



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019022824-1 A2



(22) Data do Depósito: 04/05/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 09/06/2020

(54) Título: MÉTODOS PARA TRATAMENTO DA SÍNDROME DE ALPORTE

(51) Int. Cl.: A61K 31/7125; A61P 13/12; C12N 15/113.

(30) Prioridade Unionista: 04/05/2017 US 62/501,699.

(71) Depositante(es): SANOFI.

(72) Inventor(es): TIMOTHY WRIGHT.

(86) Pedido PCT: PCT US2018031094 de 04/05/2018

(87) Publicação PCT: WO 2018/204788 de 08/11/2018

(85) Data da Fase Nacional: 31/10/2019

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a métodos para o tratamento da síndrome de Alport, utilizando um oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21. Em certas modalidades, o oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21 melhora a função renal e/ou reduz a fibrose em objetos com síndrome de Alport. Em certas modalidades, a administração do oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21 atrasa o início da doença renal em estágio terminal em um objeto com síndrome de Alport. Em certas modalidades, o oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21 atrasa a necessidade de diálise ou transplante de rim em um objeto com síndrome de Alport.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "MÉTODOS PARA TRATAMENTO DA SÍNDROME DE ALPORTE".

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

[0001] Este pedido reivindica o benefício de prioridade do Pedido Provisório U.S. No. 62/501.699, depositado em 4 de maio de 2018, que é incorporado por referência neste documento na íntegra para qualquer finalidade.

CAMPO DA INVENÇÃO

[0002] Métodos e composições são aqui fornecidos para o tratamento da síndrome de Alport.

ANTECEDENTES

[0003] O colágeno tipo IV, um componente importante da membrana basal, é uma família de seis cadeias alfa: colágeno alfa-1 (tipo IV), colágeno alfa-2 (tipo IV), colágeno alfa-3 (tipo IV), colágeno alfa-4 (Tipo IV), colágeno alfa-5 (tipo IV) e colágeno alfa-6 (tipo IV). As cadeias alfa-3, alfa-4 e alfa-6 do colágeno IV são componentes fundamentais da rede de colágeno da membrana basal glomerular (GBM), que desempenha a função crítica de filtração do sangue pelo rim.

[0004] A síndrome de Alport é uma forma hereditária de doença renal, na qual é produzido um tipo anormal de membrana basal glomerular (GBM), levando a fibrose intersticial, esclerose glomerular e eventual perda da função renal. A doença também é frequentemente caracterizada por defeitos auditivos e anomalias oculares. A síndrome de Alport é causada por uma mutação em *Col4α3*, *Col4α4* ou *Col4α5*, que codifica as cadeias alfa3 (IV), alfa4 (IV) e alfa5 (IV) do colágeno tipo IV, respectivamente. Mutações no gene *Col4α5* no cromossomo X causam a forma ligada ao X da síndrome de Alport, responsável por 85% de todos os casos da doença. Uma forma autossômica recessiva é devida à herança de mutações em cada cópia de *Col4α3* ou *Col4α4*, cada uma delas localizada no cromossomo 2. A forma autossômica

dominante rara é devida à herança de uma mutação dominante negativa nos genes *Col4a3* ou *Col4a4*. A forma ligada ao X é mais grave nos homens do que nas mulheres, com a maioria dos casos em homens progredindo para doença renal terminal (ESRD). A forma autossômica é de gravidade semelhante em homens e mulheres. A maioria dos casos da doença é devida a uma mutação herdada, mas alguns são devidos a uma mutação de novo em um dos genes da *Col4aA*.

SUMÁRIO

[0005] Modalidade 1. Método para tratar a síndrome de Alport, que compreende a administração a um objeto com síndrome de Alport de duas ou mais doses de um oligonucleotídeo modificado, em que o oligonucleotídeo modificado consiste em 19 nucleosídeos ligados e tem a estrutura $A_E C_S A T C_S A G T C_S T G A U_S A A G C_S T A_E -3'$ (SEQ ID NO:3), onde nucleosídeos não seguidos por um subscrito são β -D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato e em que uma dose de 1,5 mg/kg é administrada com uma frequência de duas semanas entre doses.

[0006] Modalidade 2. O método da modalidade 1, em que a dose é entregue em um diluente farmacologicamente aceitável.

[0007] Modalidade 3. O método da modalidade 2, em que o diluente farmacologicamente aceitável é uma solução salina.

[0008] Modalidade 4. O método da modalidade 3, em que a solução salina é uma solução de cloreto de sódio a 0,3%.

[0009] Modalidade 5. O método de qualquer uma das modalidades 2 a 4, em que a concentração do oligonucleotídeo modificado no diluente farmacologicamente aceitável é de pelo menos 110 mg/mL.

[0010] Modalidade 6. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 5, em que a dose é uma injeção em bolus única de 110 mg/mL do

oligonucleotídeo modificado.

[0011] Modalidade 7. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 6, em que a composição farmacêutica é administrada como uma injeção subcutânea.

[0012] Modalidade 8. O método da modalidade 7, em que a injeção subcutânea é administrada na parede abdominal anterior do objeto.

[0013] Modalidade 9. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 8, que compreende selecionar um objeto que foi diagnosticado com síndrome de Alport por critérios clínicos, histopatológicos e/ou genéticos.

[0014] Modalidade 10. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 9, em que o objeto tem uma taxa de filtração glomerular estimada de 30 ml/min/1,73 m² antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo modificado.

[0015] Modalidade 11. O método da modalidade 15, em que o objeto tem uma taxa de filtração glomerular estimada (eGFR) entre 45 e 90 ml/min/1,73 m² antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo modificado.

[0016] Modalidade 12. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 11, em que a taxa de filtração glomerular estimada do objeto está diminuindo a uma taxa de ≥ 5 ml/min/1,73 m²/ano antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo modificado.

[0017] Modalidade 13. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 12, em que o objeto é do sexo masculino, foi diagnosticado com síndrome de Alport ligada ao X e tem entre 18 e 30 anos de idade.

[0018] Modalidade 14. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 13, em que o objeto possui proteinúria superior a 300 miligramas de proteína por grama de creatinina antes de receber a primeira

dose do oligonucleotídeo modificado.

[0019] Modalidade 15. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 14, em que o objeto, após a administração do oligonucleotídeo modificado, experimenta uma melhoria em um ou mais parâmetros associados à síndrome de Alport selecionados a partir do grupo que consiste em:

- a. taxa de filtração glomerular estimada;
- b. taxa de declínio na taxa de filtração glomerular estimada;
- e
- c. qualidade de vida usando o Short Form 36 Health Survey®.

[0020] Modalidade 16. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 15, em que o objeto, após a administração do oligonucleotídeo modificado, exibe uma melhoria em um ou mais biomarcadores renais selecionados a partir do grupo que consiste em:

- a. miR-21 no tecido da biópsia;
- b. nitrogênio ureico no sangue;
- c. razão de proteína / albumina na urina;
- d. razão de albumina / creatina na urina;
- e. creatinina;
- f. podocitúria na urina;
- g. molécula de lesão renal-1;
- h. microglobulina beta-2;
- i. clusterina;
- j. cistatina C;
- k. dimetilarginina assimétrica;
- m. fator de crescimento transformador beta;
- m. fator de crescimento do tecido conjuntivo; e
- n. lipocalina associada a gelatinase neutrófila.

[0021] Modalidade 17. O método de qualquer uma das modalida-

des 1 a 16, em que uma ou mais de creatinina, cistatina C, molécula de lesão renal-1, microglobulina beta-2 e/ou clusterina são medidas em uma amostra de sangue do objeto.

[0022] Modalidade 18. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 16, em que uma ou mais creatinina, cistatina C, molécula de lesão renal-1, microglobulina beta-2 e/ou clusterina são medidas em uma amostra de urina do objeto.

[0023] Modalidade 19. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 18, em que o objeto foi tratado com um inibidor da enzima de conversão da angiotensina II (ACE) por pelo menos 30 dias antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo.

[0024] Modalidade 20. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 19, em que o objeto foi tratado com um bloqueador de receptor da angiotensina II (ARB) por pelo menos 30 dias antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo.

[0025] Modalidade 21. O método da modalidade 19, em que os inibidores da enzima de conversão da angiotensina II (ACE) são selecionados a partir de captopril, enalapril, lisinopril, benazepril, quinapril, fosinopril e ramipril.

[0026] Modalidade 22. O método da modalidade 20, em que os bloqueadores do receptor da angiotensina II (ARB) são selecionados a partir de candesartan, irbesartan, olmesartan, losartan, valsartan, telmisartan e eprosartan.

[0027] Modalidade 23. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 22, em que pelo menos 24 doses são administradas ao objeto.

[0028] Modalidade 24. Método para tratar a síndrome de Alport em um objeto, o método compreendendo:

a. selecionar um objeto que tenha sido diagnosticado com síndrome de Alport usando critérios clínicos, histopatológicos e/ou genéticos;

b. administrar ao objeto duas ou mais doses de uma composição farmacêutica compreendendo um oligonucleotídeo modificado, em que o oligonucleotídeo modificado consiste em 19 nucleosídeos ligados e tem a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), em que nucleosídeos não seguidos por um subscrito são p-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato, em que a dose do oligonucleotídeo modificado é de 1,5 mg/kg e em que as doses são administradas com uma frequência de duas semanas entre doses,

c. em que o objeto, após a administração da composição farmacêutica, exhibe uma melhoria em um ou mais parâmetros associados ao AS selecionados a partir de:

- i. taxa de filtração glomerular estimada (eGFR);
- ii. taxa de declínio da eGFR; e
- iii. qualidade de vida (QOL) medida pelo Short Form 36 Health Survey®.

[0029] Modalidade 25. Método para tratar a síndrome de Alport em um objeto, o método compreendendo:

a. selecionar um objeto que foi diagnosticado com síndrome de Alport usando critérios clínicos, histopatológicos e/ou genéticos, em que o objeto tem:

- i. uma taxa de filtração glomerular estimada em pelo menos 30 ml/min/1,73 m²;
- ii. um declínio na taxa de taxa de filtração glomerular estimada em ≥ 5 ml/min/1,73 m²/ano;
- iii. proteinúria maior ou igual a 300 mg de proteína / g de creatinina; e
- iv. foi tratado com um regime de dosagem estável de um

inibidor da ACE e/ou de um ARB por pelo menos 30 dias;

b. administrar ao objeto duas ou mais doses de uma composição farmacêutica compreendendo um oligonucleotídeo modificado, em que o oligonucleotídeo modificado consiste em 19 nucleosídeos ligados e tem a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), em que nucleosídeos não seguidos por um subscrito são p-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato, em que a dose do oligonucleotídeo modificado é de 1,5 mg/kg e em que as doses são administradas com uma frequência de duas semanas entre doses,

c. em que o objeto, após a administração da composição farmacêutica, exibe uma melhoria em um ou mais parâmetros associados à síndrome de Alport selecionados a partir de:

- i. taxa de filtração glomerular estimada (eGFR);
- ii. taxa de declínio da eGFR; e
- iii. qualidade de vida (QOL) medida pelo Short Form 36 Health Survey®.

[0030] Modalidade 26. Método para reduzir o declínio da função renal ao longo do tempo em um objeto com síndrome de Alport, o método compreendendo:

a. selecionar um objeto diagnosticado com síndrome de Alport confirmado por critérios clínicos, histopatológicos e/ou genéticos, em que o objeto tem:

- i. uma taxa de filtração glomerular estimada em pelo menos 30 ml/min/1,73 m²;
- ii. um declínio na taxa de taxa de filtração glomerular estimada em ≥ 5 ml/min/1,73 m²/ano;
- iii. proteinúria maior ou igual a 300 mg de proteína / g de

creatinina; e

iv. foi tratado com um regime de dosagem estável de um inibidor da ACE e/ou de um ARB por pelo menos 30 dias;

b. administrar ao objeto duas ou mais doses de uma composição farmacêutica compreendendo um oligonucleotídeo modificado, em que o oligonucleotídeo modificado consiste em 19 nucleosídeos ligados e tem a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), em que nucleosídeos não seguidos por um subscrito são p-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato, em que a dose do oligonucleotídeo modificado é de 1,5 mg/kg e em que as doses são administradas com uma frequência de duas semanas entre doses,

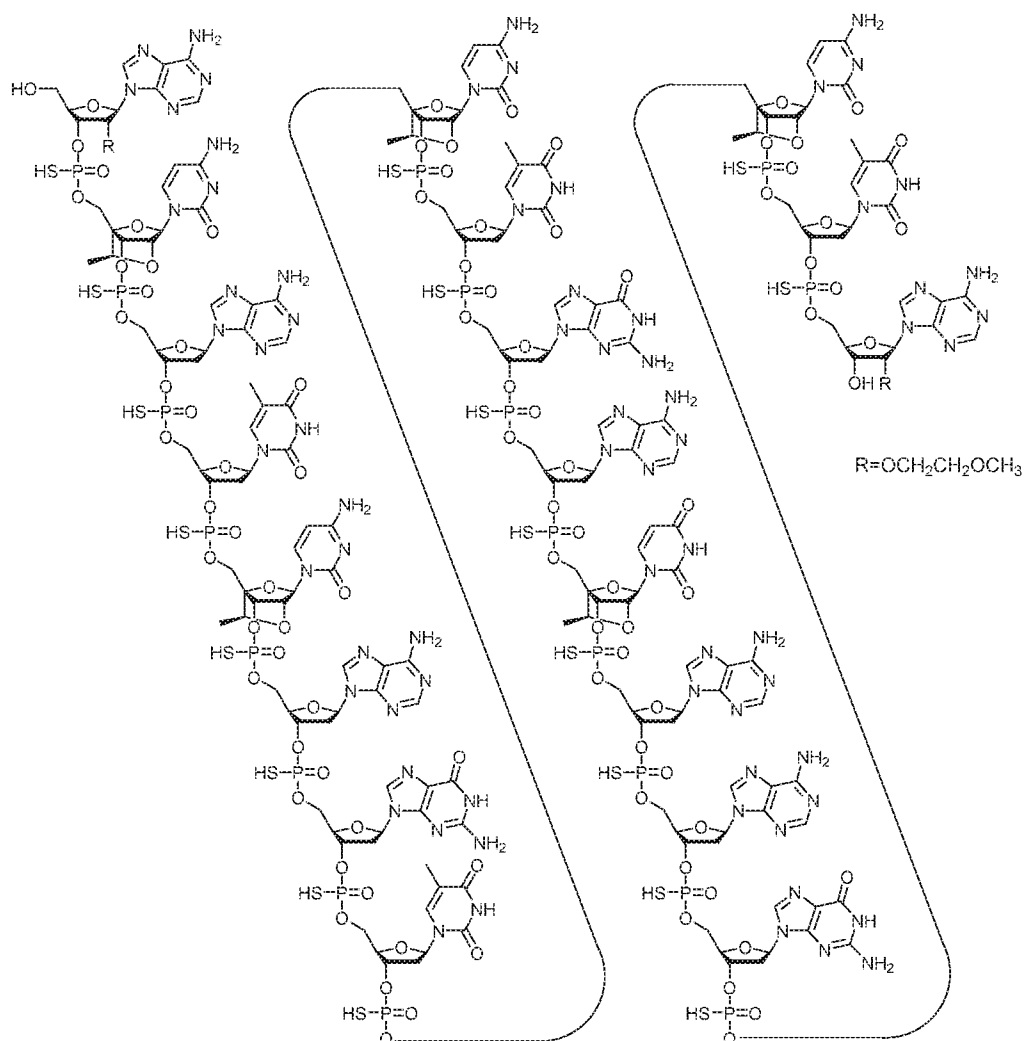
c. em que o objeto, após a administração da composição farmacêutica, exibe uma melhoria em um ou mais parâmetros associados à síndrome de Alport selecionados a partir de:

i. taxa de filtração glomerular estimada (eGFR);

ii. taxa de declínio da eGFR; e

iii. qualidade de vida (QOL) medida pelo Short Form 36 Health Survey®.

[0031] Modalidade 27. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 26, em que o oligonucleotídeo modificado tem a estrutura:

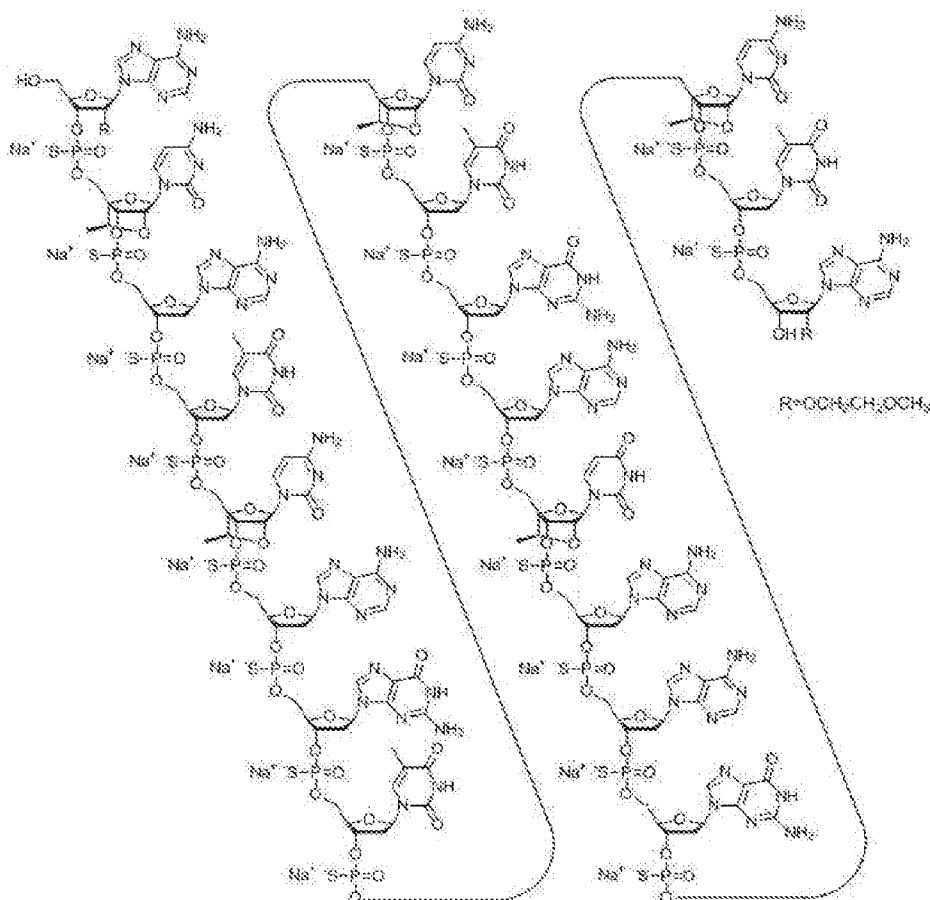


(SEQ ID NO: 3); ou um seu sal farmacologicamente aceitável.

[0032] Modalidade 28. O método da modalidade 27, em que o oligonucleotídeo modificado está presente como um sal farmacologicamente aceitável da estrutura.

[0033] Modalidade 29. O método da modalidade 28, em que o oligonucleotídeo modificado está presente como um sal de sódio da estrutura.

[0034] Modalidade 30. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 29, em que o oligonucleotídeo modificado tem a estrutura:



(SEQ ID NO: 3).

[0035] Modalidade 31. O método de qualquer uma das modalidades 10 a 30, em que a taxa de filtração glomerular estimada é calculada usando a equação de creatinina da Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI).

[0036] Modalidade 32. O método de qualquer uma das modalidades 10 a 30, em que a taxa de filtração glomerular estimada é calculada usando a equação C de creatinina-cistatina C da Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI).

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0037] A menos que definido de outra forma, todos os termos técnicos e científicos aqui utilizados têm o mesmo significado que é comumente entendido por um especialista na técnica à qual a invenção pertence. A menos que definições específicas sejam fornecidas, a nomenclatura utilizada em conexão com, e os procedimentos e técnicas

de química analítica, química orgânica sintética e química medicinal e farmacêutica aqui descritas são aqueles bem conhecidos e comumente usados na técnica. No caso de existir uma pluralidade de definições para os termos aqui contidos, prevalecerão os desta seção. Técnicas padrão podem ser usadas para síntese química, análise química, preparação farmacêutica, formulação e entrega, e tratamento de objetos. Certas técnicas e procedimentos podem ser encontrados, por exemplo, em "Carbohydrate Modifications in Antisense Research", editado por Sangvi e Cook, American Chemical Society, Washington DC, 1994; e "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, Pa., 18ª edição, 1990; e que é aqui incorporado por referência para qualquer finalidade. Onde permitido, todas as patentes, solicitações de patentes, solicitações e publicações publicadas, sequências GENBANK, sites e outros materiais publicados mencionados em toda a divulgação aqui contida, a menos que indicado de outra forma, são incorporados por referência em sua totalidade. Quando é feita referência a uma URL ou outro tal identificador ou endereço, entende-se que esses identificadores podem mudar e informações particulares na Internet podem mudar, mas informações equivalentes podem ser encontradas pesquisando na Internet. Referências a eles evidenciam a disponibilidade e a divulgação pública de tais informações.

[0038] Antes de as presentes composições e métodos serem divulgados e descritos, deve-se entender que a terminologia usada neste documento tem o objetivo de descrever apenas modalidades particulares e não se destina a ser limitativa. Note-se que, conforme usado na especificação e nas reivindicações anexas, as formas singulares "uma", "um", "a" e "o" incluem referentes plurais, a menos que o contexto indique claramente o contrário.

Definições

[0039] "Síndrome de Alport" significa uma forma herdada de doen-

ça renal na qual um nível anormal de membrana basal glomerular (GBM) é produzido, levando a fibrose intersticial, esclerose glomerular e eventual perda da função renal. A doença também é frequentemente caracterizada por defeitos auditivos e anomalias oculares.

[0040] "Hematúria" significa a presença de glóbulos vermelhos na urina.

[0041] "Albuminúria" significa a presença de excesso de albumina na urina e inclui, sem limitação, albuminúria normal, albuminúria alta normal, microalbuminúria e macroalbuminúria. Normalmente, a barreira de permeabilidade da filtração glomerular, composta por podócitos, membrana basal glomerular e células endoteliais, impede que a proteína sérica vaze na urina. A albuminúria pode refletir lesão da barreira da permeabilidade da filtração glomerular. A albuminúria pode ser calculada a partir de uma amostra de urina de 24 horas, uma amostra de urina durante a noite ou uma amostra de urina local.

[0042] "Albuminúria normal alta" significa albuminúria elevada caracterizada por (i) excreção de 15 a < 30 mg de albumina na urina por 24 horas e/ou (ii) uma razão de albumina / creatinina de 1,25 a < 2,5 mg/mmol (ou 10 a < 20 mg/g) em homens ou 1,75 a < 3,5 mg/mmol (ou 15 a < 30 mg/g) em mulheres.

[0043] "Microalbuminúria" significa albuminúria elevada caracterizada por (i) excreção de 30 a 300 mg de albumina na urina por 24 horas e/ou (ii) uma razão de albumina / creatinina de 2,5 a < 25 mg/mmol (ou 20 a < 200 mg/g) em homens ou 3,5 a < 35 mg/mmol (ou 30 a < 300 mg/g) em mulheres.

[0044] "Macroalbuminúria" significa albuminúria elevada caracterizada pela excreção de mais de 300 mg de albumina na urina por 24 horas e/ou (ii) uma razão de albumina / creatinina > 25 mg/mmol (ou > 200 mg/g) em homens ou > 35 mg/mmol (ou > 300 mg/g) em mulheres.

[0045] "Razão de albumina / creatinina" significa a razão de albu-

mina na urina (mg/dL) por creatinina na urina (g/dL) e é expressa em mg/g. Em certas modalidades, a razão albumina / creatinina pode ser calculada a partir de uma amostra de urina local e pode ser usada como uma estimativa da excreção de albumina durante um período de 24 horas.

[0046] "Taxa de filtração glomerular (GFR)" significa a taxa de fluxo do fluido filtrado através do rim e é usada como um indicador da função renal em um objeto. Em certas modalidades, a GFR de um objeto é determinada calculando uma taxa de filtração glomerular estimada. Em certas modalidades, a GFR de um objeto é medida diretamente no objeto, usando o método de inulina.

[0047] "A taxa estimada de filtração glomerular (eGFR)" significa medir o quão bem os rins estão filtrando a creatinina e é usada para aproximar a taxa de filtração glomerular. Como a medição direta da GFR é complexa, a eGFR é frequentemente usada na prática clínica. Os resultados normais podem variar de 90 a 120 ml/min/1,73 m². Níveis abaixo de 60 ml/min/1,73 m² por 3 meses ou mais podem ser um indicador de doença renal crônica. Níveis abaixo de 15 ml/min/1,73 m² podem ser um indicador de insuficiência renal.

[0048] "Proteinúria" significa a presença de um excesso de proteínas séricas na urina. A proteinúria pode ser caracterizada pela excreção de > 250 mg de proteína na urina por 24 horas e/ou uma razão de proteína da urina para creatinina de $\geq 0,20$ mg/mg. As proteínas séricas elevadas em associação com a proteinúria incluem, sem limitação, albumina.

[0049] "Nitrogênio ureico no sangue" ou "BUN" significa uma medida da quantidade de nitrogênio no sangue na forma de ureia. O fígado produz ureia no ciclo da ureia como um produto residual da digestão de proteínas, e a ureia é removida do sangue pelos rins. O sangue humano normal de um adulto pode conter entre 7 e 21 mg de nitrogê-

nio ureico por 100 ml (7–21 mg/dL) de sangue. A medição do nitrogênio ureico no sangue é usada como um indicador da saúde renal. Se os rins não conseguem remover a ureia do sangue normalmente, o BUN de um objeto aumenta.

[0050] "Doença renal em estágio terminal (ESRD)" significa a falha completa ou quase completa da função renal.

[0051] "Função renal comprometida" significa função renal reduzida, em relação à função renal normal.

[0052] "Fibrose" significa a formação ou desenvolvimento de excesso de tecido conjuntivo fibroso em um órgão ou tecido. Em certas modalidades, a fibrose ocorre como um processo reparativo ou reativo. Em certas modalidades, a fibrose ocorre em resposta a danos ou ferimentos. O termo "fibrose" deve ser entendido como a formação ou desenvolvimento de excesso de tecido conjuntivo fibroso em um órgão ou tecido como um processo reparativo ou reativo, em oposição a uma formação de tecido fibroso como um constituinte normal de um órgão ou tecido.

[0053] "Linha de base" significa a medição de um parâmetro clínico em um objeto imediatamente antes do início de um tratamento. Uma medição de linha de base pode ser usada para confirmar que um objeto é elegível para tratamento com um ou mais agentes farmacêuticos selecionados. Em certas modalidades, um eGFR de linha de base é obtido de um objeto com síndrome de Alport, para confirmar se o objeto é elegível para tratamento com um ou mais agentes farmacêuticos selecionados, conforme descrito aqui.

[0054] "Formulário curto 36 Health Survey®" ou "SF-36" significa uma pesquisa relatada por um objeto do item 36, do estado de saúde, usado na avaliação do estado de saúde do objeto e da qualidade de vida. O SF-36 pode ser usado para monitorar e comparar a carga de doenças de objetos que recebem tratamento para uma doença ou

condição. O SF-36 inclui 8 domínios individuais: funcionamento físico, funcionamento do papel físico, dor corporal, percepções gerais de saúde, vitalidade, funcionamento do papel social, funcionamento do papel emocional e saúde mental. O SF-36 foi descrito, por exemplo, por McHorney *et al.* (Med Care. Março de 1993; 31 (3): 247-63).

[0055] "Qualidade de vida" significa até que ponto o funcionamento físico, psicológico e social de um objeto é prejudicado por uma doença e/ou tratamento de uma doença. A qualidade de vida pode ser prejudicada em objetos com uma doença crônica, incluindo a síndrome de Alport.

[0056] "Regime de dosagem estável" significa a quantidade de um agente farmacêutico administrado a um objeto que mantém um nível terapêutico do agente farmacêutico no objeto. Por exemplo, um objeto pode receber uma dose inicial de um agente farmacêutico, cuja dose pode ser ajustada mais alta ou mais baixa, dependendo de como o objeto responde à dose inicial. Uma vez estabelecida a dose que proporciona um nível terapêutico desejado, considera-se que o objeto está recebendo um regime de dosagem estável. O nível terapêutico desejado pode ser um nível desejado de agente farmacêutico em um tecido (como sangue) do objeto, ou um efeito farmacológico desejado, como uma melhoria em um ou mais sintomas da doença.

[0057] "Retarda a progressão adicional" significa reduzir a taxa na qual uma condição médica se move para um estado avançado.

[0058] "Interrompe a progressão adicional" significa parar a progressão de uma condição médica para um estado avançado.

[0059] "Atraso no tempo de diálise" significa manter a função renal suficiente, de modo que a necessidade de tratamento dialítico seja adiada.

[0060] "Atraso no transplante renal" significa manter a função renal suficiente, de modo que a necessidade de um transplante renal seja

atrasada.

[0061] "Melhora a expectativa de vida" significa prolongar a vida de um objeto, tratando um ou mais sintomas de uma doença no objeto.

[0062] "Anti-miR" significa um oligonucleotídeo com uma sequência de nucleobase complementar a um microRNA. Em certas modalidades, um anti-miR é um oligonucleotídeo modificado.

[0063] "Anti-miR-X", em que "miR-X" designa um microRNA específico, significa um oligonucleotídeo com uma sequência de nucleobase complementar ao miR-X. Em certas modalidades, um anti-miR-X é totalmente complementar (isto é, 100% complementar) ao miR-X. Em certas modalidades, um anti-miR-X é pelo menos 80%, pelo menos 85%, pelo menos 90% ou pelo menos 95% complementar ao miR-X. Em certas modalidades, um anti-miR-X é um oligonucleotídeo modificado.

[0064] "miR-21" significa o miRNA maduro com a sequência de nucleobase UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA (SEQ ID NO: 1).

[0065] "Sequência de loop estaminal miR-21" significa a sequência de loop estaminal com a sequência de nucleobase UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCAUGGCAACACCA-GUCGAUGGGCUGUCUGACA (SEQ ID NO: 2).

[0066] "Ácido nucleico alvo" significa um ácido nucleico ao qual um composto oligomérico é projetado para hibridar.

[0067] "Alvo" significa o processo de projeto e seleção da sequência de nucleobase que hibridizará com um ácido nucleico alvo.

[0068] "Alvo para" significa ter uma sequência de nucleobase que permitirá hibridação com um ácido nucleico alvo.

[0069] "Modulação" significa uma perturbação da função, quantidade ou atividade. Em certas modalidades, modulação significa um aumento na função, quantidade ou atividade. Em certas modalidades, modulação significa uma diminuição na função, quantidade ou atividade.

[0070] "Expressão" significa quaisquer funções e etapas pelas

quais as informações codificadas de um gene são convertidas em estruturas presentes e operando em uma célula.

[0071] "Sequência de nucleobase" significa a ordem de nucleobases contíguas em um composto oligomérico ou ácido nucleico, normalmente listado na orientação de 5' a 3', independentemente de qualquer modificação de açúcar, ligação e/ou nucleobase.

[0072] "Nucleobases contíguas" significam nucleobases imediatamente adjacentes umas às outras em um ácido nucleico.

[0073] "Complementaridade de nucleobases" significa a capacidade de duas nucleobases emparelharem não covalentemente por meio de ligação de hidrogênio.

[0074] "Complementar" significa que um ácido nucleico é capaz de hibridar com outro ácido nucleico ou oligonucleotídeo. Em certas modalidades, complementar refere-se a um oligonucleotídeo capaz de hibridar com um ácido nucleico alvo.

[0075] "Completamente complementar", também conhecido como "100% complementar", significa que cada nucleobase de um oligonucleotídeo é capaz de emparelhar com uma nucleobase em cada posição correspondente em um ácido nucleico alvo. Em certas modalidades, um oligonucleotídeo é totalmente complementar a um microRNA, isto é, cada nucleobase do oligonucleotídeo é complementar a uma nucleobase na posição correspondente no microRNA. Em certas modalidades, um oligonucleotídeo em que cada nucleobase possui a complementaridade com uma nucleobase dentro de uma região de uma sequência de loop estaminal de microRNA é totalmente complementar à sequência de loop estaminal de microRNA.

[0076] "Percentual de complementaridade" significa a porcentagem de nucleobases de um oligonucleotídeo que são complementares a uma porção de comprimento igual de um ácido nucleico alvo. A complementaridade percentual é calculada dividindo o número de nu-

cleobases do oligonucleotídeo que são complementares às nucleobases nas posições correspondentes no ácido nucleico alvo pelo número total de nucleobases no oligonucleotídeo.

[0077] "Identidade percentual" significa o número de nucleobases em um primeiro ácido nucleico que são idênticas às nucleobases nas posições correspondentes em um segundo ácido nucleico, dividido pelo número total de nucleobases no primeiro ácido nucleico. Em certas modalidades, o primeiro ácido nucleico é um microRNA e o segundo ácido nucleico é um microRNA. Em certas modalidades, o primeiro ácido nucleico é um oligonucleotídeo e o segundo ácido nucleico é um oligonucleotídeo.

[0078] "Hibridar" significa o reconhecimento de ácidos nucleicos complementares que ocorrem através da complementaridade de nucleobases.

[0079] "Incompatibilidade" significa uma nucleobase de um primeiro ácido nucleico que não é capaz de pareamento Watson-Crick com uma nucleobase na posição correspondente de um segundo ácido nucleico.

[0080] "Idêntico" no contexto de sequências de nucleobases, significa ter a mesma sequência de nucleobase, independente de modificações de açúcar, ligação e/ou nucleobase e independente do estado metílico de quaisquer pirimidinas presentes.

[0081] "MicroRNA" significa um RNA não codificante endógeno com 18 e 25 nucleobases de comprimento, que é o produto da clivagem de um pré-microRNA pela enzima Dicer. Exemplos de microRNAs maduros são encontrados no banco de dados de microRNA conhecido como miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/>). Em certas modalidades, o microRNA é abreviado como "microRNA" ou "miR".

[0082] "Transcrição regulada por microRNA" significa uma transcrição que é regulada por um microRNA.

[0083] "Sequência semente" significa uma sequência de nucleobase que compreende de 6 a 8 nucleobases contíguas das nucleobases 1 a 9 da extremidade 5' de uma sequência de microRNA madura.

[0084] "Sequência com compatibilidade de semente" significa uma sequência de nucleobase que é complementar a uma sequência semente e tem o mesmo comprimento que a sequência semente.

[0085] "Composto oligomérico" significa um composto que compreende uma pluralidade de subunidades monoméricas ligadas. Os compostos oligoméricos incluíam oligonucleotídeos.

[0086] "Oligonucleotídeo" significa um composto compreendendo uma pluralidade de nucleosídeos ligados, cada um dos quais pode ser modificado ou não modificado, independente um do outro.

[0087] "Ligação internucleosídeo de ocorrência natural" significa uma ligação fosfodiéster 3' a 5' entre nucleosídeos.

[0088] "Açúcar natural" significa um açúcar encontrado no DNA (2'-H) ou RNA (2'-OH).

[0089] "Ligação internucleosídeo" significa uma ligação covalente entre nucleosídeos adjacentes.

[0090] "Nucleosídeos ligados" significam nucleosídeos unidos por uma ligação covalente.

[0091] "Nucleobase" significa uma fração heterocíclica capaz de emparelhar não covalentemente com outra nucleobase.

[0092] "Nucleosídeo" significa uma nucleobase ligada a uma porção de açúcar.

[0093] "Nucleotídeo" significa um nucleosídeo com um grupo fosfato covalentemente ligado à porção de açúcar de um nucleosídeo.

[0094] "Composto compreendendo um oligonucleotídeo modificado consistindo em" um número de nucleosídeos ligados significa um composto que inclui um oligonucleotídeo modificado tendo o número especificado de nucleosídeos ligados. Assim, o composto pode incluir

substituintes ou conjugados adicionais. Salvo indicação em contrário, o oligonucleotídeo modificado não é hibridado com um filamento de complementaridade hibridado com o oligonucleotídeo modificado, e não inclui nenhum nucleosídeo adicional além daqueles do oligonucleotídeo modificado.

[0095] "Oligonucleotídeo modificado" significa um oligonucleotídeo de filamento simples tendo uma ou mais modificações em relação a uma ligação de açúcar, nucleobase e/ou internucleosídeo de terminal de ocorrência natural. Um oligonucleotídeo modificado pode compreender nucleosídeos não modificados.

[0096] "Nucleosídeo modificado" significa um nucleosídeo com qualquer alteração em relação a um nucleosídeo de ocorrência natural. Um nucleosídeo modificado pode ter um açúcar modificado e uma nucleobase não modificada. Um nucleosídeo modificado pode ter um açúcar modificado e uma nucleobase modificada. Um nucleosídeo modificado pode ter um açúcar natural e uma nucleobase modificada. Em certas modalidades, um nucleosídeo modificado é um nucleosídeo bicíclico. Em certas modalidades, um nucleosídeo modificado é um nucleosídeo não bicíclico.

[0097] "Ligação internucleosídeo modificada" significa qualquer alteração de uma ligação internucleosídeo que ocorre naturalmente.

[0098] "Ligação internucleosídeo de fosforotioato" significa uma ligação entre nucleosídeos em que um dos átomos que não faz a ponte é um átomo de enxofre.

[0099] "Porção de açúcar modificada" significa substituição e/ou qualquer alteração de um açúcar natural.

[00100] "Nucleobase não modificada" significa as bases heterocíclicas de RNA ou DNA que ocorrem naturalmente: as bases de purina adenina (A) e guanina (G) e as bases de pirimidina timina (T), citosina (C) (incluindo 5-metilcitosina) e uracila (U).

- [00101] "5-metilcitosina" significa uma citosina que compreende um grupo metila ligado à posição 5.
- [00102] "Citosina não metilada" significa uma citosina que não possui um grupo metila ligado à posição 5.
- [00103] "Nucleobase modificada" significa qualquer nucleobase que não seja uma nucleobase não modificada.
- [00104] "Porção de açúcar" significa uma furanosila de ocorrência natural ou uma porção de açúcar modificada.
- [00105] "Porção de açúcar modificada" significa uma porção de açúcar substituída ou um substituto de açúcar.
- [00106] "Açúcar 2'-O-metil" ou "açúcar 2'-OMe" significa um açúcar com uma modificação de O-metila na posição 2'.
- [00107] "Açúcar 2'-O-metoxietila" ou "açúcar 2'-MOE" significa um açúcar com uma modificação de O-metoxietila na posição 2'.
- [00108] "2'-flúor" ou "2'-F" significa um açúcar com uma modificação de flúor da posição 2'.
- [00109] "Porção de açúcar bicíclico" significa uma porção de açúcar modificada compreendendo um anel de 4 a 7 membros (incluindo, entre outros, uma furanosila) compreendendo uma ponte que conecta dois átomos do anel de 4 a 7 membros para formar um segundo anel, resultando em uma estrutura bicíclica. Em certas modalidades, o anel de 4 a 7 membros é um anel de açúcar. Em certas modalidades, o anel de 4 a 7 membros é uma furanosila. Em certas modalidades, a ponte conecta o 2'-carbono e o 4'-carbono da furanosila. Porções exemplares não limitativas de açúcar bicíclico incluem LNA, ENA, cEt, S-cEt e R-cEt.
- [00110] "Porção de açúcar de ácido nucleico bloqueado (LNA)" significa uma porção de açúcar substituída compreendendo uma ponte (CH₂)-O entre os átomos do anel furanose 4' e 2'.
- [00111] "Porção de açúcar ENA" significa uma porção de açúcar

substituída compreendendo uma ponte $(\text{CH}_2)_2\text{-O}$ entre os átomos do anel de 4' e 2' de furanose.

[00112] "Porção de açúcar de etila restrita (cEt)" significa uma porção de açúcar substituída compreendendo uma ponte $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ entre os átomos do anel furanose 4' e 2'. Em certas modalidades, a ponte $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ é restrita na orientação S. Em certas modalidades, a $(\text{CH}_2)_2\text{-O}$ é restrita na orientação R.

[00113] "Porção de açúcar S-cEt" significa uma porção de açúcar substituída compreendendo uma ponte de $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ restrita em S entre os átomos do anel furanose 4' e 2'.

[00114] "Porção de açúcar R-cEt" significa uma porção de açúcar substituída compreendendo uma ponte de $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ restrita em R entre os átomos do anel furanose 4' e 2'.

[00115] "2'-O-metil nucleosídeo" significa um nucleosídeo modificado em 2' com uma modificação de açúcar 2'-O-metil.

[00116] "2'-O-metoxietil nucleosídeo" significa um nucleosídeo modificado em 2' com uma modificação de açúcar 2'-O-metoxietil. Um nucleosídeo 2'-O-metoxietil pode compreender uma nucleobase modificada ou não modificada.

[00117] "2'-flúor nucleosídeo" significa um nucleosídeo modificado em 2' com uma modificação de açúcar 2'-flúor. Um nucleosídeo 2'-flúor pode compreender uma nucleobase modificada ou não modificada.

[00118] "Nucleosídeo bicíclico" significa um nucleosídeo modificado em 2' com uma porção de açúcar bicíclico. Um nucleosídeo bicíclico pode ter uma nucleobase modificada ou não modificada.

[00119] "Nucleosídeo cEt" significa um nucleosídeo compreendendo uma porção de açúcar cEt. Um nucleosídeo cEt pode compreender uma nucleobase modificada ou não modificada.

[00120] "Nucleosídeo S-cEt" significa um nucleosídeo compreendendo uma porção de açúcar S-cEt.

- [00121] "Nucleosídeo R-cEt" significa um nucleosídeo compreendendo uma porção de açúcar R-cEt.
- [00122] " β -D-desoxirribonucleosídeo" significa um nucleosídeo de DNA que ocorre naturalmente.
- [00123] " β -D-ribonucleosídeo" significa um nucleosídeo de RNA que ocorre naturalmente.
- [00124] "Nucleosídeo LNA" significa um nucleosídeo compreendendo uma porção de açúcar LNA.
- [00125] "Nucleosídeo ENA" significa um nucleosídeo compreendendo uma porção de açúcar ENA.
- [00126] "Objeto" significa um animal humano ou não humano selecionado para tratamento ou terapia.
- [00127] "Objeto em necessidade do mesmo" significa um objeto identificado como necessitado de terapia ou tratamento.
- [00128] "Objeto suspeito de ter" significa um objeto que exibe um ou mais indicadores clínicos de uma doença.
- [00129] "Administração" significa fornecer um agente ou composição farmacêutica a um objeto, e inclui, entre outros, a administração por um profissional médico e a autoadministração.
- [00130] "Administração parenteral" significa administração por injeção ou infusão. Administração parenteral inclui, mas não está limitada a, administração subcutânea, administração intravenosa e administração intramuscular.
- [00131] "Administração subcutânea" significa administração logo abaixo da pele.
- [00132] "Administração intravenosa" significa administração na veia.
- [00133] "Administrado concomitantemente" refere-se à coadministração de dois ou mais agentes de qualquer maneira em que os efeitos farmacológicos de ambos são manifestos no objeto ao mesmo tempo. A administração concomitante não requer que ambos os agentes se-

jam administrados em uma única composição farmacêutica, na mesma forma de dosagem ou pela mesma via de administração. Os efeitos de ambos os agentes não precisam se manifestar ao mesmo tempo. Os efeitos só precisam se sobrepor por um período de tempo e não precisam ser coextensivos.

[00134] "Duração" significa o período de tempo durante o qual uma atividade ou evento continua. Em certas modalidades, a duração do tratamento é o período de tempo durante o qual são administradas doses de um agente farmacêutico ou composição farmacêutica.

[00135] "Terapia" significa um método de tratamento de doenças. Em certas modalidades, a terapia inclui, entre outros, quimioterapia, terapia de radiação ou administração de um agente farmacêutico.

[00136] "Tratamento" significa a aplicação de um ou mais procedimentos específicos usados para a cura ou melhoria de uma doença. Em certas modalidades, o procedimento específico é a administração de um ou mais agentes farmacêuticos.

[00137] "Melhorar" significa diminuir a gravidade de pelo menos um indicador de uma condição ou doença. Em certas modalidades, a melhoria inclui um atraso ou lentidão na progressão de um ou mais indicadores de uma condição ou doença. A severidade dos indicadores pode ser determinada por medidas subjetivas ou objetivas conhecidas pelos especialistas na técnica.

[00138] "Em risco de desenvolver" significa o estado em que um objeto está predisposto a desenvolver uma condição ou doença. Em certas modalidades, um objeto em risco de desenvolver uma condição ou doença exibe um ou mais sintomas da condição ou doença, mas não exibe um número suficiente de sintomas para ser diagnosticado com a condição ou doença. Em certas modalidades, um objeto em risco de desenvolver uma condição ou doença exibe um ou mais sintomas da condição ou doença, mas em menor grau necessário para ser

diagnosticado com a condição ou doença.

[00139] "Impedir o início de" significa impedir o desenvolvimento de uma condição ou doença em um objeto que corre o risco de desenvolver a doença ou condição. Em certas modalidades, um objeto em risco de desenvolver a doença ou condição recebe tratamento semelhante ao tratamento recebido por um objeto que já tem a doença ou condição.

[00140] "Atraso no início de" significa atrasar o desenvolvimento de uma condição ou doença em um objeto que corre o risco de desenvolver a doença ou condição. Em certas modalidades, um objeto em risco de desenvolver a doença ou condição recebe tratamento semelhante ao tratamento recebido por um objeto que já tem a doença ou condição.

[00141] "Agente terapêutico" significa um agente farmacêutico usado para a cura, melhoria ou prevenção de uma doença.

[00142] "Dose" significa uma quantidade especificada de um agente farmacêutico fornecido em uma única administração. Em certas modalidades, uma dose pode ser administrada em dois ou mais bolus, comprimidos ou injeções. Por exemplo, em certas modalidades, onde a administração subcutânea é desejada, a dose desejada requer um volume que não seja facilmente acomodado por uma única injeção. Em tais modalidades, duas ou mais injeções podem ser usadas para atingir a dose desejada. Em certas modalidades, uma dose pode ser administrada em duas ou mais injeções para minimizar a reação no local de injeção em um objeto. Em certas modalidades, uma dose é administrada como uma infusão lenta.

[00143] "Unidade de dosagem" significa uma forma na qual um agente farmacêutico é fornecido. Em certas modalidades, uma unidade de dosagem é um frasco contendo oligonucleotídeo liofilizado. Em certas modalidades, uma unidade de dosagem é um frasco contendo oligonucleotídeo reconstituído.

[00144] "Quantidade terapeuticamente eficaz" refere-se a uma

quantidade de um agente farmacêutico que fornece um benefício terapêutico a um animal.

[00145] "Composição farmacêutica" significa uma mistura de substâncias adequadas para administração a um objeto que inclui um agente farmacêutico. Por exemplo, uma composição farmacêutica pode compreender uma solução aquosa estéril.

[00146] "Agente farmacêutico" significa uma substância que fornece um efeito terapêutico quando administrada a um objeto.

[00147] "Ingrediente farmacêutico ativo" significa a substância em uma composição farmacêutica que fornece o efeito desejado.

[00148] "Função de órgão aprimorada" significa uma alteração na função orgânica em direção aos limites normais. Em certas modalidades, a função de órgão é avaliada medindo moléculas encontradas no sangue ou na urina de um objeto. Por exemplo, em certas modalidades, a função renal aprimorada é medida por uma redução no nitrogênio ureico no sangue, uma redução na proteinúria, uma redução na albuminúria, etc.

[00149] "Perfil de segurança aceitável" significa um padrão de efeitos colaterais que está dentro dos limites clinicamente aceitáveis.

[00150] "Efeito colateral" significa uma resposta fisiológica atribuível a um tratamento que não seja os efeitos desejados. Em certas modalidades, os efeitos colaterais incluem, sem limitação, reações no local da injeção, anormalidades nos testes da função hepática, anormalidades da função renal, toxicidade hepática, toxicidade renal, anormalidades do sistema nervoso central e miopatias. Tais efeitos colaterais podem ser detectados direta ou indiretamente. Por exemplo, níveis aumentados de aminotransferase no soro podem indicar toxicidade hepática ou anormalidade da função hepática. Por exemplo, o aumento da bilirrubina pode indicar toxicidade hepática ou anormalidade da função hepática.

[00151] "Cumprimento do objeto" significa adesão a uma terapia

recomendada ou prescrita por um objeto.

[00152] "Cumprir" significa a adesão a uma terapia recomendada por um objeto.

[00153] "Terapia recomendada" significa um tratamento recomendado por um profissional médico para o tratamento, melhoria ou prevenção de uma doença.

[00154] O termo "sangue", conforme usado aqui, abrange sangue total e frações de sangue, como soro e plasma.

Visão Geral

[00155] A síndrome de Alport é uma forma hereditária de doença renal, na qual um nível anormal de membrana basal glomerular (GBM) é produzido, levando à fibrose intersticial, esclerose glomerular e tipicamente levando à doença renal em estágio terminal. No tratamento da síndrome de Alport, o objetivo principal do tratamento é manter a função renal e prevenir o aparecimento da doença renal em estágio terminal (ESRD), o que, por sua vez, melhora a expectativa de vida de objetos com síndrome de Alport.

[00156] A síndrome de Alport é caracterizada por fibrose progressiva devido a defeitos na composição de GBM, sendo desejáveis melhorias na morfologia de GBM e na função renal.

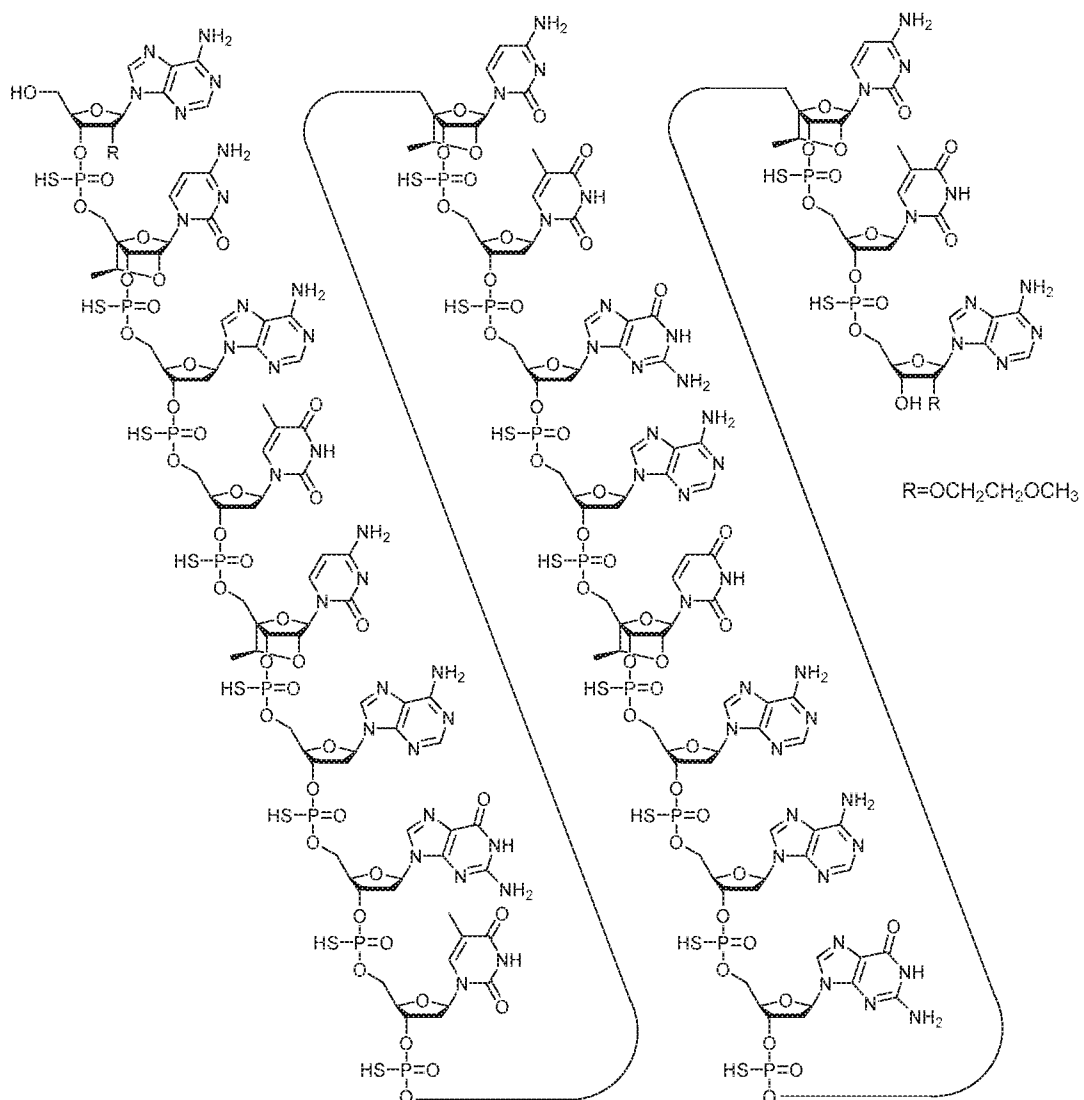
[00157] Regimes de dosagem anteriores para RG-012, divulgados através de registros de ensaios clínicos, são doses fixas de 110 mg por semana e 220 mg por semana. A análise de dados farmacocinéticos de várias espécies em modelos pré-clínicos, bem como de voluntários saudáveis em um estudo de doses ascendentes múltiplas, sugeriu que uma dose baseada em peso de 1,5 mg/kg administrada em um intervalo menos frequente de uma vez a cada duas semanas seria um regime de dose eficaz e adequadamente segura.

Certos Oligonucleotídeos Modificados

[00158] Em certas modalidades, o oligonucleotídeo modificado tem

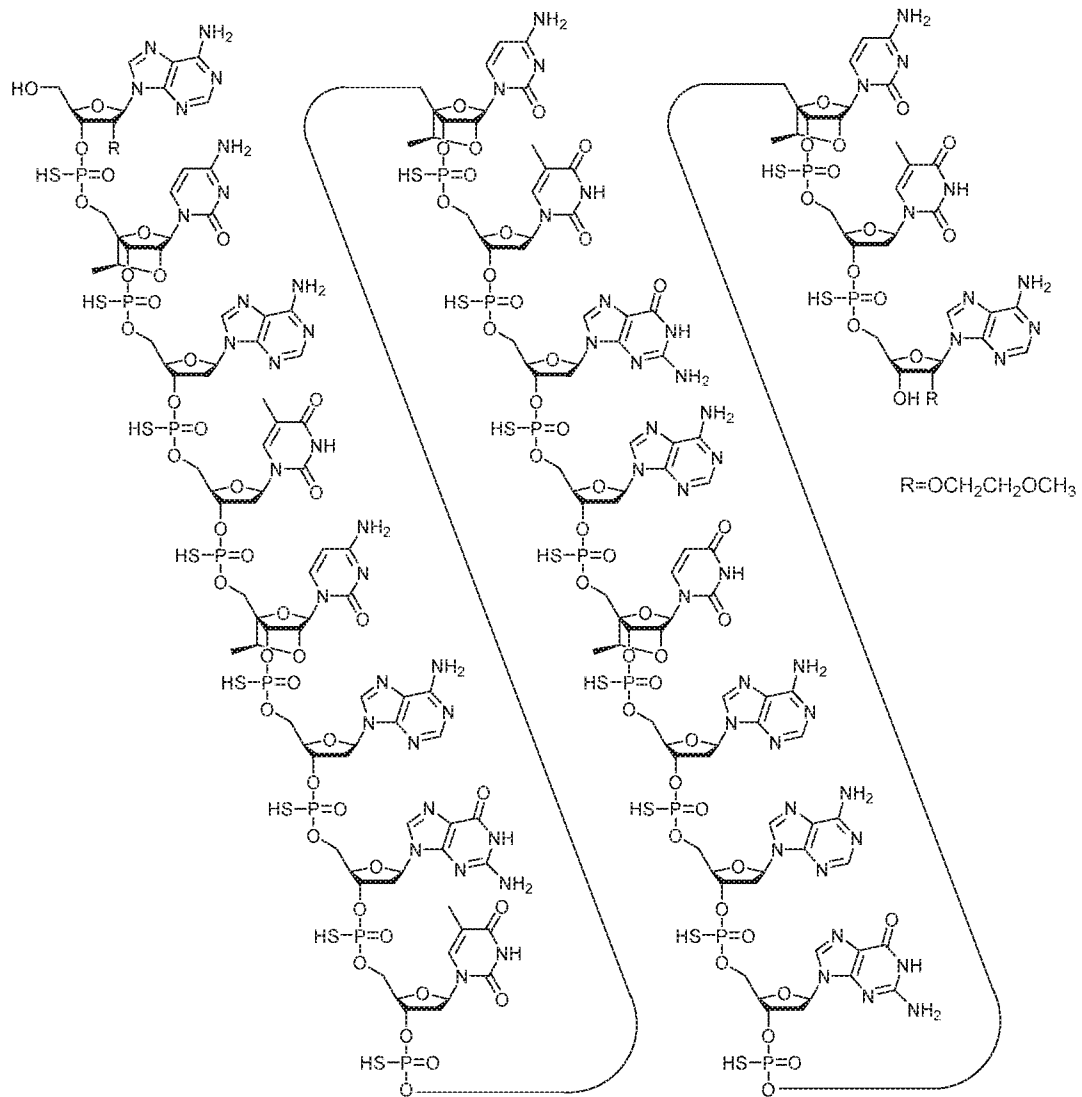
a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), onde nucleosídeos não seguidos por um subscrito indicam β-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" indicam nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" indicam nucleosídeos S-cEt; e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato.

[00159] Em certas modalidades, o oligonucleotídeo modificado tem a estrutura:

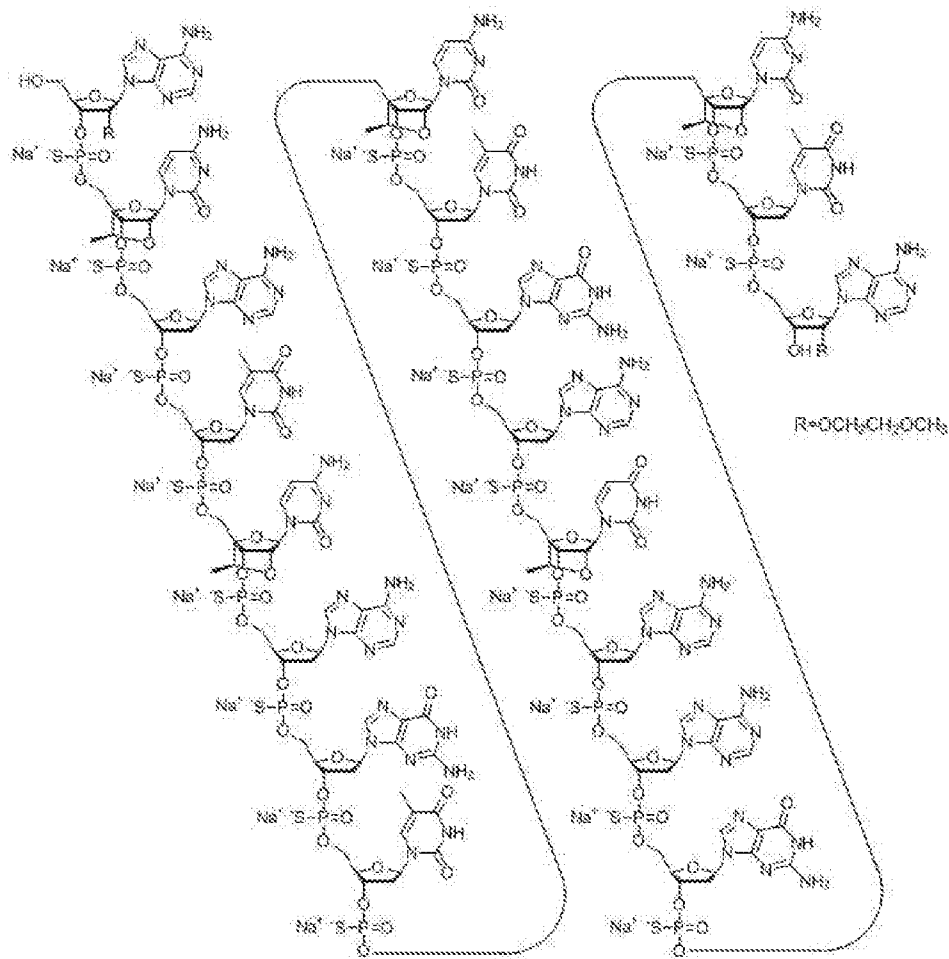


(SEQ ID NO: 3).

[00160] Também são aqui fornecidos sais farmacologicamente aceitáveis do oligonucleotídeo modificado. Assim, em algumas modalidades, um oligonucleotídeo modificado tem a estrutura:



(SEQ ID NO: 3) ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo. Um exemplo não limitativo de sal farmacêuticamente aceitável do oligonucleotídeo modificado tem a estrutura:



(SEQ ID NO: 3).

[00161] Em algumas modalidades, um sal farmacologicamente aceitável do oligonucleotídeo modificado compreende menos contraíons catiônicos (como Na⁺) do que existem ligações fosforotioato por molécula (isto é, alguns fosforotioatos são protonados). Em algumas modalidades, um sal farmacologicamente aceitável do oligonucleotídeo modificado compreende menos de 18 contraíons catiônicos (como Na⁺) por molécula do oligonucleotídeo modificado. Ou seja, em algumas modalidades, um sal farmacologicamente aceitável do oligonucleotídeo modificado pode compreender, em média, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 ou 17 contraíons catiônicos por molécula do oligonucleotídeo modificado, com o fosforotioato restante sendo protonado.

Certos Usos da Invenção

[00162] São aqui fornecidos métodos para o tratamento da síndro-

me de Alport, que compreende a administração a um objeto que tem ou é suspeito de ter síndrome de Alport o oligonucleotídeo modificado aqui fornecido.

[00163] Em certas modalidades, o objeto foi diagnosticado como tendo síndrome de Alport antes da administração do oligonucleotídeo modificado. O diagnóstico da síndrome de Alport pode ser alcançado através da avaliação de parâmetros, incluindo, sem limitação, histórico familiar de um objeto, características clínicas (incluindo sem limitação proteinúria, albuminúria, hematuria, GFR comprometida, por exemplo, conforme determinado pela medição da eGFR, surdez e/ou alterações oculares) e resultados de biópsias de tecidos. As biópsias renais podem ser testadas quanto à presença ou ausência das cadeias alfa-3, alfa-4 e alfa-5 do colágeno tipo IV. Além disso, alterações estruturais no glomérulo podem ser detectadas por microscopia eletrônica de material de biópsia renal. Uma biópsia de pele pode ser testada quanto à presença da cadeia alfa-5 do colágeno tipo IV, que normalmente está presente na pele e quase sempre ausente de objetos do sexo masculino com a forma ligada ao X da síndrome de Alport. O diagnóstico da síndrome de Alport também pode incluir a pesquisa de mutações em um ou mais dos genes *Col4a3*, *Col4a4* ou *Col4a5*.

[00164] Em certas modalidades, um objeto com síndrome de Alport tem uma eGFR de pelo menos 30 ml/min/1,73 m². Em certas modalidades, um objeto com síndrome de Alport tem uma eGFR de 45 a 90 ml/min/1,73 m². Em certas modalidades, um objeto com síndrome de Alport possui proteinúria maior ou igual a 300 mg de proteína / g de creatinina.

[00165] Em certas modalidades, os níveis de miR-21 são aumentados no rim de um objeto com síndrome de Alport. Em certas modalidades, antes da administração, um objeto é determinado como tendo um nível aumentado de miR-21 no rim. Os níveis de miR-21 podem ser

medidos a partir de material de biópsia renal. Em certas modalidades, antes da administração, um objeto é determinado como tendo um nível aumentado de miR-21 na urina ou sangue do objeto.

[00166] Em certas modalidades, a administração de um oligonucleotídeo modificado complementar ao miR-21 resulta na melhoria de um ou mais parâmetros associados à síndrome de Alport. Em certas modalidades, a administração melhora a taxa estimada de filtração glomerular. Em certas modalidades, a administração melhora a taxa de filtração glomerular medida. Em certas modalidades, a administração diminui a taxa de declínio na taxa de filtração glomerular. Em certas modalidades, a administração melhora a qualidade de vida do objeto.

[00167] Em certas modalidades, a administração melhora a função renal. Em certas modalidades, a administração atrasa o início da doença renal em estágio terminal. Em certas modalidades, a administração atrasa o tempo para diálise. Em certas modalidades, a administração atrasa o tempo do transplante renal. Em certas modalidades, a administração melhora a expectativa de vida do objeto.

[00168] Em certas modalidades, a administração reduz a fibrose renal. Em certas modalidades, a administração retarda a progressão adicional da fibrose renal. Em certas modalidades, a administração interrompe a progressão adicional da fibrose renal. Em certas modalidades, a administração reduz a hematúria. Em certas modalidades, a administração atrasa o aparecimento de hematúria. Em certas modalidades, a administração reduz a proteinúria. Em certas modalidades, a administração atrasa o início da proteinúria.

[00169] O objeto com ou em suspeita de ter síndrome de Alport pode ter uma mutação no gene que codifica a cadeia alfa 3 do colágeno tipo IV (*Col4a3*), uma mutação no gene que codifica a cadeia alfa 4 do colágeno tipo IV (*Col4a4*) ou uma mutação no gene que codifica a cadeia alfa 5 do colágeno tipo IV (*Col4a5*). Em certas modalidades, o ob-

jeto é masculino. Em certas modalidades, o objeto é feminino.

[00170] Em certas modalidades, o objeto tem função renal comprometida. Em certas modalidades, o objeto precisa de função renal melhorada. Em certas modalidades, o objeto é identificado como tendo função renal comprometida. Em certas modalidades, o objeto é identificado como tendo hematuria. Em certas modalidades, o objeto é identificado como tendo proteinúria.

[00171] Em qualquer uma das modalidades aqui fornecidas, um objeto pode ser submetido a certos testes para avaliar a função renal. Tais testes incluem, sem limitação, medição do nitrogênio ureico no sangue no objeto; medir creatinina no sangue do objeto; medir a depuração da creatinina no sangue do objeto; medir proteinúria no objeto; medir a razão albumina:creatinina no objeto; medir a taxa de filtração glomerular estimada no objeto; e medir a produção urinária no objeto.

[00172] Em certas modalidades, a podocitúria no objeto é avaliada por análise dos números de podócitos e mRNAs específicos de podócitos na urina do objeto.

[00173] Em qualquer uma das modalidades aqui fornecidas, as proteínas presentes na urina ou no sangue podem ser usadas para avaliar a função renal. Tais testes da função renal incluem, mas não estão limitados a, medir a proteína N-acetil- β -D-glucosaminidase (NAG) na urina do objeto; medir a proteína lipocalina associada a gelatinase neutrófila (NGAL) na urina do objeto; medir a proteína da molécula-1 de lesão renal (KIM-1) na urina do objeto; medir a proteína interleucina-18 (IL-18) na urina do objeto; medir os níveis do fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF) na urina do objeto; medir os níveis de proteína 1 quimioatrativa de monócitos (MCP1) na urina do objeto; medir fragmentos de colágeno IV (Col IV) na urina do objeto; medir os níveis de fragmentos de colágeno III (Col III) na urina do objeto; medir a proteína cistatina C no sangue de um objeto; medir a proteína β -

trace (BTP) no sangue de um objeto; e medir 2-microglobulina (B2M) no sangue de um objeto. Em qualquer uma das modalidades aqui fornecidas, marcadores de lesão de podócitos podem ser medidos na urina. Tais proteínas incluem nefrina e podocina. As proteínas podem ser quantificadas, por exemplo, por ensaio imunossorvente ligado a enzima (ELISA) ou radioimunoensaio (RIA) usando kits comercialmente disponíveis.

[00174] Em qualquer uma das modalidades aqui fornecidas, a administração de um oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21 melhora um ou mais marcadores da função renal no objeto. Melhorias nos marcadores da função renal incluem, sem limitação: redução de nitrogênio ureico no sangue no objeto; creatinina reduzida no sangue do objeto; depuração melhorada da creatinina no objeto; proteinúria reduzida no objeto; razão reduzida albumina:creatinina no objeto; taxa de filtração glomerular estimada melhorada no objeto; e/ou aumento da produção urinária no objeto.

Certas Composições Farmacêuticas

[00175] São fornecidas aqui composições farmacêuticas compreendendo um oligonucleotídeo modificado que consiste em 19 nucleosídeos ligados e tendo a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), em que os nucleosídeos não seguidos por um subscrito são β-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato; ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

[00176] Em algumas dessas modalidades, o oligonucleotídeo modificado está presente em uma composição farmacêutica na sua forma de sal octadecassódico. Salvo indicação em contrário, os pesos e doses do oligonucleotídeo 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' mo-

dificado (SEQ ID NO: 3) são baseados no peso da forma de sal octadecassódico do oligonucleotídeo modificado. Como um exemplo não limitativo, 110 mg da forma de sal octadecassódico do oligonucleotídeo modificado é equivalente a 103,6 mg da forma ácida livre do oligonucleotídeo modificado.

[00177] Em certas modalidades, uma composição farmacêutica é preparada para injeção. Em certas modalidades, a composição farmacêutica preparada para injeção compreende o oligonucleotídeo modificado na concentração de 110 mg/mL em uma solução aquosa estéril. As vias de administração adequadas por injeção incluem injeção subcutânea e intravenosa.

[00178] Em certas modalidades, uma composição farmacêutica aqui fornecida é administrada na forma de uma unidade de dosagem em bolus. Em algumas modalidades, a unidade de dosagem em bolus compreende o oligonucleotídeo modificado a uma concentração de 110 mg/mL em uma solução aquosa estéril. Em algumas modalidades, a unidade de dosagem em bolus compreende o oligonucleotídeo modificado a uma concentração de 110 mg/mL em uma solução aquosa estéril de cloreto de sódio a 0,3%. Em algumas modalidades, para uma dose de 110 mg do oligonucleotídeo modificado, um objeto é administrado uma unidade de dosagem em bolus de 1 mL compreendendo 110 mg/mL do oligonucleotídeo modificado. Em certas modalidades, a administração é por injeção subcutânea.

[00179] Em certas modalidades, o oligonucleotídeo modificado é fornecido como um oligonucleotídeo modificado liofilizado estéril que é reconstituído com um diluente adequado, por exemplo, solução aquosa, como água ou tampões fisiologicamente compatíveis, tais como solução salina, solução de Hank e solução de Ringer. O produto reconstituído pode ser administrado como uma injeção subcutânea ou como uma infusão intravenosa. A droga liofilizada consiste em um oli-

gonucleotídeo modificado que foi preparada em uma solução aquosa estéril para injeção, ajustada a pH 7,0-9,0 com ácido ou base durante a preparação e depois liofilizada. A droga liofilizada pode ser acondicionada em um frasco de vidro transparente Tipo 2 de 2 mL, roscado com uma tampa de borracha e selado com uma vedação de alumínio.

[00180] Em certas modalidades, as composições farmacêuticas aqui fornecidas podem adicionalmente conter outros componentes auxiliares encontrados convencionalmente em composições farmacêuticas, em seus níveis de uso estabelecidos na técnica. Assim, por exemplo, as composições podem conter materiais adicionais, farmacologicamente ativos, compatíveis, tais como, por exemplo, antipruriginosos, adstringentes, anestésicos locais ou agentes anti-inflamatórios.

[00181] Em certas modalidades, as composições farmacêuticas fornecidas aqui um ou mais excipientes. Em certas modalidades, os excipientes são selecionados a partir de água, soluções salinas, álcool, polietileno glicóis, gelatina, lactose, amilase, estearato de magnésio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, hidroximetilcelulose e polivinilpirrolidona.

Certas Terapias Adicionais

[00182] Tratamentos para a síndrome de Alport podem compreender a administração do oligonucleotídeo modificado anti-miR-21 aqui fornecido e pelo menos uma terapia adicional. Em certas modalidades, a pelo menos uma terapia adicional compreende um agente farmacêutico.

[00183] Em certas modalidades, antes da administração da primeira dose do oligonucleotídeo modificado, o objeto com síndrome de Alport foi tratado com um regime de dosagem estável de uma terapia adicional por pelo menos 30 dias. Em certas modalidades, o objeto está recebendo um regime de dosagem estável de um bloqueador de receptor da angiotensina II. Em certas modalidades, o objeto está recebendo

do um regime de dosagem estável de um inibidor da enzima de conversão da angiotensina II.

[00184] Em certas modalidades, a pelo menos uma terapia adicional compreende um agente farmacêutico.

[00185] Em certas modalidades, os agentes farmacêuticos incluem bloqueadores de receptor de angiotensina II (ARB). Em certas modalidades, um bloqueador do receptor da angiotensina II é candesartan, irbesartan, olmesartan, losartan, valsartan, telmisartan ou eprosartan.

[00186] Em certas modalidades, os agentes farmacêuticos incluem inibidores da enzima de conversão da angiotensina II (ACE). Em certas modalidades, um inibidor da ACE é captopril, enalapril, lisinopril, benazepril, quinapril, fosinopril ou ramipril.

[00187] Em certas modalidades, um agente farmacêutico é um agente anti-hipertensivo. Agentes anti-hipertensivos são usados para controlar a pressão sanguínea do objeto.

[00188] Em certas modalidades, um agente farmacêutico é um análogo da vitamina D. Os análogos da vitamina D podem ser usados para limitar a produção de hormônio da paratireóide no objeto.

[00189] Em certas modalidades, um agente farmacêutico é um aglutinante de fosfato oral que reduz a absorção de fosfato na dieta.

[00190] Em certas modalidades, agentes farmacêuticos incluem agentes imunossupressores. Em certas modalidades, um agente imunossupressor é um corticosteróide, ciclofosfamida ou micofenolato mofetil.

[00191] Em certas modalidades, um agente farmacêutico é a ciclosporina, um inibidor da HMG-Coenzima A, um inibidor da vaso-peptidase ou um antagonista do TGF-beta.

[00192] Em certas modalidades, uma terapia adicional é terapia gênica. Em certas modalidades, a terapia gênica fornece um gene *Col4a3* normal. Em certas modalidades, a terapia gênica fornece um

gene *Col4a4* normal. Em certas modalidades, a terapia gênica fornece um gene *Col4a5* normal.

[00193] Em certas modalidades, uma terapia adicional é diálise. Em certas modalidades, uma terapia adicional é o transplante renal.

[00194] Em certas modalidades, um agente farmacêutico é um antagonista da aldosterona. Em certas modalidades, um antagonista da aldosterona é a espironolactona.

[00195] Em certas modalidades, agentes farmacêuticos incluem agentes anti-inflamatórios. Em certas modalidades, um agente anti-inflamatório é um agente anti-inflamatório esteróide. Em certas modalidades, um agente anti-inflamatório esteróide é um corticosteróide. Em certas modalidades, um corticosteróide é prednisona. Em certas modalidades, um agente anti-inflamatório é um medicamento anti-inflamatório não esteróide. Em certas modalidades, um agente anti-inflamatório não esteróide é o ibuprofeno, um inibidor da COX-1 ou um inibidor da COX-2.

[00196] Em certas modalidades, um agente farmacêutico é um agente farmacêutico que bloqueia uma ou mais respostas a sinais fibrogênicos.

[00197] Em certas modalidades, agentes farmacêuticos incluem agente antidiabético. Os agentes antidiabéticos incluem, mas não estão limitados a, biguanidas, inibidores de glucosidase, insulinas, sulfonilureias e tiazolidenodionas.

Certas Modificações

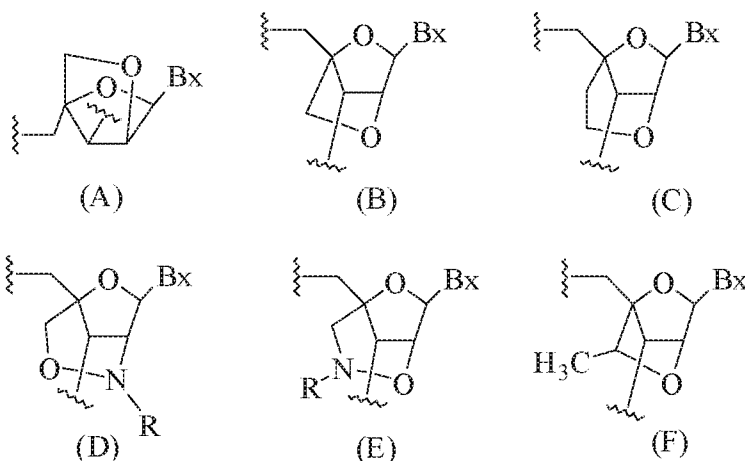
[00198] O oligonucleotídeo modificado aqui fornecido compreende nucleosídeos modificados por açúcar e ligações internucleosídeos modificadas.

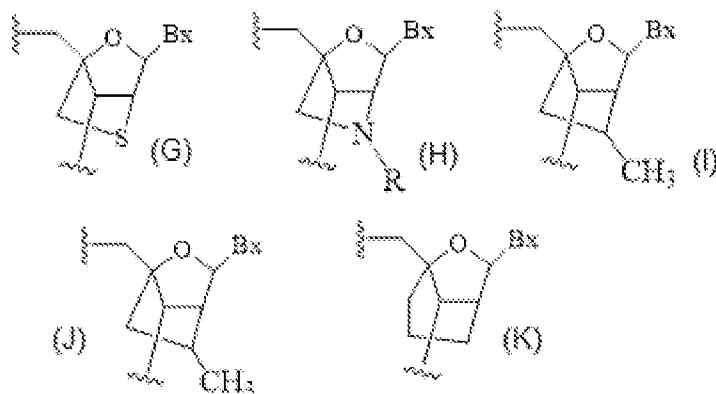
[00199] Uma ligação nucleobase modificada, açúcar e/ou internucleosídeo pode ser selecionada sobre uma forma não modificada devido a propriedades desejáveis, como, por exemplo, captação celular

aprimorada, afinidade aprimorada para outros oligonucleotídeos ou alvos de ácidos nucleicos e estabilidade aumentada na presença de nucleases.

[00200] Os nucleosídeos modificados por açúcar incluem porções de açúcar bicíclico. Em certas modalidades, uma porção de açúcar bicíclico é um açúcar D na configuração alfa. Em certas modalidades, uma porção de açúcar bicíclico é um açúcar D na configuração beta. Em certas modalidades, uma porção de açúcar bicíclico é um açúcar L na configuração alfa. Em certas modalidades, uma porção de açúcar bicíclico é um açúcar L na configuração beta.

[00201] Os nucleosídeos compreendendo essas porções de açúcar bicíclico são referidos como nucleosídeos bicíclicos ou BNAs. Em certas modalidades, os nucleosídeos bicíclicos incluem, mas não estão limitados a, ((A) α -L-Metileno-óxi (4'-CH₂-O-2') BNA; (B) β -D-Metileno-óxi (4'-CH₂-O-2') BNA; (C) Etileno-óxi (4'-(CH₂)₂-O-2') BNA; (D) Amino-óxi (4'-CH₂-O-N(R)-2') BNA; (E) Oxiamino (4'-CH₂-N(R)-O-2') BNA; (F) Metil(metileno-óxi) (4'-CH(CH₃)-O-2') BNA (também referido como etila restrita ou cEt); (G) metileno-tio (4'-CH₂-S-2') BNA; (H) metileno-amino (4'-CH₂-N(R)-2') BNA; (I) BNA (4'-CH₂-CH(CH₃)-2')metil carboxílico; (J) c-MOE (4'-CH₂-OMe-2') BNA e (K) BNA (4'-(CH₂)₃-2') propileno carboxílico, como mostrado abaixo.





em que Bx é uma porção nucleobase e R é, independentemente, H, um grupo protetor, ou C1-C12 alquila.

[00202] Em certas modalidades, um nucleosídeo modificado em 2' compreende um grupo 2'-substituinte selecionado a partir de F, OCF₃, O-CH₃, OCH₂CH₂OCH₃, 2'-O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(CH₃)₂, -O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂, e O-CH₂-C(=O)-N(H)CH₃.

[00203] Em certas modalidades, um nucleosídeo modificado em 2' compreende um grupo 2'-substituinte selecionado a partir de F, O-CH₃, e OCH₂CH₂OCH₃.

[00204] Em certas modalidades, um nucleosídeo modificado por açúcar é um nucleosídeo modificado em 4'-tio. Em certas modalidades, um nucleosídeo modificado por açúcar é um nucleosídeo modificado em 4'-tio-2'. Um nucleosídeo modificado em 4'-tio possui um β-D-ribonucleosídeo em que o 4'-O é substituído por 4'-S. Um nucleosídeo modificado em 4'-tio-2' é um nucleosídeo modificado em 4'-tio tendo o 2'-OH substituído por um grupo 2'-substituinte. Grupos 2'-substituintes adequados incluem 2'-OCH₃, 2'-O-(CH₂)₂-OCH₃ e 2'-F.

[00205] Em certas modalidades, um oligonucleotídeo modificado compreende uma ou mais modificações internucleosídeo. Em certas modalidades, cada ligação internucleosídeo de um oligonucleotídeo modificado é uma ligação internucleosídeo modificada. Em certas modalidades, uma ligação internucleosídeo modificada compreende um átomo de fósforo.

[00206] Em certas modalidades, um oligonucleotídeo modificado compreende pelo menos uma ligação internucleosídeo de fosforotioato. Em certas modalidades, cada ligação internucleosídeo de um oligonucleotídeo modificado é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato.

Certos Kits

[00207] A presente invenção também fornece kits. Em algumas modalidades, os kits compreendem o oligonucleotídeo modificado por anti-miR-21 aqui fornecido. Em algumas modalidades, o oligonucleotídeo modificado pode estar presente dentro de um frasco. Uma pluralidade de frascos, tal como 10, pode estar presente, por exemplo, em embalagens de distribuição. Em algumas modalidades, o frasco é fabricado de modo a ser acessível com uma seringa. O kit também pode conter instruções para o uso do oligonucleotídeo modificado.

[00208] Em algumas modalidades, os kits podem ser utilizados para administração do oligonucleotídeo modificado. Em tais casos, além do oligonucleotídeo modificado, o kit pode compreender ainda um ou mais dos seguintes itens: seringa, algodão embebido em álcool, bola de algodão e/ou gaze. Em algumas modalidades, o oligonucleotídeo modificado pode estar presente em uma seringa pré-cheia (como seringas de dose única com, por exemplo, uma agulha de 27 gauge, ½ polegada (1,27 cm) com uma proteção de agulha), em vez de em um frasco. Uma pluralidade de seringas pré-cheias, tal como 10, pode estar presente, por exemplo, em embalagens dispensadoras. O kit também pode conter instruções para administrar o oligonucleotídeo modificado.

Certos Modelos Experimentais

[00209] Em certas modalidades, a presente invenção fornece métodos de uso e/ou teste de oligonucleotídeos modificados da presente invenção em um modelo experimental. Aqueles versados na técnica

são capazes de selecionar e modificar os protocolos para tais modelos experimentais para avaliar um agente farmacêutico da invenção.

[00210] Geralmente, os oligonucleotídeos modificados são primeiro testados em células cultivadas. Os tipos celulares adequados incluem aqueles que estão relacionados ao tipo celular ao qual é desejada a entrega de um oligonucleotídeo modificado *in vivo*. Por exemplo, tipos de células adequados para o estudo dos métodos aqui descritos incluem células primárias ou cultivadas.

[00211] Em certas modalidades, a extensão em que o oligonucleotídeo modificado interfere com a atividade do miR-21 é avaliada em células cultivadas. Em certas modalidades, a inibição da atividade do miR-21 pode ser avaliada medindo os níveis de miR-21 em uma célula ou tecido. Alternativamente, o nível de um transcrito regulado por microRNA previsto ou validado pode ser medido. Uma inibição da atividade do miR-21 pode resultar no aumento do transcrito regulado pelo miR-21 e/ou da proteína codificada pelo transcrito regulado pelo miR-21. Além disso, em certas modalidades, certos resultados fenotípicos podem ser medidos.

[00212] Vários modelos animais estão disponíveis para os especialistas na técnica para o estudo do miR-21 em modelos de doenças humanas. Por exemplo, os inibidores de miR-21 podem ser estudados em um modelo experimental da síndrome de Alport, por exemplo, camundongos knockout para *Col4a3* (camundongos *Col4a3^{-/-}*). A gravidade da doença no modelo de camundongo depende do histórico genético do camundongo portador da mutação *Col4a3*. Por exemplo, o início e a progressão da doença são geralmente mais rápidos em 129X1/SvJ em relação a C57BL/6J. Conseqüentemente, o background genético do camundongo *Col4a3^{-/-}* pode ser selecionado para variar o início e a progressão da doença. Modelos adicionais incluem modelos caninos da síndrome de Alport ligada a X, autossômica recessiva ou

autossômica dominante. Vide, por exemplo, Kashtan, *Nephrol. Dial. Transplant*, 2002, 17: 1359-1361.

Certos Ensaios de Quantificação

[00213] Os efeitos da inibição antissentido de miR-21 após a administração de um oligonucleotídeo modificado podem ser avaliados por uma variedade de métodos conhecidos na técnica. Em certas modalidades, esses métodos são usados para quantificar os níveis de microRNA nas células ou tecidos *in vitro* ou *in vivo*. Em certas modalidades, as alterações nos níveis de microRNA são medidas por análise de micromatriz. Em certas modalidades, as alterações nos níveis de microRNA são medidas por um dos vários ensaios de PCR disponíveis no mercado, como o Ensaio TaqMan® MicroRNA (Applied Biosystems). Em certas modalidades, a inibição antissentido de miR-21 é avaliada medindo o nível de mRNA e/ou proteína de um alvo de miR-21. A inibição antissentido de miR-21 geralmente resulta no aumento do nível de mRNA e/ou proteína de um alvo do microRNA.

Ensaio de Envolvimento do Alvo

[00214] A modulação da atividade de microRNA com um imitador de anti-miR ou microRNA pode ser avaliada medindo o envolvimento do alvo. Em certas modalidades, o envolvimento do alvo é medido por perfil de micromatriz de mRNAs. As sequências dos mRNAs que são modulados (aumentados ou diminuídos) pela imitação de anti-miR ou microRNA são pesquisadas por sequências semente de microRNA, para comparar a modulação de mRNAs que são alvos do microRNA e a modulação de mRNAs que não são alvos do microRNA. Dessa maneira, a interação do anti-miR com miR-21, ou miR-21 mímico com seus alvos, pode ser avaliada. No caso de um anti-miR, mRNAs cujos níveis de expressão são aumentados são pesquisados quanto às sequências de mRNA que compreendem uma compatibilidade de semente com o microRNA ao qual o anti-miR é complementar.

EXEMPLOS

[00215] Os exemplos a seguir são apresentados para ilustrar mais detalhadamente algumas modalidades da invenção. Eles não devem, de maneira alguma, ser interpretados como limitando o amplo escopo da invenção.

[00216] Aqueles versados na técnica adotarão prontamente os princípios subjacentes a esta descoberta para projetar vários compostos sem se afastar do espírito da presente invenção.

Exemplo 1: Um Estudo de Fase 2 em Objetos com Síndrome de Alport

[00217] O estudo é um estudo de Fase 2 randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, multicêntrico e realizado em objetos com síndrome de Alport em vários centros de investigação. A síndrome de Alport é uma forma hereditária de doença renal causada por mutações nos genes que codificam o colágeno IV da membrana basal capilar. Com o tempo, a síndrome de Alport causa danos aos rins.

[00218] A droga do estudo é RG-012. Regimes de dosagem anteriores para RG-012, divulgados através de registros de ensaios clínicos, são doses fixas de 110 mg por semana e 220 mg por semana. A análise de dados farmacocinéticos de várias espécies em modelos pré-clínicos, bem como de voluntários saudáveis em um estudo de doses ascendentes múltiplas, sugeriu que uma dose baseada em peso de 1,5 mg/kg administrada em um intervalo menos frequente de uma vez a cada duas semanas seria um regime de dose eficaz e adequadamente seguro.

[00219] O ingrediente ativo (AI) em RG-012 é o sal octadecassódico de um oligonucleotídeo quimicamente modificado, de 19 bases, de filamento simples da estrutura:

5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), em que nucleosídeos não seguidos por um subscrito são β-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E"

são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato.

[00220] O RG-012 é formulado como uma solução aquosa da AI contendo 0,3% de cloreto de sódio e é administrado pela via subcutânea (SC) uma vez a cada duas semanas.

[00221] Em alguns casos, o principal metabólito ativo (AM) não possui o nucleosídeo "A" modificado no 3' terminal 2'-MOE:

5'-AECSATCSAGTCSTGAUSAAGCST-3' (SEQ ID NO: 4), em que nucleosídeos não seguidos por um subscrito são β -D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato.

[00222] O objetivo principal é avaliar a segurança e a tolerabilidade do RG-012 quando administrado semanalmente por 48 semanas. A segurança e a tolerabilidade são avaliadas por variáveis como eventos adversos, parâmetros laboratoriais, sinais vitais, ECGs e reações no local da injeção.

[00223] Os objetivos secundários incluem:

- Avaliação do efeito de RG-012 em outros biomarcadores selecionados a partir de sangue, urina e rim;
- Avaliação dos parâmetros farmacocinéticos (PK) do composto original (AI) e seu metabólito principal ativo (AM) após a administração de RG-012;
- Avaliação da formação potencial de anticorpos antidrogas (ADAs) após a administração de RG-012;
- Avaliação da eficácia preliminar do RG-012 para reduzir o declínio da função renal ao longo do tempo;
- Avaliação da qualidade de vida (QoL) após a administra-

ção do RG-012, utilizando o Short Form 36 Health Survey®.

Braços de Estudo	Intervenções Atribuídas
Comparador de Placebo: Placebo 1 mL, semanalmente, 48 semanas	Droga: Placebo 2 µg/mL de riboflavina em 0.9% de cloreto de sódio
Experimental: 1.5 mg/kg de RG-012, a cada duas semanas, por 48 semanas	Droga: RG-012 para injeção subcutânea, fornecida prontamente para injeção como uma formulação de Ingrediente Ativo em 0.3% de cloreto de sódio, a uma concentração nominal de 110 mg/mL

[00224] **Período de Tratamento Duplo-Cego e Controlado por Placebo** - Os objetos elegíveis são randomizados na razão de 1:1:1 para receber injeções subcutâneas (SC) quinzenais (a cada duas semanas) de RG-012 1,5 mg/kg ou placebo, por 48 semanas.

[00225] O investigador pode titular a dose quinzenal de RG-012 de um objeto para até 0,75 mg/kg com base na tolerabilidade. Os objetos cujas doses quinzenais de RG-012 foram reduzidas para 0,75 mg/kg também podem ter suas doses reajustadas para 1,5 mg/kg, com base no julgamento do Investigator.

[00226] Os objetos que tomam inibidores da enzima de conversão da angiotensina (ACE) ou bloqueadores de receptor da angiotensina II (ARBs) mantêm esses agentes em doses e regimes estáveis durante o período de tratamento ativo. Todos os outros medicamentos concomitantes também são mantidos em um regime de dosagem estável durante o estudo.

[00227] **Período de Extensão de Estudo Aberto** - Os objetos que completam 48 semanas de tratamento são elegíveis para triagem para inscrição em um estudo de extensão de 48 semanas, no qual todos os

objetos recebem tratamento ativo.

[00228] **Período de Acompanhamento** - Após a conclusão do tratamento do estudo, todos os participantes entrarão em um período de 12 semanas após o tratamento, que incluirá uma breve visita domiciliar na semana 2 de Acompanhamento, uma visita domiciliar na semana 4 de Acompanhamento e uma visita ao local na semana 12 de Acompanhamento. Os objetos que concluírem o período de tratamento duplo-cego, controlado por placebo, mas não entrarem no período de extensão de tratamento aberto entrarão diretamente no período de acompanhamento pós-tratamento.

Critério de Inclusão:

1. Objetos do sexo masculino com idades entre 18 e 65 anos (inclusive)

2. Diagnóstico confirmado da síndrome de Alport (diagnóstico clínico, histopatológico e/ou genético)

3. Conforme estimado com a equação de creatinina ou creatinina-cistatina C do Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI), os seguintes critérios de eGFR devem ser atendidos:

a. eGFR na medição inicial de triagem entre 40 e 90 ml/min/1,73 m²;

b. um declínio na eGFR de ≥ 5 ml/min/1,73 m²/ano com base em uma análise de declive de regressão linear de ≥ 4 medições de eGFR das 52 semanas anteriores. Um declínio na eGFR de ≥ 5 ml/min/1,73 m²/ano é equivalente a uma inclinação da eGFR ≤ 5 ml/min/1,73 m²/ano. A inclinação da eGFR, ou a mudança na eGFR de um objeto ao longo do tempo, é calculada usando regressão linear.

4. Proteinúria ≥ 300 mg de proteína / g de creatinina na triagem inicial e nas visitas iniciais

[00229] Objetos sem um número suficiente de medições anteriores

de eGFR para permitir o cálculo da inclinação de eGFR podem se qualificar para o estudo se forem homens, diagnosticados com XLAS e com idade entre 18 e 30 anos (inclusive).

[00230] Os objetos que tomam um inibidor da ACE e/ou um ARB devem estar em regime de dosagem estável de um inibidor da ACE e/ou ARB por ≥ 30 dias antes da triagem.

Critério de Exclusão:

1. Causas de doença renal crônica, além da síndrome de Alport (incluindo, entre outras, nefropatia diabética, nefropatia hipertensiva, lúpus, nefropatia por IgA).

2. ESRD como evidenciado pela terapia de diálise em andamento ou histórico de transplante renal.

3. Qualquer outra condição ou circunstância que, na opinião do investigador clínico responsável, torne improvável que o objeto conclua o estudo ou cumpra os procedimentos e requisitos do estudo, ou represente um risco à segurança e ao bem-estar do objeto.

[00231] Os parâmetros farmacodinâmicos incluem alterações ao longo do tempo nos parâmetros farmacodinâmicos e de biomarcadores, incluindo:

- nitrogênio ureico no sangue [BUN];
- razão proteína / albumina e razão albumina / creatinina na urina;
- creatinina, cistatina C, molécula de lesão renal-1 [KIM-1], microglobulina β -2 e clusterina no soro e na urina;
- dimetilarginina assimétrica (ADMA), fator de crescimento transformador- β (TGF β), fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF) e lipocalina associada a neutrófilos gelatinase (NGAL) no soro e na urina;
- fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), proteína quimioatraente de monócitos – 1 (MCP-1),

calbindina, interleucina-18 (IL-18) e fator de crescimento epidérmico (EGF) na urina;

- e podocitúria, conforme medido pela análise dos números de podócitos e mRNAs específicos de podócitos na urina.

[00232] Os endpoints farmacocinéticos incluem concentrações plasmáticas e parâmetros de PK calculados do composto original (AI) e seu metabólito ativo (AM).

[00233] Os endpoints de eficácia incluem:

- Inclinação de regressão linear da taxa estimada de filtração glomerular estimada (eGFR) da linha de base às semanas 24, 48 e 96;

- Mudança absoluta e percentual nos valores de eGFR da linha de base para as semanas 24, 48 e 96;

- Razão de objetos com resposta ao tratamento da linha de base às semanas 24, 48 e 96 com base nas seguintes definições:

- Inclinação da eGFR > -2 ml/min/1,73m²/ano
- Inclinação eGFR > -5 ml/min/1,73m²/ano
- Inclinação da eGFR > -10 ml/min/1,73m²/ano
- Inclinação de eGFR > -15 ml/min/1,73m²/ano;

- Razão de objetos com uma resposta ao tratamento da linha de base às Semanas 24, 48 e 96 com base nas seguintes definições:

- $<5\%$ de redução no valor de eGFR em relação à linha de base
- $<10\%$ de redução no valor de eGFR em relação à linha de base
- $<20\%$ de redução no valor de eGFR em relação à linha de base
- $<30\%$ de redução no valor de eGFR em relação à linha de base;

- Diferença na inclinação da eGFR entre o período de triagem e o período de tratamento;
- Número e razão de objetos que atingem doença renal terminal (ESRD), conforme definido por uma eGFR ≤ 15 ml/min/1,73m² ou início de hemodiálise ou transplante renal; e
- Mudança ao longo do tempo na QoL, conforme medido usando o Short Form 36 Health Survey® (SF-36).

[00234] Prevê-se que uma dose de 1,5 mg/kg de RG-012, administrada uma vez a cada duas semanas a um objeto com síndrome de Alport, forneça uma margem de segurança apropriada e resulte em parâmetros de eficácia aprimorados, por exemplo, manutenção ou melhora nos rins função.

Exemplo 2: Cálculo de Taxa de Filtração Glomerular

[00235] O National Kidney Foundation fornece várias equações, desenvolvidas pela Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) para calcular a taxa estimada de filtração glomerular (eGFR) em um objeto. Uma ou mais dessas equações é usada para medir a eGFR em objetos rastreados e participantes do estudo de fase 2 aqui descrito.

Equação de Creatinina CKD-EPI (2009)

[00236] Expressa como uma equação única: $eGFR = 141 \times \min(S_{Cr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{Cr}/\kappa, 1)^{-1,209} \times 0,993^{\text{idade}} \times 1,018$ [se for mulher] $\times 1,159$ [se for afro-americano]

Abreviações / Unidades

eGFR (taxa de filtração glomerular estimada) = ml/min/1,73 m²

S_{Cr} (creatinina sérica) = mg/dL

S_{cys} (cistatina sérica padronizada C) = mg / l

$\kappa = 0,7$ (mulheres) ou $0,9$ (homens)

$\alpha = -0,248$ (mulheres) ou $-0,207$ (homens)

$\min(S_{Cr} / \kappa \text{ ou } 1)$ = indica o mínimo de S_{Cr}/ κ ou 1

$\max (S_{Cr} / k \text{ ou } 1)$ = indica o máximo de S_{Cr}/k ou 1
 $\min (S_{cys} / 0,8, 1)$ = indica o mínimo de $S_{cys} / 0,8, 1$
 $\max (S_{cys} / 0,8, 1)$ = indica o máximo de $S_{cys} / 0,8, 1$
 idade = anos.

Equação Creatinina-Cistatina CKD-EPI (2012)

[00237] Expressa como uma única equação: $eGFR = 135 \times \min (S_{Cr}/k, 1)^\alpha \times \max (S_{Cr}/k, 1)^{-0,601} \times \min (S_{cys}/0,8, 1)^{-0,375} \max (S_{cys}/0,8, 1)^{0,711} \times 0,995^{\text{idade}} \times 0,969$ [se feminino] $\times 1,08$ [se afro-americano]

Abreviações / Unidades

eGFR (taxa de filtração glomerular estimada) = ml/min/1,73 m²

S_c (creatinina sérica padronizada) = mg/dL

k = 0,7 (mulheres) ou 0,9 (homens)

α = -0,329 (mulheres) ou -0,411 (homens)

min = indica o mínimo de S_c/k ou 1

max = indica o máximo de S_c/k ou 1

idade = anos.

Exemplo 3: Um Estudo de Fase 1 com Biópsia

[00238] O estudo é o estudo de Fase 1 da segurança, farmacodinâmica e farmacocinética do RG-012 administrado a objetos com síndrome de Alport. Durante este estudo aberto, todos os objetos elegíveis receberão RG-012. O estudo consiste em duas partes (parte A e parte B). Durante a parte A, metade dos participantes receberá uma dose única de RG-012 e metade receberá 4 doses de RG-012 (uma dose a cada duas semanas durante 6 semanas). Todos os objetos serão submetidos a duas biópsias renais, uma antes e outra após receber o RG-012, para avaliar o efeito do RG-012 no rim. Após concluir a Parte A, os objetos poderão entrar na Parte B do estudo. Durante a parte B, todos os participantes receberão RG-012 a cada duas semanas por 48 semanas.

Braços de Estudo	Intervenções Atribuídas
Experimental: RG-012 Dose Única 1.5 mg/kg RG012 injeção subcutânea	Droga: RG-012 RG-012 em 0.3% de cloreto de sódio
Experimental: RG-012 A cada Semana 1.5 mg/kg de RG-012 injeções subcutâneas uma semana sim outra não	Droga: RG-012 RG-012 em 0.3% de cloreto de sódio

[00239] Principais medidas de resultado incluem:

- Incidência e gravidade de eventos adversos; e
- Efeito de RG-012 no miR-21 renal.

[00240] Medidas de resultados secundários incluem:

- Parâmetro farmacocinético (PK) - Cmax (concentração plasmática máxima observada)
- Parâmetro farmacocinético (PK) - Tmax (tempo até a concentração plasmática máxima observada)
- Parâmetro farmacocinético (PK) - AUC (área sob a curva de concentração plasmática versus tempo)

Critério de inclusão:

1. Homens ou mulheres, com idades entre 18 e 65 anos
2. Diagnóstico confirmado da síndrome de Alport
3. eGFR entre 40 e 90 ml/min/1,73m²
4. Proteinúria de pelo menos 300 mg de proteína / g de creatinina
5. Para objetos que tomam um inibidor da ACE ou um BRA, o regime de dosagem deve ser estável por pelo menos 30 dias antes da triagem.
6. Disposto a cumprir os requisitos de contracepção.

Critério de Exclusão:

1. Causas de doença renal crônica além da síndrome de Alport (como nefropatia diabética, nefropatia hipertensiva, nefrite por lúpus ou nefropatia por IgA)

2. Doença renal em estágio terminal (ESRD), como evidenciado pela terapia de diálise em andamento ou histórico de transporte renal

3. Qualquer outra condição que possa representar um risco para a segurança e o bem-estar do objeto.

4. Objetos do sexo feminino que estão grávidas ou amamentando

[00241] Principais medidas de resultado incluem:

- Incidência e gravidade de eventos adversos; e
- Efeito de RG-012 no miR-21 renal.

[00242] Medidas de resultados secundários incluem:

- Parâmetro farmacocinético (PK) - C_{max} (concentração plasmática máxima observada)

- Parâmetro farmacocinético (PK) - T_{max} (tempo até a concentração plasmática máxima observada)

- Parâmetro farmacocinético (PK) - AUC (área sob a curva de concentração plasmática versus tempo)

[00243] Neste estudo, os objetos são submetidos a uma biópsia renal antes da primeira dose de RG-012 e após a dose final de RG-012. Amostras de sangue são coletadas. O RNA é isolado do rim e os níveis de miR-21 são medidos. Os níveis de RG-012 são medidos no sangue e no tecido renal. Os transcritos de mRNA regulado por miR-21 podem ser medidos.

[00244] Prevê-se que uma dose de 1,5 mg/kg uma vez a cada duas semanas, forneça níveis suficientes de RG-012 no rim para ativar (isto é, inibir) o miR-21.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para tratar a síndrome de Alport, caracterizado pelo fato de que compreende a administração a um objeto com síndrome de Alport de duas ou mais doses de um oligonucleotídeo modificado, em que o oligonucleotídeo modificado consiste em 19 nucleosídeos ligados e tem a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), onde nucleosídeos não seguidos por um subscrito são β-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato e em que uma dose de 1,5 mg/kg é administrada com uma frequência de duas semanas entre doses.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a dose é entregue em um diluente farmacologicamente aceitável.

3. Método, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o diluente farmacologicamente aceitável é uma solução salina.

4. Método, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a solução salina é uma solução de cloreto de sódio a 0,3%.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 4, caracterizado pelo fato de que a concentração do oligonucleotídeo modificado no diluente farmacologicamente aceitável é de pelo menos 110 mg/mL.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a dose é uma única injeção em bolus de 110 mg/mL do oligonucleotídeo modificado.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é

administrada como uma injeção subcutânea.

8. Método, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a injeção subcutânea é administrada na parede abdominal anterior do objeto.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que compreende selecionar um objeto que foi diagnosticado com síndrome de Alport por critérios clínicos, histopatológicos e/ou genéticos.

10. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que o objeto tem uma taxa de filtração glomerular estimada de 30 ml/min/1,73 m² antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo modificado.

11. Método, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o objeto tem uma taxa de filtração glomerular estimada (eGFR) entre 45 e 90 ml/min/1,73 m² antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo modificado.

12. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que a taxa de filtração glomerular estimada do objeto está diminuindo a uma taxa de ≥ 5 ml/min/1,73 m²/ano antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo modificado.

13. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que o objeto é do sexo masculino, foi diagnosticado com síndrome de Alport ligada a X e tem entre 18 e 30 anos de idade.

14. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que o objeto tem proteinúria superior a 300 miligramas de proteína por grama de creatinina antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo modificado.

15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindica-

ções 1 a 14, caracterizado pelo fato de que o objeto, após a administração do oligonucleotídeo modificado, experimenta uma melhoria em um ou mais parâmetros associados à síndrome de Alport selecionados a partir do grupo que consiste em:

- a. taxa de filtração glomerular estimada;
- b. taxa de declínio na taxa estimada de filtração glomerular;
- e
- c. qualidade de vida usando o Short Form 36 Health Survey®.

16. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de que o objeto, após a administração do oligonucleotídeo modificado, exibe uma melhoria em um ou mais biomarcadores renais selecionados a partir do grupo que consiste em:

- a. miR-21 no tecido da biópsia;
- b. nitrogênio ureico no sangue;
- c. razão de proteína na urina / albumina;
- d. razão de albumina na urina / creatina;
- e creatinina;
- f. podocitúria na urina;
- g. molécula de lesão renal-1;
- h. microglobulina beta-2;
- i. clusterina;
- j. cistatina C;
- k. dimetilarginina assimétrica;
- l. fator de crescimento transformador beta;
- m. fator de crescimento do tecido conjuntivo; e
- n. lipocalina associada a gelatinase neutrófila.

17. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que uma ou mais de creatinina,

cistatina C, molécula de lesão renal-1, microglobulina beta-2 e/ou clusterina são medidas em uma amostra de sangue do objeto.

18. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que uma ou mais de creatinina, cistatina C, molécula de lesão renal-1, microglobulina beta-2 e/ou clusterina são medidas em uma amostra de urina do objeto.

19. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, caracterizado pelo fato de que o objeto foi tratado com um inibidor da enzima de conversão da angiotensina II (ACE) por pelo menos 30 dias antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo.

20. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de que o objeto foi tratado com um bloqueador de receptor da angiotensina II (ARB) por pelo menos 30 dias antes de receber a primeira dose do oligonucleotídeo.

21. Método, de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que os inibidores da enzima de conversão da angiotensina II (ACE) são selecionados a partir de captopril, enalapril, lisinopril, benazepril, quinapril, fosinopril e ramipril.

22. Método, de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que os bloqueadores de receptor de angiotensina II (ARB) são selecionados a partir de candesartan, irbesartan, olmesartan, losartan, valsartan, telmisartan e eprosartan.

23. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 22, caracterizado pelo fato de que pelo menos 24 doses são administradas ao objeto.

24. Método para tratar a síndrome de Alport em um objeto, caracterizado pelo fato de que compreende:

a. selecionar um objeto que tenha sido diagnosticado com síndrome de Alport usando critérios clínicos, histopatológicos e/ou genéticos;

b. administrar ao objeto duas ou mais doses de uma composição farmacêutica compreendendo um oligonucleotídeo modificado, em que o oligonucleotídeo modificado consiste em 19 nucleosídeos ligados e tem a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), em que nucleosídeos não seguidos por um subscrito são p-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato, em que a dose do oligonucleotídeo modificado é de 1,5 mg/kg e em que as doses são administradas com uma frequência de duas semanas entre doses,

c. em que o objeto, após a administração da composição farmacêutica, exhibe uma melhoria em um ou mais parâmetros associados a AS selecionados a partir de:

- i. taxa de filtração glomerular estimada (eGFR);
- ii. taxa de declínio da eGFR; e
- iii. qualidade de vida (QoL) medida pelo Short Form 36 Health Survey®.

25. Método para tratar síndrome de Alport em um objeto, caracterizado pelo fato de que compreende:

a. selecionar um objeto que foi diagnosticado com síndrome de Alport usando critérios clínicos, histopatológicos e/ou genéticos, em que o objeto tem:

- i. uma taxa de filtração glomerular estimada em pelo menos 30 ml/min/1,73 m²;
- ii. um declínio na taxa de taxa de filtração glomerular estimada em ≥ 5 ml/min/1,73 m²/ano;
- iii. proteinúria maior ou igual a 300 mg de proteína / g de creatinina; e
- iv. foi tratado com um regime de dosagem estável de um

inibidor da ACE e/ou de um ARB por pelo menos 30 dias;

b. administrar ao objeto duas ou mais doses de uma composição farmacêutica compreendendo um oligonucleotídeo modificado, em que o oligonucleotídeo modificado consiste em 19 nucleosídeos ligados e tem a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), em que nucleosídeos não seguidos por um subscrito são p-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato, em que a dose do oligonucleotídeo modificado é de 1,5 mg/kg e em que as doses são administradas com uma frequência de duas semanas entre doses,

c. em que o objeto, após a administração da composição farmacêutica, exibe uma melhoria em um ou mais parâmetros associados à síndrome de Alport selecionados a partir de:

- i. taxa de filtração glomerular estimada (eGFR);
- ii. taxa de declínio da eGFR; e
- iii. qualidade de vida (QOL) medida pelo Short Form 36 Health Survey®.

26. Método para reduzir o declínio da função renal ao longo do tempo em um objeto com síndrome de Alport, o método caracterizado pelo fato de que compreende:

a. selecionar um objeto diagnosticado com síndrome de Alport confirmado por critérios clínicos, histopatológicos e/ou genéticos, em que o objeto tem:

- i. uma taxa de filtração glomerular estimada em pelo menos 30 ml/min/1,73 m²;
- ii. um declínio na taxa de taxa de filtração glomerular estimada em ≥ 5 ml/min/1,73 m²/ano;
- iii. proteinúria maior ou igual a 300 mg de proteína / g de

creatinina; e

iv. foi tratado com um regime de dosagem estável de um inibidor da ACE e/ou de um ARB por pelo menos 30 dias;

b. administrar ao objeto duas ou mais doses de uma composição farmacêutica compreendendo um oligonucleotídeo modificado, em que o oligonucleotídeo modificado consiste em 19 nucleosídeos ligados e tem a estrutura 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), em que nucleosídeos não seguidos por um subscrito são p-D-desoxirribonucleosídeos; nucleosídeos seguidos por um subscrito "E" são nucleosídeos 2'-MOE; nucleosídeos seguidos por um subscrito "S" são nucleosídeos S-cEt, e cada ligação internucleosídeo é uma ligação internucleosídeo de fosforotioato, em que a dose do oligonucleotídeo modificado é de 1,5 mg/kg e em que as doses são administradas com uma frequência de duas semanas entre doses,

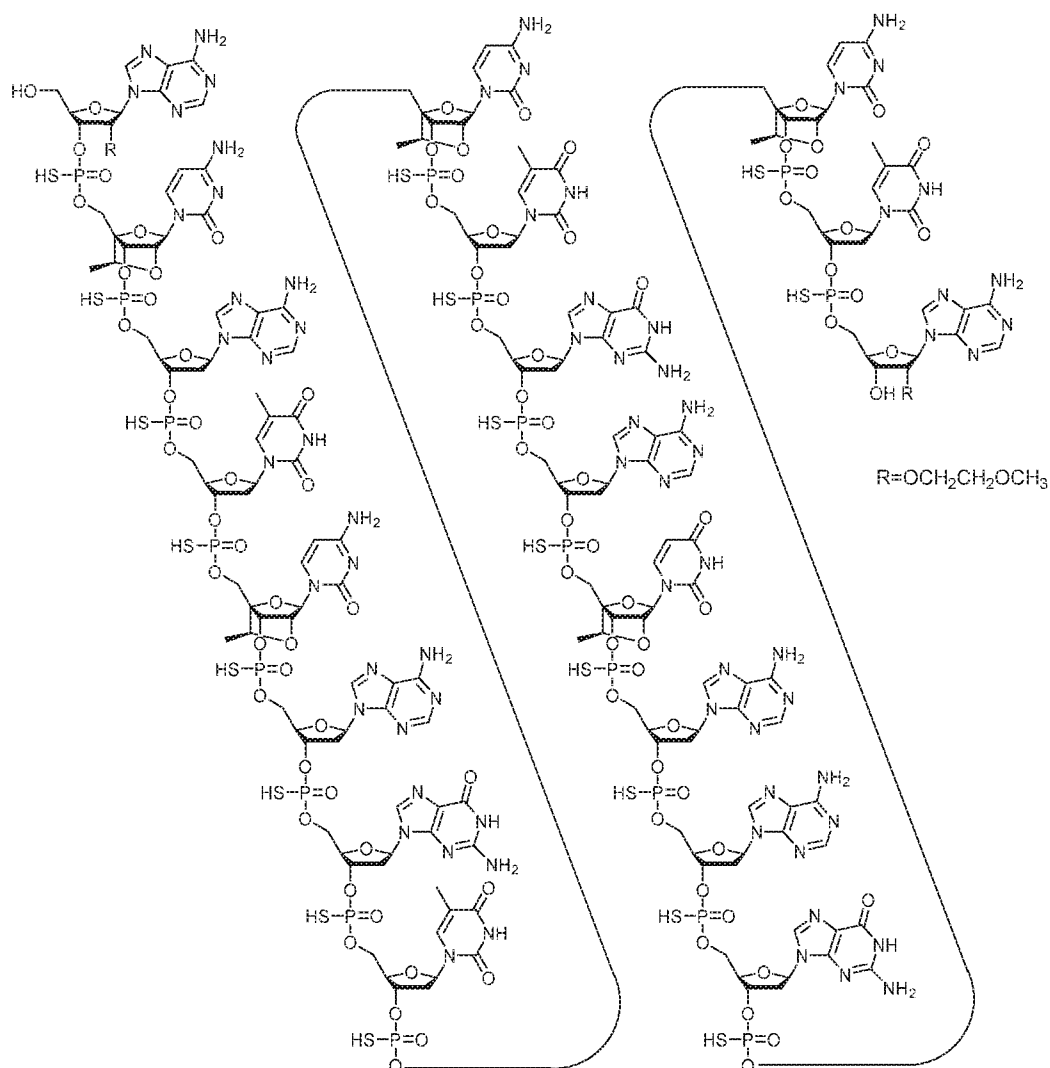
c. em que o objeto, após a administração da composição farmacêutica, exibe uma melhoria em um ou mais parâmetros associados à síndrome de Alport selecionados a partir de:

i. taxa de filtração glomerular estimada (eGFR);

ii. taxa de declínio da eGFR; e

iii. qualidade de vida (QOL) medida pelo Short Form 36 Health Survey®.

27. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 26, caracterizado pelo fato de que o oligonucleotídeo modificado tem a estrutura:

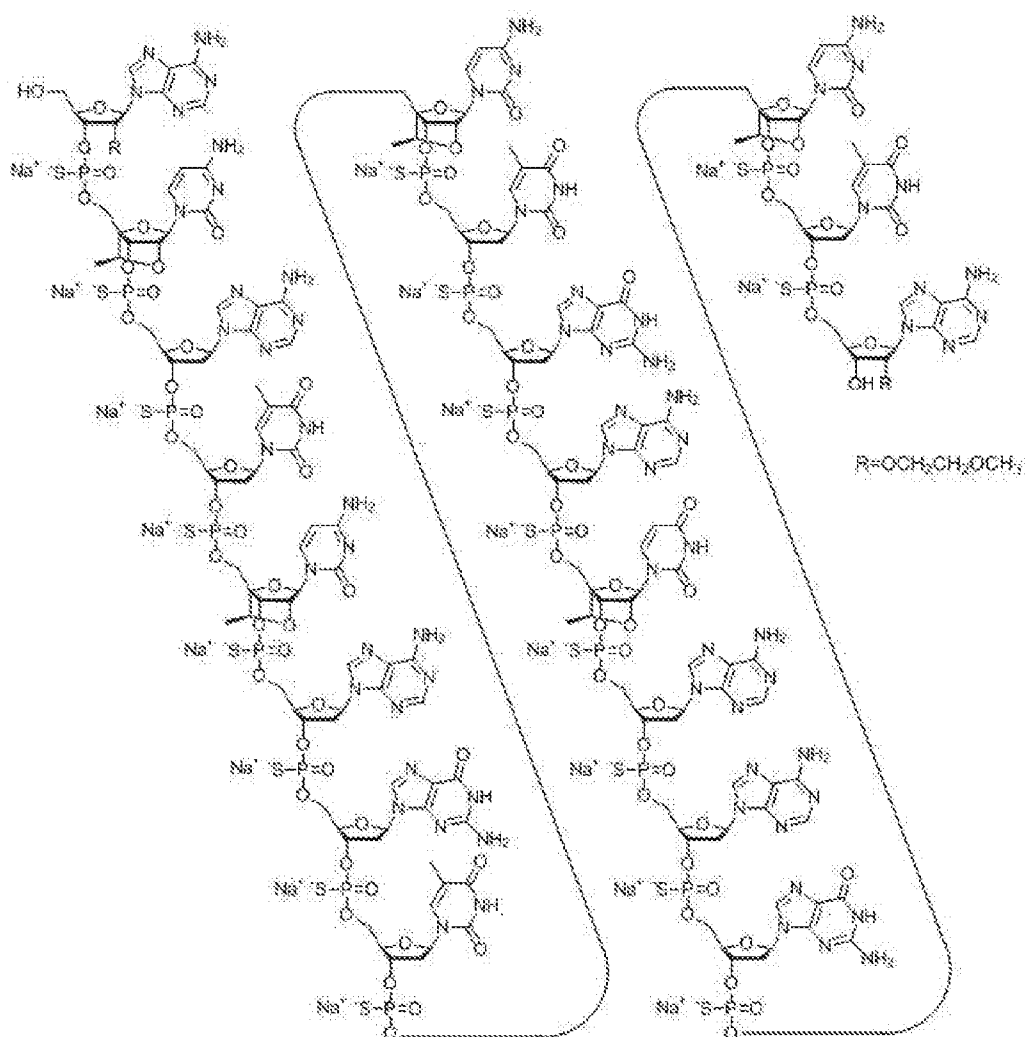


(SEQ ID NO: 3); ou um seu sal farmacologicamente aceitável.

28. Método, de acordo com a reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que o oligonucleotídeo modificado está presente como um sal farmacologicamente aceitável da estrutura.

29. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que o oligonucleotídeo modificado está presente como um sal de sódio da estrutura.

30. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, caracterizado pelo fato de que o oligonucleotídeo modificado tem a estrutura:



(SEQ ID NO: 3).

31. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 10 a 30, caracterizado pelo fato de que a taxa de filtração glomerular estimada é calculada usando a equação de creatinina do Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI).

32. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 10 a 30, caracterizado pelo fato de que a taxa de filtração glomerular estimada é calculada usando a equação de creatinina-cistatina C do Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI).

RESUMO

Patente de Invenção: **"MÉTODOS PARA TRATAMENTO DA SÍNDROME DE ALPORTE"**.

A presente invenção refere-se a métodos para o tratamento da síndrome de Alport, utilizando um oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21. Em certas modalidades, o oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21 melhora a função renal e/ou reduz a fibrose em objetos com síndrome de Alport. Em certas modalidades, a administração do oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21 atrasa o início da doença renal em estágio terminal em um objeto com síndrome de Alport. Em certas modalidades, o oligonucleotídeo modificado direcionado a miR-21 atrasa a necessidade de diálise ou transplante de rim em um objeto com síndrome de Alport.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: LISTAGEM DE SEQUÊNCIA P243386.TXT
- Data de Geração do Código: 31/10/2019
- Hora de Geração do Código: 09:21:48
- Código de Controle:
 - Campo 1: 669FCA8079A7CAD1
 - Campo 2: AFB855E7079F2E9C