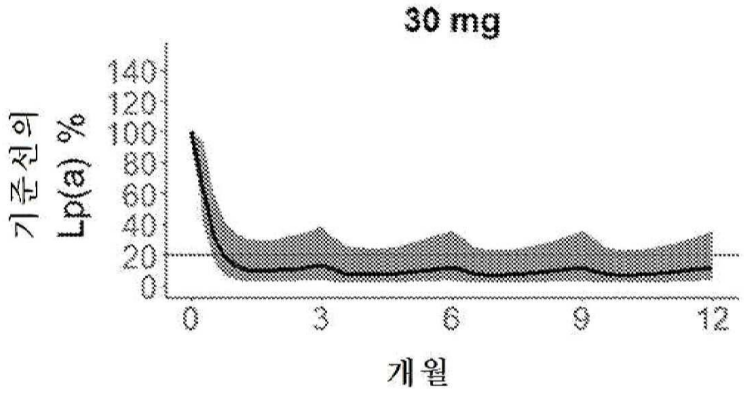
### 도면2


위약
코호트 1-5
코호트 6-7
올파시란
코호트 1 (3 mg)
코호트 2 (9 mg)
코호트 3 (30 mg)
코호트 4 (75 mg)
코호트 5 (225 mg)
코호트 6 (9 mg)
코호트 7 (75 mg)
기준선으로부터의 변화 백분율
25
0
-25
-50
-75
-100
0 4 7 15 22 29 43 57 71 85 113 155 183 225
연구일

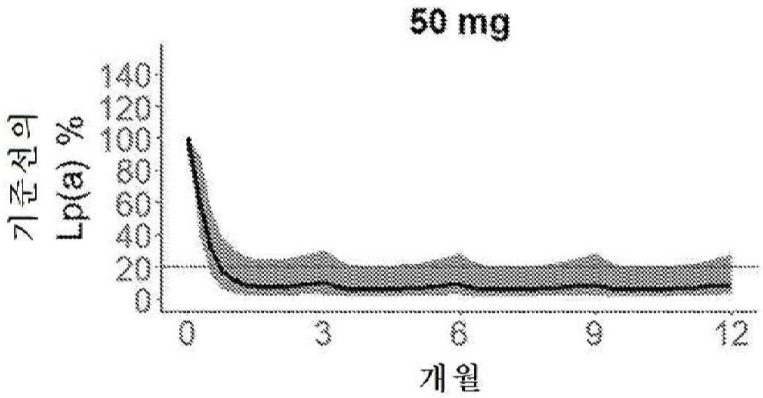
도면3a



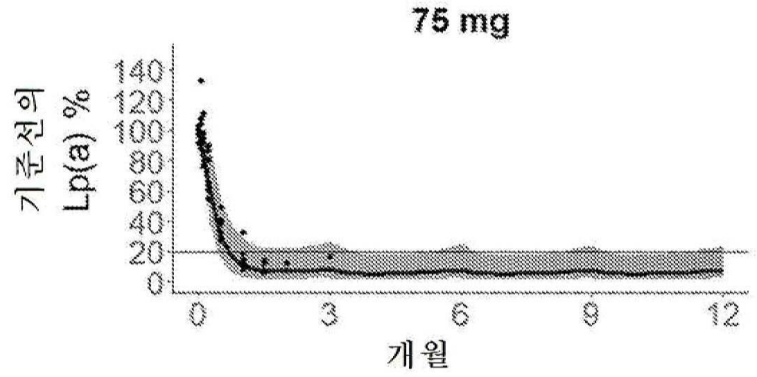

도면3b



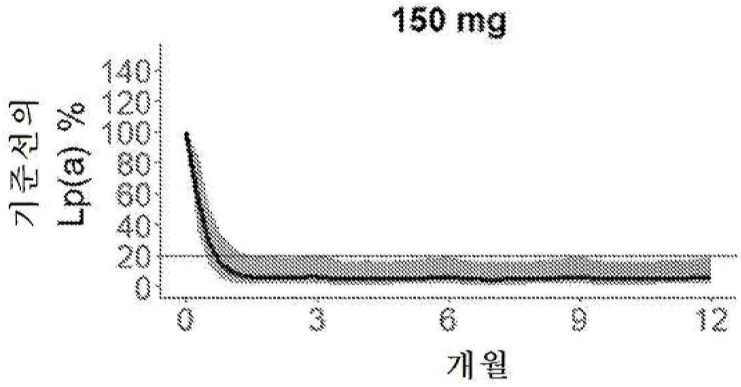

도면3c



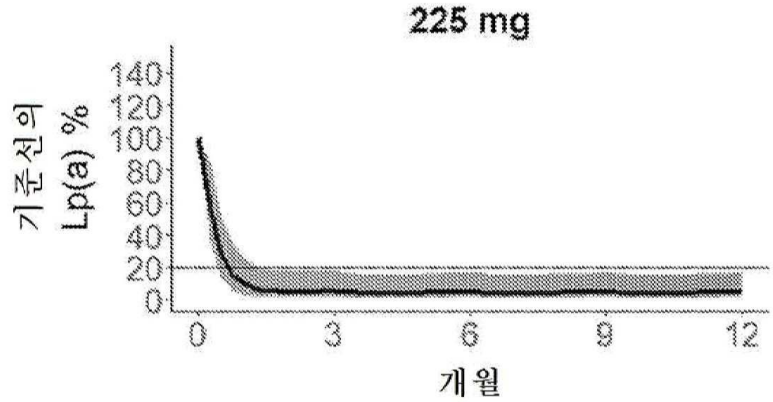
도면3d



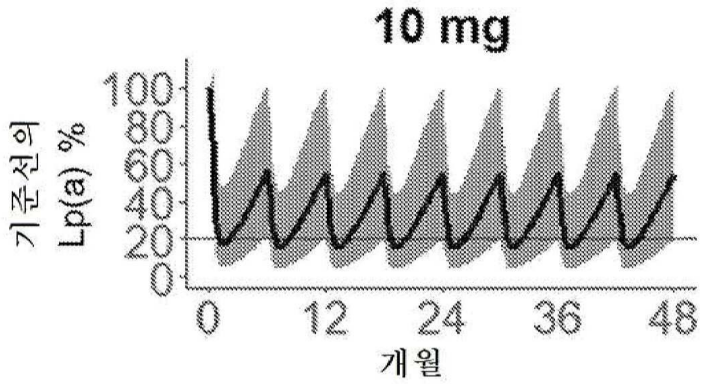

도면3e



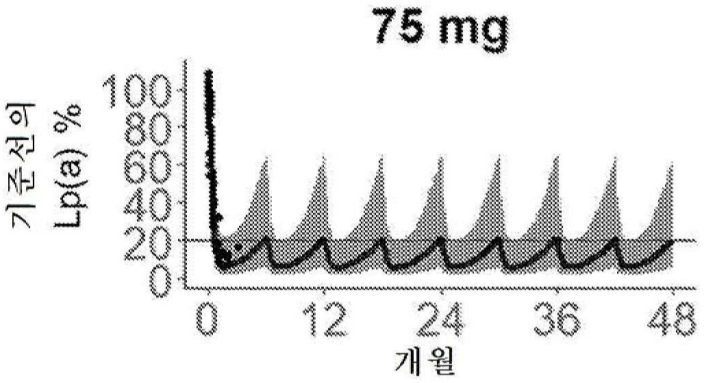

도면3f



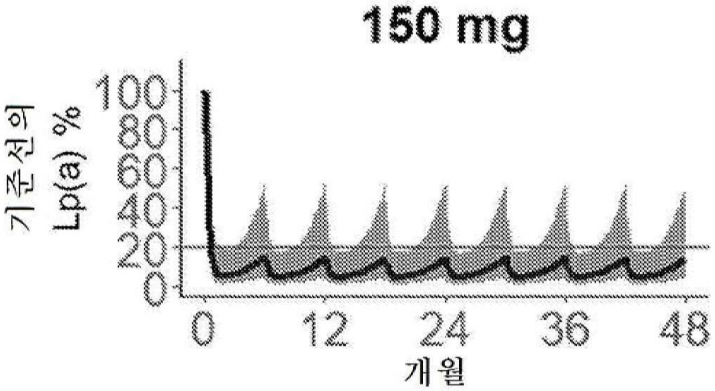
도면4a



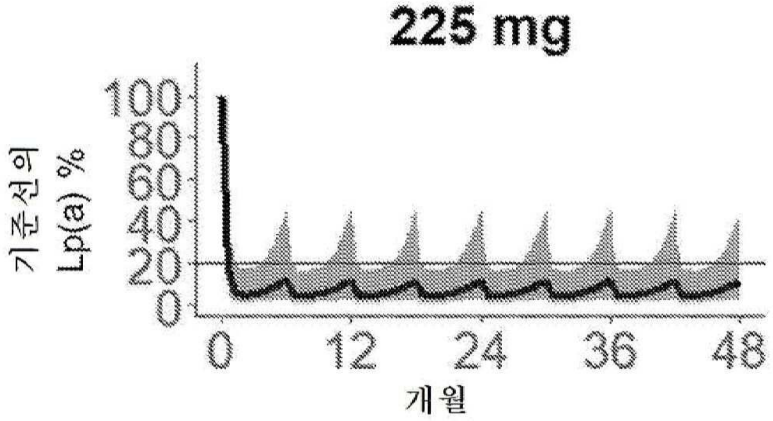

도면4b



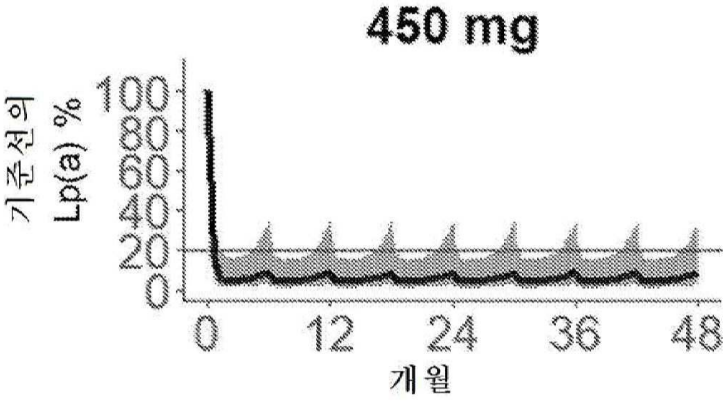

도면4c



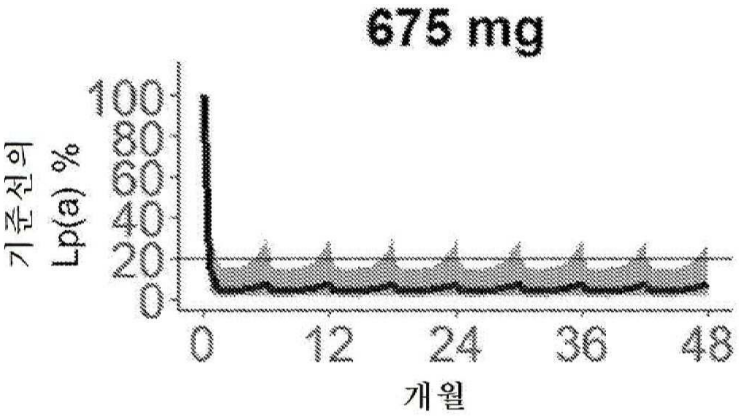
도면4d




도면4e




도면4f




서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> AMGEN INC.

<120> METHODS FOR TREATING ATHEROSCLEROTIC CARDIOVASCULAR DISEASE WITH

LPA-TARGETED RNAi CONSTRUCTS

<130> A-2694-WO-PCT

<150> 63/110,309

<151> 2020-11-05

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 1

gccccuuauu guuauacg 18

<210> 2

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 2

cguauaacaa uaaggggc 18

<210> 3

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 3

cagccccuua uuguuauacg a 21

<210> 4

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 4

ucguauaaca auaaggggcu g 21

<210
> 5

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic modified polynucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(21)

<223> combination of 2'-fluoro, 2'-O-methyl, inverted deoxyadenosine,
phosphorothioate linked ribonucleotides

<400> 5

cagccccuua uuguuauacg a 21

<210> 6

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic modified polynucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(21)

<223> combination of 2'-fluoro, 2'-O-methyl, phosphorothioate linked
ribonucleotides

<400> 6

ucguauaaca auaaggggcu g 21

<210> 7

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 7

gccccuuauu guuauacgau u 21

<210> 8

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 8

ucguauaaca auaaggggcu u 21

<210> 9

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic modified polynucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(21)

<223> combination of 2'-fluoro, 2'-O-methyl, inverted abasic,
phosphorothioate linked ribonucleotides

<400> 9

gccccuuauu guuauacgau u 21

<210> 10

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic modified polynucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(21)

<223> combination of 2'-fluoro, 2'-O-methyl, phosphorothioate linked
ribonucleotides

<400> 10

ucguauaaca auaaggggcu u 21

<210> 11

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic modified polynucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(21)

<223> combination of 2'-fluoro, 2'-O-methyl, inverted abasic,

phosphorothioate linked ribonucleotides

<400> 11

gccccuuauu guuauacgau u 21

<210> 12

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic modified polynucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(21)

<223> combination of 2'-fluoro, 2'-O-methyl, phosphorothioate linked ribonucleotides

<400> 12

ucguauaaca auaaggggcu u 21