(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년06월16일
(11) 등록번호 10-2821047
(24) 등록일자 2025년06월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) *A61K 31/7105* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) *C12N 9/02* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/1137 (2013.01)
A61K 31/7105 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7020529
(22) 출원일자(국제) 2019년12월12일
심사청구일자 2022년12월08일
(85) 번역문제출일자 2021년06월30일
(65) 공개번호 10-2021-0131992
(43) 공개일자 2021년11월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/065936
(87) 국제공개번호 WO 2020/123783
국제공개일자 2020년06월18일
(30) 우선권주장
62/779,916 2018년12월14일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
KR102285629 B1
KR1020170012207 A*
JP2017535266 A
JP2017513469 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
바이오젠 엠에이 인코포레이티드
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 비니 스트리트 225
아이오니스 파마수티컬즈, 인코포레이티드
미합중국 캘리포니아주 92010 칼스바드 2855 가젤 코트
(72) 발명자
네스토로프 이반 알렉산드로프
미국 02142 매사추세츠주 케임브리지 비니 스트리트 225 바이오젠 엠에이 인코포레이티드
퍼거슨 토비
미국 02142 매사추세츠주 케임브리지 비니 스트리트 225 바이오젠 엠에이 인코포레이티드
노리스 대니얼 에이
미국 92010 캘리포니아주 칼즈배드 가젤 코트 2855 아이오니스 파마수티컬즈, 인코포레이티드
(74) 대리인
김진희, 김태홍

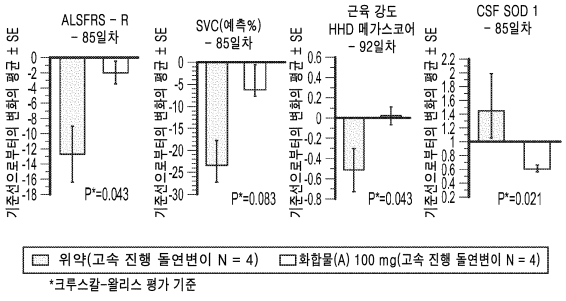
전체 청구항 수 : 총 29 항 심사관 : 정이든

(54) 발명의 명칭 **근위축 측삭 경화증의 치료 및 방지를 위한 조성물 및 방법**

(57) 요 약

SOD1-표적화 안티센스 올리고뉴클레오티드, 및 이의 염에 대한 투여량 요법이 제공된다. 이들 투여량 요법은 근위축 측삭 경화증을 갖거나 이의 발생 위험에 처한 대상체의 치료에서 용도를 갖는다.

대 표 도 - 도5



(52) CPC특허분류
A61P 25/28 (2018.01)
C12N 9/0089 (2013.01)
C12Y 115/01001 (2013.01)
C12N 2310/11 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/321 (2013.01)
C12N 2310/322 (2013.01)
C12N 2310/3341 (2013.01)
C12N 2310/3525 (2013.01)

(30) 우선권주장
62/807,603 2019년02월19일 미국(US)
62/840,879 2019년04월30일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1) 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방이 필요한 인간 대상체에서 수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1) 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위한 약학 조성물로서, 방법은 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 상기 인간 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고, 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신인 약학 조성물.

청구항 2

근위축 측삭 경화증과 연관된 SOD1 유전자에서의 돌연변이를 갖는 인간 대상체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 약학 조성물로서, 방법은 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고, 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신인 약학 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, SOD1 유전자에서의 돌연변이가 A4V인 약학 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, SOD1 유전자에서의 돌연변이가 A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S59I, V87A, T88델타TAD, A89T, V97M, S105델타SL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R, 또는 G147R인 약학 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, SOD1 유전자에서의 돌연변이가 유전자 검사에 의해 확인되는 것인 약학 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 방법이 유전자 검사에 의해 SOD1 유전자에서의 돌연변이를 확인하는 단계를 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 약학 조성물이 4개월의 과정에 걸쳐 적어도 5회로 인간 대상체에 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 인간 대상체에 약학 조성물의 부하 용량이 투여된 후, 약학 조성물의 유지 용량이 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 인간 대상체에 3개의 부하 용량이 투여되고, 상기 부하 용량이 2주 간격으로 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서, 유지 용량이 세 번째 부하 용량의 4주 후에 시작되어 4주마다 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 11

제8항에 있어서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량이 하기와 같이 인간 대상체에 투여되는 것인 약학 조성물:

(i) 약학 조성물의 첫 번째 부하 용량;

(ii) 상기 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여되는 약학 조성물의 두 번째 부하 용량;

(iii) 상기 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 약학 조성물의 세 번째 부하 용량; 및

(iv) 상기 세 번째 부하 용량의 28일 또는 1개월 후 투여되는 약학 조성물의 첫 번째 유지 용량.

청구항 12

제8항에 있어서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량이 하기와 같이 인간 대상체에 투여되는 것인 약학 조성물:

(i) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 첫 번째 부하 용량;

(ii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 두 번째 부하 용량으로서, 상기 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여되는 두 번째 부하 용량;

(iii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 세 번째 부하 용량으로서, 상기 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 세 번째 부하 용량; 및

(iv) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 첫 번째 유지 용량으로서, 상기 세 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 첫 번째 유지 용량.

청구항 13

제8항에 있어서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량이 하기와 같이 인간 대상체에 투여되는 것인 약학 조성물:

(i) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 첫 번째 부하 용량;

(ii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 두 번째 부하 용량으로서, 상기 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여되는 두 번째 부하 용량;

(iii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 세 번째 부하 용량으로서, 상기 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 세 번째 부하 용량; 및

(iv) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 첫 번째 유지 용량으로서, 상기 세 번째 부하 용량의 1개월 후에 투여되는 첫 번째 유지 용량.

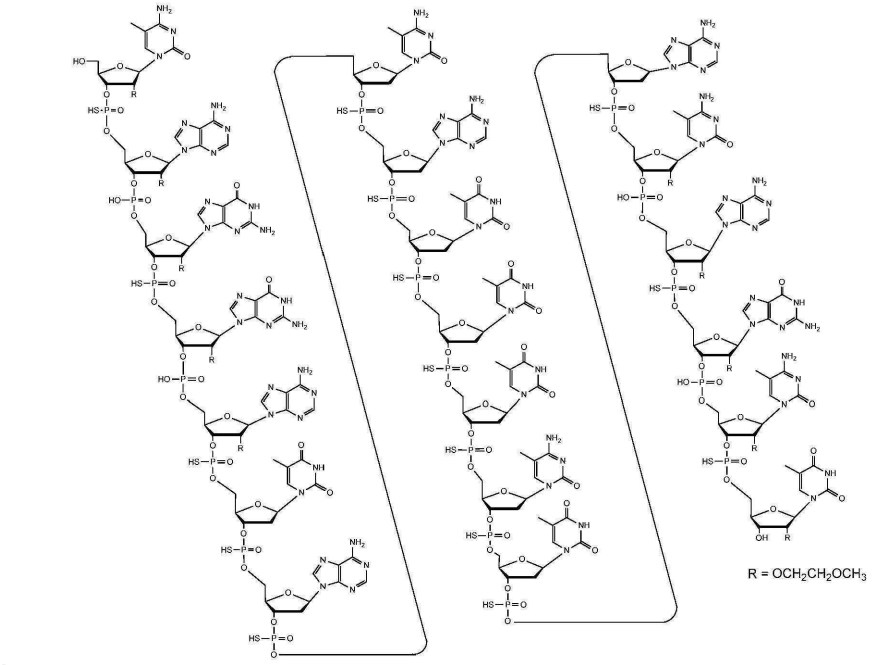
청구항 14

안티센스 올리고뉴클레오티드의 멸균 제조물을 포함하는 시린지로서, 상기 시린지는 100 mg의 고정된 용량으로 안티센스 올리고뉴클레오티드의 경막내 투여에 적합하게 되고, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3,

4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고, 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신인 시린지.

청구항 15

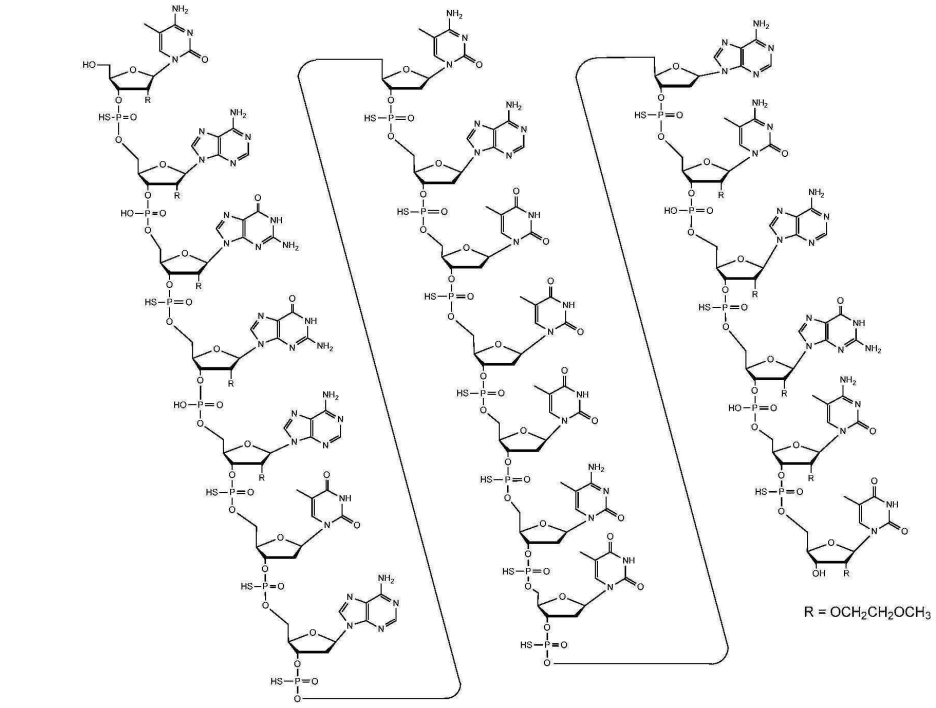
수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1) 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방이 필요한 인간 대상체에서 수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1) 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위한 약학 조성물로서, 방법은 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 상기 인간 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고,



상기 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 16

근위축 측삭 경화증과 연관된 SOD1 유전자에서의 돌연변이를 갖는 인간 대상체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 약학 조성물로서, 방법은 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 상기 인간 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고,



상기 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, SOD1 유전자에서의 돌연변이가 A4V인 약학 조성물.

청구항 18

제15항 또는 제16항에 있어서, SOD1 유전자에서의 돌연변이가 A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S59I, V87A, T88델타TAD, A89T, V97M, S105델타SL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R, 또는 G147R인 약학 조성물.

청구항 19

제15항 또는 제16항에 있어서, SOD1 유전자에서의 돌연변이가 유전자 검사에 의해 확인되는 것인 약학 조성물.

청구항 20

제15항 또는 제16항에 있어서, 방법이 유전자 검사에 의해 SOD1 유전자에서의 돌연변이를 확인하는 단계를 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 21

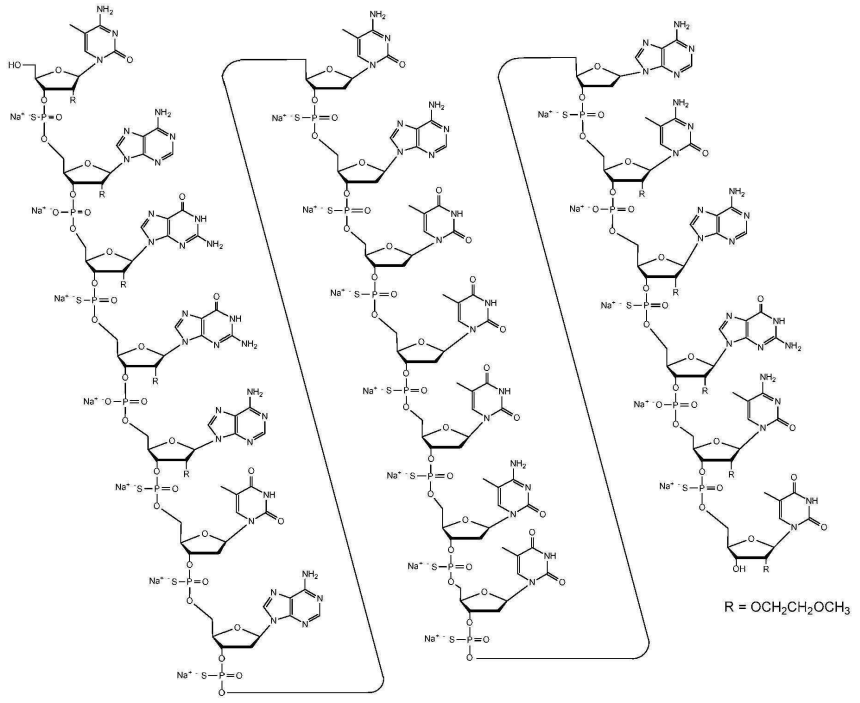
제15항 또는 제16항에 있어서, 인간 대상체에 안티센스 올리고뉴클레오티드의 염이 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 염이 나트륨 염인 약학 조성물.

청구항 23

제21항에 있어서, 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드의 염이 하기 구조를 가지는 것인 약학 조성물:



청구항 24

제15항 또는 제16항에 있어서, 인간 대상체에 약학 조성물의 부하 용량이 투여된 후, 약학 조성물의 유지 용량이 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 인간 대상체에 3개의 부하 용량이 투여되며, 부하 용량이 2주 간격으로 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 26

제24항에 있어서, 유지 용량이 세 번째 부하 용량의 4주 후에 시작되어 4주마다 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 27

제24항에 있어서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량이 하기와 같이 인간 대상체에 투여되는 것인 약학 조성물:

(i) 약학 조성물의 첫 번째 부하 용량;

(ii) 상기 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여되는 약학 조성물의 두 번째 부하 용량;

(iii) 상기 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 약학 조성물의 세 번째 부하 용량; 및

(iv) 상기 세 번째 부하 용량의 28일 또는 1개월 후 투여되는 약학 조성물의 첫 번째 유지 용량.

청구항 28

제24항에 있어서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량이 하기와 같이 인간 대상체에 투여되는 것인 약학 조성물:

(i) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 첫 번째 부하 용량;

(ii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 두 번째 부하 용량으로서, 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여되는 두 번째 부하 용량;

(iii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 세 번째 부하 용량으로서, 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 세 번째 부하 용량; 및

(iv) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 첫 번째 유지 용량으로서, 세 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 첫 번째 유지 용량.

청구항 29

제24항에 있어서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량이 하기와 같이 인간 대상체에 투여되는 것인 약학 조성물:

(i) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 첫 번째 부하 용량;

(ii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 두 번째 부하 용량으로서, 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여되는 두 번째 부하 용량;

(iii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 세 번째 부하 용량으로서, 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 세 번째 부하 용량; 및

(iv) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 첫 번째 유지 용량으로서, 세 번째 부하 용량의 1개월 후에 투여되는 첫 번째 유지 용량.

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 교차-참조

[0002] 본 출원은 2018년 12월 14일에 출원된 U.S. 가출원 번호 62/779,916; 2019년 2월 19일에 출원된 62/807,603; 및 2019년 4월 30일에 출원된 62/840,879의 우선권 이익을 청구하며, 모든 내용은 이의 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 분야

[0004] 본 출원은 일반적으로 수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1)의 발현의 감소를 필요로 하는 인간 대상체, 예컨대, 인간 SOD1 유전자의 돌연변이가 확인된 근위축 측삭 경화증(ALS)을 갖는 성인에서 상기 발현을 감소시키는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 임상적 사용을 위한 투여량 레지멘에 관한 것이다. 이러한 방법은 SOD1의 발현을 억제함으로써 ALS를 치료하거나, 방지하거나, 완화하는 데 유용하다.

배 경 기 술

[0005] 가용성 SOD1 효소(Cu/Zn 수퍼옥시드 디스무타제로도 알려져 있음)는 수퍼옥시드의 과산화수소(H_2O_2)로의 상반변화를 촉매함으로써 생체분자의 산화적 손상에 대한 방어를 제공하는 수퍼옥시드 디스무타제 중 하나이다(Fridovich, *Annu. Rev. Biochem.*, 64:97-112 (1995)). 수퍼옥시드 음이온(O^{2-})은 주로 미토콘드리아에서 산화적 인산화의 오류에 의해 생성되는 잠재적으로 유해한 세포성 부산물이다(Turrens, J. *Physiol.*, 552:335-344 (2003))

[0006] 근위축 측삭 경화증(ALS, 루게릭병으로도 알려짐)은 어느 때이건 30,000명 정도의 미국인에 영향을 미치는 심각한 진행성 신경변성 질환이다. SOD1 유전자에서의 돌연변이는 상부 및 하부 운동 뉴런의 선택적 변성을 특징으로 하는 장애인 ALS의 우성-유전 형태와 연관된다(Rowland, *N. Engl. J. Med.*, 2001, 344:1688-1700 (2001)). 가족성 ALS 및 SOD1 유전자에서의 미스센스 돌연변이 간에는 밀접한 유전적 연관이 존재한다(Rosen, *Nature*, 362:59-62 (1993)).

[0007] 돌연변이체 SOD1의 독성은 ALS 발병기전에 관여될 수 있는 공정인 활성 효소로부터의 핵 보호를 감소시키는(핵에서의 기능 손실) 최초의 미스폴딩(기능 획득)으로부터 일어나는 것으로 여겨진다(Sau, *Hum. Mol. Genet.*, 16:1604-1618 (2007)). ALS에서 운동 뉴런의 진행성 변성은 궁극적으로 이의 사멸을 야기한다. 운동 뉴런이 죽으면, 뇌가 근육 운동을 개시하고 제어하는 능력이 소실된다. 수의근 작용이 점진적으로 영향을 받으면, 질환의 후기 단계에서 환자는 완전 마비될 수 있다.

[0008] 현재는 이러한 신경변성 질환을 치료하기 위해 받아들일 수 있는 선택지가 없다. 따라서, 이러한 질환의 치료 방법을 제공하는 것이 본원에서의 목적이다.

발명의 내용

[0009] 요약

[0010] 본 개시는 부분적으로, 수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1)의 발현을 감소시키는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 투여량 요법, 및 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 SOD1의 발현을 억제하고 ALS를 치료하거나, 방지하거나, 완화하기 위한 이러한 안티센스 올리고뉴클레오티드의 용도에 관한 것이다.

[0011] 첫 번째 양태에서, 본 개시는 인간 수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1) 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법을 특징으로 한다. 상기 방법에는 약 100 mg 또는 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 인간 대상체에(예컨대, 경막내 투여에 의해) 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시

드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0012] 두 번째 양태에서, 본 개시는 인간 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법을 특징으로 한다. 방법에는 약 60 mg 또는 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 인간 대상체에(예컨대, 경막내 투여에 의해) 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0013] 세 번째 양태에서, 본 개시는 인간 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법을 특징으로 한다. 방법에는 약 40 mg 또는 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 인간 대상체에(예컨대, 경막내 투여에 의해) 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0014] 네 번째 양태에서, 본 개시는 인간 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 상기 치료 또는 예방의 방법을 특징으로 한다. 방법에는 약 20 mg 또는 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 인간 대상체에(예컨대, 경막내 투여에 의해) 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0015] 다섯 번째 양태에서, 본 개시는 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성 또는 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법에는 약 100 mg 또는 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0016] 여섯 번째 양태에서, 본 개시는 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성 또는 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법에는 약 60 mg 또는 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4,

5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0017] 일곱 번째 양태에서, 본 개시는 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성 또는 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법에는 약 40 mg 또는 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0018] 여덟 번째 양태에서, 본 개시는 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성 또는 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법에는 약 20 mg 또는 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0019] 상기 양태의 일부 구현예에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88델타TAD, A89T, V97M, S105델타SL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R, 또는 G147R이다. 하나의 구현예에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 A4V이다. 또 다른 구현예에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 H46R이다. 또 다른 구현예에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 G93S이다.

[0020] 일부 구현예에서, 인간 SOD1 유전자에서의 돌연변이는 유전 평가에 의해 확인된다.

[0021] 특정 구현예에서, 방법은 유전 평가에 의해 인간 SOD1 유전자에서 돌연변이를 확인하는 단계가 추가로 관여된다.

[0022] 일부 구현예에서, 약학 조성물은 4개월의 과정에 걸쳐 적어도 5회(예컨대, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24회) 인간 대상체에 투여된다.

[0023] 특정 구현예에서, 인간 대상체에는 약학 조성물의 부하 용량 또는 부하 용량들에 이어 유지 용량 또는 유지 용량들이 투여된다. 일부 경우에서, 3개의 부하 용량이 투여되며, 여기서 두 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 약 2주 후 또는 2주 후 투여되고, 세 번째 부하 용량은 두 번째 부하 용량의 약 2주 후 또는 2주 후 투여된다(예컨대, 부하 용량은 1일, 15일, 및 29일차에 투여됨). 일부 경우에서, 유지 용량은 세 번째 부하 용량의 4주 후에 시작해서 약 4주 또는 4주마다(예컨대, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월 동안) 투여된다.

[0024] 특정 구현예에서, 인간 대상체에는 약학 조성물의 3개의 부하 용량에 이어 적어도 하나의(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개의) 유지 용량이 투여된다. 일부 경우에서, 3개의 부하 용량은 약 2주 또는 2주 간격으로 투여된다. 일부 경우에서, 3개의 부하 용량은 약 14일 또는 14일 간격으로 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량의 약 4주 또는 4주 후 시작되서 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량의 1개월 후 시작해서 매월 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량의 28일 후 시작해서 28일마다 투여된다.

[0025] 특정 구현예에서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량은 하기와 같이 인간 대상체에 투여된다:

[0026] (i) 약학 조성물의 첫 번째 부하 용량;

[0027] (ii) 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여되는 약학 조성물의 두 번째 부하 용량;

[0028] (iii) 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 약학 조성물의 세 번째 부하 용량; 및

[0029] (iv) 세 번째 부하 용량의 28일 또는 1개월 후 투여되는 약학 조성물의 첫 번째 유지 용량.

[0030] 특정 구현예에서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량은 하기와 같이 인간 대상체에 투여된다:

[0031] (i) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 첫 번째 부하 용량;

[0032] (ii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 두 번째 부하 용량으로서, 여기서 두 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여됨;

[0033] (iii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 세 번째 부하 용량으로서, 여기서 세 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여됨; 및

[0034] (iv) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 첫 번째 유지 용량으로서, 여기서 첫 번째 유지 용량은 세 번째 부하 용량의 28일 후 투여됨.

[0035] 특정 구현예에서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량은 하기와 같이 인간 대상체에 투여된다:

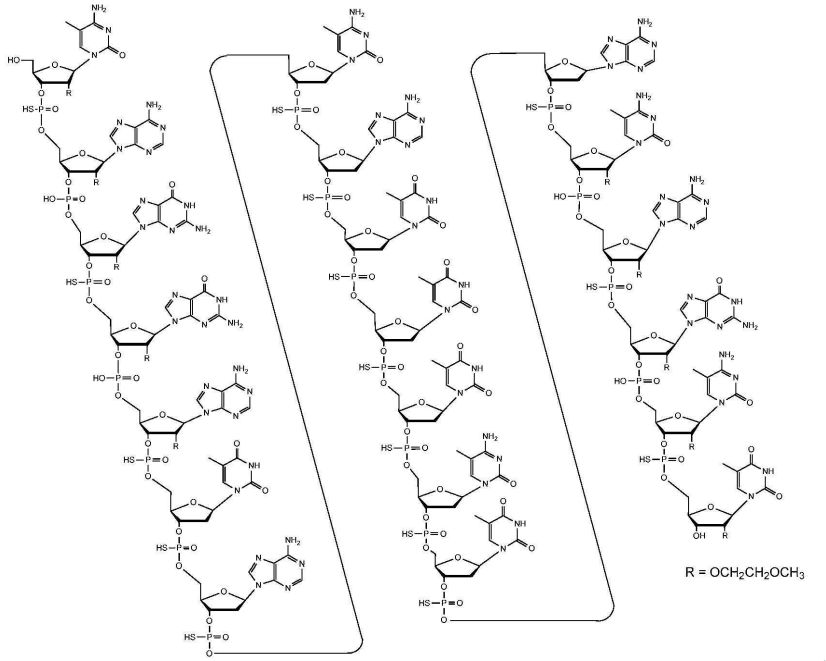
[0036] (i) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 첫 번째 부하 용량;

[0037] (ii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 두 번째 부하 용량으로서, 여기서 두 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여됨;

[0038] (iii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 세 번째 부하 용량으로서, 여기서 세 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여됨; 및

[0039] (iv) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양의 첫 번째 유지 용량으로서, 여기서 첫 번째 유지 용량은 세 번째 부하 용량의 1개월 후에 투여됨.

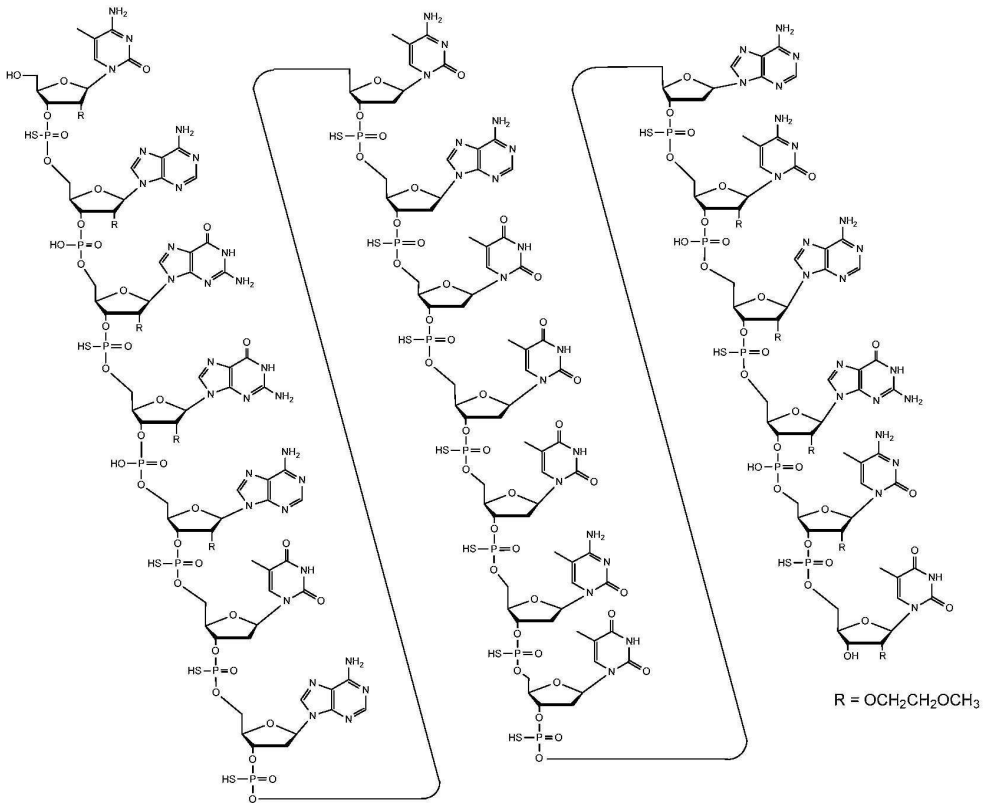
[0040] 아홉 번째 구현예에서, 본 개시는 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법을 제공한다. 방법에는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고:

[0041] 

,

[0042] 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 105.9 mg의 화합물 A(즉, ISIS 666853의 노나데카나트륨염)은 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등하다. 투여되는 약학 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 염, 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

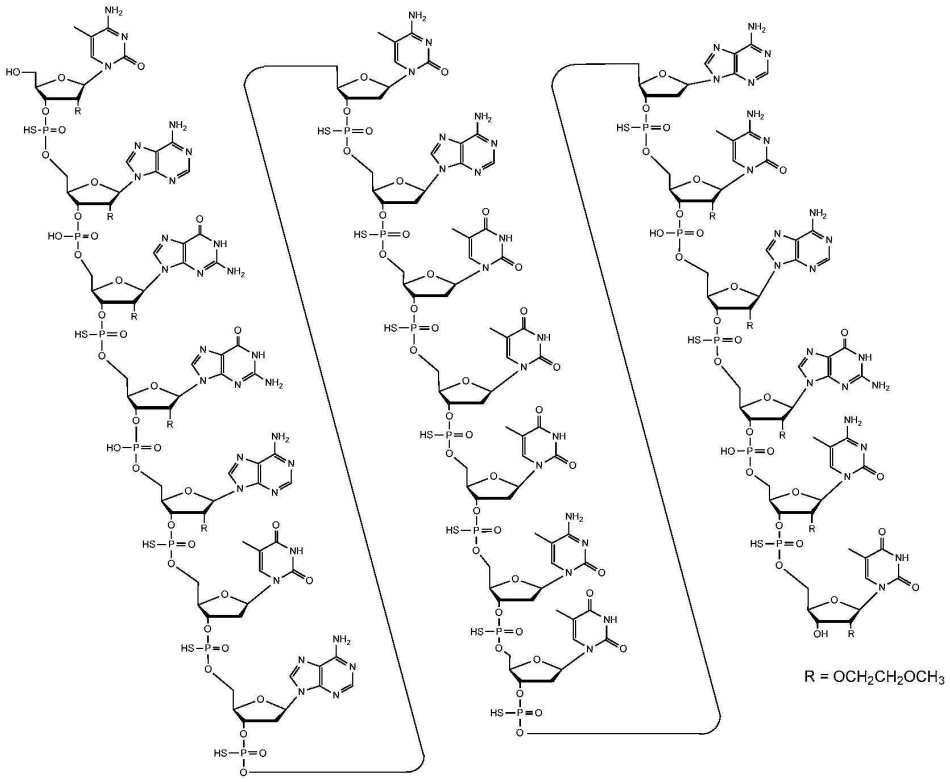
[0043] 열 번째 양태에서, 본 개시는 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법을 제공한다. 방법에는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고:



[0044] ,

[0045] 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 63.5 mg의 화합물 A은 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등하다. 투여되는 약학 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 염, 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

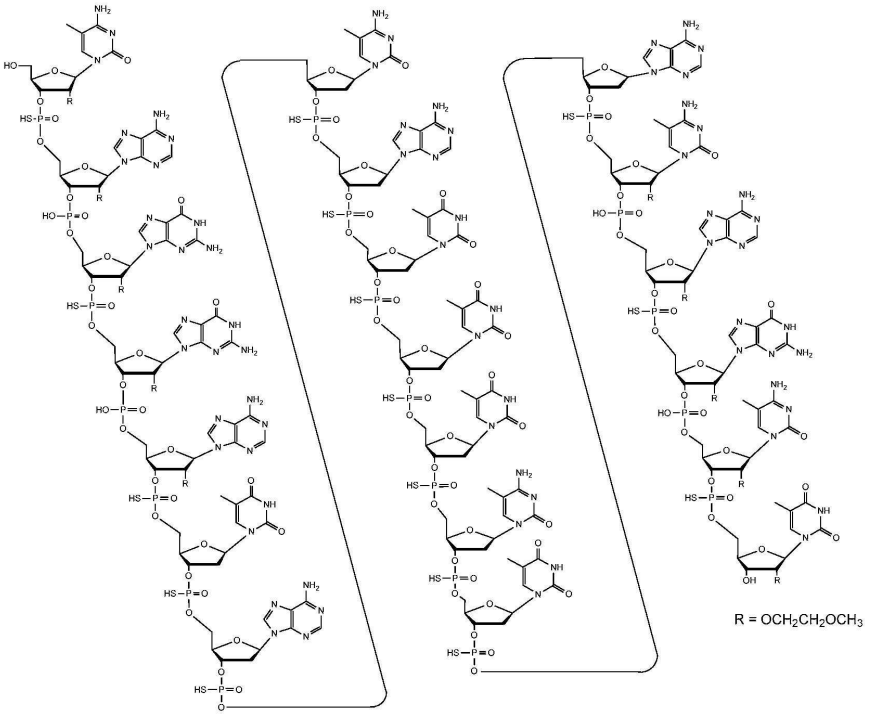
[0046] 열한 번째 양태에서, 본 개시는 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법을 제공한다. 방법에는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고:

[0047] 

,

[0048] 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 42.3 mg의 화합물 A은 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등하다. 투여되는 약학 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 염, 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0049] 열두 번째 양태에서, 본 개시는 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법을 제공한다. 방법에는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고:

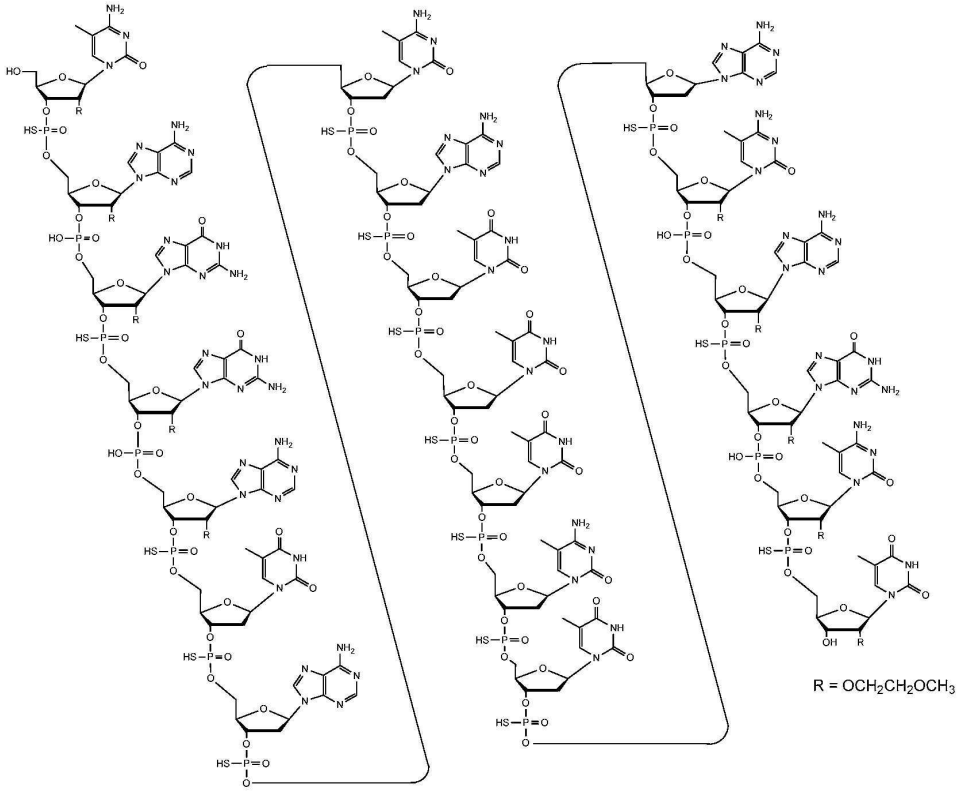
[0050] 

,

[0051] 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된

다. 21.2 mg의 화합물 A은 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등하다. 투여되는 약학 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 염, 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

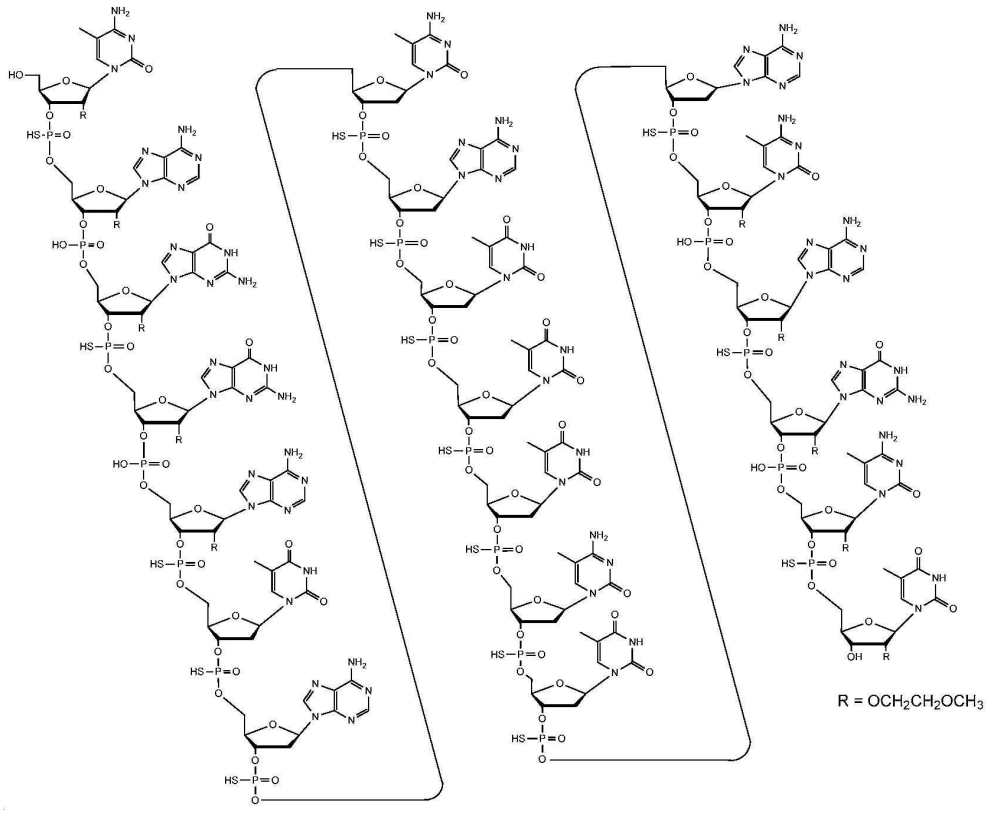
[0052] 열세 번째 양태에서, 본 개시는 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성 또는 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법에는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고:



[0053] ,

[0054] 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 105.9 mg의 화합물 A은 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등하다. 투여되는 약학 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 염, 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

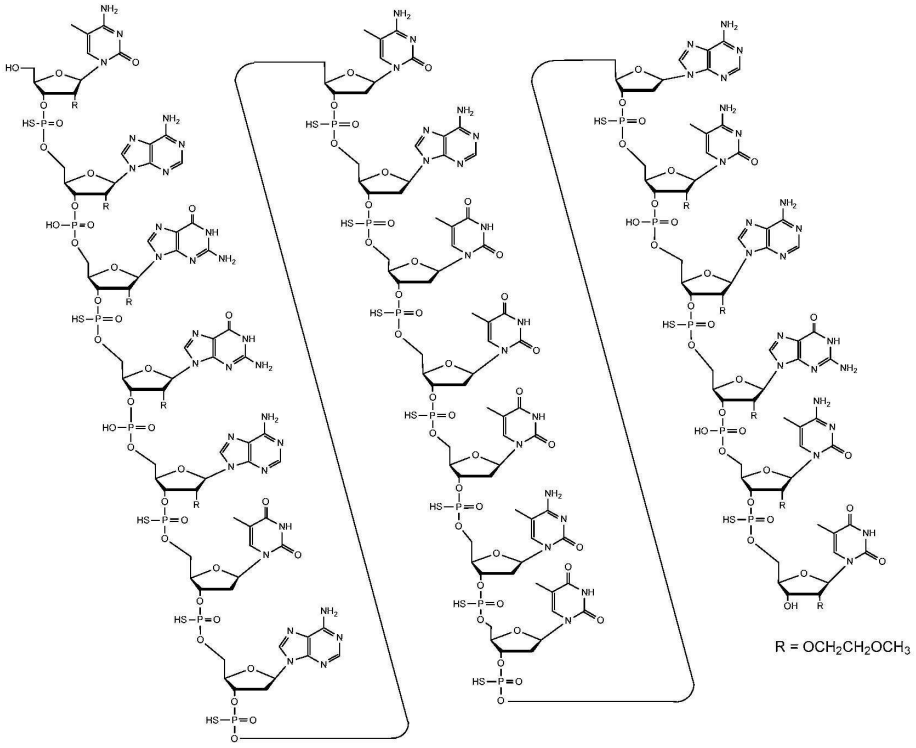
[0055] 열네 번째 양태에서, 본 개시는 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성 또는 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법에는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고:



[0056] ,

[0057] 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 63.5 mg의 화합물 A은 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등하다. 투여되는 약학 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 염, 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

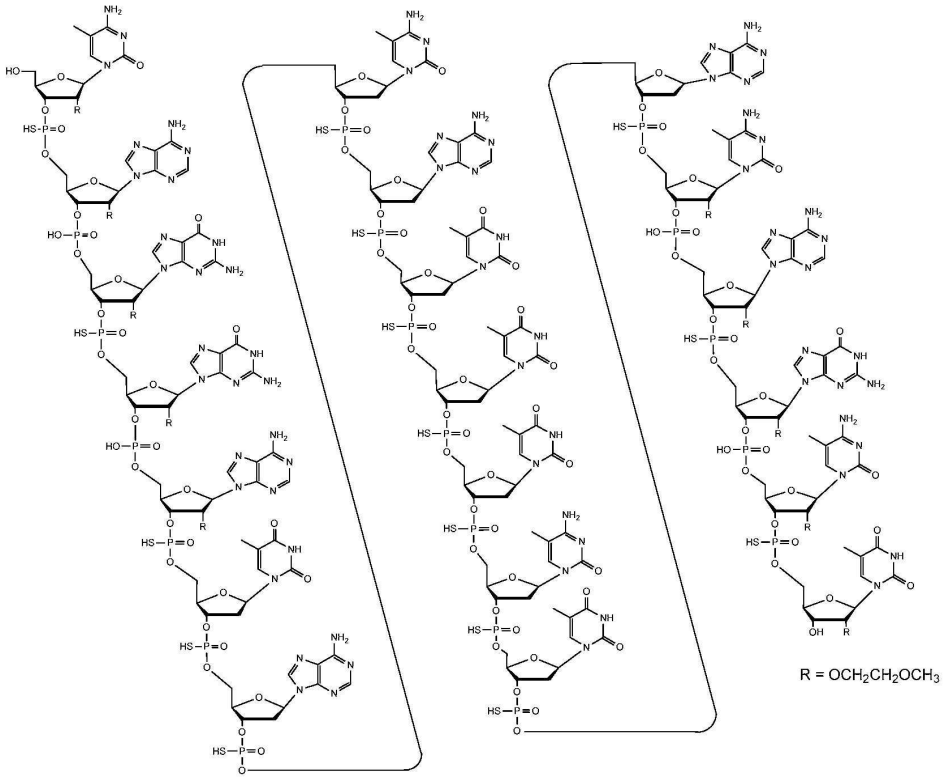
[0058] 열다섯 번째 양태에서, 본 개시는 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성 또는 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법에는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고:



[0059] ,

[0060] 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 42.3 mg의 화합물 A은 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등하다. 투여되는 약학 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 염, 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

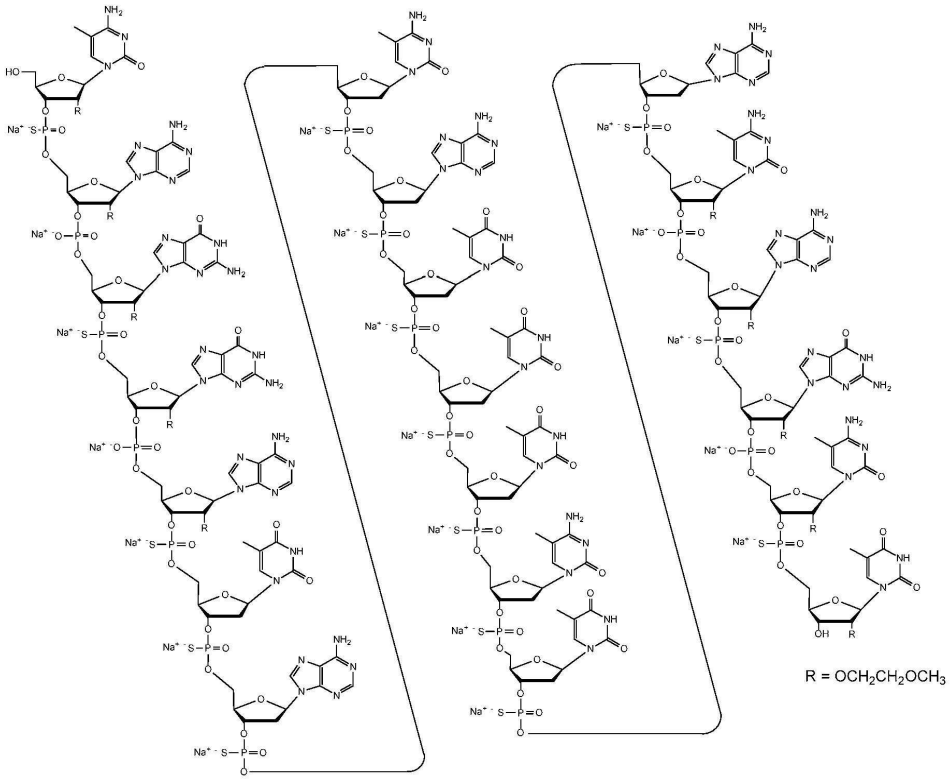
[0061] 열여섯 번째 양태에서, 본 개시는 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성 또는 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법에는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 가지고:

[0062] 

,

[0063] 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 21.2 mg의 화합물 A은 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등하다. 투여되는 약학 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 염, 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0064] 일부 구현예에서, 인간 대상체에는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 염이 투여된다. 일부 구현예에서, 염은 나트륨 염이다. 일부 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 염은 하기 구조를 가지고:

[0065] 

,

[0066] 상기 양태의 일부 구현예에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88델타TAD, A89T, V97M, S105델타SL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R, 또는 G147R이다. 하나의 구현예에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 A4V이다. 또 다른 구현예에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 H46R이다. 또 다른 구현예에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 G93S이다.

[0067] 일부 구현예에서, 인간 SOD1 유전자에서의 돌연변이는 유전 평가에 의해 확인된다.

[0068] 특정 구현예에서, 상기 방법에는 유전 평가에 의해 인간 SOD1 유전자에서 돌연변이를 확인하는 단계가 추가로 관여된다.

[0069] 일부 구현예에서, 약학 조성물은 4개월의 과정에 걸쳐 적어도 5회 인간 대상체에 투여된다.

[0070] 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약학 조성물의 부하 용량 또는 부하 용량들에 이어 유지 용량 또는 유지 용량들이 투여된다. 일부 경우에서, 3개의 부하 용량이 투여되며, 여기서 부하 용량은 예컨대, 1일, 15일, 및 29일차에, 2주 만큼 분리된다. 일부 경우에서, 유지 용량은 세 번째 부하 용량의 4주 후 시작해서 4주마다(예컨대, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월 동안) 투여된다.

[0071] 특정 구현예에서, 인간 대상체에는 약학 조성물의 3개의 부하 용량에 이어 적어도 하나의(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개의) 유지 용량이 투여된다. 일부 경우에서, 3개의 부하 용량은 2주 간격으로 투여된다. 일부 경우에서, 3개의 부하 용량은 14일 간격으로 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량의 4주 후 시작해서 4주마다 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량의 1개월 후 시작해서 매월 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량의 28일 후 시작해서 28일마다 투여된다.

[0072] 특정 구현예에서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량은 하기와 같이 인간 대상체에 투여된다:

[0073] (i) 약학 조성물의 첫 번째 부하 용량;

[0074] (ii) 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여되는 약학 조성물의 두 번째 부하 용량;

[0075] (iii) 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여되는 약학 조성물의 세 번째 부하 용량; 및

[0076] (iv) 세 번째 부하 용량의 28일 또는 1개월 후 투여되는 약학 조성물의 첫 번째 유지 용량.

[0077] 특정 구현예에서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량은 하기와 같이 인간 대상체에 투여된다:

[0078] (i) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 첫 번째 부하 용량;

[0079] (ii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 두 번째 부하 용량으로서, 여기서 두 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여됨;

[0080] (iii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 세 번째 부하 용량으로서, 여기서 세 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여됨; 및

[0081] (iv) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 첫 번째 유지 용량으로서, 여기서 첫 번째 유지 용량은 세 번째 부하 용량의 28일 후 투여됨.

[0082] 특정 구현예에서, 약학 조성물의 부하 용량 및 유지 용량은 하기와 같이 인간 대상체에 투여된다:

[0083] (i) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 첫 번째 부하 용량;

[0084] (ii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 두 번째 부하 용량으로서, 여기서 두 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 14일 후 투여됨;

[0085] (iii) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 세 번째 부하 용량으로서, 여기서 세 번째 부하 용량은 첫 번째 부하 용량의 28일 후 투여됨; 및

[0086] (iv) 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 첫 번째 유지 용량으로서, 여기서 첫 번째 유지 용량은 세 번째 부하 용량의 1개월 후 투여됨.

[0087] 또 다른 양태에서, 본 개시는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 멸균 제조물을 포함하는 시린지 또는 펌프를 특징으로 한다. 시린지 또는 펌프는 20 mg, 40 mg, 60 mg, 또는 100 mg의 고정된 용량으로의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 경막내 투여를 위해 적응된다. 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 여기서 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸 리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다.

[0088] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 기재된 것들과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 평가에서 사용될 수 있으나, 예시적 방법 및 물질이 아래에서 기재된다. 본원에서 언급되는 모든 공보, 특허 출원, 특허, 및 다른 참고문헌은 이의 전문이 참조로 포함된다. 상충 시, 정의를 포함하는 본 출원이 우선할 것이다. 물질, 방법, 및 실시에는 단지 예시적인 것이며 제한하려는 것이 아니다.

[0089] 본 발명의 다른 특징 및 장점은 하기 상세한 설명으로부터 그리고 청구범위로부터 자명할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0090] **도 1**은 상이한 인간 SOD1 돌연변이를 갖는 환자에 있어서 평균 질환 기간(증상 개시로부터의 년수)의 그래픽 도시이다.

도 2는 다중 상승 용량(MAD) 코호트에서 관찰된 화합물 A 뇌척수액(CSF) 농도에서의 용량-의존적 증가를 도시한다. 상부 파선은 100 mg 용량을; 다음 2개 파선은 60 및 40 mg 용량을, 가장 아래의 파선은 20 mg 용량을 나타낸다.

도 3은 MAD 코호트에서 관찰되는 CSF SOD1 농도에서의 용량-의존적 감소를 도시한다. 연구 85일차에, 상부 원은 20 mg에; 아래의 다음 원은 위약에; 아래의 다음 원은 60 mg에; 아래의 다음 원은 40 mg에; 그리고 가장 아래의 원은 100 mg의 화합물 A에 대응한다.

도 4a는 MAD 코호트에서의 환자에서 근위축 측삭 경화증 기능 등급 스케일-개정판(ALFSFRS-R)에서의 기준선으로부터의 LS 평균 변화의 그래프이다. 연구 85일차에, 상부의 원은 40 mg의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 100 mg

의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 60 mg의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 20 mg의 화합물 A에; 그리고 가장 아래의 원은 위약에 대응한다.

도 4b는 MAD 코호트에서의 환자에서 예측된 느린 폐활량(SVC)에서의 기준선으로부터의 LS 평균 변화의 그래프이다(90% CI). 연구 85일차에, 상부의 원은 60 mg의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 40 mg의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 100 mg의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 20 mg의 화합물 A에; 그리고 가장 아래의 원은 위약에 대응한다.

도 4c는 MAD 코호트에서의 환자에서 휴대용 동력측정법(HHD) 전체 메가스코어에서의 기준선으로부터의 LS 평균 변화의 그래프이다(90% CI). 연구 92일차에, 상부의 원은 40 mg의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 100 mg의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 60 mg의 화합물 A에; 아래의 다음 원은 20 mg의 화합물 A에; 그리고 가장 아래의 원은 위약에 대응한다.

도 5는 위약 또는 100 mg의 화합물 A을 수여받는 고속-진행 돌연변이를 가진 환자에서 기준선으로부터 85일까지의 ALSFRS-R, SVC, HHD 메가스코어 및 CSF SOD1 수준에서의 변화를 예시한다.

도 6은 위약 또는 100 mg의 화합물 A을 수여받는 저속-진행 돌연변이를 가진 환자에서 기준선으로부터 85일까지의 ALSFRS-R, SVC, HHD 메가스코어 및 CSF SOD1 수준에서의 변화를 예시한다.

도 7은 고속-진행 SOD1 돌연변이를 가진 환자에서 기준선으로부터 85일까지의 pNFH 수준에 대한 100 mg의 화합물 A로의 처리 효과를 도시한다.

도 8은 저속-진행 SOD1 돌연변이를 가진 환자에서 기준선으로부터 85일까지의 pNFH 수준에 대한 100 mg의 화합물 A로의 처리 효과를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0091] 상세한 설명

[0092] 본 개시는 수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1)의 발현을 감소시키는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 투여량 요법 및 인간 SOD1 유전자의 돌연변이를 갖는 성인에서 근위축 측삭 경화증(ALS)을 치료하거나, 방지하거나, 완화하기 위한, 이러한 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 용도를 특징으로 한다.

[0093] *정의*

[0094] "2'-O-메톡시에틸"(또한 2'-MOE 및 2'-OCH_2CH_2-OCH_3 및 MOE)은 푸라노스 고리의 2' 위치의 O-메톡시-에틸 변형을 나타낸다. 2'-O-메톡시에틸 변형된 당은 변형된 당이다.

[0095] "2'-MOE 뉴클레오시드"(또한 2'-O-메톡시에틸 뉴클레오시드)는 MOE 변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.

[0096] "5-메틸시토신"은 5' 위치에 부착된 메틸기로 변형된 시토신을 의미한다. 5-메틸시토신은 변형된 뉴클레오염기이다.

[0097] "포스포로티오에이트 결합"은 포스포디에스테르 결합이 비-가교 산소 원자 중 하나를 황 원자로 대체함으로써 변형되는 뉴클레오시드 간 결합을 의미한다. 포스포로티오에이트 결합은 변형된 뉴클레오시드간 결합이다.

[0098] 성분의 양에 대한 문맥에서 "약"은 나타낸 값의 +/- 10%를 의미한다. 따라서, 약 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드에는 90 mg 내지 110 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드가 포함된다. 기간 단위, 예컨대, 약 10일 또는 약 1주의 맥락에서, "약"은 +/- 3일을 의미한다.

[0099] "경막내 또는 IT"는 뇌 및 척수를 커버하는 지주막 하 뇌척수액 내로의 투여를 의미한다.

[0100] "부하 용량"은 투여가 개시되고 약물(예컨대, 안티센스 올리고뉴클레오티드)의 일정 상태 농도가 달성되는 투여상 동안 투여되는 용량을 의미한다.

[0101] "유지 용량"은 약물(예컨대, 안티센스 올리고뉴클레오티드)의 일정 상태 농도가 달성된 후의 투여상 동안 투여되는 용량을 의미한다.

[0102] "고정된 용량"은 대상체에서 요망되는 치료 농도(예컨대, 일정 상태 농도) 또는 효과를 달성하기 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드의 사전 결정된 양(예컨대, 20 mg, 40 mg, 60 mg, 100 mg)을 나타낸다.

[0103] 근위축 측삭 경화증

[0104] 근위축 측삭 경화증(ALS)은 피질, 뇌간, 및 척수 내 운동 뉴런의 손실을 일으키는 드문 신경변성 질환이다. 환자는 안구근, 호흡근, 및 수의근에서 근육 질량, 강도, 및 기능의 점진적 손실을 겪는다. 감소는 불가피하며, 전형적으로 호흡 기능상실로부터 시작되는 사망은, 진단 후 평균 2 내지 5년이 걸린다. 대부분의 환자는 산발성 ALS를 겪지만, 대략 2%의, 더 작은 분율의 환자는 수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1)에서의 다양한 돌연변이에 의해 유도된, 유전성, 또는 가족성 형태의 ALS를 갖는다. 1993년의 그 최초 발견 이래, 상기 형태의 ALS(SOD1 ALS로 언급됨)를 유도하는 180개를 초과하는 SOD1 돌연변이가 보고되었다(The Amyotrophic Lateral Sclerosis Online Genetics Database (ALSoD). Institute of Psychiatry, Psychology & Neuroscience. Published 2015; Rosen, *Nature*, 364(6435):362 (1993)). 개별 돌연변이에 있어서의 질환 진행은 가변적이며, 대부분의 중증 돌연변이는 15개월 미만의 생존을 갖는다. 돌연변이가 SOD1 ALS를 유도하는 기전은 알려져 있지 않지만, 설득력있는 데이터는 SOD1 활성의 손실이 아닌, 독성 기능 획득이 운동 뉴런 사멸을 일으키는 이벤트 캐스케이드를 개시하는 유발인자임을 제시한다(Bruijn 등, *Science*, 281(5384):1851-4 (1998)).

[0105] ALS에 대해 승인된 치료는 릴루졸(Rilutek®) 및 에다라본(Radicava™)이다. 릴루졸은 강도 또는 장애의 실증 가능한 개선 없이 생존에서의 중등도 개선(2 내지 3개월)을 제공한다. 에다라본은 근위축 측삭 경화증 기능 등급 스케일-개정판(ALSFRS-R)에 의해 측정되는 기능 감소를 경감시킨다. 생존에 대한 에다라본의 효과는 알려져 있지 않다. 이용 가능한 SOD1-특이적 ALS 치료는 존재하지 않는다.

[0106] 수퍼옥시드 디스무타제 1

[0107] 수퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1)로도 알려진 수퍼옥시드 디스무타제[Cu-Zn]는 인간에서 염색체 21 상에 위치하는 SOD1 유전자에 의해 인코딩되는 효소이다.

[0108] SOD1은 β-배럴을 형성하며 분자내 디설피드 결합 및 각각의 하위단위에 2핵 Cu/Zn 부위를 포함하는 32 kDa 동종이량체이다. 상기 Cu/Zn 부위는 구리 및 아연 이온을 유지시키며 수퍼옥시드의 과산화수소 및 이산소로의 불균화를 촉매하는 데 관여한다.

[0109] SOD1은 체내에서 자유 수퍼옥시드 라디칼을 파괴하는 데 관여하는 3개의 수퍼옥시드 디스무타제 중 하나이다. 인코딩되는 이소자임은 가용성 세포질 및 미토콘드리아 막 간 공간 단백질로, 자연 발생하지만, 유해한 수퍼옥시드 라디칼을 분자 산소 및 과산화수소로 전환시키는 동종이량체로 작용한다. 이어서 과산화수소는 카탈라제로 불리는 또 다른 효소에 의해 분해될 수 있다.

[0110] SOD1 유전자에서 적어도 180개 돌연변이가 가족성 ALS에 연관되었다(Conwit RA, *J Neurol Sci.*, . 251(1-2):1-2 (2006); Al-Chalabi A, Leigh PN, *Curr. Opin. in Neurol.*, 13(4):397-405 (2000); Redler RL, Dokholyan NV, *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 107:215-62 (2012)). 그러나, 세포성 스트레스 조건 하에, 야생형 SOD1도 상당분의 산발성 ALS 사례에 연루되었으며, 이것이 ALS 환자의 90%를 나타낸다. 인간 SOD1에서 가장 빈번한 돌연변이는 미국에서는 A4V; 일본에서는 H46R; 및 아이슬란드에서는 G93S이다. 다른 잘 알려진 인간 SOD1 돌연변이에는 A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88델타TAD, A89T, V97M, S105델타SL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R, 및 G147R이 포함된다. SOD1 돌연변이를 기준으로 질환 기간에 상당한 이종성이 존재한다(**도 1** 참고). 실질적으로 알려진 모든 ALS-유도 SOD1 돌연변이는 우성 방식으로 작용한다; SOD1 유전자의 단일 돌연변이체 카피가 질환을 유도하기 충분하다.

[0111] 인간 SOD1의 아미노산 서열은 UniProt P00441 및 GENBANK 접근 번호 NP_000445에서 확인될 수 있고, 아래에서 제공된다:

[0112] MATKAVCVLK GDGPVQGIIN FEQKESNGPV KVWGSIKGLT EGLHGFHVHE FGDNTAGCTS AGPHFNPLSR KHGGPKDEER HVGDLGNVTA DKDGVADVSI EDSVISLSGD HCIIGRTLVV HEKADDLGKG GNEESTKTGN AGSRLACGVI GIAQ (**서열번호 2**)

[0113] 인간 SOD1을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 GENBANK 접근 번호 NM_000454.4에서 제공되며, 또한 아래에서 제공된다(본 개시의 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의해 인식되는 영역을 밑줄친다):

```
  1 gtttggggcc agagtgggcg aggcgcggag gtctggccta taaagtagtc gcggagacgg
 61 ggtgctggtt tgcgtcgtag tctcctgcag cgtctggggt ttccgttgca gtcctcggaa
121 ccaggacctc ggcgtggcct agcgagttat ggcgacgaag gccgtgtgcg tgctgaaggg
181 cgacggccca gtgcagggca tcatcaattt cgagcagaag gaaagtaatg gaccagtgaa
241 ggtgtgggga agcattaaag gactgactga aggcctgcat ggattccatg ttcatgagtt
301 tggagataat acagcaggct gtaccagtgc aggtcctcac tttaatcctc tatccagaaa
361 acacggtggg ccaaaggatg aagagaggca tgttggagac ttgggcaatg tgactgctga
421 caaagatggt gtggccgatg tgtctattga agattctgtg atctcactct caggagacca
481 ttgcatcatt ggccgcacac tggtggtcca tgaaaaagca gatgacttgg gcaaaggtgg
541 aaatgaagaa agtacaaaga caggaaacgc tggaagtcgt ttggcttgtg gtgtaattgg
601 gatcgcccaa taaacattcc cttggatgta gtctgaggcc ccttaactca tctgttatcc
661 tgctagctgt agaaatgtat cctgataaac attaaacact gtaatcttaa aagtgtaatt
721 gtgtgacttt ttcagagttg ctttaaagta cctgtagtga gaaactgatt tatgatcact
781 tggaagattt gtatagtttt ataaaactca gttaaaatgt ctgtttcaat gacctgtatt
841 ttgccagact taaatcacag atgggtatta aacttgtcag aatttctttg tcattcaagc
901 ctgtgaataa aaaccctgta tggcacttat tatgaggcta ttaaaagaat ccaaattcaa
961 actaaaaaaa aaaaaaaaaa a  (서열번호 3)
```

[0114]

[0115] ISIS 666853

[0116] ISIS 666853은 (5'에서 3'으로) CAGGATACATTTCTACAGCT (**서열번호 1**)의 서열을 갖는, 5-10-5 MOE 갭머(gapmer)로, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다. ISIS 666853은 하기 화학적 표기법: mCes Aeo Ges Geo Aes Tds Ads mCds Ads Tds Tds Tds mCds Tds Ads mCeo Aes Geo mCes Te에 의해 기재되며; 식 중,

[0117] A = 아데닌,

[0118] mC = 5-메틸시토신

[0119] G = 구아닌,

[0120] T = 티민,

[0121] e = 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 당,

[0122] d = 2'-데옥시리보스 당,

[0123] s = 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합, 및

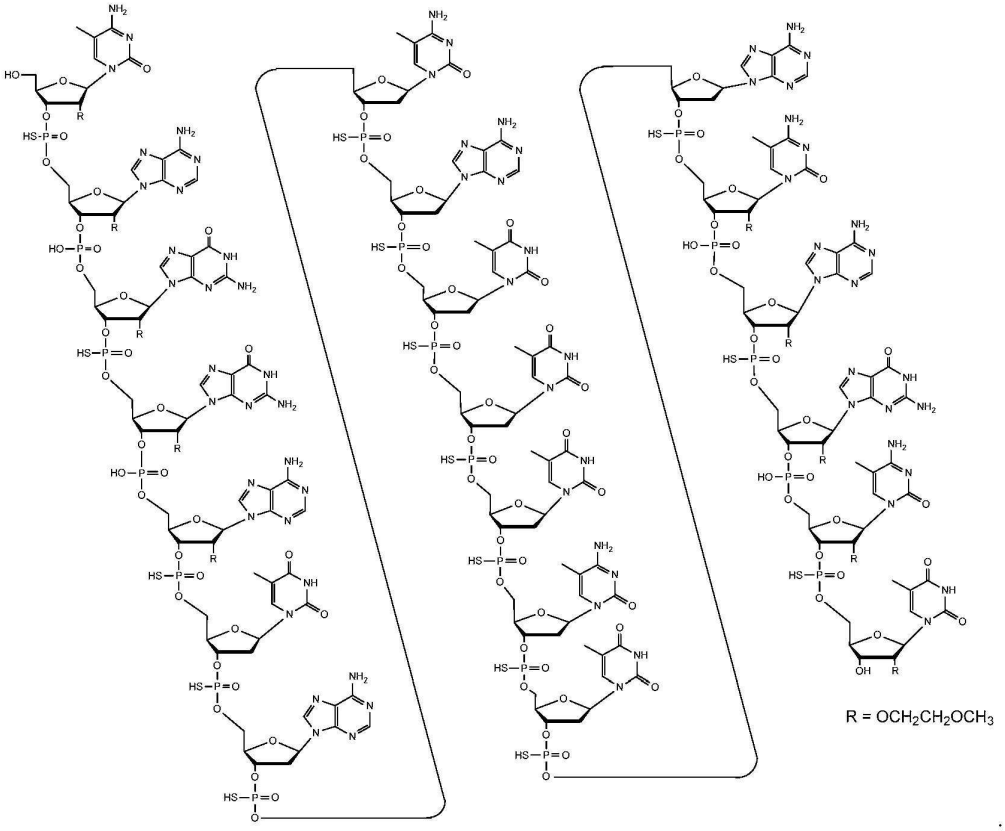
[0124] o = 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 결합.

[0125] ISIS 666853 서열은 또한 하기와 같이 약식으로 기재될 수 있다:

[0126] 5′ -^{Me}CA$_{P=O}$GG$_{P=O}$ATA^{Me}CATTT^{Me}CTA^{Me}C$_{P=O}$AG$_{P=O}$^{Me}C^{Me}U- 3′

[0127] 밑줄 친 잔기는 2'-MOE 뉴클레오시드이다. P=O 주석은 포스페이트 디에스테르 결합의 위치를 반영한다.

[0128] ISIS 666853은 하기 화학적 구조로 도시된다:



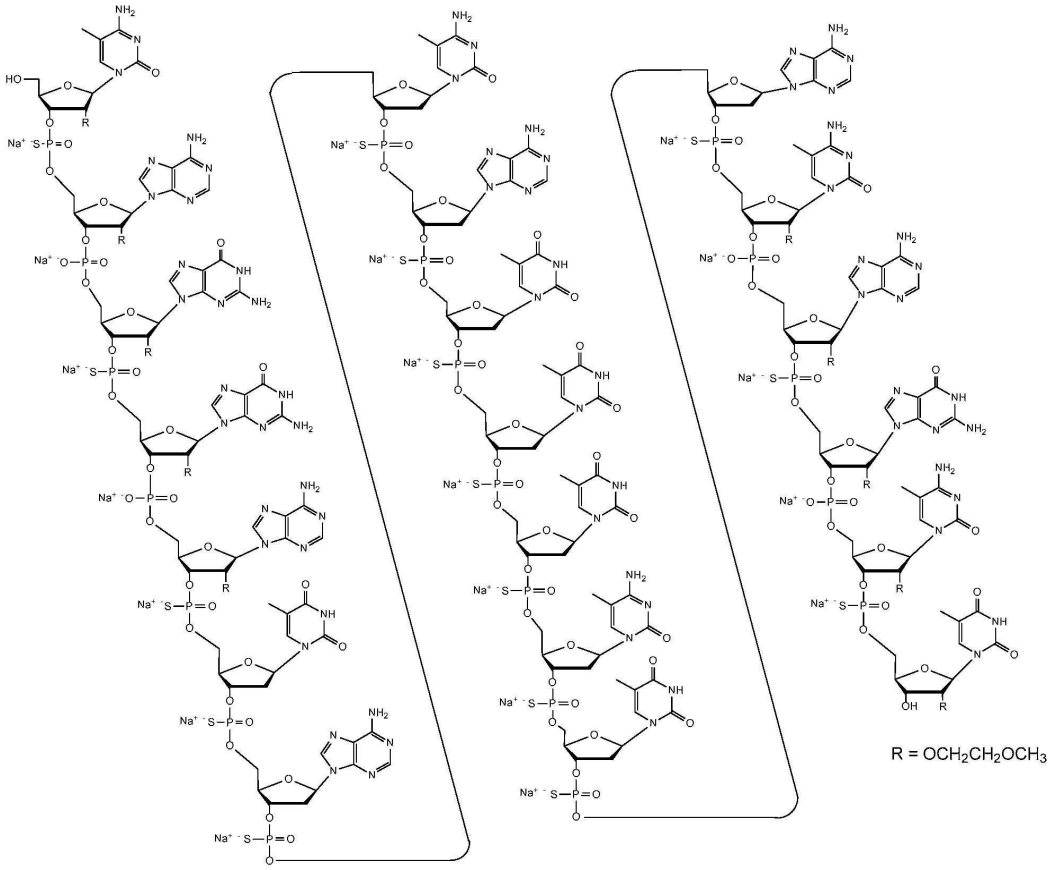
[0129]

[0130] 용액 중 안티센스 올리고뉴클레오티드는 자유 산 형태, 염 형태, 또는 이의 혼합물로 존재할 수 있음이 이해되어야 한다.

[0131] ISIS 666853의 노나데카나트륨("화합물 A")

[0132] 화합물 A은 SOD1 ALS를 갖는 대상체에서 SOD1 단백질의 수준을 감소시키는 SOD1 메신저 리보핵산(mRNA)의 안티센스 올리고뉴클레오티드 억제제인 ISIS 666853의 노나데카나트륨염이다. SOD1 mRNA, 그리고 후속적으로 독성 SOD1 단백질의 감소는 SOD1 ALS를 갖는 대상체에 대해 치료적 이익을 부여할 수 있다.

[0133] 화합물 A의 구조가 아래에 제공된다:



[0134]

[0135] 화합물 A의 분자식은 $C_{230}H_{298}N_{72}Na_{19}O_{123}P_{19}S_{15}$ 이며, 이는 분자량 = 7545.59 amu를 갖는다.

[0136] 화합물 A은 왓슨 크릭 염기쌍 형성에 의해 결합하는, 인간 SOD1에 대한 mRNA의 3' 미번역 영역(3' UTR) 부분과 상보적이다. 화합물 A의 인지체 mRNA로의 혼성화(결합)는 SOD1에 대한 mRNA의 RNase-H1-매개 분해를 일으키며, 이에 따라 SOD1 단백질 합성의 양을 감소시킨다. RNase H는 데옥시리보핵산-리보핵산(DNA-RNA) 헤테로듀플렉스를 인식하고 듀플렉스의 RNA 가닥을 절단하는 도처에서 발현되는 효소(뉴클레아제)이다. SOD1 mRNA의 3'-UTR 영역에 결합함으로써, 화합물 A은 RNase H1을 SOD1 mRNA로 선택적으로 표적화하며 그 절단을 촉진하고, 이는 SOD1의 야생형 및 돌연변이체 변이체 둘 다의 감소된 발현을 야기한다.

[0137] 화합물 A은 SOD1 G93A 트랜스제닉 마우스에서 중앙값 생존을 유의미하게 증가시켰다(Mantel-Cox, $p<0.01$). 이는 또한 SOD1 G93A 트랜스제닉 마우스에서 화합물 근육 활동 전위에 의해 측정되는, 신경근육 기능의 용량-의존적 보호를 유도하였다.

[0138] 콘주게이션된 안티센스 올리고뉴클레오티드

[0139] 본 개시의 안티센스 올리고뉴클레오티드는 생성 안티센스 올리고뉴클레오티드의 활성, 세포 분포 또는 세포 섭취를 증강시키는 하나 이상의 모이어티 또는 콘주게이트에 공유 결합될 수 있다. 전형적인 콘주게이트기에는 콜레스테롤 모이어티 및 지질 모이어티가 포함된다. 추가적인 콘주게이트기에는 탄수화물, 인지질, 바이오틴, 페나진, 폴레이트, 펜안트리딘, 안트라퀴논, 아크리딘, 플루오레신, 로다민, 쿠마린, 및 염료가 포함된다. 안티센스 올리고뉴클레오티드는 또한, 예를 들어, 뉴클레아제 안정성과 같은 특성을 증강시키기 위해 일반적으로 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나의 또는 양 말단에 부착된 하나 이상의 안정화기를 갖도록 변형될 수 있다. 안정화기에는 캡 구조가 포함된다. 이들 말단 변형은 엑소뉴클레아제 분해로부터 말단 핵산을 갖는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 보호하며, 세포 내 전달 및/또는 편재를 도울 수 있다. 캡은 5'-말단(5'-캡), 또는 3'-말단(3'-캡)에 존재할 수 있거나, 양 말단에 존재할 수 있다. 캡 구조는 당분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 도립 데옥시 무염기성 캡이 포함된다. 또한 뉴클레아제 안정성을 부여하기 위해 안티센스 올리고뉴클레오티드의 하나의 또는 양 말단을 캡핑하기 위해 사용될 수 있는 3' 및 5' 안정화기에는 WO 03/004602에 개시된 것들이 포함된다.

[0140] 약학 조성물을 제형화하기 위한 조성 및 방법

[0141] 본 개시의 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약학 조성물 또는 제형물의 제조를 위해 약학적으로 허용 가능한 활성 또는 불활성 성분과 혼합될 수 있다. 약학 조성물의 제형화 조성 및 방법은 비제한적으로 투여 경로, 질환 정도, 또는 투여될 용량을 포함하는 여러 기준에 의존한다.

[0142] SOD1 핵산으로 표적화되는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염은 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 적합한 약학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체와 조합함으로써 약학 조성물에서 사용될 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 희석제에는 인산염-완충 식염수(PBS)가 포함된다. PBS는 비경구 전달될 조성물에서 사용하기 위해 적합한 희석제이다. 따라서, 하나의 구현예에서, SOD1 핵산으로 표적화되는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염 및 약학적으로 허용 가능한 희석제를 포함하는 약학 조성물이 본원에서 기재되는 방법에서 채택된다.

[0143] 본원에서 기재되는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염은 대상체에 대한 경막내 투여를 위한 약학 조성물로서 제형화될 수 있다.

[0144] 본 개시의 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 약학 조성물은 인간을 포함하는 동물에 대한 투여 시, (직접적으로 또는 간접적으로) 생물학적 활성 대사물질 또는 이의 잔류물을 제공할 수 있는, 임의의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 이러한 에스테르의 염, 또는 임의의 다른 올리고뉴클레오티드를 포괄한다. 따라서, 예를 들어, 본 개시는 또한 안티센스 올리고뉴클레오티드의 약학적으로 허용 가능한 염 및 다른 생물학적 동등물로 이어진다. 적합한 약학적으로 허용 가능한 염에는 비제한적으로 나트륨 및 칼륨 염이 포함된다.

[0145] 치료 방법

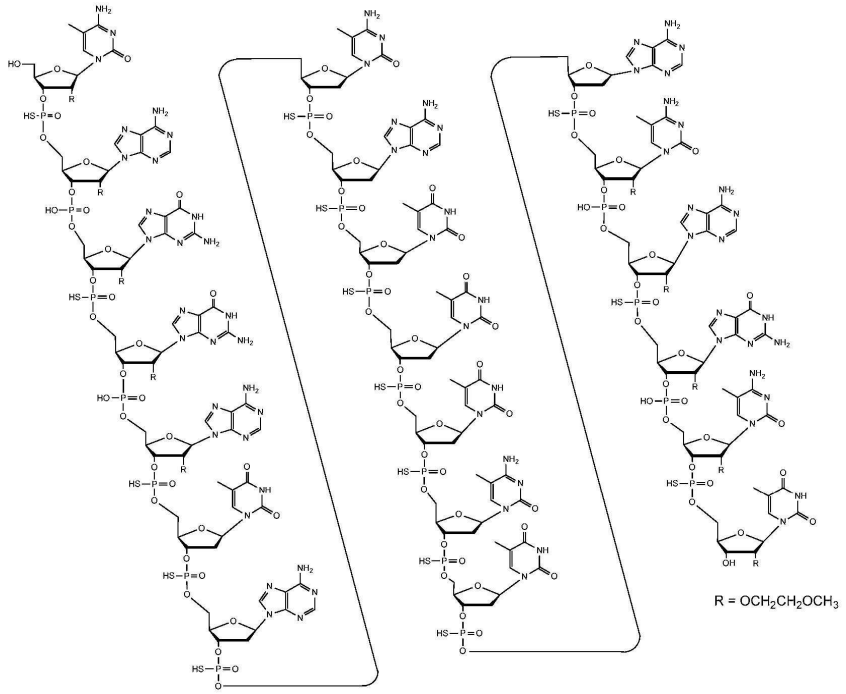
[0146] 본 개시는 인간 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법을 특징으로 한다. 방법에는 고정된 용량의 안티센스 올리고뉴클레오티드를 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다. 특정 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 100 mg 또는 100 mg이다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 60 mg 또는 60 mg이다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 40 mg 또는 40 mg이다. 일부 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 20 mg 또는 20 mg이다. 특정 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 나트륨 염의 고정된 용량은 약 105.9 mg 또는 105.9 mg이다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 나트륨 염의 고정된 용량은 약 63.5 mg 또는 63.5 mg이다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 나트륨 염의 고정된 용량은 약 42.3 mg 또는 42.3 mg이다. 일부 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 나트륨 염의 고정된 용량은 약 21.2 mg 또는 21.2 mg이다.

[0147] 또한 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성을 감소시키는 방법이 제공된다. 방법에는 고정된 용량의 안티센스 올리고뉴클레오티드를 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다. 특정 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 100 mg 또는 100 mg이다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 60 mg 또는 60 mg이다. 또 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 40 mg 또는 40 mg이다. 일부 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 20 mg 또는 20 mg이다.

[0148] 또한 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 mRNA 수준

을 감소시키는 방법이 제공된다. 방법에는 고정된 용량의 안티센스 올리고뉴클레오티드를 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계가 관여되며, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오염기 서열은 CAGGATACATTTCTACAGCT(서열번호 1)로 구성되고, 각각의 뉴클레오시드 1~5 및 16~20은 2'-O-메톡시에틸리보스 변형된 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 6~15는 2'-데옥시뉴클레오시드이고, 뉴클레오시드 2와 3, 4와 5, 16과 17, 및 18과 19 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르 결합이고 뉴클레오시드 1과 2, 3과 4, 5와 6, 6과 7, 7과 8, 8과 9, 9와 10, 10과 11, 11과 12, 12와 13, 13과 14, 14와 15, 15와 16, 17과 18, 및 19와 20 사이의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다. 특정 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 100 mg 또는 100 mg이다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 60 mg 또는 60 m이다. 또 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 40 mg 또는 40 mg이다. 일부 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량은 약 20 mg 또는 20 mg이다.

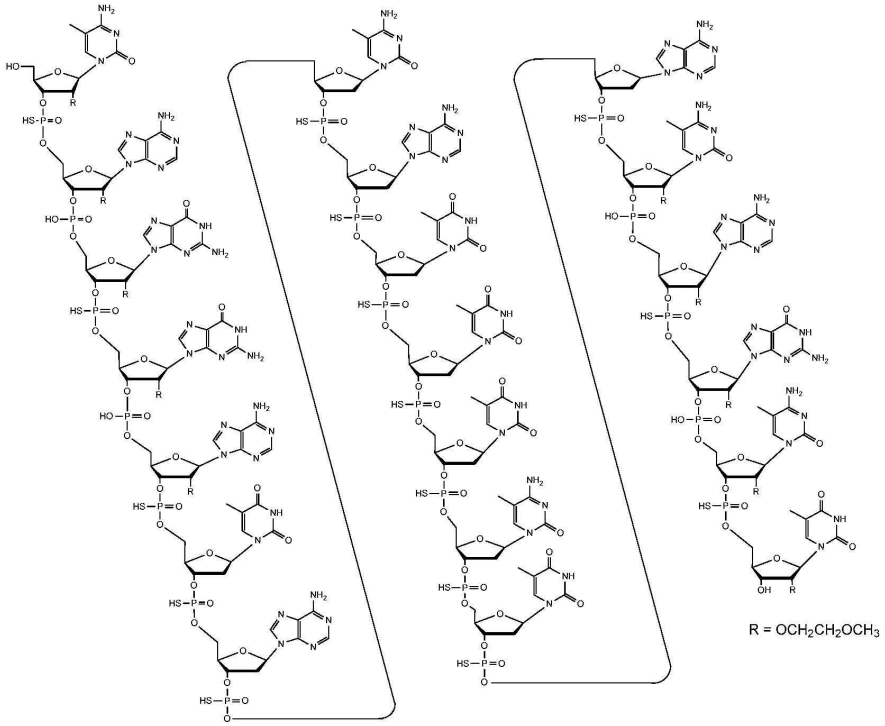
[0149] 또한 SOD1 유전자에서의 돌연변이와 연관된 근위축 측삭 경화증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 상기 치료 또는 예방의 방법이 제공되며, 여기서 방법은 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계를 수반하고, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 갖는다:



[0150] .

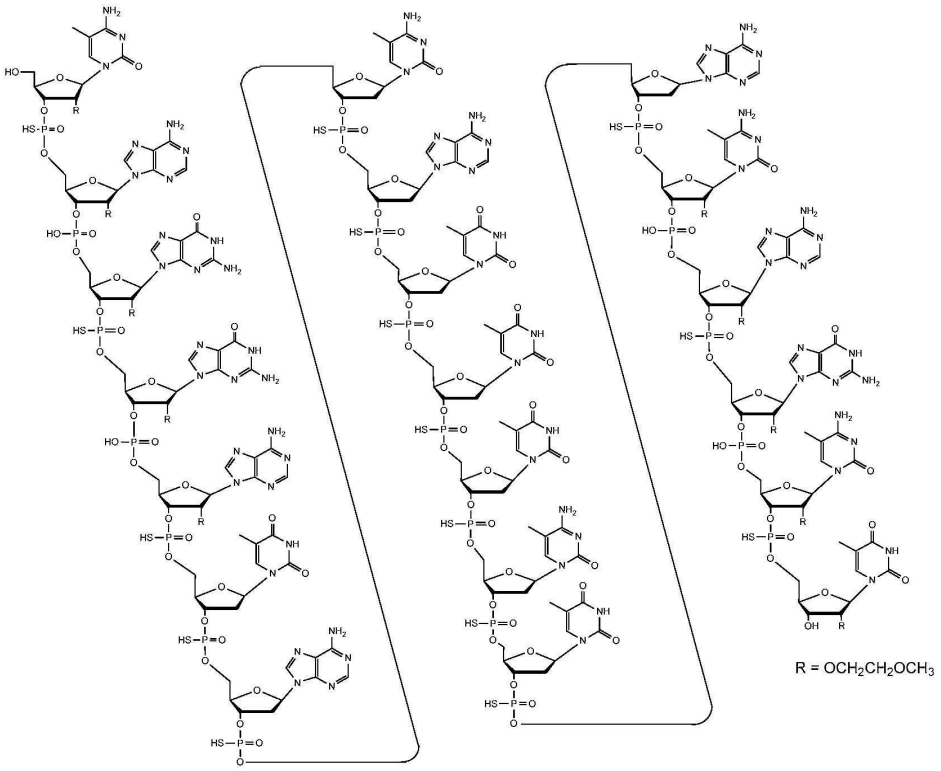
[0151] 특정 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 100 mg 또는 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 60 mg 또는 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 40 mg 또는 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 20 mg 또는 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다.

[0152] 또한 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 단백질 합성을 감소시키는 방법이 제공되며, 여기서 방법은 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계를 수반하고, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 갖는다:

[0153] 

[0154] 특정 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 100 mg 또는 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 60 mg 또는 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 40 mg 또는 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 20 mg 또는 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다.

[0155] 또한 근위축 측삭 경화증과 연관된 인간 SOD1 유전자에 돌연변이를 갖는 인간 대상체에서 인간 SOD1 mRNA 수준을 감소시키는 방법이 제공되며, 여기서 방법은 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물을 경막내 투여에 의해 인간 대상체에 투여하는 단계를 수반하고, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 하기 구조를 갖는다:

[0156] 

[0157] 특정 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 100 mg 또는 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 60 mg 또는 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 40 mg 또는 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다. 다른 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염은 약 20 mg 또는 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동등한 용량으로 투여된다.

[0158] 일부 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 상기 주지된 고정된 용량은 1주 1회, 2주 1회, 3주 1회, 또는 4주 1회 인간 대상체에 투여된다.

[0159] 일부 경우에서, 본원에서 기재되는 안티센스 올리고뉴클레오티드는 약학 조성물의 일부로서 인간 대상체에 투여된다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 약 20 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량(즉, 동등물)을 전달하기 충분한 양으로 인간 대상체에 투여된다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 약 40 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 인간 대상체에 투여된다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 약 60 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 인간 대상체에 투여된다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 약 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량을 전달하기 충분한 양으로 인간 대상체에 투여된다.

[0160] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 상기 주지된 고정된 용량이 부하 용량(들)으로 투여된다. 일부 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 상기 주지된 고정된 용량은 유지 용량(들)으로 투여된다. 특정 경우에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 상기 주지된 고정된 용량은 부하 용량(들)으로 투여되고 유지 용량(들)이 뒤따른다. 부하 용량(들)은, 예컨대, 1주마다, 2주마다, 3주마다, 또는 4주마다 투여될 수 있다. 유지 용량(들)은, 예컨대 최종 부하 용량 후 1주마다, 2주마다, 3주마다, 또는 4주마다 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 유지 용량(들)은 매월 투여된다.

[0161] 특정 구현예에서, 인간 대상체에는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 3개의 부하 용량에 이어 적어도 하나의(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개 이상의) 유지 용량이 투여된다. 일부 경우에서, 3개의 부하 용량은 2주 간격으로 투여된다. 일부 경우에서, 3개의 부하 용량은 14일 간격으로 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량의 4주 후 시작되어 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량 후 시작되어 매월 투여된다. 일부 경우에서, 유지 용량/용량들은 세 번째 부하 용량 후 시작되어 28일마다 투여된다.

[0162] SOD1에서의 돌연변이는 ALS에 연관된 인간 SOD1 유전자에서의 임의의 돌연변이일 수 있다. 일부 경우에서, 돌연변이는 저속-진행 ALS 질환 돌연변이이다. 다른 경우에서, 돌연변이는 고속-진행 ALS 질환 돌연변이이다. 특정 경우에서, 인간 SOD1 유전자에서의 돌연변이는 A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88델타TAD, A89T, V97M, S105델타SL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R, 또는 G147R 중 하나 이상이다. 하나의 특정 구현예에서, 인간 대상체는 인간 SOD1 유전자에 A4V 돌연변이를 갖는다. 또 다른 특정 구현예에서, 인간 대상체는 인간 SOD1 유전자에 H46R 돌연변이를 갖는다. 또 다른 특정 구현예에서, 인간 대상체는 인간 SOD1 유전자에 G93S 돌연변이를 갖는다.

[0163] 특정 경우에서, SOD1 유전자에서의 돌연변이는 유전 평가에 의해 확인된다.

[0164] 일부 경우에서, 상술된 방법에는 유전 평가에 의해 SOD1 유전자에서 돌연변이를 확인하는 단계가 관여된다.

[0165] 특정 구현예에서, 치료 유효량의 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)의 인간 대상체에 대한 투여에는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 투여에 대한 인간 대상체의 반응을 결정하기 위해, 인간 대상체에서의 SOD1 수준의 모니터링이 수반된다. 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 투여에 대한 인간 대상체의 반응은 치료적 개입의 양 및 기간을 결정하기 위해 의사에 의해 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 인간 SOD1 수준은 CSF 중에서 모니터링된다. 특정 구현예에서, 인간 SOD1 수준은 혈장 중에서 모니터링된다.

[0166] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)의 투여는 SOD1 단백질 발현의 감소를 일으킨다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)의 투여는, 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 99%, 또는 이들 값 중 임의의 2개에 의해 정의되는 범위만큼 SOD1 단백질 발현의 감소를 일으킨다. 특정 구현예에서, SOD1 단백질 발현의 감소는 CSF에서의 감소이다. 특정 구현예에서, SOD1 단백질 발현의 감소는 혈장에서의 감소이다.

[0167] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)의 투여는 인간 대상체에서 개선된 운동 기능 및 호흡을 일으킨다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 투여는 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 99%, 또는 이들 값 중 임의의 2개에 의해 정의되는 범위만큼 운동 기능 및 호흡을 개선한다.

[0168] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)을 포함하는 약학 조성물은 ALS를 겪거나 이에 취약한 인간 대상체(예컨대, ALS에 연관된 SOD1에 돌연변이를 갖는 인간 대상체)의 치료용 약제의 제조를 위해 사용된다.

[0169] 전달 장치

[0170] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)은 경막내 전달을 위해 시린지로 인간 대상체에 투여된다. 또 다른 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)은 경막내 전달을 위해 펌프로 인간 대상체에 투여된다. 따라서, 본 개시는 또한 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)의 멸균 제조물을 포함하는 펌프 또는 시린지를 제공한다. 시린지 또는 펌프는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 경막내 투여를 위해 적응될 수 있다. 일부 사례에서, 시린지 또는 펌프는 고정된 용량(들)(예컨대, 약 20 mg 또는 20 mg, 약 40 mg 또는 40 mg, 약 60 mg 또는 60 mg, 또는 약 100 mg 또는 100 mg)의 안티센스 올리고뉴클레오티드를 전달한다. 본 개시는 또한 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)을 포함하는 약학 조성물의 멸균 제조물을 포함하는 펌프 또는 시린지를 제공한다. 시린지 또는 펌프는 약학 조성물의 경막내 투여를 위해 적응될 수 있다. 일부 사례에서, 시린지 또는 펌프는 고정된 용량(들)(예컨대, 약 20 mg 또는 20 mg, 약 40 mg 또는 40 mg, 약 60 mg 또는 60 mg, 또는 약 100 mg 또는 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 약학 조성물을 전달한다. 특정 구현예에서, 펌프 또는 시린지는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염의 멸균 제조물을 포함하며, 여기서 시린지 또는 펌프는 20 mg, 40 mg, 60 mg, 또는 100 mg의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 고정된 용량으로 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 이의 염(예컨대, 화합물 A)의 경막내 투여를 위해 적응된다.

[0171] 검정

[0172] *RNA 단리*

[0173] RNA 분석은 전체 세포성 RNA 또는 폴리(A)+ mRNA 상에서 수행될 수 있다. RNA는, 예를 들어 제조업체의 권장 프

로토콜에 따라 TRIZOL 시약(Invitrogen, Carlsbad, CA)을 사용하여, 당분야에 잘 알려진 방법을 사용하여 제조된다.

[0174] *표적 수준 또는 발현의 억제 분석*

[0175] SOD1 핵산의 수준 또는 발현의 억제는 당분야에 알려진 다양한 방식으로 검정될 수 있다. 예를 들어, 표적 핵산 수준은, 예컨대, 노던 블롯 분석, 경쟁적 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), 또는 정량적 실시간 PCR에 의해 정량될 수 있다. RNA 분석은 전체 세포성 RNA 또는 폴리(A)+ mRNA 상에서 수행될 수 있다. RNA 단리 방법은 당분야에 잘 알려져 있다. 노던 블롯 분석도 당분야에서 일상적이다. 정량적 실시간 PCR은 PE-Applied Biosystems, Foster City, CA에서 이용 가능한, 상업적으로 이용 가능한 ABI PRISM 7600, 7700, 또는 7900 서열 검출 시스템을 사용하여 편리하게 달성될 수 있고 제조업체의 지침에 따라 사용될 수 있다.

[0176] *표적 RNA 수준의 정량적 실시간 PCR 분석*

[0177] SOD1 RNA 수준의 정량은 제조업체의 지침에 따라 ABI PRISM 7600, 7700, 또는 7900 서열 검출 시스템(PE-Applied Biosystems, Foster City, CA)을 사용하여 정량적 실시간 PCR에 의해 달성될 수 있다. 정량적 실시간 PCR 방법은 당분야에 잘 알려져 있다.

[0178] 실시간 PCR 전에, 단리된 RNA로 역전사효소(RT) 반응을 거치며, 이는 실시간 PCR 증폭을 위한 기질로 사용되는 상보적 DNA(cDNA)를 생성한다. RT 및 실시간 PCR 반응은 동일한 샘플 웰에서 순차적으로 수행된다. RT 및 실시간 PCR 시약은 Invitrogen(Carlsbad, CA)으로부터 수득된다. RT 실시간-PCR 반응은 당업자에게 잘 알려진 방법에 의해 수행된다.

[0179] 실시간 PCR에 의해 수득되는 유전자(또는 RNA) 표적 양은 발현이 일정한 유전자, 예컨대 사이클로필린 A의 발현 수준을 사용하여, 또는 RIBOGREEN(Invitrogen, Inc. Carlsbad, CA)을 사용하여 전체 RNA를 정량함으로써 정상화된다. 사이클로필린 A 발현은 실시간 PCR에 의해, 표적과 동시에 분석을 걸어서, 멀티플렉스화에 의해, 또는 별도로 정량된다. 전체 RNA는 RIBOGREEN RNA 정량 시약(Invitrogen, Inc. Eugene, OR)을 사용하여 정량된다. RIBOGREEN에 의한 RNA 정량 방법은 Jones, L.J., 등, (Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374)에서 교시된다. CYTOFLUOR 4000 기기(PE Applied Biosystems)가 RIBOGREEN 형광을 측정하기 위해 사용된다.

[0180] SOD1 핵산에 혼성화하기 위한 탐침 및 프라이머가 설계된다. 실시간 PCR 탐침 및 프라이머를 설계하는 방법은 당분야에 잘 알려져 있으며, PRIMER EXPRESS 소프트웨어(Applied Biosystems, Foster City, CA)와 같은 소프트웨어의 사용이 포함될 수 있다.

[0181] *단백질 수준의 분석*

[0182] SOD1 핵산의 안티센스 억제는 SOD1 단백질 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. SOD1의 단백질 수준은 면역침전, 웨스턴 블롯 분석(면역블로팅), 효소 연관 면역흡착 검정(ELISA), 정량적 단백질 검정, 단백질 활성 검정(예를 들어, 카스파제 활성 검정), 면역조직화학, 면역세포화학 또는 형광 활성화 세포 정렬(FACS)과 같은, 당분야에 잘 알려진 다양한 방식으로 평가되거나 정량될 수 있다. 표적에 대해 유도된 항체는 MSRS 항체 카탈로그(Aerie Corporation, Birmingham, MI)와 같은 다양한 원천으로부터 확인되고 수득될 수 있거나, 당분야에 잘 알려진 통상적인 모노클로날 또는 폴리클로날 항체 생성 방법을 통해 제조될 수 있다. 인간 SOD1의 검출을 위해 유용한 항체는 상업적으로 이용 가능하다.

[0183] *SOD1 돌연변이에 대한 평가*

[0184] ALS에 대한 하나의 기저 유전 요인은 인간 *SOD1* 유전자에서의 돌연변이(들)이다. 따라서, ALS를 겪거나 이에 취약한 대상체의 확인은 예컨대, 유전자 서열분석과 같은, 당분야에 알려진 검정을 사용하는 대상체의 *SOD1* 유전자의 유전 평가에 의해 수행될 수 있다. 인간 SOD1에서 적어도 180개의 돌연변이가 ALS에 연관된 것으로 당분야에 알려져 있다.

[0185] ALS 질환에 대한 대상체의 취약성 분석은 또한 ALS에 대한 대상체의 가족력을 분석함으로써 수행될 수 있다. 가족력의 분석에는 ALS를 보고하는 3세대 가계, 의학 기록의 검토 및 가족 구성원의 검시 연구, 및 SOD1 돌연변이의 상염색체 우성 패턴의 확인이 포함될 수 있다.

[0186] 하기 실시예는 어떠한 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 간주되어서는 안 된다.

[0187] **실시예**

[0188] **실시예 1: 시험 설계**

[0189] 화합물 A은 진행 중인 임상 시험에서 연구되고 있다. 시험에는 SOD1 ALS 환자에서의 무작위화, 위약 대조, 단회 상승 용량(SAD), 및 다회 상승 용량(MAD) 연구가 관여된다. MAD 부분에서, 참가자는 대략 3개월에 걸쳐 5개 용량의 연구 약물을 수여받았다. 50명의 참가자를 20 mg, 40 mg, 60 mg, 또는 100 mg의 화합물 A, 또는 위약을 수여받도록 무작위화하였다(코호트 당 3:1). 코호트 당 1 내지 4명의 화합물 A-처리 참가자가 고속 진행인 것으로 선험적으로 판단된 보고된 SOD1 돌연변이를 보고하였다(주로 A4V).

[0190] **실시예 2: 안전성 프로필**

[0191] 시험에서, 70명 중 66명의 환자(94%)가 적어도 1건의 이상 반응(AE)을 경험하였고, 그 대부분이 경도 또는 중증도로 평가되었다. 화합물 A을 수여받은 3명 이상의 참가자에서 일어난 가장 일반적인 AE는 두통(n = 16), 시술통(n = 14), 및 허리천자 후 증후군(n = 13)이었다. 7명의 환자가 심각한 이상 반응(SAE)을 경험하였고, 그 중 3명은 치명적 사례였다. 최고 용량군(화합물 A 100 mg)에서는 SAE가 보고되지 않았다. 6명의 대상체가 화합물 A과 관련되지 않은 것으로 평가되고 ALS 또는 동반질병에 관련된 것으로 여겨지는 SAE를 가졌다. 모든 치명적 사례는 관련되지 않은 것으로 평가되었다. 1명의 환자가 화합물 A와 관련된 것으로 평가된 CSF 백혈구 증가 및 CSF 단백질 증가의 SAE를 가졌다. 이들 실험실 비정상성은 화합물 A의 계속된 투여에도 불구하고 해소되었고, 환자는 연구를 완료하였다. 평가된 최고 용량, 100 mg에서 심각한 이상 반응은 보고되지 않았다.

[0192] **실시예 3: 약동력학 및 약력학**

[0193] 화합물 A 혈장(나타내지 않음) 및 CSF 농도에서 용량 의존적 증가가 SAD(나타내지 않음) 및 MAD 코호트에서 관찰되었다(**도 2**). 화합물 A의 혈장 농도는 1 및 85일차에 측정되어, 용량 비례한 반면, CSF에서의 화합물 A 노출은 용량-비례적 반응보다 작게 나타났다. CSF SOD1 농도에서 기준선으로부터의 감소가 40 mg 다회 용량 수준 이상(즉, 60 mg 및 100 mg)에서 관찰되었고, 이는 투여량과 함께 증가하였으며, 100 mg 다회 용량군에서 36%의 최대 평균 감소를 가졌다(**도 3**). CSF SOD1에서의 기준선으로부터의 감소가 100 mg 용량군에서의 모든 참가자에서 관찰되었다. 최대 SOD1 감소는 최종 용량에서 또는 그 직후 관찰되어, 5 용량 이후의 연속 투여가 추가 감소를 산출할 수 있음을 시사하였다. 전임상 데이터에 기반한 모델링은 화합물 A 100 mg이 척수에서의 SOD1 수준을 99% 초과만큼 그리고 피질에서 대략 25~30%만큼 효과적으로 감소시킴을 제시한다.

[0194] **실시예 4: 임상 관찰**

[0195] 근위축 측삭 경화증 기능 등급 스케일-개정판(ALFSFRS-R), 느린 폐활량(SVC), 및 휴대용 동력측정법(HHD) 스케일을 포함하는 몇몇 스케일 상의 여러 시점에서 유효성을 평가하였다. 모든 코호트에서, 화합물 A-처리군은 위약-처리군 대비 더 높은, 즉 더 우수한 스코어를 가졌다(**도 4a 내지 4c**). 100 mg 용량군(N=10)에서의 화합물 A-처리 참가자에 대한 ALSFRS-R 스코어에서의 기준선으로부터 85일까지의 평균 변화는 위약 처리 참가자(N=12)에 대한 -5.6 대비 -1.1이었다; 차이는 4.4포인트이다. 고속 진행성으로 알려진 SOD1 돌연변이, 예컨대, A4V를 갖는 참가자에서, 100 mg 용량군에서의 화합물 A-처리 참가자 및 위약 처리 참가자 간 현저한 차이가 관찰되었다. 이들 고속 진행 참가자에서, 기준선으로부터 85일까지 ALSFRS-R의 변화에서의 평균 차이는 10포인트에 접근하였다(**도 5**). 처리 효과는 고속-진행(**도 5**) 및 비-고속 진행 참가자(**도 6**) 둘 다에서 여러 임상 스케일 및 CSF SOD1 감소에 걸쳐 일관된 것으로 나타난다. 참조 프레임으로서, 6개월차의 ALSFRS-R 차이는 ALS에서의 에다라본 중추 시험에서의 2.5포인트였다.

[0196] 종합하면, 시험은 화합물 A이 SOD1 ALS를 갖는 대상체에 대해 안전하고 효과적인 치료임을 실증하였다. 이는 고속 진행 돌연변이 서브타입(주로 A4V)을 갖는 화합물 A-처리 대상체에서의, 특히 100 mg 용량군에서의 결과에 의해 가장 강력히 강조되며, 이들에 대해서는 유효한 치료의 부재 하에 빠른 감소가 예상되었을 것이다. 상기 주지된 바와 같이, 유효성을 근위축 측삭 경화증 기능 등급 스케일-개정판(ALSFRS-R), 느린 폐활량(SVC), 및 휴대용 동력측정법(HHD)을 포함하는 몇몇 스케일 상의 여러 시점에서 평가하였다. 결과는 위약군 대비 화합물 A 100 mg 용량군에서 각각의 3개의 임상 기능 종결점에 대해 훨씬 더 작은 감소를 나타낸다.

[0197] **실시예 5: CSF 인산화 신경필라멘트 중쇄(pNFH) 수준**

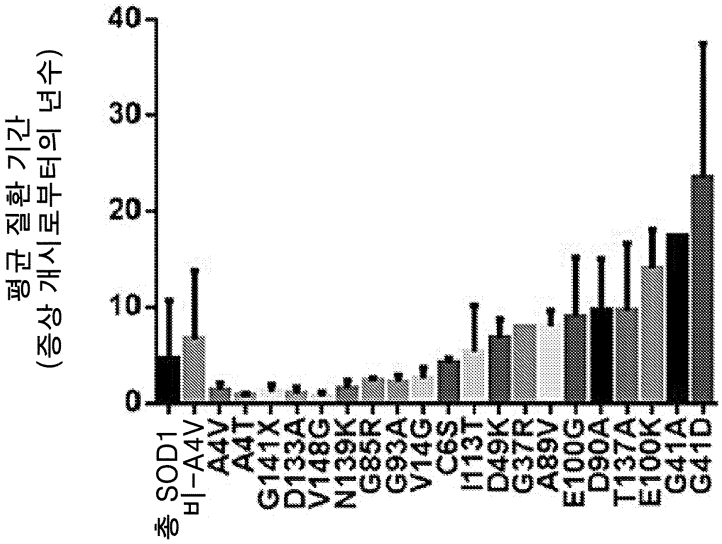
[0198] 고속-진행 SOD1 돌연변이를 가진 환자에서, 화합물 A로의 처리는 CSF pNFH 수준에서의 감소 및 위약 대비 임상적 감소의 저하를 일으켰다. 다른 SOD1 돌연변이를 갖는 환자 대비(**도 8**) 고속-진행 SOD1 돌연변이를 갖는 환자에서(**도 7**) 화합물 A 100 mg 및 위약군 간 85일차의 pNFH 수준에서 더 큰 차이가 관찰되었다.

[0199] 다른 구현예

[0200] 본 발명이 이의 상세한 설명과 함께 기재되었으나, 상기 설명은 본 발명을 예시하려는 것이며, 첨부되는 청구범위의 범위에 의해 정의되는 범위를 제한하려는 것이 아니다. 다른 양태, 장점, 및 변형은 하기 청구범위의 범위 내이다.

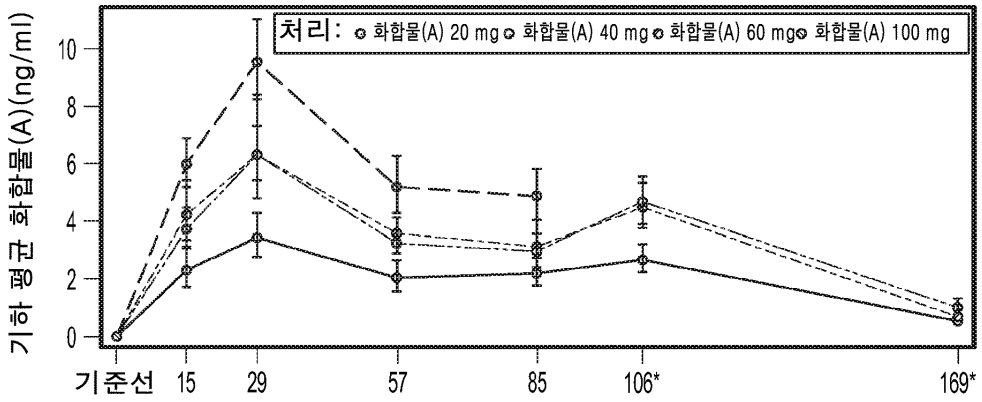
도면

도면1

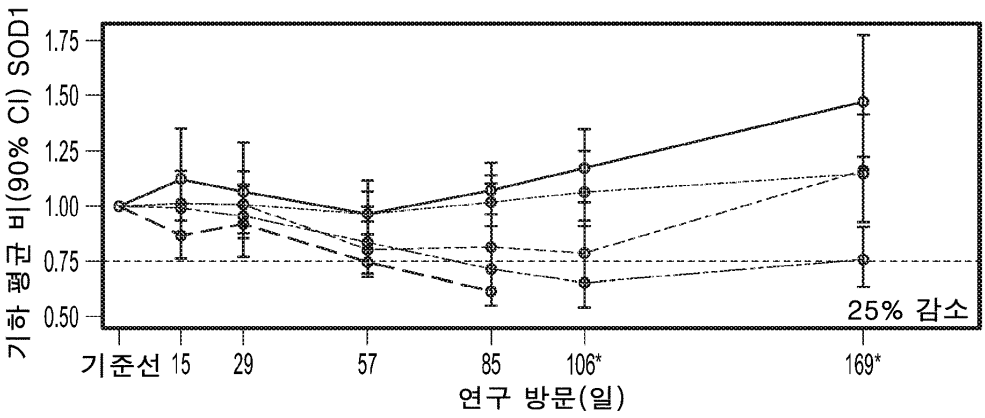


SOD1 돌연변이 상태

도면2

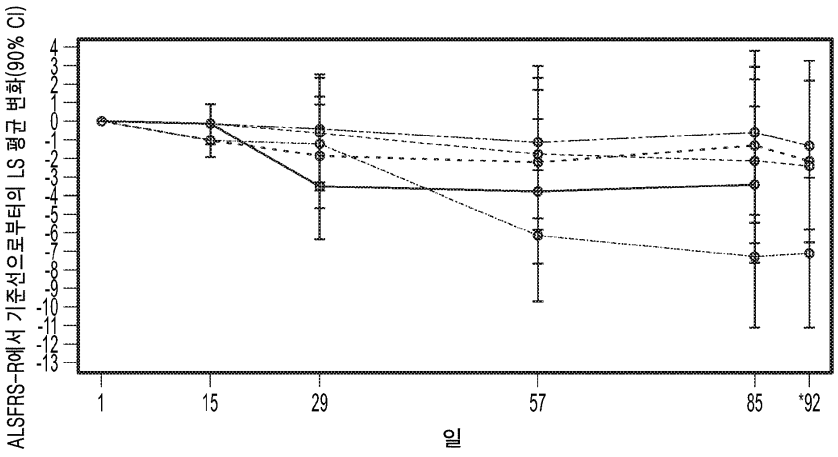


도면3



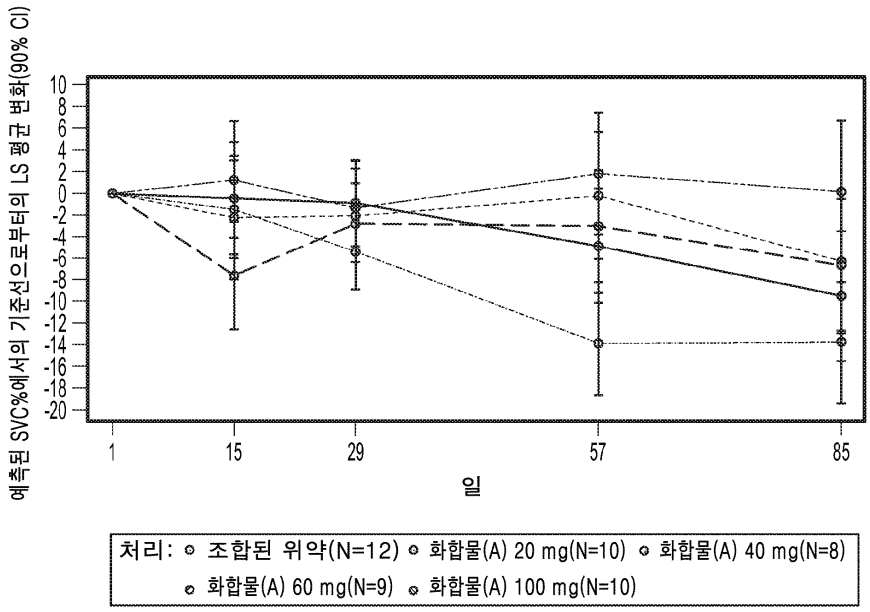
처리: ⚬ 조합된 위약(N=12) ⚬ 화합물(A) 20 mg(N=10) ⚬ 화합물(A) 40 mg(N=9)
⚬ 화합물(A) 60 mg(N=9) ⚬ 화합물(A) 100 mg(N=10)

도면4a

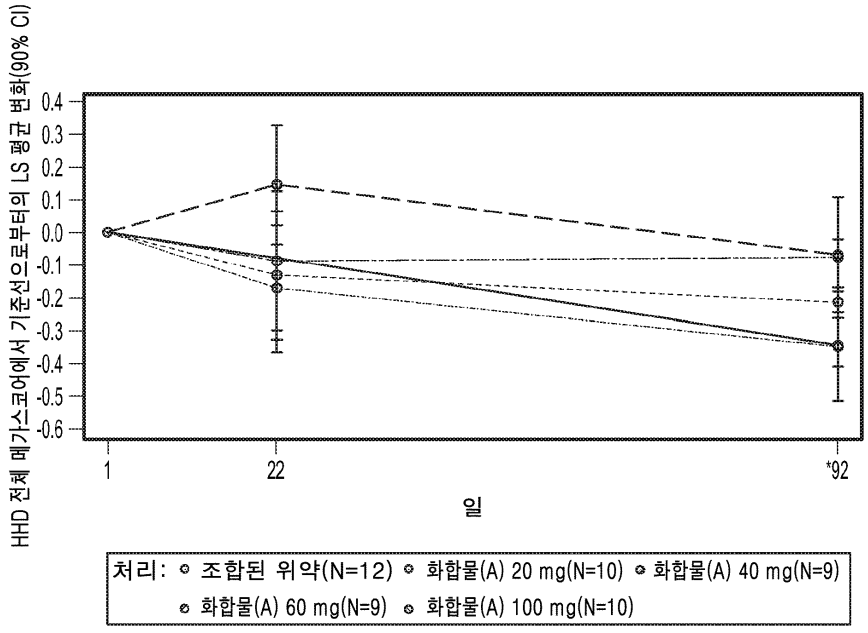


처리: ⚬ 조합된 위약(N=12) ⚬ 화합물(A) 20 mg(N=10) ⚬ 화합물(A) 40 mg(N=9)
⚬ 화합물(A) 60 mg(N=9) ⚬ 화합물(A) 100 mg(N=10)

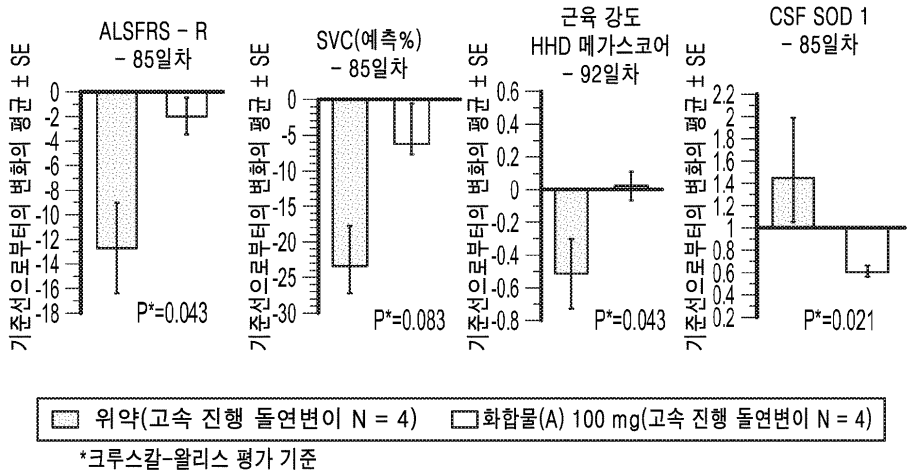
도면4b


예측된 SVC%에서의 기준선으로부터의 LS 평균 변화(90% CI)
10
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
-12
-14
-16
-18
-20
1
15
29
57
85
일
처리: 조합된 위약(N=12) 화합물(A) 20 mg(N=10) 화합물(A) 40 mg(N=8)
화합물(A) 60 mg(N=9) 화합물(A) 100 mg(N=10)

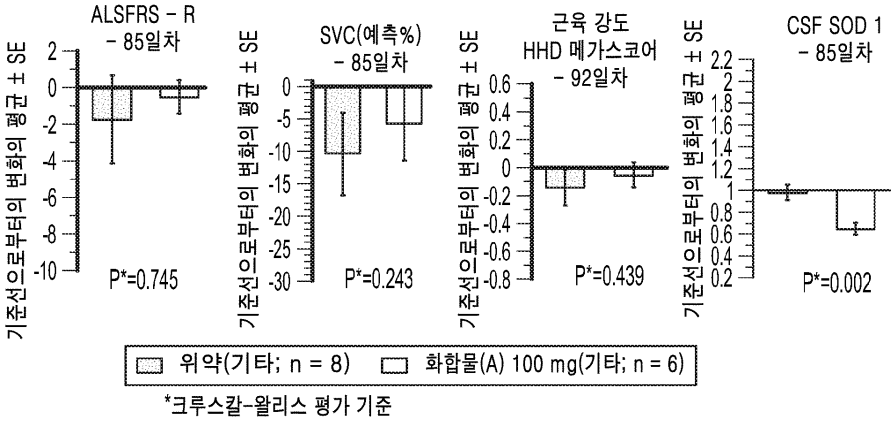
도면4c


HHD 전체 메가스코어에서 기준선으로부터의 LS 평균 변화(90% CI)
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
1
22
*92
일
처리: 조합된 위약(N=12) 화합물(A) 20 mg(N=10) 화합물(A) 40 mg(N=9)
화합물(A) 60 mg(N=9) 화합물(A) 100 mg(N=10)

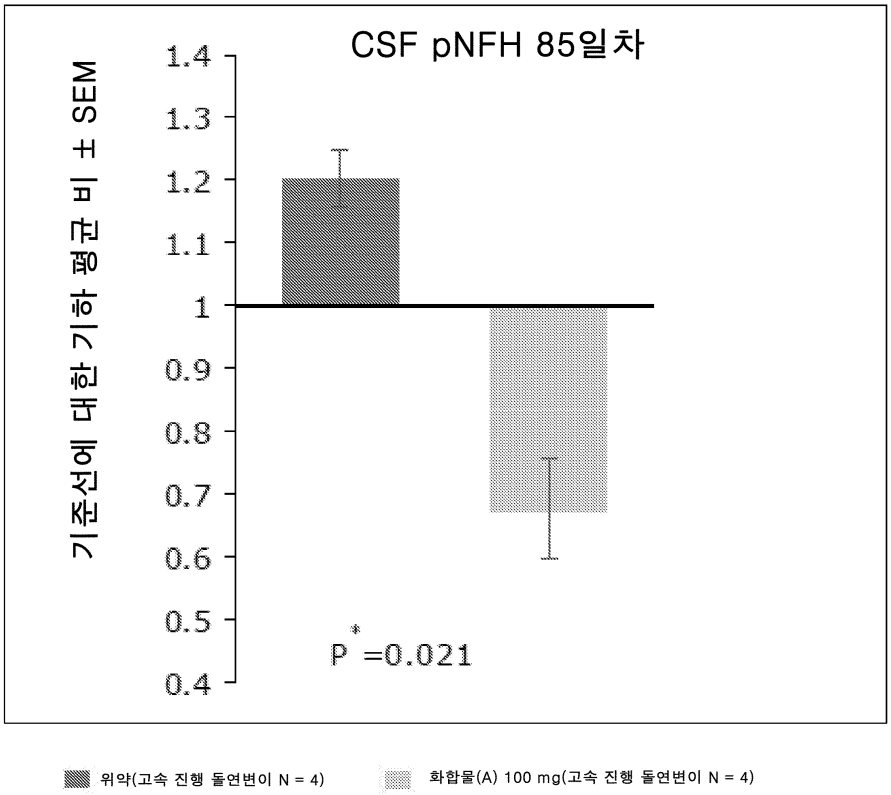
도면5


ALSFRS - R
- 85일차
SVC(예측%)
- 85일차
근육 강도
HHD 메가스코어
- 92일차
CSF SOD 1
- 85일차
기준선으로부터의 변화의 평균 ± SE
P*=0.043
P*=0.083
P*=0.043
P*=0.021
위약(고속 진행 돌연변이 N = 4)
화합물(A) 100 mg(고속 진행 돌연변이 N = 4)
*크루스칼-왈리스 평가 기준

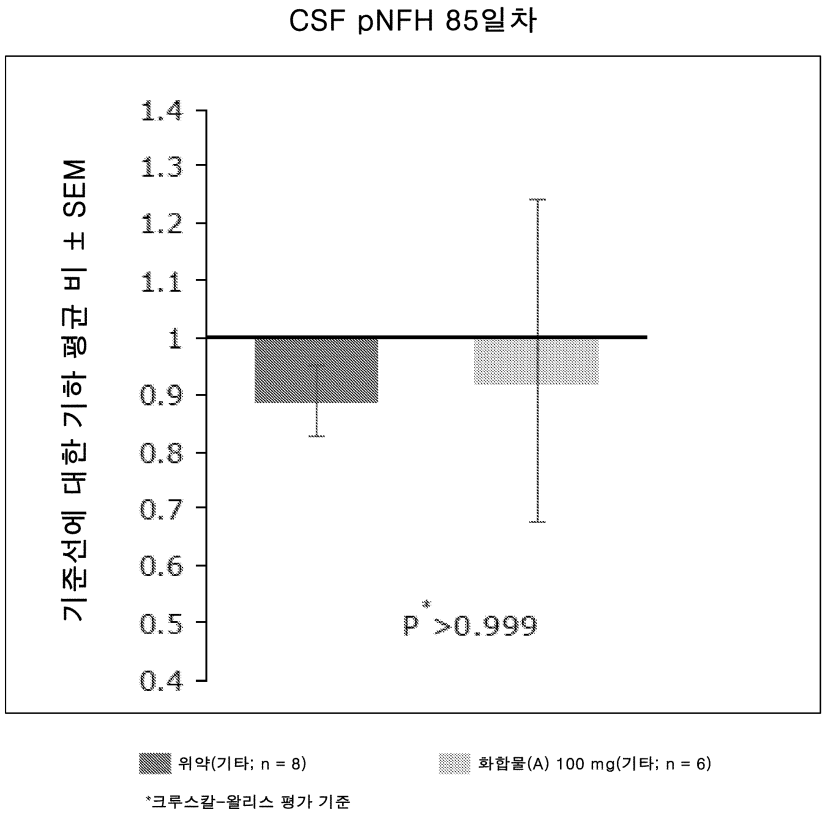
도면6


ALSFRS - R
- 85일차
SVC(예측%)
- 85일차
근육 강도
HHD 메가스코어
- 92일차
CSF SOD 1
- 85일차
기준선으로부터의 변화의 평균 ± SE
P*=0.745
P*=0.243
P*=0.439
P*=0.002
위약(기타; n = 8)
화합물(A) 100 mg(기타; n = 6)
*크루스칼-왈리스 평가 기준

도면7


CSF pNFH 85일차
기준선에 대한 기하 평균 비 ± SEM
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
P* =0.021
위약(고속 진행 돌연변이 N = 4)
화합물(A) 100 mg(고속 진행 돌연변이 N = 4)

도면8


CSF pNFH 85일차
기준선에 대한 기하 평균 비 ± SEM
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
P* >0.999
위약(기타; n = 8)
화합물(A) 100 mg(기타; n = 6)
*크루스칼-왈리스 평가 기준

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BIOGEN MA INC.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING AND PREVENTING
AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

<130> 13751-0297WO1

<140><141><150> 62/840,879

<151> 2019-04-30

<150> 62/807,603

<151> 2019-02-19

<150> 62/779,916

<151> 2018-12-14

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1

caggatacat ttctacagct 20

<210> 2

<211> 154

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala Thr Lys Ala Val Cys Val Leu Lys Gly Asp Gly Pro Val Gln
1 5 10 15

Gly Ile Ile Asn Phe Glu Gln Lys Glu Ser Asn Gly Pro Val Lys Val
20 25 30

Trp Gly Ser Ile Lys Gly Leu Thr Glu Gly Leu His Gly Phe His Val
35 40 45

His Glu Phe Gly Asp Asn Thr Ala Gly Cys Thr Ser Ala Gly Pro His

50 55 60

Phe Asn Pro Leu Ser Arg Lys His Gly Gly Pro Lys Asp Glu Glu Arg
65 70 75 80
His Val Gly Asp Leu Gly Asn Val Thr Ala Asp Lys Asp Gly Val Ala
85 90 95
Asp Val Ser Ile Glu Asp Ser Val Ile Ser Leu Ser Gly Asp His Cys
100 105 110
Ile Ile Gly Arg Thr Leu Val Val His Glu Lys Ala Asp Asp Leu Gly

115 120 125

Lys Gly Gly Asn Glu Glu Ser Thr Lys Thr Gly Asn Ala Gly Ser Arg
130 135 140
Leu Ala Cys Gly Val Ile Gly Ile Ala Gln
145 150

<210> 3

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

gtttggggcc agagtgggcg aggcgcggag gtctggccta taaagtagtc gcggagacgg 60

ggtgctggtt tgcgtcgtag tctcctgcag cgtctggggt ttccgttgca gtcctcggaa 120

ccaggacctc ggcgtggcct agcgagttat ggcgacgaag gccgtgtgcg tgctgaaggg 180

cgacggccca gtgcagggca tcatcaattt cgagcagaag gaaagtaatg gaccagtgaa 240

ggtgtgggga agcattaaag gactgactga aggcctgcat ggattccatg ttcatgagtt 300

tggagataat acagcaggct gtaccagtgc aggtcctcac tttaatcctc tatccagaaa 360

acacggtggg ccaaaggatg aagagaggca tgttggagac ttgggcaatg tgactgctga 420

caaagatggt gtggccgatg tgtctattga agattctgtg atctcactct caggagacca 480

ttgcatcatt ggccgcacac tggtggtcca tgaaaaagca gatgacttgg gcaaaggtgg 540

aaatgaagaa agtacaaaga caggaaacgc tggaagtcgt ttggcttgtg gtgtaattgg 600

gatcgcccaa taaacattcc cttggatgta gtctgaggcc ccttaactca tctgttatcc 660

tgctagctgt agaaatgtat cctgataaac attaaacact gtaatcttaa aagtgtaatt 720

gtgtgacttt ttcagagttg ctttaaagta cctgtagtga gaaactgatt tatgatcact 780

tggaagattt gtatagtttt ataaaactca gttaaaatgt ctgtttcaat gacctgtatt 840

ttgccagact taaatcacag atgggtatta aacttgtcag aatttctttg tcattcaagc 900

ctgtgaataa aaaccctgta tggcacttat tatgaggcta ttaaaagaat ccaaattcaa 960

actaaaaaaa aaaaaaaaaa a 981

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 4

caggatacat ttctacagcu 20