



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113660939 A

(43) 申请公布日 2021. 11. 16

(21) 申请号 202080022966.9

(22) 申请日 2020.03.25

(30) 优先权数据

62/825573 2019.03.28 US

62/902518 2019.09.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.09.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/024550 2020.03.25

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/198268 EN 2020.10.01

(71) 申请人 萨勒普塔医疗公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 E·M·凯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 罗文锋 彭昶

(51) Int.Cl.

A61K 31/7125 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

权利要求书2页 说明书34页
序列表1页

(54) 发明名称

使用卡西莫森治疗肌营养不良的方法

(57) 摘要

本公开尤其提供了用于治疗肌营养不良的改进的组合物和方法。例如,本公开提供了用于通过施用有效量的卡西莫森来治疗杜氏肌营养不良患者的方法,所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变。

1. 一种用于治疗有需要的患者的杜氏肌营养不良 (DMD) 的方法, 所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变, 所述方法包括向所述患者施用一定剂量的卡西莫森或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的方法, 其中所述剂量以所述患者的约30mg/kg体重的剂量施用。

3. 根据权利要求1至2所述的方法, 其中所述剂量作为单次剂量施用。

4. 根据权利要求1至3所述的方法, 其中所述剂量一周一次施用。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中所述患者具有选自以下组成的组的DMD基因突变: 外显子7至42、12至42、18至42、44至46、44至47、44至48、44至49、44至51、44至53、44至55、44至57或44至59或外显子44。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中所述患者长期施用卡西莫森。

7. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中所述患者施用卡西莫森至少48周。

8. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中所述患者在施用卡西莫森之前, 服用稳定剂量的皮质类固醇至少6个月。

9. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成药物组合物。

10. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成强度为约50mg/mL的药物组合物。

11. 根据权利要求10所述的方法, 其中卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成强度为约50mg/mL的药物组合物, 并且以约100mg/2mL的剂型存在。

12. 根据权利要求11所述的方法, 其中所述剂型包含在一次性小瓶中。

13. 根据权利要求10至12所述的方法, 其中卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成包含卡西莫森或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体的药物组合物。

14. 根据权利要求13所述的方法, 其中所述药学上可接受的载体是磷酸盐缓冲溶液。

15. 一种用于恢复有需要的患有杜氏肌营养不良 (DMD) 的患者的mRNA阅读框以诱导外显子跳跃的方法, 所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变, 所述方法包括向所述患者施用一定剂量的卡西莫森或其药学上可接受的盐。

16. 根据权利要求15所述的方法, 其中所述剂量以所述患者的约30mg/kg体重的剂量施用。

17. 根据权利要求15至16所述的方法, 其中所述剂量一周一次施用。

18. 根据权利要求15至17所述的方法, 其中所述患者施用卡西莫森至少48周。

19. 一种用于增加有需要的患有杜氏肌营养不良 (DMD) 的患者的肌营养不良蛋白产生的方法, 所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变, 所述方法包括向所述患者施用一定剂量的卡西莫森或其药学上可接受的盐。

20. 根据权利要求19所述的方法, 其中所述剂量以所述患者的约30mg/kg体重的剂量施用。

21. 根据权利要求19至20所述的方法, 其中所述剂量一周一次施用。

22. 根据权利要求19至21所述的方法, 其中所述患者施用卡西莫森至少48周。

23. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 所述方法还包括在施用卡西莫森之前确

认所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变。

24. 一种卡西莫森或其药学上可接受的盐,其用于治疗有需要的患者的杜氏肌营养不良(DMD),所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,其中所述治疗包括每周一次向所述患者施用约30mg/kg的单次静脉内剂量的卡西莫森。

25. 一种卡西莫森或其药学上可接受的盐,其用于恢复有需要的患有杜氏肌营养不良(DMD)的患者的mRNA阅读框以诱导外显子跳跃,所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,其中所述治疗包括每周一次向所述患者施用约30mg/kg的单次静脉内剂量的卡西莫森。

26. 一种卡西莫森或其药学上可接受的盐,其用于增加有需要的患有杜氏肌营养不良(DMD)的患者的肌营养不良蛋白产生,所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,其中所述治疗包括每周一次向所述患者施用约30mg/kg的单次静脉内剂量的卡西莫森。

使用卡西莫森治疗肌营养不良的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2019年3月28日提交的美国临时申请号62/825,573和2019年9月19日提交的美国临时申请号62/902,518的权益。上述申请的全部教导以全文引用的方式并入。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于治疗患者的肌营养不良的改进的方法。它还提供了适用于促进人肌营养不良蛋白基因中的外显子45跳跃的组合物。

背景技术

[0004] 在各种遗传疾病中,基因突变对基因最终表达的影响可以通过剪接过程中的靶向外显子跳跃过程来调节。在正常功能蛋白因其中的突变而过早终止的情况下,通过反义技术恢复一些功能蛋白产生的手段已经被证明是可以通过在剪接过程中进行干预的,如果可以从一些基因中特异性地删除与致病突变相关的外显子,有时可以产生缩短的蛋白产物,该产物具有与天然蛋白相似的生物学特性,或者具有足够的生物学活性,以改善与外显子相关的突变所引起的疾病(参见例如Sierakowska,Sambade等人1996;Wilton,Lloyd等人1999;van Deutekom,Bremmer-Bout等人2001;Lu,Mann等人2003;Aartsma-Rus,Janson等人2004)。

[0005] 杜氏肌营养不良(DMD)是由蛋白质肌营养不良蛋白的表达的缺陷引起的。肌营养不良蛋白是杆状细胞质蛋白,并且是通过细胞膜将肌肉纤维的细胞骨架连接到周围的细胞外基质的蛋白质复合物的主要部分。肌营养不良蛋白在肌肉纤维中起着重要的结构作用,连接细胞外基质和细胞骨架。N端区域结合肌动蛋白,而C端是跨越肌膜的肌营养不良蛋白糖蛋白复合物(DGC)的一部分。已经显示,mdx小鼠的肌营养不良蛋白缺乏的肌肉纤维表现出对收缩诱导的肌膜破裂的敏感性增加(参见Petrof等人1993;Cirak等人2012)。

[0006] 编码肌营养不良蛋白的基因含有79个分布在超过200万个DNA核苷酸上的外显子。任何改变外显子阅读框、或引入终止密码子、或特征在于去除整个框外一个或多个外显子或一个或多个外显子重复的外显子突变都可能破坏功能性肌营养不良蛋白的产生,从而导致DMD。

[0007] 疾病发作可以在出生时记录,肌酸激酶水平升高,并且在一岁时可能存在显著的运动缺陷。到七岁或八岁时,大多数DMD患者都存在越来越紧张的步态,并且正在丧失从地面上站起和爬楼梯的能力;到10岁至14岁时,大多数都是依赖轮椅的。DMD是一致致命的;受影响的个体通常在其青少年晚期或20岁早期死于呼吸和/或心力衰竭。DMD的持续进展允许在疾病的所有阶段进行治疗干预;然而,直到最近,治疗仅限于糖皮质激素,这与许多副作用相关,包括增重、行为改变、青春期变化、骨质疏松症、库欣氏样面容(Cushingoid facies)、生长抑制和白内障。因此,开发更好的疗法以治疗这种疾病的根本原因是当务之急。

[0008] 已发现一种不太严重的肌营养不良形式,即贝克尔肌营养不良(BMD),其中突变

(通常是一个或多个外显子的缺失)导致沿整个肌营养不良蛋白转录物的正确阅读框,从而使mRNA翻译成蛋白质的过程不会过早终止。如果在处理突变的肌营养不良蛋白前体mRNA时,上游和下游外显子的接合保持了基因的正确阅读框,其结果是编码蛋白质的mRNA具有短的内部缺失,但保留了一些活性,从而产生了贝克尔表型。

[0009] 多年来,已知不改变肌营养不良蛋白阅读框的一个或多个外显子的缺失会引起BMD表型,而引起移码的外显子缺失会引起DMD (Monaco, Bertelson等人1988)。一般来说,肌营养不良蛋白突变包括点突变和外显子缺失,这些突变改变了阅读框,从而中断了正确的蛋白质翻译,导致DMD。还应注意的是,一些BMD和DMD患者的外显子缺失覆盖多个外显子。

[0010] 最近测试剪接转换寡核苷酸(SSO)用于治疗DMD的安全性和功效的临床试验基于SSO技术,以通过剪接体的空间阻断诱导前体mRNA的替代剪接(Cirak等人,2011;Goemans等人,2011;Kinali等人,2009;van Deutekom等人,2007)。然而,尽管取得了这些成功,但可用于治疗DMD的药理学选项是有限的。

[0011] 因此,仍然需要用于产生肌营养不良蛋白和治疗患者的肌营养不良(例如DMD和BMD)的改进的组合物和方法。

发明内容

[0012] 本公开至少部分基于临床证据,所述临床证据显示用外显子45跳跃反义寡核苷酸卡西莫森(casimersen)进行的治疗相对于基线显著增加患者的肌营养不良蛋白。此外,观察到外显子跳跃与新生肌营养不良蛋白之间的正相关性。

[0013] 因此,在一些方面,本公开提供一种用于治疗有需要的患者的杜氏肌营养不良(DMD)的方法,所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,所述方法包括向所述患者施用一定剂量的卡西莫森或其药学上可接受的盐。

[0014] 在一些方面,本公开提供一种用于恢复有需要的患有杜氏肌营养不良(DMD)的患者的mRNA阅读框以诱导外显子跳跃的方法,所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,所述方法包括向所述患者施用一定剂量的卡西莫森或其药学上可接受的盐。

[0015] 在一些方面,本公开提供一种用于增加有需要的患有杜氏肌营养不良(DMD)的患者的肌营养不良蛋白产生的方法,所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,所述方法包括向所述患者施用一定剂量的卡西莫森或其药学上可接受的盐。

[0016] 在一些方面,所述剂量以所述患者的约4mg/kg、约10mg/kg、约20mg/kg、约30mg/kg、约40mg/kg或约50mg/kg体重的剂量施用。

[0017] 在一些方面,所述剂量作为单次剂量施用。在一些方面,所述剂量一周一次施用。在一些方面,所述剂量静脉内施用。在一些方面,所述剂量通过输注静脉内施用。在一些方面,所述剂量通过输注在35-60分钟时段内静脉内施用。在一些方面,所述剂量通过皮下注射静脉内施用。

[0018] 在一些方面,患者高达40岁、高达30岁或高达21岁。在一些方面,患者为1至21岁。在一些方面,患者为5至21岁。在一些方面,患者为7至13岁。

[0019] 在一些方面,本公开一种提供了根据前述或相关方面中任一项的方法,其中所述患者患有选自包括外显子7至42、12至42、18至42、44至46、44至47、44至48、44至49、44至51、44至53、44至55、44至57或44至59或外显子44的组的DMD基因突变。

[0020] 在一些方面,本公开提供了根据前述或相关方面中任一项的方法,其中所述患者长期施用卡西莫森。在一些方面,所述患者施用卡西莫森至少48周。在一些方面,所述患者施用卡西莫森超过一年、超过两年、超过三年、超过四年、超过五年、超过十年、超过二十年或超过三十年。

[0021] 在一些方面,本公开提供了根据前述或相关方面中任一项的方法,其中所述患者在施用卡西莫森之前服用稳定剂量的皮质类固醇至少6个月。在一些方面,所述患者在施用卡西莫森之前服用稳定剂量的皮质类固醇至少6个月,并且在施用卡西莫森期间继续服用皮质类固醇。

[0022] 在一些方面,本公开提供了根据前述或相关方面中任一项的方法,其中卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成药物组合物。在一些方面,卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成强度为50mg/mL的药物组合物。在一些方面,卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成强度为50mg/mL的药物组合物,并且以100mg/2mL的剂型存在。在一些方面,卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成强度为50mg/mL的药物组合物,并且以500mg/2mL的剂型存在。在一些方面,所述剂型包含在一次性小瓶中。

[0023] 在一些方面,卡西莫森或其药学上可接受的盐被配制成包含卡西莫森或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体的药物组合物。在一些方面,所述药学上可接受的载体是磷酸盐缓冲液。

[0024] 在一些方面,本公开提供了一种根据前述或相关方面中任一项的方法,其中外显子跳跃通过逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)测量。

[0025] 在一些方面,本公开提供了一种根据前述或相关方面中任一项的方法,其中所述方法增加所述患者的肌营养不良蛋白产生。在一些方面,肌营养不良蛋白产生通过蛋白质印迹分析测量。在一些方面,肌营养不良蛋白产生通过免疫组织化学法(IHC)测量。

[0026] 在一些方面,本公开提供了一种根据前述或相关方面中任一项的方法,所述方法还包括在施用卡西莫森之前确认患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变。

[0027] 在一些方面,本公开提供卡西莫森或其药学上可接受的盐,其用于治疗有需要的患者的杜氏肌营养不良(DMD),所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,其中所述治疗包括每周一次向所述患者施用约30mg/kg的单次静脉内剂量的卡西莫森。

[0028] 在一些方面,本公开提供卡西莫森或其药学上可接受的盐,其用于恢复有需要的患有杜氏肌营养不良(DMD)的患者的mRNA阅读框以诱导外显子跳跃,所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,其中所述治疗包括每周一次向所述患者施用约30mg/kg的单次静脉内剂量的卡西莫森。

[0029] 在一些方面,本公开提供卡西莫森或其药学上可接受的盐,其用于增加有需要的患有杜氏肌营养不良(DMD)的患者的肌营养不良蛋白产生,所述患者具有适合于外显子45跳跃的DMD基因突变,其中所述治疗包括每周一次向所述患者施用约30mg/kg的单次静脉内剂量的卡西莫森。

具体实施方式

[0030] 本公开的实施方案涉及通过施用被专门设计成诱导人肌营养不良蛋白基因中的外显子45跳跃的反义寡核苷酸(卡西莫森)来治疗肌营养不良(例如DMD)的方法。肌营养不

良蛋白在肌肉功能中起着至关重要的作用,并且各种与肌肉相关的疾病以这种基因的突变形式为特征。因此,在某些实施方案中,本文所述的方法可用于诱导人肌营养不良蛋白基因的突变形式(例如在DMD中发现的突变的肌营养不良蛋白基因)的外显子45跳跃。

[0031] 因此,本公开涉及用于通过诱导患者的外显子45跳跃来治疗肌营养不良(例如DMD)的方法。此外,本公开涉及用于恢复患有DMD的患者的mRNA阅读框以诱导外显子跳跃的方法。本公开还涉及用于增加患有DMD的患者的肌营养不良蛋白产生的方法。

[0032] 除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解相同的含义。尽管在本发明的实践或测试中可以使用与本文描述的方法和材料相似或等同的任何方法和材料,但描述了优选的方法和材料。为了本发明的目的,以下术语定义如下。

[0033] I. 定义

[0034] “约”是指与参考数量、水平、值、数目、频率、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度相差多达30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1%的数量、水平、值、数目、频率、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度。

[0035] 如本文关于受试者或患者所用的“适合于外显子45跳跃”旨在包括在肌营养不良蛋白基因中具有一个或多个突变的受试者和患者,所述突变不存在肌营养不良蛋白基因的外显子45的跳跃,引起阅读框移码,从而破坏了前体mRNA的翻译,导致受试者或患者无法产生肌营养不良蛋白。肌营养不良蛋白基因中适合于外显子45跳跃的以下外显子突变的非限制性实例包括例如缺失:外显子7至42、12至42、18至42、44至46、44至47、44至48、44至49、44至51、44至53、44至55、44至57或44至59或外显子44。确定患者是否在肌营养不良蛋白基因中具有适合于外显子跳跃的突变完全在本领域技术人员的能力范围内(参见,例如Aartsma-Rus等人(2009) Hum Mutat. 30:293-299, Gurvich等人, Hum Mutat. 2009; 30 (4) 633-640和Fletcher等人(2010) Molecular Therapy 18 (6) 1218-1223)。

[0036] 术语“反义寡聚物”和“反义化合物”和“反义寡核苷酸”以及“寡聚物”和“寡核苷酸”在本公开中可互换使用,并且是指通过亚基间键连接的环状亚基序列,其中每个环状亚基由以下组成:(i)核糖或其衍生物;和(ii)与其结合的碱基配对部分,使得碱基配对部分的序列通过Watson-Crick碱基配对形成与核酸(通常为RNA)中的靶序列互补的碱基序列,以形成核酸:靶序列内的寡聚物异源双链体。在某些实施方案中,寡聚物是磷酸二胺吗啉代寡聚物(PMO)。在其他实施方案中,反义寡核苷酸是2'-O-甲基硫代磷酸酯。在其他实施方案中,本公开的反义寡核苷酸是肽核酸(PNA)、锁核酸(LNA)或桥接核酸(BNA),例如2'-O,4'-C-乙烯桥接核酸(ENA)。

[0037] 术语“互补”和“互补性”是指通过Watson-Crick碱基配对规则彼此相关的两个或更多个寡聚物(即,每个包含核碱基序列)。例如,核碱基序列“T-G-A(5' 3')”与核碱基序列“A-C-T(3' 5')”互补。互补性可以是“部分的”,其中根据碱基配对规则,给定核碱基序列的不到全部核碱基与另一核碱基序列匹配。举例来说,在一些实施方案中,给定核碱基序列与其他核碱基序列之间的互补性可以是约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%。或者,给定核碱基序列和其他核碱基序列之间可能存在“完全”或“完美”(100%)互补性,以继续实例。核碱基序列之间的互补程度对序列之间杂交的效率和强度有显著影响。

[0038] “肌营养不良蛋白”是杆状细胞质蛋白,并且是通过细胞膜将肌肉纤维的细胞骨架

连接到周围的细胞外基质的蛋白质复合物的部分。肌营养不良蛋白含有多个功能结构域。例如,肌营养不良蛋白含有约氨基酸14-240处的肌动蛋白结合结构域和约氨基酸253-3040处的中心杆结构域。该大中心结构域由约109个氨基酸的24个血影蛋白样三螺旋元件形成,所述三螺旋元件与 α -肌动蛋白和血影蛋白具有同源性。重复序列通常由四个富含脯氨酸的非重复区段中断,也称为铰链区。重复序列15和16由18个氨基酸段分离,所述氨基酸段似乎提供了肌营养不良蛋白的蛋白水解裂解的主要位点。大多数重复序列之间的序列同一性在10%-25%的范围内。一个重复序列含有三股 α -螺旋:1、2和3。 α -螺旋1和3各自由7个螺旋转角形成,很可能通过疏水性界面作为卷曲螺旋相互作用。 α -螺旋2具有更复杂的结构,并且由四个和三个螺旋转角的区段形成,由甘氨酸或脯氨酸残基分开。每个重复序列由两个外显子编码,所述外显子通常由 α -螺旋2的第一部分中的氨基酸47和48之间的内含子中断。另一个内含子位于重复序列的不同位置,通常分散在螺旋-3上。肌营养不良蛋白还含有约氨基酸3080-3360处的富含半胱氨酸的结构域,包括富含半胱氨酸的区段(即,280个氨基酸中的15个半胱氨酸),显示出与粘菌(盘基网柄菌) α -肌动蛋白的C端结构域的同源性。羧基端结构域在约氨基酸3361-3685处。

[0039] 肌营养不良蛋白的氨基末端与F-肌动蛋白结合,并且羧基末端与肌膜处的肌营养不良蛋白相关蛋白复合物(DAPC)结合。DAPC包括肌营养不良聚糖、肌聚糖、整合素和小窝蛋白,并且这些组分中的任一个中的突变引起常染色体遗传性肌营养不良。当不存在肌营养不良蛋白时,DAPC不稳定,这导致成员蛋白的水平降低,并且继而导致进行性纤维损伤和膜泄漏。在各种形式的肌营养不良中,例如杜氏肌营养不良(DMD)和贝克氏肌营养不良(BMD),肌肉细胞产生肌营养不良蛋白的改变和功能缺陷形式,或完全没有肌营养不良蛋白,主要是由于基因序列中的突变导致错误的剪接。如上所述,缺陷肌营养不良蛋白的主要表达,或完全缺乏肌营养不良蛋白或肌营养不良蛋白样蛋白,导致肌肉降解的快速进展。在这方面,“缺陷”肌营养不良蛋白的特征可以是在某些患有DMD或BMD的受试者中产生的肌营养不良蛋白的形式,如本领域已知,或缺乏可检测的肌营养不良蛋白。

[0040] “外显子”是指编码蛋白质的核酸的限定区段,或在通过剪接去除了预处理(或前体)RNA的任何部分之后以RNA分子的成熟形式表示的核酸序列。成熟RNA分子可以是信使RNA(mRNA)或非编码RNA的功能形式,例如rRNA或tRNA。人肌营养不良蛋白基因具有约79个外显子。

[0041] “内含子”是指(基因内的)未被翻译成蛋白质的核酸区。内含子是非编码区段,其转录到前体mRNA(precursor mRNA/pre-mRNA)中,并且随后在成熟RNA形成期间通过剪接去除。

[0042] “有效量”或“治疗有效量”是指作为单剂量或作为一系列剂量的一部分向哺乳动物受试者施用的治疗化合物(例如反义寡聚物,包括例如卡西莫森)的量,这可有效地产生所需治疗效果。对于反义寡聚物,这种效果可通过抑制所选靶序列的翻译或天然剪接加工,或抑制外显子跳跃以增加肌营养不良蛋白的产生而带来。

[0043] 在一些实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg或至少20mg/kg的反义寡聚物,或包括反义寡聚物的组合物,持续一段时间以治疗受试者。在一些实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg或至少20mg/kg的反义寡聚物,或包括反义寡聚物的组合物,以增加受试者的肌营养不良蛋白阳性纤维的数量。在各种实施方案中,有效量是至少4mg/

kg、至少10mg/kg、约10mg/kg至约20mg/kg、约20mg/kg至约30mg/kg、约25mg/kg至约30mg/kg或约30mg/kg至约50mg/kg。在一些实施方案中,有效量是约30mg/kg或约50mg/kg。

[0044] 在各种实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg或至少20mg/kg的反义寡聚物,或包括反义寡聚物的组合物,以增加受试者的肌营养不良蛋白的产生。在各种实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg、约10mg/kg至约20mg/kg、约20mg/kg至约30mg/kg、约25mg/kg至约30mg/kg或约30mg/kg至约50mg/kg。在一些实施方案中,有效量是约30mg/kg或约50mg/kg。

[0045] 在某些实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg或至少20mg/kg的反义寡聚物,包括反义寡聚物的组合物,以稳定、维持或改善患者相对于健康同伴例如在6MWT中的20%缺陷的步行距离。在各种实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg、约10mg/kg至约20mg/kg、约20mg/kg至约30mg/kg、约25mg/kg至约30mg/kg或约30mg/kg至约50mg/kg。在一些实施方案中,有效量是约30mg/kg或约50mg/kg。

[0046] 在某些实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg、约10mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg或约30mg/kg至约50mg/kg,持续至少24周、至少36周或至少48周,从而增加受试者的肌营养不良蛋白阳性纤维的数量。在一些实施方案中,受试者的肌营养不良蛋白阳性纤维的数量增加到正常的至少约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%。在一些实施方案中,治疗将患者中的肌营养不良蛋白阳性纤维的数量增加到正常的20-60%或30-50%。

[0047] 在某些实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg、约10mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg或约30mg/kg至约50mg/kg,持续至少24周、至少36周或至少48周,从而稳定或改善患者相对于健康同伴例如在6MWT中的20%缺陷的步行距离。

[0048] 在各种实施方案中,有效量是至少4mg/kg、至少10mg/kg、约10mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg或约30mg/kg至约50mg/kg,持续至少24周、至少36周或至少48周,从而增加患者的肌营养不良蛋白产生。在一些实施方案中,肌营养不良蛋白产生相对于健康同伴的增加为约0.1%、0.2%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1%、1.01%、1.5%、2%、2.01%、2.5%、3%、3.01%、3.5%、4%、4.01%、4.5%、5%、5.01%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、10%、10.5%、11%、11.5%、12%、12.5%、13%、13.5%、14%、14.5%、15%、15.5%、16%、16.5%、17%、17.5%、18%、18.5%、19%、19.5%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、40%、45%、50%、55%或60%。在某些实施方案中,肌营养不良蛋白产生相对于健康同伴可增加了约0.1%至0.5%、0.5%至0.9%、0.8%至1%、0.9%至1.2%、0.9%至1.0%、0.9%至1.01%、1%至1.01%、1%至1.5%、1.5%至2%、1.9%至2.0%、1.9%至2.01%、2%至2.01%、2%至2.5%、2.5%至3%、2.9%至3.0%、2.9%至3.01%、2%至3.01%、3%至3.5%、3.5%至4%、4%至4.5%、4.5%至5%、5%至6%、6%至7%、7%至8%、8%至9%、9%至10%、1%至2%、1%至3%、1%至5%、2%至4%、2%至5%、4%至6%、5%至8%、8%至10%、1%至5%、2%至6%、3%至7%、4%至8%、5%至10%、10%至12%、12%至15%、15%至20%、17%至20%、20%至22%、20%至25%、25%至30%或30%至35%。

[0049] “增强(enhance/enhancing)”或“增加(increase/increasing)”或“刺激

(stimulate/stimulating)”一般是指与由没有反义寡核苷酸或对照化合物引起的反应相比,一种或多种反义寡核苷酸(包括例如卡西莫森)或其医药组合物在细胞或受试者中产生或引起更大的生理反应(即下游效应)的能力。可测量的生理反应可包括增加肌营养不良蛋白的功能形式的表达(或产生),或增加肌肉组织中肌营养不良蛋白相关的生物活性,以及根据本领域的理解和本文的描述显而易见的其他反应。还可以测量肌肉功能的增加,包括肌肉功能增加或改善约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。还可以测量表达功能性肌营养不良蛋白的肌肉纤维的百分比,包括在约1%、2%、5%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的肌肉纤维中肌营养不良蛋白的表达增加。例如,已经表明,如果25-30%的纤维表达肌营养不良蛋白,则大约40%的肌肉功能改善可以发生(参见例如DelloRusso等人,ProcNatlAcadSciUSA99:12979-12984,2002)。在一些实施方案中,肌营养不良蛋白产生相对于健康同伴的增加为约0.1%、0.2%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1%、1.01%、1.5%、2%、2.01%、2.5%、3%、3.01%、3.5%、4%、4.01%、4.5%、5%、5.01%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、10%、10.5%、11%、11.5%、12%、12.5%、13%、13.5%、14%、14.5%、15%、15.5%、16%、16.5%、17%、17.5%、18%、18.5%、19%、19.5%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、40%、45%、50%、55%或60%。在某些实施方案中,肌营养不良蛋白产生相对于健康同伴可增加了约0.1%至0.5%、0.5%至0.9%、0.8%至1%、0.9%至1.2%、0.9%至1.0%、0.9%至1.01%、1%至1.01%、1%至1.5%、1.5%至2%、1.9%至2.0%、1.9%至2.01%、2%至2.01%、2%至2.5%、2.5%至3%、2.9%至3.0%、2.9%至3.01%、2%至3.01%、3%至3.5%、3.5%至4%、4%至4.5%、4.5%至5%、5%至6%、6%至7%、7%至8%、8%至9%、9%至10%、1%至2%、1%至3%、1%至5%、2%至4%、2%至5%、4%至6%、5%至8%、8%至10%、1%至5%、2%至6%、3%至7%、4%至8%、5%至10%、10%至12%、12%至15%、15%至20%、17%至20%、20%至22%、20%至25%、25%至30%或30%至35%。如本文所用,“增加的肌营养不良蛋白产生”、“肌营养不良蛋白产生的增加”等是指受试者中的肌营养不良蛋白、肌营养不良蛋白样蛋白或功能性肌营养不良蛋白中的至少一种的产生增加。

[0050] “增加”或“增强”的量通常是“统计学上显著”的量,并且可以包括增加1.1、1.2、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50或更多倍(例如,500、1000倍)(包括介于1和大于1的所有整数和小数点,例如,1.5、1.6、1.7、1.8等),由没有无反义寡核苷酸(不存在药剂)或对照化合物产生的量。

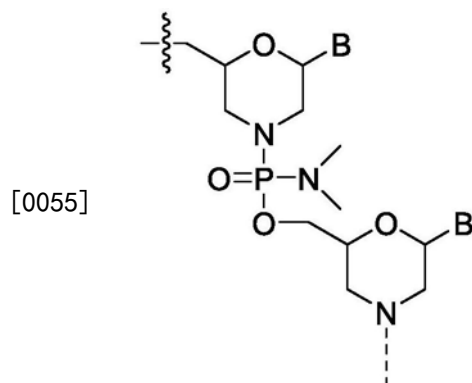
[0051] 术语“减少”或“抑制”可大体上涉及本发明的一种或多种反义化合物“减少”相关的生理或细胞反应,例如本文所述的疾病或病症的症状的能力,如根据诊断领域的常规技术所测量。相关生理或细胞应答(体内或体外)对于本领域技术人员将是显而易见的,并且可以包括肌营养不良的症状或病理学的降低,或肌营养不良蛋白的缺陷形式的表达的降低,例如在患有DMD或BMD的个体中表达的肌营养不良蛋白的改变的形式。与没有反义化合物或对照组合合物产生的应答相比,应答“减少”可为统计学上显著的,并且可以包括1%、

2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%减少,包括介于两者之间的所有整数。

[0052] 如本文所用,术语“功能”和“功能性”等是指生物、酶或治疗功能。

[0053] “功能性”肌营养不良蛋白一般是指具有足够生物活性的肌营养不良蛋白,以减少肌肉组织的进行性降解,这原本是肌营养不良的特征,通常与存在于某些患有DMD或BMD的受试者中的改变的或“缺陷”形式的肌营养不良蛋白相比。在某些实施方案中,功能性肌营养不良蛋白可以具有野生型肌营养不良蛋白的体外或体内生物活性的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%(包括介于两者之间的所有整数),根据本领域中的常规技术测量。作为一个实例,体外肌肉培养物中的肌营养不良蛋白相关活性可以根据肌管大小、肌原纤维组织(或无组织)、收缩活性和乙酰胆碱受体的自发聚集来测量(参见例如Brown等人,Journal of Cell Science.112:209-216,1999)。动物模型也是研究疾病发病机理的宝贵资源,并提供了测试肌营养不良蛋白相关活性的手段。两个最广泛使用的DMD研究动物模型是mdx小鼠和金毛猎犬肌营养不良(GRMD)狗,其都是肌营养不良蛋白阴性的(参见例如Collins&Morgan,Int J Exp Pathol 84:165-172,2003)。这些和其他动物模型可用于测量各种肌营养不良蛋白的功能活性。包括肌营养不良蛋白的截短形式,例如由本公开的某些外显子跳跃反义寡聚核苷酸产生的那些形式。

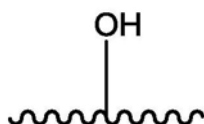
[0054] 术语“吗啉代”、“吗啉代寡聚物”或“PMO”是指具有以下通用结构的磷酰二胺吗啉代寡聚物:



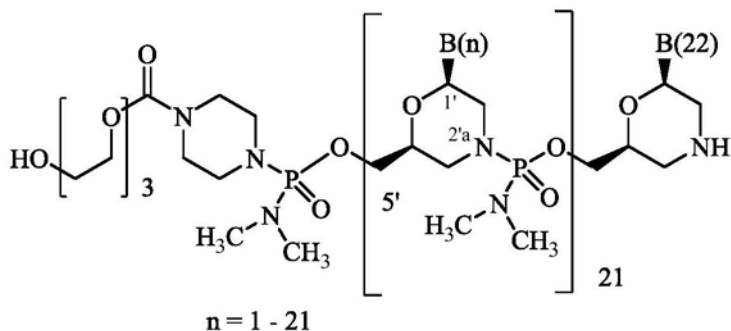
[0056] B=核碱基

[0057] 并且如Summerton,J.等人,Antisense&Nucleic Acid Drug Development,7:187-195(1997)的图2中所描述。本文所描述的吗啉代旨在涵盖前述通用结构的所有立体异构体(和其混合物)和构型。吗啉代寡聚物的合成、结构和结合特征详述于美国专利号:5,698,685、5,217,866、5,142,047、5,034,506、5,166,315、5,521,063、5,506,337、8,076,476和8,299,206,所有这些专利都以引用的方式并入本文中。在某些实施方案中,吗啉代在寡聚物的5'或3'端与“尾部”部分缀合以增加其稳定性和/或溶解性。示例性尾部包括:

[0058] (1)



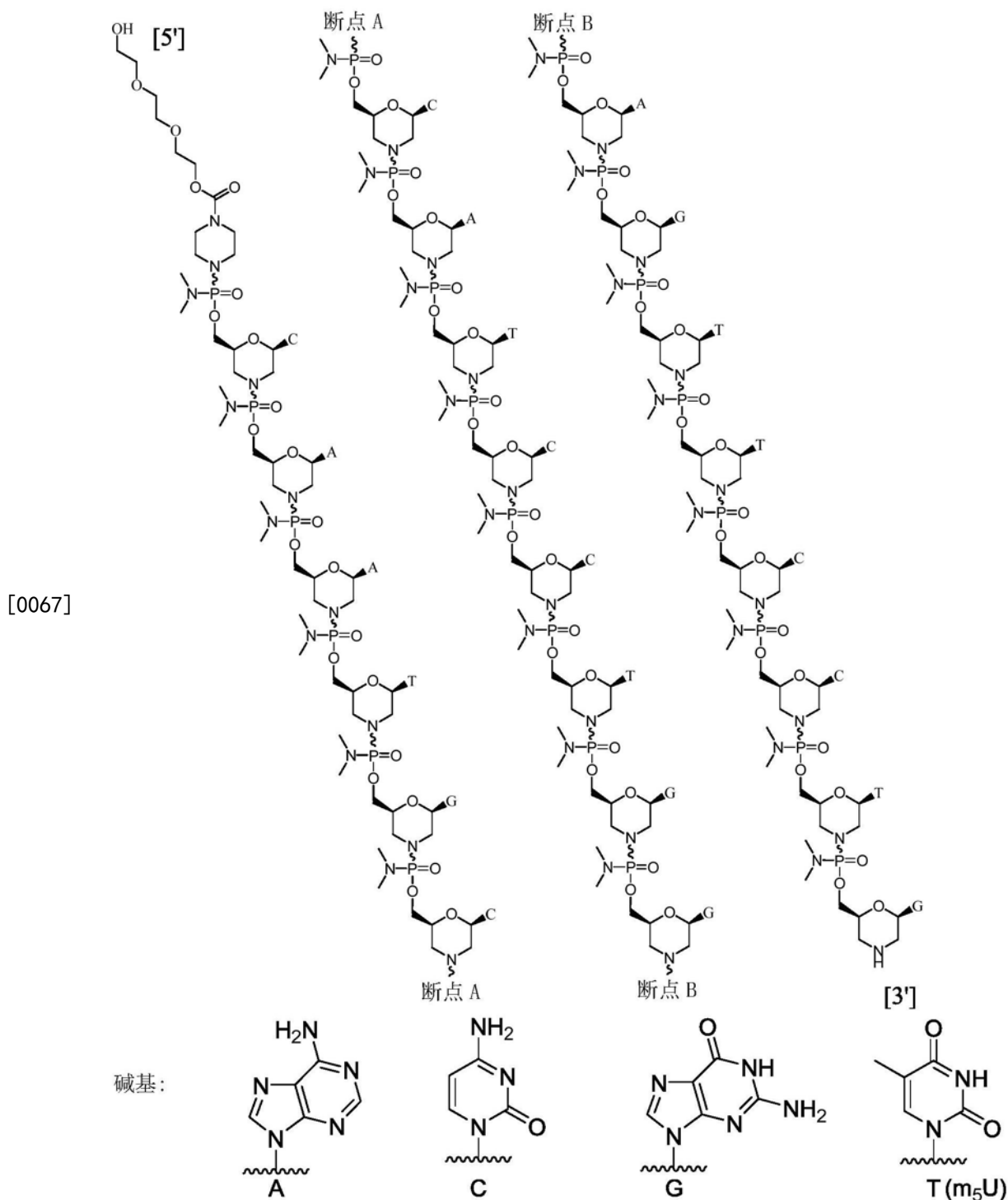
[0065] 卡西莫森具有以下结构:



C-A-A-T-G-C-C-A-T-C-C-T-G-G-A-G-T-T-C-C-T-G

(SEQ ID NO:1)

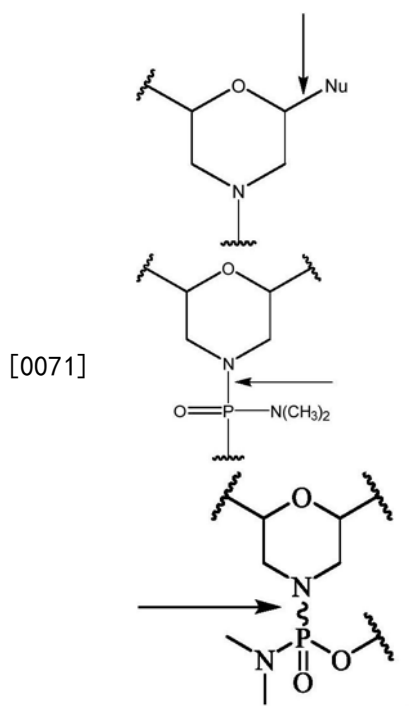
[0066] 并且还由以下化学结构表示:



[0068] 为了清楚起见,包括例如卡西莫森在上述结构的本公开的结构从5'至3'是连续的,并且为了方便以紧凑的形式描绘整个结构,已经包括标有“断点A”和“断点B”的各种说明断点。如熟练的技术人员所理解的那样,例如,“断点A”的每个指示显示了在这些点处的结构的图示的接续。熟练的技术人员理解,对于上述结构中的“断点B”的每个实例也是如此。然而,这些图示断点均无意于表明,熟练的技术人员也不会将其理解为意味着上述结构的实际中断。

[0069] 如本文所用,在结构式中使用的一组括号表示括号之间的结构特征是重复的。在一些实施例中,使用的括号可以是“[”和“]”,并且在某些实施例中,用于表示重复的结构特征的括号可以是“(”和“)”。在一些实施例中,括号之间的结构特征的重复迭代次数为括号外指示的次数,如2、3、4、5、6、7等。在各种实施例中,括号之间的结构特征的重复迭代次数由括号外指示的变量如“Z”指示。

[0070] 如本文所用,在直键或波状键结构式内绘制到手性碳或磷原子的键表示手性碳或磷的立体化学是未定义的,并且旨在包括手性中心的所有形式。下面描绘了这类图示的实例。



[0072] 本文所用的短语“肠胃外施用 (parenteral administration/administered parenterally)”是指除肠内和局部施用以外的施用方式,通常通过注射,并且包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内和胸骨内注射和输注。

[0073] 短语“药学上可接受的”是指物质或组合物必须在化学和/或毒理学上与包含配制品的其他成分和/或用其治疗的受试者兼容。

[0074] 本文所用的短语“药学上可接受的载剂”是指无毒的、惰性的固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、囊封材料或任何类型的配制助剂。可以充当药学上可接受的载剂的材料的一些实例是:糖类,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素和其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;粉末状黄蓍;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,例如可可脂和栓剂蜡;油,例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;二醇,例如丙二醇;酯,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,例如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原质水;等渗盐水;林格氏溶液 (Ringer's solution);乙醇;和磷酸盐缓冲溶液;以及其他无毒兼容润滑剂,例如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁;以及着色剂;脱模剂;涂布剂;甜味剂;调味剂和芳香剂;防腐剂和抗氧化剂,这些可存在于组合物中;根据配方师的判断。

[0075] 肌营养不良蛋白合成或生产的术语“恢复”一般是指在用本文所描述的反义寡聚物治疗后,患有肌营养不良的患者产生肌营养不良蛋白,包括截短形式的肌营养不良蛋白。在一些实施方案中,治疗导致患者的肌营养不良蛋白的产生增加了1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100% (包括两者之间的所有整数)。在一些实施方案中,治疗将受试者的肌营养不良蛋白阳性纤维的数量增加到正常的至少20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%或约95%至100%。在其他实施方案中,治疗将受试者的肌营养不良蛋白阳性纤维的数量增加到正常的约20%至约60%或约30%至约50%。治疗后患者中肌营养不良蛋白阳性纤维的百分比可通过肌肉活检使用已知技术确定。举例来说,可从合适的肌肉,例如患者的肱二头肌中取肌肉活检。

[0076] 阳性肌营养不良蛋白纤维的百分比分析可在治疗前和/或治疗后或在整个治疗过程中的时间点进行。在一些实施方案中,治疗后活检取自治疗前活检的对侧肌肉。治疗前和治疗后的肌营养不良蛋白表达研究可以使用任何合适的肌营养不良蛋白分析进行。在一些实施方案中,使用作为肌营养不良蛋白的标志物的抗体,例如单克隆或多克隆抗体,对来自肌肉活检的组织切片进行免疫组织化学检测。举例来说,可以使用MANDYS106抗体,其是肌营养不良蛋白的高度敏感标志物。可以使用任何合适的二级抗体。

[0077] 在一些实施方案中,肌营养不良蛋白阳性纤维的百分比通过将阳性纤维的数量除以计数的总纤维来计算。正常的肌肉样品具有100%的肌营养不良蛋白阳性纤维。因此,肌营养不良蛋白阳性纤维的百分比可以表示为正常的百分比。为了控制治疗前肌肉以及回复性纤维中痕量肌营养不良蛋白的存在,在计数治疗后肌肉中的肌营养不良蛋白阳性纤维时,可以使用每位患者治疗前肌肉的切片设置基线。这可以用作计数所述患者治疗后肌肉的切片中的肌营养不良蛋白阳性纤维的阈值。在其他实施方案中,抗体染色的组织切片也可以用于使用Bioquant图像分析软件(Bioquant Image Analysis Corporation, Nashville, TN)进行肌营养不良蛋白定量。总肌营养不良蛋白荧光信号强度可报告为正常的百分比。此外,使用单克隆或多克隆抗肌营养不良蛋白抗体的蛋白质印迹分析可用于确定肌营养不良蛋白阳性纤维的百分比。例如,可以使用来自Novacastra的抗肌营养不良蛋白抗体NCL-Dys1。还可以通过确定肌聚糖复合物(β , γ)和/或神经元NOS的组分的表达来分析肌营养不良蛋白阳性纤维的百分比。

[0078] 在一些实施方案中,用本公开的反义寡聚物(例如卡西莫森)进行的治疗减缓或减少了DMD患者的进行性呼吸肌功能障碍和/或衰竭,这在没有治疗的情况下是可以预期的。在一些实施方案中,用本公开的反义寡聚物进行的治疗可以减少或消除对通气辅助的需要,而这种需要在没有治疗的情况下是可以预期的。在一些实施方案中,用于跟踪疾病过程的呼吸功能测量以及潜在治疗干预的评估包括最大吸气压力(MIP)、最大呼气压力(MEP)和用力肺活量(FVC)。MIP和MEP分别测量一个人在吸气和呼气期间可能产生的压力水平,并且是呼吸肌力量的敏感测量。MIP是对膈膜肌无力的量度。

[0079] 在一些实施方案中,MEP可能其他肺功能测试(包括MIP和FVC)变化之前下降。在某些实施方案中,MEP可以是呼吸功能障碍的早期指标。在某些实施方案中,FVC可用于测量最大吸气后强制呼气期间排出的空气总量。在患有DMD的患者中,FVC与身体生长同时增加,直到十几岁初期。然而,随着生长减缓或因疾病进展而受阻,以及肌肉无力的进展,肺活量进入下降阶段,并在10至12岁后以平均每年约8至8.5%的速度下降。在某些实施方案中,

MIP百分比预测 (MIP根据体重调整)、MEP百分比预测 (MEP根据年龄调整) 和FVC百分比预测 (FVC根据年龄和身高调整) 是支持性分析。

[0080] 如本文所用,“受试者”或“患者”包括表现出症状或有表现出症状风险的任何动物,所述症状可以用本公开的反义寡核苷酸进行治疗,例如患有或有风险患有DMD或BMD或与这些病况相关的任何症状(例如,肌纤维丧失)的受试者。合适的受试者(患者)包括实验室动物(例如小鼠、大鼠、兔子或豚鼠)、农场动物和家畜或宠物(例如猫或狗)。包括非人类的灵长类动物和优选人类患者。还包括在具有适合于外显子45跳跃的肌营养不良蛋白基因的突变的受试者中产生肌营养不良蛋白的方法。

[0081] 如本文所用,“儿科患者”是1至21岁(包括端值)的患者。

[0082] 本文所用的短语“全身施用(systemic administration/administered systemically)”和“外周施用(peripheral administration/administered peripherally)”是指除直接进入中枢神经系统以外的化合物、药物或其他材料的施用,使得其进入患者的系统,从而经历代谢和其他类似过程,例如皮下施用。

[0083] 如本文所用,“长期施用”是指连续、常规、长期的治疗性施用,即,无实质中断的定期施用。例如,为了治疗患者的肌营养不良的目的,每天施用持续至少数周或数月或数年的时间。例如,为了治疗患者的肌营养不良的目的,每周施用持续至少数月或数年(例如,每周持续至少六周、每周持续至少12周、每周持续至少24周、每周持续至少48周、每周持续至少72周、每周持续至少96周、每周持续至少120周、每周持续至少144周、每周持续至少168周、每周持续至少180周、每周持续至少192周、每周持续至少216周或每周持续至少240周)。

[0084] 如本文所用,“定期施用”是指在剂量之间具有间隔的施用。例如,定期施用包括以固定间隔(例如,每周、每月)施用,所述固定间隔可以是重复的。

[0085] 如本文所用,“安慰剂”是指不具有治疗效果并且可以用作对照的物质。

[0086] 如本文所用,“安慰剂对照”是指接受安慰剂而不是联合疗法、反义寡核苷酸、非类固醇抗炎化合物和/或另一种药物组合物的受试者或患者。安慰剂对照可以具有与受试者或患者相同的突变状态、年龄相似、步行能力相似,并且/或接受相同的伴随药物(包括类固醇等)。

[0087] 短语“靶向序列”、“碱基序列”或“核碱基序列”是指与靶前体mRNA中的核苷酸序列互补的寡聚物的核碱基序列。在本公开的一些实施方案中,靶前体mRNA中的核苷酸序列是指定为H45A(-03+19)的肌营养不良蛋白前体mRNA中的外显子45退火位点。

[0088] 对受试者(例如哺乳动物,如人类)或细胞的“治疗”是试图改变受试者或细胞的自然进程而使用的任何类型的干预。治疗包括但不限于施用寡聚物或其药物组合物,并且可以预防性地或在病理事件开始后或与病原体接触后进行。治疗包括对与肌营养不良蛋白相关的疾病或病况的症状或病理的任何理想效果,如在某些形式的肌营养不良中,并且可以包括例如在所治疗的疾病或病况的一个或多个可测量的标志物中的最小变化或改善。还包括“预防性”治疗,其可以针对降低正在治疗的疾病或病况的进展速率,延迟所述疾病或病况的发作,或降低其发作的严重程度。“治疗”或“预防”不一定表示完全根除、治愈或预防疾病或病况或其相关症状。

[0089] 在一些实施方案中,用本公开的反义寡聚物进行治疗增加肌营养不良蛋白产生,延缓疾病进展,减缓或减少行走能力的丧失,减少肌肉炎症,减少肌肉损伤,改善肌肉功

能,减少肺功能的丧失,和/或增强肌肉再生,这在没有治疗的情况下是可以预期的。在一些实施方案中,治疗维持、延缓或减缓疾病进展。在一些实施方案中,治疗维持行走能力或减少行走能力的丧失。在一些实施方案中,治疗维持肺功能或减少肺功能的丧失。在一些实施方案中,治疗维持或增加患者的稳定步行距离,如通过例如6分钟步行测试(6MWT)所测量。在一些实施方案中,治疗维持或减少步行/跑步10米的时间(即,10米步行/跑步测试)。在一些实施方案中,治疗维持或减少从仰卧位站立的时间(即,站立时间测试)。在一些实施方案中,治疗维持或减少爬四层标准楼梯的时间(即,四层楼梯爬升测试)。在一些实施方案中,治疗维持或减少患者的肌肉炎症,如通过例如MRI(例如,腿部肌肉的MRI)所测量。在一些实施方案中,MRI测量T2和/或脂肪分数以识别肌肉退化。MRI可以识别由炎症、水肿、肌肉损伤和脂肪浸润引起的肌肉结构和组成的变化。

[0090] 在一些实施方案中,用本公开的反义寡聚物进行的治疗增加了肌营养不良蛋白产生。在一些实施方案中,肌营养不良蛋白产生相对于健康同伴的增加为约0.1%、0.2%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1%、1.01%、1.5%、2%、2.01%、2.5%、3%、3.01%、3.5%、4%、4.01%、4.5%、5%、5.01%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、10%、10.5%、11%、11.5%、12%、12.5%、13%、13.5%、14%、14.5%、15%、15.5%、16%、16.5%、17%、17.5%、18%、18.5%、19%、19.5%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、40%、45%、50%、55%或60%。在某些实施方案中,肌营养不良蛋白产生相对于健康同伴可增加了约0.1%至0.5%、0.5%至0.9%、0.8%至1%、0.9%至1.2%、0.9%至1.0%、0.9%至1.01%、1%至1.01%、1%至1.5%、1.5%至2%、1.9%至2.0%、1.9%至2.01%、2%至2.01%、2%至2.5%、2.5%至3%、2.9%至3.0%、2.9%至3.01%、2%至3.01%、3%至3.5%、3.5%至4%、4%至4.5%、4.5%至5%、5%至6%、6%至7%、7%至8%、8%至9%、9%至10%、1%至2%、1%至3%、1%至5%、2%至4%、2%至5%、4%至6%、5%至8%、8%至10%、1%至5%、2%至6%、3%至7%、4%至8%、5%至10%、10%至12%、12%至15%、15%至20%、17%至20%、20%至22%、20%至25%、25%至30%或30%至35%。

[0091] 在某些实施方案中,用本公开的反义寡聚物进行的治疗增加肌营养不良蛋白产生并且减缓或减少行走能力的丧失,这在没有治疗的情况下是可以预期的。举例来说,治疗可以稳定、维持、改善或增加受试者的行走能力(例如,步行的稳定)。在一些实施方案中,治疗维持或增加患者的稳定步行距离,如通过例如McDonald等人描述的6分钟步行测试(6MWT)所测量(Muscle Nerve, 2010; 42: 966-74, 以引用的方式并入本文中)。6分钟步行距离(6MWD)的变化可以表示为绝对值、百分比变化或%预测值的变化。在一些实施方案中,治疗维持或改善受试者相对于健康同伴的20%缺陷的6MWT中的稳定步行距离。可以通过计算%预测值来确定6MWT中相对于健康同伴的典型表现的DMD患者的表现。举例来说,对于男性,预测的6MWD%可以使用以下公式计算: $196.72 + (39.81 \times \text{年龄}) - (1.36 \times \text{年龄}^2) + (132.28 \times \text{身高(米)})$ 。对于女性,预测的6MWD%可以使用以下公式计算: $188.61 + (51.50 \times \text{年龄}) - (1.86 \times \text{年龄}^2) + (86.10 \times \text{身高(米)})$ (Henricson等人PLoS Curr., 2012, 第2版, 以引用的方式并入本文中)。

[0092] 在一些实施方案中,用反义寡聚物进行的治疗使患者的稳定步行距离从基线增加到大于3、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30或50米(包括两者之间的所有整数)。在一些实施方案

中,肌营养不良蛋白产生相对于健康同伴的增加为约0.1%、0.2%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1%、1.01%、1.5%、2%、2.01%、2.5%、3%、3.01%、3.5%、4%、4.01%、4.5%、5%、5.01%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、10%、10.5%、11%、11.5%、12%、12.5%、13%、13.5%、14%、14.5%、15%、15.5%、16%、16.5%、17%、17.5%、18%、18.5%、19%、19.5%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、40%、45%、50%、55%或60%。在某些实施方案中,肌营养不良蛋白产生相对于健康同伴可增加了约0.1%至0.5%、0.5%至0.9%、0.8%至1%、0.9%至1.2%、0.9%至1.0%、0.9%至1.01%、1%至1.01%、1%至1.5%、1.5%至2%、1.9%至2.0%、1.9%至2.01%、2%至2.01%、2%至2.5%、2.5%至3%、2.9%至3.0%、2.9%至3.01%、2%至3.01%、3%至3.5%、3.5%至4%、4%至4.5%、4.5%至5%、5%至6%、6%至7%、7%至8%、8%至9%、9%至10%、1%至2%、1%至3%、1%至5%、2%至4%、2%至5%、4%至6%、5%至8%、8%至10%、1%至5%、2%至6%、3%至7%、4%至8%、5%至10%、10%至12%、12%至15%、15%至20%、17%至20%、20%至22%、20%至25%、25%至30%或30%至35%。

[0093] 患有DMD的患者的肌肉功能丧失可能发生在儿童期正常生长发育的背景下。事实上,尽管进行性肌肉损伤,但患有DMD的较年幼的儿童在大约1年的过程中可能会在6MWT期间显示出步行距离的增加。在一些实施方案中,将来自DMD患者的6MWD与典型发育的对照受试者和来自年龄和性别匹配的受试者的现有正常数据进行比较。在一些实施方案中,可以使用基于年龄和身高的方程拟合到正常数据中来说明正常的生长和发育。这样的方程可用于将6MWD转换为患有DMD的受试者的预测百分比(预测%)值。在某些实施方案中,对预测的6MWD%数据的分析代表了一种解释正常生长和发育的方法,并且可以显示在早期年龄(例如,小于或等于7岁)的功能获得代表DMD患者的稳定而不是改善能力(Henricson等人PLoS Curr., 2012, 第2版,以引用的方式并入本文中)。

[0094] 提出并公开了一种反义分子命名系统,以区分不同的反义分子(参见Mann等人,(2002) J Gen Med 4, 644-654)。当测试几种稍有不同的反义分子时,这种命名法变得特别贴切,这些反义分子都针对同一靶区,如下所示:

[0095] H#A/D(x:y)。

[0096] 第一个字母表示物种(例如,H:人类,M:鼠类,C:犬类)。“#”表示目标肌营养不良蛋白外显子编号。“A/D”分别表示外显子起始和末端的受体或供体剪接位点。(xy)表示退火坐标,其中“-”或“+”分别表示内含子或外显子的序列。举例来说,A(-6+18)将表示目标外显子之前的内含子的最后6个碱基和目标外显子的前18个碱基。最近的剪接位点将是受体,所以这些坐标将以“A”开头。描述供体剪接位点的退火坐标可以是D(+2-18),其中最后2个外显子碱基和前18个内显子碱基对应于反义分子的退火位点。完全外显子的退火坐标将用A(+65+85)表示,即从所述外显子开始的第65和85个核苷酸之间的位点。

[0097] II. 反义寡核苷酸

[0098] 根据本公开的方法使用靶向肌营养不良蛋白基因的前体mRNA以实现外显子45跳跃的反义寡核苷酸。

[0099] 这种反义寡聚物可以被设计成阻断或抑制mRNA的翻译或抑制天然前体mRNA剪接加工,并且可以被称为“指向”或“靶向”与其杂交的靶序列。靶序列通常是包括mRNA的AUG起

始密码子、翻译抑制寡聚物或预处理mRNA的剪接位点、剪接抑制寡聚物(SSO)的区域。剪接位点的靶序列可包括mRNA序列,所述mRNA序列在预处理mRNA中的正常剪接受体接头连接处下游具有其5'端1至约25个碱基对。在一些实施方案中,靶序列可以是包括剪接位点或完全包含在外显子编码序列内或跨越剪接受体或供体位点的预处理mRNA的任何区域。当寡聚物以上述方式靶向靶标的核酸时,更一般地说是“靶向”生物相关靶标,例如蛋白质、病毒或细菌。

[0100] 在某些实施方案中,反义寡核苷酸与肌营养不良蛋白前体mRNA的外显子45靶区特异性杂交并且诱导外显子45跳跃。在某些实施方案中,与肌营养不良蛋白前体mRNA的外显子45靶区杂交并且诱导外显子45跳跃的反义寡核苷酸是磷酸二胺吗啉代寡聚物(PMO)。

[0101] 在某些实施方案中,反义寡核苷酸是卡西莫森。

[0102] 卡西莫森属于一类不同的新型合成反义RNA治疗剂,称为磷酸二胺吗啉代寡聚物(PMO),其是天然核酸结构的重新设计。卡西莫森是与肌营养不良蛋白前体mRNA的外显子45靶区杂交并且诱导外显子45跳跃的PMO。卡西莫森可以通过逐步固相合成采用上文引用的参考文献中和另外在国际专利申请序列号PCT/US2017/040017中详述的方法来制备,所述专利的全部内容以引用的方式明确并入本文中。

[0103] 基于体内非临床观察,PMO提供了潜在的临床优点。PMO并入RNA的糖环的修饰,保护其免受核酸酶的酶降解,以确保体内稳定性。PMO部分地通过使用6元合成吗啉代环来区分天然核酸和其他反义寡核苷酸类别,所述吗啉代环替换RNA、DNA和许多其他合成反义RNA寡核苷酸中发现的5元呋喃核糖基环。

[0104] 对PMO具有特异性的不带电荷的磷二酰胺键被认为可能赋予与蛋白质的减少的脱靶结合。PMO具有不带电荷的磷二酰胺键,其连接每个吗啉代环而不是用于其他临床阶段合成反义RNA寡核苷酸的带负电荷的硫代磷酸酯键。

[0105] 治疗由DMD基因的框外突变引起的DMD的潜在治疗方法是由称为BMD的肌营养不良蛋白病的较轻形式提出的,这种较轻形式由框内突变引起。将框外突变转化为框内突变的能力将假设保留mRNA阅读框,并产生内部缩短但有功能的肌营养不良蛋白。卡西莫森旨在实现这一点。

[0106] 卡西莫森靶向肌营养不良蛋白前体mRNA并且诱导外显子45跳跃,因此其从成熟的剪接的mRNA转录物中被排除或跳过。通过跳跃外显子45,将被破坏的阅读框恢复为框内突变。虽然DMD由各种遗传亚型构成,但卡西莫森被特别设计为跳跃肌营养不良蛋白前体mRNA的外显子45。

[0107] 卡西莫森的22个核碱基的序列被设计成与肌营养不良蛋白前体mRNA的特定退火位点互补,并且在处理期间诱导外显子45跳跃。卡西莫森中的每个吗啉代环连接至DNA中发现的四个杂环核碱基(腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤和胸腺嘧啶)中的一个。

[0108] 卡西莫森与靶向的前体mRNA序列的杂交干扰前体mRNA剪接复合物的形成,并且从成熟mRNA中删除外显子45。卡西莫森的结构和构象允许与互补序列进行序列特异性碱基配对。例如,依特立生(etelplisen),它是一种被设计为跳跃肌营养不良蛋白前体mRNA的外显子51的PMO,允许与肌营养不良蛋白前体mRNA的外显子51中包含的互补序列进行序列特异性碱基配对。

[0109] 使用外显子跳跃来恢复肌营养不良蛋白阅读框

[0110] 含有全部79个外显子的正常肌营养不良蛋白mRNA将产生正常的肌营养不良蛋白。

[0111] 肌营养不良蛋白基因的整个外显子缺失的肌营养不良蛋白mRNA通常会导致DMD。

[0112] 另一个外显子跳跃的PMO(依特立生)跳跃外显子51来恢复mRNA阅读框。由于外显子49以完整的密码子结束并且外显子52以密码子的第一个核苷酸开始,因此通过外显子跳跃使外显子51缺失恢复阅读框,从而产生内部缩短的具有完整的肌营养不良蛋白聚糖结合位点的肌营养不良蛋白。

[0113] 非临床研究支持使用外显子跳跃恢复肌营养不良蛋白mRNA开放阅读框来改善DMD表型的可行性。在DMD的营养不良动物模型中进行的大量研究表明,通过外显子跳跃恢复肌营养不良蛋白会导致肌肉力量和功能的可靠改善(Sharp 2011;Yokota 2009;Wu 2008;Wu 2011;Barton-Davis 1999;Goyenvalle 2004;Gregorevic 2006;Yue 2006;Welch 2007;Kawano 2008;Reay 2008;van Putten 2012)。一个令人信服的实例来自一项研究,其中外显子跳跃(使用PMO)疗法后的肌营养不良蛋白水平与同一组织的肌肉功能进行了比较。在营养不良的mdx小鼠中,用小鼠特异性PMO处理的胫前肌(TA)肌肉在压力诱导收缩后维持约75%的最大力容量,而未处理的对侧TA肌肉仅维持约25%的最大力容量($p<0.05$) (Sharp 2011)。在另一项研究中,3只营养不良的CXMD犬(2-5个月大)接受了使用针对其基因突变具有特异性的PMO的外显子跳跃疗法,每周一次,持续5至7周或每隔一周一次,持续22周。在外显子跳跃疗法后,所有3只狗都表现出骨骼肌中广泛的、全身性的肌营养不良蛋白表达,以及相对于基线保持或改善了行走能力(15米跑步测试)。相比之下,未经治疗的年龄匹配的CXMD犬在研究过程中表现出行走能力明显下降(Yokota 2009)。

[0114] 在等摩尔浓度下,PMO在mdx小鼠和表达整个人类DMD转录物的人源化DMD(hDMD)小鼠模型中都显示出比硫代磷酸酯具有更多的外显子跳跃活性(Heemskirk 2009)。

[0115] 分析与肌营养不良蛋白前体mRNA的外显子45的靶区特异性杂交并且诱导外显子45跳跃的反义寡核苷酸的效果的临床结果包括肌营养不良蛋白阳性纤维百分比(PDPF)、六分钟步行测试(6MWT)、丧失行走能力(LOA)、北极星移动评价(NSAA)、肺功能测试(PFT)、无外力支持下(从仰卧位)起立的能力、新生肌营养不良蛋白的产生和其他功能测量相对于基线的增加。

[0116] III. 配制品和施用模式

[0117] 在某些实施方案中,本公开提供了适合于如本文所描述的反义寡核苷酸的治疗性递送的配制品或药物组合物。因此,在某些实施方案中,本公开提供了药学上可接受的组合物,所述组合物包含与一种或多种药学上可接受的载体(添加剂)和/或稀释剂一起配制的治疗有效量的一种或多种本文所描述的反义寡核苷酸。虽然本公开的反义寡核苷酸有可能单独施用,但优选以药物配制品(组合物)形式施用组合物。

[0118] 用于递送核酸分子的方法描述于例如Akhtar等人,1992,Trends Cell Bio.,2:139;和Delivery Strategies for Antisense Oligonucleotide Therapeutics,Akhtar编;Sullivan等人,PCT WO 94/02595中。这些和其他方案可用于几乎任何核酸分子的递送,包括本公开的反义寡核苷酸。

[0119] 如下所述,本公开的药物组合物可专门配制成以固体或液体形式施用,包括适应于下列情况的药物组合物:(1)口服施用,例如顿服药(水溶液或非水溶液或悬浮液)、片剂(例如针对颊内、舌下和全身吸收的片剂)、大丸剂、散剂、颗粒剂、糊剂,施加至舌头;(2)肠

胃外施用,例如,通过皮下、肌肉内、静脉内或硬膜外注射,例如,作为无菌溶液或悬浮液,或持续释放配制品;(3)局部施加,例如,作为乳膏、软膏或控释贴剂或喷雾剂施加至皮肤;(4)阴道内或直肠内,例如,作为子宫托、乳膏或泡沫;(5)舌下;(6)经眼;(7)透皮;或(8)经鼻。

[0120] 可以充当药学上可接受的载剂的材料的一些实例包括但不限于:(1)糖类,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素和其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;(4)粉状黄蓍;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂,例如可可脂和栓剂蜡;(9)油,例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10)二醇,例如丙二醇;(11)多元醇,例如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇;(12)酯,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,例如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原质水;(17)等渗盐水;(18)林格氏溶液;(19)乙醇;(20)pH缓冲溶液;(21)聚酯、聚碳酸酯和/或聚酸酐;以及(22)药物配制品中采用的其他无毒兼容物质。

[0121] 适合与本公开的反义寡核苷酸一起配制的药剂的其他非限制性实例包括:PEG缀合的核酸;磷脂缀合的核酸;含有亲脂性部分的核酸;硫代磷酸酯;P-糖蛋白抑制剂(例如Pluronic P85),其可增强药物进入各种组织;可生物降解的聚合物,例如聚(DL-丙交酯-共乙交酯)微球,用于植入后的持续释放递送(Emerich, D F等人,1999,Cell Transplant,8, 47-58)Alkermes, Inc. Cambridge, Mass.;以及负载的纳米颗粒,例如由聚氰基丙烯酸丁酯制成的纳米颗粒,其可通过血脑屏障递送药物,并且可以改变神经元的摄取机制(Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,23,941-949,1999)。

[0122] 本公开的特征还在于使用包括含聚(乙二醇)脂质的表面改性脂质体的组合物(PEG改性的、支链和非支链的或其组合,或长循环脂质体或隐形脂质体)。本公开的反义寡核苷酸也可以包含各种分子量的共价连接的PEG分子。这些配制品提供了一种增加药物在靶组织中的积累的方法。这类药物载体能抵抗单核吞噬系统(MPS或RES)的调理作用和消除作用,从而使囊封的药物有更长的血液循环时间和增强的组织暴露(Lasic等人Chem.Rev.1995,95,2601-2627;Ishiwata等人,Chem.Pharm.Bull.1995,43,1005-1011)。这样的脂质体已被证明在肿瘤中选择性地积累,推测是通过在新生血管化的靶组织中的外渗和捕获(Lasic等人,Science1995,267,1275-1276;Oku等人,1995,Biochim.Biophys.Acta,1238,86-90)。长循环脂质体增强了DNA和RNA的药代动力学和药效学,特别是与已知在MPS的组织中积累的传统阳离子脂质体相比(Liu等人,J.Biol.Chem.1995,42,24864-24870;Choi等人,International PCT Publication No.WO 96/10391;Ansell等人,国际PCT公开号WO 96/10390;Holland等人,国际PCT公开号WO 96/10392)。与阳离子脂质体相比,长循环脂质体也可能在更大程度上保护药物不被核酸酶降解,这是基于其能够避免在肝脏和脾脏等代谢侵袭性MPS组织中的积累。

[0123] 在另一个实施方案中,本公开包括如美国专利号:6,692,911、7,163,695和7,070,807中所描述的制备用于递送的反义寡核苷酸药物组合物。在这方面,在一个实施方案中,本公开提供了在包含赖氨酸和组氨酸(HK)的共聚物的组合物中的本公开的寡聚物(如美国专利号:7,163,695、7,070,807和6,692,911中所描述),其可以单独或与PEG(例如,支链或非支链PEG或两者的混合物)组合,与PEG和靶向部分组合,或上述任何一种与交联剂组合。在某些实施方案中,本公开提供了包含葡糖酸修饰的聚组氨酸或葡糖酸化聚组氨酸/转铁蛋白-聚赖氨酸的药物组合物中的反义寡核苷酸。本领域技术人员还将认识到,在组合物内

可以取代具有与His和Lys相似性质的氨基酸。

[0124] 本文所描述的反义寡核苷酸的某些实施方案可含有碱性官能团,例如氨基或烷基氨基,因此,能够与药学上可接受的酸形成药学上可接受的盐。在这方面,术语“药学上可接受的盐”是指本公开的化合物的相对无毒的无机和有机酸加成盐。这些盐可以在施用媒介物或剂型制造过程中原位制备,或通过本公开的纯化的化合物以其游离碱形式与合适的有机或无机酸分别反应,并在随后的纯化过程中分离出这样形成的盐。代表性盐包括氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸酯、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、萘二甲酸盐、甲磺酸盐、葡萄糖庚酸盐、乳糖醛酸盐和月桂基磺酸盐等。(参见例如,Berge等人(1977)“Pharmaceutical Salts”,J.Pharm.Sci.66:1-19)。

[0125] 主题反义寡核苷酸的药学上可接受的盐包括化合物的常规无毒盐或季铵盐,例如来自无毒有机或无机酸的盐。举例来说,这种常规的无毒盐包括衍生自无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、氨基磺酸、磷酸、硝酸等的盐;以及由有机酸如乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、硬脂酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、棕榈酸、马来酸、羟基马来酸、苯乙酸、谷氨酸、苯甲酸、水杨酸、对氨基苯磺酸、2-乙酰氧基苯甲酸、富马酸、甲苯磺酸、甲磺酸、乙烷二磺酸、草酸、羟乙磺酸等制备的盐。

[0126] 在某些实施方案中,本公开的反义寡核苷酸可以含有一个或多个酸性官能团,因此能够与药学上可接受的碱形成药学上可接受的盐。在这些情况下,术语“药学上可接受的盐”是指本公开的化合物的相对无毒的无机和有机碱加成盐。这些盐同样可以在施用媒介物或剂型制造过程中原位制备,或通过纯化的化合物以其游离酸形式与合适的碱,例如药学上可接受的金属阳离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐,与氨,或与药学上可接受的有机伯胺、仲胺或叔胺分别反应。代表性的碱金属或碱土金属盐包括锂盐、钠盐、钾盐、钙盐、镁盐和铝盐等。可用于形成碱加成盐的代表性有机胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等。(参见例如Berge等人,见上文)。

[0127] 润湿剂、乳化剂和润滑剂(例如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁)以及着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂也可以存在于组合物中。

[0128] 药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1)水溶性抗氧化剂,例如抗坏血酸、半胱氨酸盐、硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、亚硫酸钠等;(2)油溶性抗氧化剂,例如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基苯甲醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;以及(3)金属螯合剂,例如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸等。

[0129] 本公开的配制品包括适合于口服、鼻腔、局部(包括颊内和舌下)、直肠、阴道和/或肠胃外施用的那些配制品。配制品可以方便地以单位剂型存在,并且可以通过药学领域中众所周知的任何方法制备。可与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据所治疗的宿主、特定的施用方式而变化。可与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量一般将是产生治疗效果的化合物的量。一般以百分数计,此量将在活性成分的约0.1%至约99%的范围内,优选为约5%至约70%,最优选为约10%至约30%。

[0130] 在某些实施方案中,本公开的配制品包含选自环糊精、纤维素、脂质体、胶束形成剂(例如,胆汁酸)和聚合物载体(例如,聚酯和聚酸酐)的赋形剂;以及本公开的寡聚物。在某些实施方案中,前述配制品使本公开的寡聚物口服生物可利用。

[0131] 制备这些配制品或药物组合物的方法包括使本公开的反义寡核苷酸与载体和任选的一种或多种辅助成分缔合的步骤。通常,通过使本公开的化合物与液体载体或细分的固体载体或两者均匀且紧密地缔合,然后,如果需要,将产物成型来制备配制品。

[0132] 适于口服施用的本公开的配制品可以呈胶囊、扁囊剂、丸剂、片剂、含片(使用调味基础,通常是蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍)、散剂、颗粒剂的形式,或作为水性或非水性液体中的溶液或悬浮液,或作为水包油或油包水液体乳液,或作为酞剂或糖浆,或作为锭剂(使用惰性基质,例如明胶和甘油,或蔗糖和阿拉伯胶)和/或作为漱口剂等,各自含有预定量的本公开的化合物作为活性成分。本公开的反义寡核苷酸也可作为大丸剂、舐剂或糊剂施用。

[0133] 在口服施用的本公开的固体剂型(胶囊、片剂、丸剂、糖衣药丸、散剂、颗粒剂、小丸剂等)中,活性成分可以与一种或多种药学上可接受的载剂,例如柠檬酸钠或磷酸二钙,和/或以下任何一种混合:(1)填充剂或增量剂,例如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和/或硅酸;(2)粘合剂,如例如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯胶;(3)保湿剂,例如甘油;(4)崩解剂,例如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;(5)溶液缓释剂,例如石蜡;(6)吸收促进剂,例如季铵化合物和表面活性剂,例如泊洛沙姆和月桂醇硫酸钠;(7)润湿剂,如例如鲸蜡醇、单硬脂酸甘油酯和非离子表面活性剂;(8)吸收剂,例如高岭土和膨润土;(9)润滑剂,例如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂醇硫酸钠、硬脂酸锌、硬脂酸钠、硬脂酸和它们的混合物;(10)着色剂;和(11)控释剂,例如交联聚维酮或乙基纤维素。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,药物组合物还可包含缓冲剂。类似类型的固体药物组合物也可使用乳糖或奶糖等赋形剂以及高分子量聚乙二醇等作为软壳和硬壳明胶胶囊的填充剂。

[0134] 片剂可以通过压缩或模制来制备,任选地含有一种或多种辅助成分。压缩片剂可以使用粘合剂(例如,明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如,羧基乙酸淀粉钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂来制备。模制片剂可以通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物来制备。

[0135] 本公开的药物组合物的片剂和其他固体剂型(例如糖衣药丸、胶囊、丸剂和颗粒剂)可以任选地用包衣和外壳(例如肠溶包衣和其他药物配制领域中众所周知的包衣)刻痕或制备。其也可以使用例如不同比例的羟丙基甲基纤维素以提供所需的释放曲线、其他聚合物基质、脂质体和/或微球配制成使其中的活性成分缓慢或受控释放。其可以配制用于快速释放,例如冻干。其可以通过例如通过细菌截留过滤器过滤,或通过掺入无菌固体药物组合物形式的灭菌剂来灭菌,所述灭菌剂可以在使用前立即溶解在无菌水或一些其他无菌可注射介质中。这些药物组合物还可以任选地含有遮光剂,并且其成分可以是其仅或优选地在胃肠道的某一部分释放活性成分,任选地,以延迟的方式释放。可以使用的包埋组合物的实例包括聚合物物质和蜡。如果合适,活性成分也可以与一种或多种上述赋形剂一起呈微囊封形式。

[0136] 用于口服施用本公开的化合物的液体剂型包括药学上可接受的乳剂、微乳剂、溶液、悬浮液、糖浆和酞剂。除活性成分外,液体剂型可含有本领域常用的惰性稀释剂,例如水或其他溶剂、增溶剂和乳化剂,例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢呋喃醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇脂肪酸酯和它们的混合物。

[0137] 除惰性稀释剂外,口服药物组合物还可以包括佐剂,例如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂、着色剂、芳香剂和防腐剂。

[0138] 除活性化合物外,悬浮液可以含有悬浮剂,例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧化乙烯山梨糖醇和脱水山梨糖醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄蓍和它们的混合物。

[0139] 用于直肠或阴道施用的配制品可以作为栓剂提供,其可以通过将一种或多种本公开的化合物与一种或多种合适的无刺激性赋形剂或载体混合来制备,所述赋形剂或载体包含例如可可脂、聚乙二醇、栓剂蜡或水杨酸酯,其在室温下是固体,但在体温下是液体,因此会在直肠或阴道腔内融化并释放出活性化合物。

[0140] 本文提供的用于局部或透皮施用的寡聚物的配制品或剂型包括散剂、喷雾剂、软膏剂、糊剂、霜剂、乳液、凝胶、溶液、贴片和吸入剂。活性反义寡核苷酸可以在无菌条件下与药学上可接受的载体混合,并与可能需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。除本公开的活性化合物外,软膏剂、糊剂、霜剂和凝胶可以含有赋形剂,例如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅氧烷、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌,或它们的混合物。

[0141] 除本公开的寡聚物外,散剂和喷雾剂可以含有赋形剂,例如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末,或这些物质的混合物。喷雾剂可另外含有常规推进剂,例如氯氟烃和挥发性未取代的烃,例如丁烷和丙烷。

[0142] 透皮贴剂具有额外的优点,即提供本公开的寡聚物向身体的受控递送。这种剂型可以通过将寡聚物溶解或分散在适当的介质中来制备。吸收增强剂也可用于增加药剂穿过皮肤的通量。这种通量的速率可以通过提供速率控制膜或将药剂分散在聚合物基质或凝胶中,以及本领域已知的其他方法来控制。

[0143] 适用于肠胃外施用的药物组合物可以包含一种或多种本公开的反义寡核苷酸与一种或多种药学上可接受的无菌等渗的水性或非水性溶液、分散液、悬浮液或乳剂,或可在临使用之前重构成无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末的组合,其可以含有糖、醇、抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、使配制品与预期接受者的血液等渗的溶质或悬浮剂或增稠剂。可以在本公开的药物组合物中采用的合适的水性和非水性载体的实例包括水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)和它们的合适的混合物、植物油如橄榄油和可注射的有机酯,例如油酸乙酯。举例来说,通过使用包衣材料(例如卵磷脂),通过在分散体的情况下保持所需的粒度,以及通过使用表面活性剂,可以保持适当的流动性。

[0144] 这些药物组合物还可以含有佐剂,如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。通过包含各种抗细菌剂和抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等),可以确保防止微生物对主题反义寡核苷酸的作用。还可能需要在组合物中包含等渗剂,例如糖、氯化钠等。此外,可以通过包含延迟吸收的试剂如单硬脂酸铝和明胶来延长可注射药物形式的吸收。

[0145] 在某些情况下,为了延长药物的作用,希望减慢皮下或肌肉内注射药物的吸收。这可以通过使用具有较差水溶性的结晶或无定形材料的液体悬浮液以及本领域已知的其他方法来实现。然后,药物的吸收率取决于其溶解率,而溶解率又取决于晶体大小和晶形。或者,通过将药物溶解或悬浮在油性媒剂中来实现胃肠外施用的药物形式的延迟吸收。

[0146] 可注射储库形式可通过在可生物降解的聚合物(例如聚丙交酯-聚乙交酯)中形成主题反义寡核苷酸的微胶囊矩阵而制成。根据寡聚物与聚合物的比例,以及所采用的特定

聚合物的性质,可以控制寡聚物的释放速率。其他可生物降解聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。还可以通过将药物夹带在与身体组织兼容的脂质体或微乳剂中来制备可注射储库配制品。

[0147] 当本公开的反义寡核苷酸作为药物施用于人类和动物时,其可以本身给药,或可以作为药物组合物给药,例如含有0.1至99% (更优选10至30%) 的活性成分以及药学上可接受的载体。

[0148] 如上所述,本公开的配制品或制剂可以口服、胃肠外、局部或直肠给药。其通常以适合每种施用途径的形式给药。举例来说,其以片剂或胶囊形式,通过注射、吸入、眼药水、软膏、栓剂等施用,通过注射、输注或吸入施用;通过乳液或软膏局部施用;或通过栓剂直肠施用。

[0149] 无论所选择的施用途径如何,本公开的反义寡核苷酸(可以合适的水合形式使用)和/或本公开的药物组合物可以通过本领域技术人员已知的常规方法配制成药学上可接受的剂型。本公开的药物组合物中活性成分的实际剂量水平可以改变,以获得有效地实现特定患者、组合物和施用方式所需的治疗反应的活性成分的量,而不会对患者产生不可接受的毒性。

[0150] 所选择的剂量水平将取决于多种因素,包括所采用的本公开的特定寡聚物或其酯、盐或酰胺的活性;施用途径;施用时间;所采用的特定寡聚物的排泄或代谢率;吸收的速率和程度;治疗的持续时间;与所采用的特定寡聚物组合使用的其他药物、化合物和/或材料;所治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康状况和先前的病史;以及医学领域中众所周知的类似因素。

[0151] 本领域中具有普通技术的医师或兽医可以易于确定并开处所需药物组合物的有效量。举例来说,医师或兽医可以低于为达成所需治疗作用所需水平的药物组合物中采用的本公开的化合物的剂量开始,并且逐渐增加剂量直至达成所需作用。一般来说,本公开的化合物的合适的日剂量将是有效产生治疗效果的最低剂量的化合物的量。此类有效剂量将一般取决于上述因素。一般来说,当用于指示的效果时,本公开的化合物对患者的口服、静脉内、脑室内和皮下剂量将范围介于每天每公斤体重约0.0001至约100mg。

[0152] 在一些实施方案中,本公开的反义寡核苷酸一般以约4至100mg/kg、约10至100mg/kg或约20至100mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,肠胃外剂量(例如静脉内施用)为约0.5mg至100mg/kg。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以约4mg/kg、10mg/kg、11mg/kg、12mg/kg、14mg/kg、15mg/kg、17mg/kg、20mg/kg、21mg/kg、25mg/kg、26mg/kg、27mg/kg、28mg/kg、29mg/kg、30mg/kg、31mg/kg、32mg/kg、33mg/kg、34mg/kg、35mg/kg、36mg/kg、37mg/kg、38mg/kg、39mg/kg、40mg/kg、41mg/kg、42mg/kg、43mg/kg、44mg/kg、45mg/kg、46mg/kg、47mg/kg、48mg/kg、49mg/kg、50mg/kg、51mg/kg、52mg/kg、53mg/kg、54mg/kg、55mg/kg、56mg/kg、57mg/kg、58mg/kg、59mg/kg、60mg/kg、65mg/kg、70mg/kg、75mg/kg、80mg/kg、85mg/kg、90mg/kg、95mg/kg或100mg/kg,包括介于两者之间的所有整数的剂量施用。在一些实施方案中,寡聚物以约4mg/kg施用。在一些实施方案中,寡聚物以约10mg/kg施用。在一些实施方案中,寡聚物以约20mg/kg施用。在一些实施方案中,寡聚物以约30mg/kg施用。在一些实施方案中,寡聚物以约40mg/kg施用。在一些实施方案中,寡聚物以约50mg/kg施用。

[0153] 如果需要,活性化合物的有效日剂量可作为二个、三个、四个、五个、六个或更多个

子剂量在全天以适当的时间间隔分别施用,任选地,以单位剂型施用。在某些情形下,给药是每天施用一次。在某些实施方案中,给药是根据需要每2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天,或每1、2周一次或多次施用,以维持功能性肌营养不良蛋白的所需表达。在某些实施方案中,给药是每月一次施用。在某些实施方案中,给药是每两周一次或多次施用。在一些实施方案中,给药是每两周一次施用。

[0154] 在各种实施方案中,反义寡核苷酸以约4mg/kg每周施用。在各种实施方案中,反义寡核苷酸以约10mg/kg每周施用。在各种实施方案中,反义寡核苷酸以约20mg/kg每周施用。在各种实施方案中,反义寡核苷酸以约30mg/kg每周施用。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以约40mg/kg每周施用。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以约50mg/kg每周施用。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以约60mg/kg每周施用。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以80mg/kg每周施用。如本文所用,每周理解为具有每周的领域认可的含意。

[0155] 在各种实施方案中,反义寡核苷酸以约4mg/kg每两周施用。在各种实施方案中,反义寡核苷酸以约10mg/kg每两周施用。在各种实施方案中,反义寡核苷酸以约20mg/kg每两周施用。在各种实施方案中,反义寡核苷酸以约30mg/kg每两周施用。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以约40mg/kg每两周施用。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以约50mg/kg每两周施用。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以约60mg/kg每两周施用。在一些实施方案中,反义寡核苷酸以约80mg/kg每两周施用。如本文所用,每两周理解为具有每两周的领域认可的含意。

[0156] 核酸分子可以通过本领域技术人员已知的各种方法施用于细胞,包括但不限于如本文所描述和本领域中已知的囊封在脂质体中、通过离子电渗疗法或通过掺入其他媒介物中,例如水凝胶、环糊精、可生物降解的纳米胶囊和生物粘附微球。在某些实施方案中,可利用微乳化技术来提高亲脂性(水不溶性)药剂的生物利用率。实例包括曲美汀(Trimetrine)(Dordunoo, S.K.等人, Drug Development and Industrial Pharmacy, 17 (12), 1685-1713, 1991)和REV 5901 (Sheen, P.C.等人, J Pharm Sci 80 (7), 712-714, 1991)。除其他好处外,微乳化通过优先引导吸收到淋巴系统而不是循环系统,从而绕过肝脏,并防止化合物在肝胆循环中被破坏来提高生物利用率。

[0157] 在本公开的一个方面,配制品含有由本文提供的寡聚物和至少一种两亲载体形成的胶束,其中胶束的平均直径小于约100nm。更优选的实施方案提供了平均直径小于约50nm的胶束,甚至更优选的实施方案提供了平均直径小于约30nm或甚至小于约20nm的胶束。

[0158] 虽然所有合适的两亲载体都可以考虑,但目前优选的载体一般是那些具有一般公认安全(GRAS)状态的载体,并且当溶液与复杂的水相(例如在人类胃肠道中发现的水相)接触时,既能溶解本公开的化合物,又能在后期使其微乳化。通常,满足这些要求的两亲成分的HLB(亲水与亲脂平衡)值为2-20,并且其结构含有C-6至C-20范围内的直链脂肪族基团。实例是聚乙二醇化的脂肪甘油酯和聚乙二醇。

[0159] 两亲载体的实例包括饱和与单不饱和的聚乙二醇脂肪酸甘油酯,例如从完全或部分氢化的各种植物油中得到的那些。这类油可有利地由三脂肪酸、二脂肪酸和单脂肪酸甘油酯以及相应脂肪酸的二聚乙二醇和单聚乙二醇酯组成,特别优选的脂肪酸组成包括癸酸4%-10%、癸酸3%-9%、月桂酸40%-50%、肉豆蔻酸14%-24%、棕榈酸4%-14%和硬脂酸5%-15%。另一类有用的两亲载体包括部分酯化的脱水山梨糖醇和/或山梨糖醇,以及饱和

或单不饱和脂肪酸 (SPAN系列) 或相应的乙氧基化类似物 (TWEEN系列)。

[0160] 市售的两亲载体可能特别有用,包括Gelucire系列、Labrafil、Labrasol或Lauroglycol (均由Gattefosse Corporation, Saint Priest, France生产和分销)、PEG-单油酸酯、PEG-二油酸酯、PEG-单月桂酸酯和二月桂酸酯、卵磷脂、聚山梨醇酯80等 (由美国及全球多家公司生产和分销)。

[0161] 在某些实施方案中,可以通过使用脂质体、纳米胶囊、微颗粒、微球、脂质颗粒、囊泡等进行递送,以将本公开的药物组合物引入合适的宿主细胞中。特别是,本公开的药物组合物可以配制成囊封在脂质颗粒、脂质体、囊泡、纳米球、纳米颗粒等中递送。这种递送载体的配制和使用可以使用已知的和常规的技术来进行。

[0162] 适合在本公开中使用的亲水聚合物是那些容易溶于水,可以共价连接到形成囊泡的脂质上,并且在体内可以耐受而没有毒性作用 (即,是生物兼容性的) 的聚合物。合适的聚合物包括聚乙二醇 (PEG)、聚乳酸 (也称为聚丙交酯)、聚乙醇酸 (也称为聚乙交酯)、聚乳酸-聚乙醇酸共聚物和聚乙烯醇。在某些实施方案中,聚合物的分子量为约100或120道尔顿至约5,000或10,000道尔顿,或约300道尔顿至约5,000道尔顿。在其他实施方案中,聚合物是分子量为约100至约5,000道尔顿,或分子量为约300至约5,000道尔顿的聚乙二醇。在某些实施方案中,聚合物是750道尔顿的聚乙二醇 (PEG (750))。聚合物也可以由其中的单体数目来定义;本公开的一个优选实施方案利用至少约三个单体的聚合物,这种PEG聚合物 (约150道尔顿) 由三个单体组成。

[0163] 可能适合在本公开中使用的其他亲水聚合物包括聚乙烯吡咯烷酮、聚甲基噁唑啉、聚乙基噁唑啉、聚羟丙基甲基丙烯酸酰胺、聚甲基丙烯酸酰胺、聚二甲基丙烯酸酰胺和衍生化纤维素,例如羟甲基纤维素或羟乙基纤维素。

[0164] 在某些实施方案中,本公开的配制品包含选自以下组成的组的生物兼容性聚合物:聚酰胺、聚碳酸酯、聚亚烷基、丙烯酸酯和甲基丙烯酸酯的聚合物、聚乙烯聚合物、聚乙交酯、聚硅氧烷、聚氨基甲酸酯和其共聚物、纤维素、聚丙烯、聚乙烯、聚苯乙烯、乳酸和乙醇酸的聚合物、聚酸酐、聚 (正) 酯、聚 (丁酸)、聚 (戊酸)、聚 (丙交酯-共-己内酯)、多糖、蛋白质、聚透明质酸、聚氰基丙烯酸酯和它们的掺合物、混合物或共聚物。

[0165] 环糊精是环状寡糖,由6、7或8个葡萄糖单元组成,分别用希腊字母 α 、 β 或 γ 表示。葡萄糖单元通过 α -1,4-糖苷键连接。由于糖单元的椅子构型,所有的仲羟基 (在C-2、C-3处) 都位于环的一侧,而C-6处的所有伯羟基都位于另一侧。因此,外表面是亲水的,使环糊精具有水溶性。相反,环糊精的空腔是疏水的,因为其是由原子C-3和C-5的氢和醚类氧所衬的。这些基质允许与各种相对疏水的化合物进行络合,包括例如类固醇化合物,如17 α -雌二醇 (参见例如, van Uden等人 Plant Cell Tiss. Org. Cult. 38:1-3-113 (1994))。络合是通过范德华相互作用 (Van der Waals interactions) 和氢键形成而发生。关于环糊精化学的一般综述,参见, Wenz, Agnew. Chem. Int. 编Engl., 33:803-822 (1994)。

[0166] 环糊精衍生物的物理化学特性在很大程度上取决于取代的种类和程度。举例来说,其在水中的溶解度从不溶 (例如,三乙酰- β -环糊精) 到147%可溶 (w/v) (G-2- β -环糊精)。另外,其可溶于许多有机溶剂。环糊精的特性使得能够通过增加或减少其溶解度来控制各种配制组分的溶解度。

[0167] 已经描述了许多环糊精和其制备方法。举例来说, Parmeter (I) 等人 (美国专利号

3,453,259)和Gramera等人(美国专利号3,459,731)描述了电中性环糊精。其他衍生物包括具有阳离子特性的环糊精[Parmeter (II), 美国专利号3,453,257]、不溶性交联环糊精(Solms, 美国专利号3,420,788)和具有阴离子特性的环糊精[Parmeter (III), 美国专利号3,426,011]。在具有阴离子特性的环糊精衍生物中,羧酸、亚磷酸、次磷酸、磷酸、磷酸、硫代磷酸、硫代亚磷酸和磺酸已被附接到母体环糊精[参见Parmeter (III), 见上文]。此外,磺基烷基醚环糊精衍生物已由Stella等人描述(美国专利号5,134,127)。

[0168] 脂质体由至少一个脂质双层膜组成,所述脂质双层膜包围水性内部隔室。脂质体可按膜的类型和大小来表征。小单层囊泡(SUV)具有单层膜,通常直径在0.02和0.05 μm 之间;大单层囊泡(LUVS)通常大于0.05 μm 。寡层大囊泡和多层囊泡具有多个通常同心的膜层,通常大于0.1 μm 。具有多个非同心膜的脂质体,即在一个较大囊泡内含有几个较小囊泡,称为多囊囊泡。

[0169] 本公开的一个方面涉及包括含本公开的反义寡核苷酸的脂质体的配制品,其中脂质体膜被配制为提供具有增加的载量的脂质体。或者或另外,本公开的化合物可以包含在脂质体的脂质体双层内,或吸附到脂质体的脂质体双层上。本公开的反义寡核苷酸可以与脂质表面活性剂聚集,并携带在脂质体的内部空间内;在这些情况下,脂质体膜被配制成抵抗活性剂-表面活性剂聚集的破坏作用。

[0170] 根据本公开的一个实施方案,脂质体的脂质双层含有用聚乙二醇(PEG)衍生的脂质,使得PEG链从脂质双层的内表面延伸到由脂质体囊封的内部空间,并从脂质双层的外部延伸到周围环境中。

[0171] 本公开的脂质体中包含的活性剂呈溶解形式。根据本公开的脂质体的内部空间内可夹带表面活性剂和活性剂(例如含有感兴趣的活性剂的乳液或胶束)的聚集物。表面活性剂的作用是分散和溶解活性剂,并且可以选自任何合适的脂肪族、环脂肪族或芳香族表面活性剂,包括但不限于不同链长(例如,约C14至约C20)的生物兼容性溶血磷脂酰胆碱(LPG)。聚合物衍生的脂质如PEG-脂质也可用于胶束的形成,因为其将起到抑制胶束/膜融合的作用,并且由于将聚合物添加到表面活性剂分子中降低表面活性剂的临界胶束浓度("CMC")并有助于胶束的形成。优选的是CMC在微摩尔范围内的表面活性剂;可以利用更高的CMC表面活性剂来制备夹带在本公开的脂质体内的胶束。

[0172] 根据本公开的脂质体可以通过本领域已知的各种技术中的任何一种来制备。参见例如美国专利号4,235,871;公开的PCT申请W0 96/14057;New RRC, Liposomes: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), 第33-104页;Lasiec DD, Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1993。举例来说,本公开的脂质体可以通过将用亲水聚合物衍生的脂质扩散到预成型的脂质体中来制备,例如将预成型的脂质体暴露在由脂质接枝聚合物构成的胶束中,脂质浓度对应于脂质体中所需要的衍生脂质的最终摩尔百分比。含有亲水聚合物的脂质体也可以通过均质化、脂质场水合或挤出技术形成,如本领域中已知的。

[0173] 在另一个示例性配制程序中,活性剂首先通过超声分散在易于溶解疏水分子的溶血磷脂酰胆碱或其他低CMC表面活性剂(包括聚合物接枝脂质)中。然后将所得的活性剂胶束悬浮液用于再水化干燥的脂质样品,所述样品含有合适摩尔百分比的聚合物接枝脂质或胆固醇。然后使用本领域已知的挤出技术将脂质和活性剂悬浮液形成脂质体,并通过标准

柱分离将所得脂质体与未囊封的溶液分离。

[0174] 在本公开的一个方面,脂质体被制备成在选定的尺寸范围内具有基本均匀的尺寸。一种有效的施胶方法涉及将脂质体的水性悬浮液挤出通过一系列具有选定的均匀孔径的聚碳酸酯膜;膜的孔径将与通过所述膜挤出产生的脂质体的最大尺寸大致对应。参见例如美国专利号4,737,323(1988年4月12日)。在某些实施方案中,可以利用如DharmaFECT®和Lipofectamine®等试剂将多核苷酸或蛋白质引入细胞中。

[0175] 本公开的制剂的释放特征取决于囊封材料、囊封药物的浓度和释放调节剂的存在。举例来说,释放可以被操纵为pH依赖性的,例如,使用pH敏感涂层,所述涂层仅在低pH值下释放,如在胃中,或在较高pH值下释放,如在肠道中。可以使用肠溶包衣来防止释放发生,直到通过胃之后。囊封在不同材料中的氰胺的多种包衣或混合物可用于在胃中获得初始释放,随后在肠道中释放。还可以通过包含盐类或成孔剂来操纵释放,这些盐类或成孔剂可以增加水的吸收或药物从胶囊中扩散释放。改变药物溶解度的赋形剂也可用于控制释放速率。也可以掺入增强基质降解或从基质释放的药剂。其可以添加到药物中,作为单独的相(即,作为颗粒)添加,或者可以根据化合物共溶于聚合物相中。在大多数情况下,量应在0.1%与30%(w/w聚合物)之间。降解促进剂的类型包括无机盐,如硫酸铵和氯化铵;有机酸,如柠檬酸、苯甲酸和抗坏血酸;无机碱,如碳酸钠、碳酸钾、碳酸钙、碳酸锌和氢氧化锌;和有机碱,如硫酸鱼精蛋白、精胺、胆碱、乙醇胺、二乙醇胺和三乙醇胺;以及表面活性剂,如Tween®和Pluronic®。能增加基质微观结构的成孔剂(即水溶性化合物,如无机盐和糖)作为颗粒添加。其范围通常在1%与30%(w/w聚合物)之间。

[0176] 还可以通过改变颗粒在肠道内的停留时间来操纵吸收。这可以通过例如用粘膜粘合剂聚合物包覆颗粒,或选择粘膜粘合剂聚合物作为囊封材料来实现。实例包括大多数具有游离羧基的聚合物,例如壳聚糖、纤维素,特别是聚丙烯酸酯(如本文所用,聚丙烯酸酯是指包括丙烯酸酯基和修饰的丙烯酸酯基(例如氰基丙烯酸酯和甲基丙烯酸酯)的聚合物)。

[0177] 反义寡核苷酸可配制成包含在外科或医疗装置或植入物内,或适应于由外科或医疗装置或植入物释放。在某些方面,可以用反义寡核苷酸包覆或以其他方式处理植入物。举例来说,水凝胶或其他聚合物,例如生物兼容性和/或可生物降解的聚合物,可用于包覆具有本公开的药物组合物的植入物(即,所述组合物可通过使用水凝胶或其他聚合物适应于与医疗装置一起使用)。用于包覆具有药剂的医疗装置的聚合物和共聚物是本领域中众所周知的。植入物的实例包括但不限于支架、药物洗脱支架、缝合线、假体、血管导管、透析导管、血管移植物、假体心脏瓣膜、心脏起搏器、植入式心脏复律除颤器、静脉注射针、用于骨固定和形成的装置,例如针、螺钉、板和其他装置,以及用于伤口愈合的人工组织基质。

[0178] 除了本文提供的方法外,根据本公开使用的反义寡核苷酸可以与其他药物类似地配制成以任何方便的方式用于人类或兽药的施用。反义寡核苷酸和其相应的配制品可单独或与其他治疗策略组合施用,用于治疗肌营养不良,例如成肌细胞移植、干细胞疗法、氨基糖苷类抗生素的施用、蛋白酶体抑制剂和上调疗法(例如,上调肌营养相关蛋白,肌营养不良蛋白的一种常染色体旁系同源物)。

[0179] 在一些实施方案中,额外的治疗剂可以在施用本公开的反义寡核苷酸之前、同时或之后施用。举例来说,反义寡核苷酸可与类固醇和/或抗生素组合施用。在某些实施方案中,将反义寡核苷酸施用给正在接受背景类固醇理论(例如,间歇或慢性/连续背景类固醇

疗法)的患者。举例来说,在一些实施方案中,在施用反义寡聚物之前,患者已经用皮质类固醇治疗,并继续接受类固醇疗法。在一些实施方案中,类固醇是糖皮质激素或强的松。

[0180] 所描述的施用途径仅旨在作为一种指导,因为熟练的从业人员将能够很容易地确定最佳的施用途径和任何特定动物和病况的剂量。已经尝试了多种在体外和体内将功能性新遗传物质引入细胞的方法(Friedmann(1989) *Science*, 244:1275-1280)。这些方法包括将待表达的基因整合到修饰的逆转录病毒中(Friedmann(1989) 见上文;Rosenberg(1991) *Cancer Research* 51(18), 增刊:5074S-5079S);整合到非逆转录病毒载体中(例如,腺相关病毒载体)(Rosenfeld等人(1992) *Cell*, 68:143-155;Rosenfeld等人(1991) *Science*, 252:431-434);或通过脂质体递送与异源启动子-增强子元件相连的转基因(Friedmann(1989), 见上文;Brigham等人(1989) *Am. J. Med. Sci.*, 298:278-281;Nabel等人(1990) *Science*, 249:1285-1288;Hazinski等人(1991) *Am. J. Resp. Cell Molec. Biol.*, 4:206-209;以及Wang和Huang(1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 84:7851-7855);与配体特异性、基于阳离子的转运系统偶合(Wu和Wu(1988) *J. Biol. Chem.*, 263:14621-14624)或使用裸DNA、表达载体(Nabel等人(1990), 见上文;Wolff等人(1990) *Science*, 247:1465-1468)。将转基因直接注射到组织中仅产生局部表达(Rosenfeld(1992) 见上文;Rosenfeld等人(1991) 见上文;Brigham等人.(1989) 见上文;Nabel(1990) 见上文;和Hazinski等人(1991) 见上文)。Brigham等人的小组(*Am. J. Med. Sci.* (1989) 298:278-281和*Clinical Research* (1991) 39(摘要))报道了在静脉内或气管内施用DNA脂质体复合物后,仅对小鼠的肺进行体内转染。人类基因疗法程序的评论文章的一个实例是:Anderson, *Science* (1992) 256:808-813。

[0181] 在另一个实施方案中,本公开的药物组合物可以另外包含如Han等人, *Nat. Comms.* 7, 10981 (2016) 中所提供的碳水化合物,其全部内容以引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,本公开的药物组合物可包含5%的己糖碳水化合物。举例来说,本公开的药物组合物可包含5%的葡萄糖、5%的果糖或5%的甘露糖。在某些实施方案中,本公开的药物组合物可包含2.5%的葡萄糖和2.5%的果糖。在一些实施方案中,本公开的药物组合物可以包含选自以下的碳水化合物:以5体积%的量存在的阿拉伯糖、以5体积%的量存在的葡萄糖、以5体积%的量存在的山梨糖醇、以5体积%的量存在的半乳糖、以5体积%的量存在的果糖、以5体积%的量存在的木糖醇、以5体积%的量存在的甘露糖、各自以2.5体积%的量存在的葡萄糖和果糖的组合,以及以5.7体积%的量存在的葡萄糖、以2.86体积%的量存在的果糖和以1.4体积%的量存在的木糖醇的组合。

[0182] IV. 试剂盒

[0183] 本公开还提供了用于治疗患有遗传病的患者的试剂盒,所述试剂盒包含至少一种反义分子(例如,卡西莫森),包装在合适的容器中,并附有使用说明。试剂盒还可以含有外围试剂,例如缓冲剂、稳定剂等。本领域的普通技术人员应理解,上述方法的应用在鉴定适用于治疗许多其他疾病的反义分子方面具有广泛的应用。

[0184] 实施例

[0185] 实施例1:ESSENCE

[0186] ClinicalTrials.gov标识符:NCT02500381

[0187] 这项研究的主要目的是评估卡西莫森(SRP-4045)和戈罗迪生(Golodirsen)(SRP-4053)相对于安慰剂在具有可分别适合于跳跃外显子45和外显子53的框外缺失突变的杜氏

肌营养不良 (DMD) 患者中的功效。

[0188] 研究类型:介入

[0189] 研究设计:分配:随机

[0190] 干预模式:并行分配

[0191] 屏蔽:四重(参与者、护理提供者、研究者、结果评估者)

[0192]

[0193] 主要目的:治疗

[0194] 正标题:一项具有开放标签延长的双盲、安慰剂对照、多中心研究,以评估SRP-4045和SRP-4053在患有杜氏肌营养不良的患者中的功效和安全性

[0195]

[0196]

[0197] 材料和方法

[0198] 卡西莫森(又称为SRP-4045)是本文所述的化学结构的PMO,并且由SareptaTherapeutics, Inc. 供应。将卡西莫森药物产品以50mg/mL的浓度配制为在一次性小瓶中供应的无菌等渗磷酸盐缓冲水溶液。在临床环境中通过IV输注施用之前,用生理盐水(0.9%氯化钠注射液)稀释药物产品。

[0199] 患者:资格

[0200] 符合资格的患者为7至13岁,具有适合于跳跃外显子45的DMD基因的框外缺失。

[0201] 纳入标准:

[0202] • 诊断患有DMD,经基因型确认。

[0203] • 稳定剂量的口服皮质类固醇持续至少24周。

[0204] • 完整的右和左二头肌或2个替代的上肌群。

[0205] • 平均6MWT大于或等于300米并且小于或等于450米。

[0206] • 稳定的肺和心脏功能:用力肺活量(FVC)等于或大于50%预测值,并且左心室射血分数(LVEF)大于50%。

[0207] 排除标准:

[0208] • 在任何时候用SMT C1100 (BMN-195) 进行先前治疗

[0209] • 在任何时候用基因疗法进行治疗

[0210] • 在第1周前24周内用PR0045或PR0053进行先前治疗

[0211] • 在第1周前12周内,用任何其他实验性治疗(除地夫考特(deflazacort)之外)进行当前或先前治疗

[0212] • 在第1周前12周内参加任何其他DMD介入性临床研究

[0213] • 在第1周前3个月内进行大手术

[0214] • 存在其他临床上显著的疾病

[0215] • 在第1周前3个月内物理疗法方案有重大变化

[0216] 研究设计

[0217] 适合于外显子45跳跃的患者在双盲期以30mg/kg接受卡西莫森(SRP-4045)静脉内(IV)输注长达96周。随后是开放标签延长期,其中所有患者将在OL期接受30mg/kg/周IV输注的卡西莫森(SRP-4045)的开放标签活性治疗48周(直到研究的第144周)。

[0218] 主要结局指标：在第96周时6分钟步行测试 (6MWT) 期间步行总距离相对于基线的变化[时间范围：基线和第96周]。

[0219] 次要结局指标：

[0220] • 在第144周 (OL期的第48周) 时6分钟步行测试 (6MWT) 期间步行总距离相对于基线的变化[时间范围：基线, 第144周]。

[0221] • 在第48或96周时通过蛋白质印迹确定的肌营养不良蛋白水平相对于基线的变化[时间范围：基线和第48或96周]。

[0222] • 在第48或96周时通过免疫组织化学法 (IHC) 确定的肌营养不良蛋白水平相对于基线的变化[时间范围：基线和第48或96周]。

[0223] • 能够独立地从地面上站起[时间范围：第96周, 第144周]。

[0224] • 丧失步行能力 (LOA) 的时间[时间范围：基线, 第96周, 第144周]。

[0225] • 第96周和第144周北极星移动评估 (NSAA) 总分相对于基线的变化[时间范围：基线, 第96周, 第144周]。NSAA是根据Hammersmith运动力量表设计的功能性量表, 专门用于患有杜氏肌营养不良 (DMD) 的能走动的儿童。它由等级为0 (无法进行)、1 (修饰进行)、2 (正常运动) 的17个活动组成。该量表评估保持功能性走动 (例如, 从地面上站起) 所需的活动、甚至在疾病早期可能很困难的活动 (例如, 脚跟站立) 和已知随着时间推移逐渐恶化的活动 (从椅子上站起、步行)。NSAA总分范围为0至34, 得分为34, 表示功能正常。

[0226] • 在第96周和第144周时预测的用力肺活量百分比 (FVC%) 相对于基线的变化[时间范围：基线, 第96周, 第144周]。

[0227] 中期分析

[0228] 适合于外显子45跳跃的患者随机接受每周一次的以30mg/kg (N=27) 给药的卡西莫森或安慰剂 (N=16) 的静脉内 (IV) 输注, 持续96周。对来自基线和第48周治疗期间的二头肌的活检数据进行中期分析。

[0229] 中期分析的主要发现包括：

[0230] • 平均肌营养不良蛋白 (通过蛋白质印迹测量的正常肌营养不良蛋白%) 增加至正常的1.736%, 而平均基线为正常的0.925% ($p<0.001$)。

[0231] • 与安慰剂组相比, 在卡西莫森治疗组之间观察到肌营养不良蛋白相对于基线至第48周的平均变化的统计学显著差异 ($p=0.009$ (敏感性分析) $p=0.004$ (主要方法分析))。

[0232] • 在使用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 的初始分析中测试增加的外显子跳跃mRNA的接受卡西莫森的22名患者, 相比于其基线水平都显示出跳读外显子45的增加 ($p<0.001$), 代表100%的响应率。

[0233] • 在初始分析中, 观察到外显子45跳跃与肌营养不良蛋白产生之间存在统计学显著的正相关性 (斯皮尔曼等级相关性=0.635, $p<0.001$)。

[0234] • 在使用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 测试增加的外显子跳跃mRNA的接受卡西莫森的全部27名患者的分析中, 相比于其基线水平全都显示出跳读外显子45的增加 ($p<0.001$), 代表100%的响应率。

[0235] • 在全部27名患者分析中, 观察到外显子45跳跃与肌营养不良蛋白产生之间存在统计学显著的正相关性 (斯皮尔曼等级相关性=0.627, $p<0.001$)。

[0236] 研究正在进行中, 并且仍然保持盲化以收集另外的功效和安全性数据。

[0237] 实施例2:

[0238] 研究的主要目的是评估卡西莫森的安全性和耐受性,并评价卡西莫森在患有晚期DMD和适合于外显子45跳跃的确认突变的患者中的药代动力学(PK)。

[0239] 方法

[0240] 一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照、剂量滴定、1/2期研究招募了患有晚期DMD并且具有确认的适合于外显子45跳跃的突变的患者。

[0241] 在双盲剂量滴定期间,患者(2:1)随机分组以接受卡西莫森或安慰剂,持续约等于12周。随机接受卡西莫森的患者接受4个递增剂量水平(4、10、20和30mg/kg),每周一次通过静脉内(IV)输注施用,每个剂量水平持续 ≥ 2 周。在双盲剂量滴定期后,在长达另外132周的开放标签延长期中评估每周一次的30mg/kg卡西莫森的安全性和功效。

[0242] 患者:资格

[0243] 符合资格的患者是患有DMD的临床诊断的7-21岁男性,具有适合于外显子45跳跃的确认基因突变,具有稳定的心脏和肺功能,在研究开始前 ≥ 24 周服用稳定剂量或未接受口服皮质类固醇,并且在6分钟步行测试时不活动或无法步行 ≥ 300 米。

[0244] 研究评估

[0245] 安全性评估包括治疗中出现的不良事件(TEAE)、临床实验室异常、生命体征和体检异常以及心电图和心脏超声的临床显著恶化。

[0246] PK评估包括浓度-时间曲线下面积(AUC)、总体清除率(CL)、最大观察浓度(C_{max})、终末相半衰期($t_{1/2}$)、最大观察浓度时间(t_{max})和稳态分布容积(V_{ss})。

[0247] 使用总结和描述性统计来评估和呈现数据。

[0248] 当连续地收集PK测量值时,使用针对访视的非隔室分析计算卡西莫森的PK参数。

[0249] 结果

[0250] 在入组的12名患者中,11名(91.7%)完成了研究。随机接受卡西莫森治疗的患者通常年龄略长,并且患有比随机接受安慰剂的患者更晚期的疾病(表1)。

[0251] 表1:

参数	安慰剂 (n=4)	卡西莫森 (n=8)	总计 (n=12)
平均 (SD) 年龄, y	12.0 (2.2)	14.4 (3.3)	13.6 (3.1)
人种, n%			
白人	4 (100)	6 (75.0)	10 (83.3)
亚洲人	0	2 (25.0)	2 (16.7)
种族, n (%)			
西班牙裔或拉丁裔	0	1 (12.5)	1 (8.3)
非西班牙裔或拉丁裔	4 (100)	7 (87.5)	11 (91.7)
平均 BMIa	21.9 (1.2)	25.9 (4.8)	24.6 (4.3)

	(SD), kg/m ²			
	平均 6MWT 距离 ^{a,b} (SD), 米	115.0 (134.2)	0.9 (2.5)	39.1 (90.0)
[0253]	自 DMD 诊断以来的 平均时间 (SD), 月	91.8 (33.7)	136.1 (47.9)	121.3 (47.4)
	皮质类固醇使用的 平均持续时间 (SD), 月	84.5 (38.3)	80.1 (34.5)	81.6 (34.1)

[0254] ^a基线定义为研究药物首次给药前的最后值。

[0255] ^b无法走动的患者被认为具有0米的6MWT距离。

[0256] 6MWT, 6分钟步行测试; BMI, 身体质量指数; SD, 标准差。

[0257] 研究中的平均(SD)总时间为144.7 (3.45)周。在合并研究期期间, 卡西莫森治疗期间的平均(SD)持续时间为139.6 (9.26)周。

[0258] 安全性

[0259] 所有患者都经历了表2中描述的一种或多种治疗中出现的不良事件 (TEAE)。

[0260] 表2:

患者, n (%)	安慰剂 (n=4)	卡西莫森 4 mg/kg (第 1-2 周) (n=8)	卡西莫森 10 mg/kg (第 3-4 周) (n=8)	卡西莫森 20 mg/kg (第 5-6 周) (n=8)	卡西莫森 30 mg/kg (第 7-8 周) (n=8)	卡西莫森 30 mg/kg (第 7 周 至双盲期 结束时) (n=8)	总计 (N=8)	总计 卡西莫森 ^{a, b} (N=12)
≥1 例 TEAE	4 (100)	5 (62.5)	3 (37.5)	3 (37.5)	4 (50.0)	7 (87.5)	8 (100)	12 (100)
≥1 例严重 TEAE	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	3 (25.0)
[0261] ≥1 例与 治疗相关的 TEAE	1 (25.0)	1 (12.5)	0	0	0	1 (12.5)	2 (25.0)	2 (16.7)
TEAE 的总 数, 按 严重程 度								
轻度	11	9	3	9	13	26	47	159
中度	0	0	0	1	1	3	4	14
重度	0	0	0	0	2	2	2	2

[0262] ^a在双盲期内接受卡西莫森治疗的患者报告的TEAE也包括在卡西莫森期的总结中。

[0263] ^b没有患者由于TEAE而停止研究药物或减少研究药物剂量, 并且在研究期间没有发生死亡。

[0264] 没有患者由于TEAE而停止研究药物或减少研究药物剂量。在双盲 (88.7%) 和开放标签 (90.9%) 治疗期间, 大多数TEAE的严重程度是轻度的。在双盲和开放标签治疗期间, 操

作性疼痛和鼻咽炎分别是最常报告的TEAE (表3和4)。

[0265] 表3. 在双盲治疗期^a过程中, 安慰剂或总卡西莫森组中 $\geq 25\%$ 的患者报告的治疗中出现的不良事件

	患者, n (%)	安慰剂 (n=4)	卡西莫森 4 mg/kg (第 1-2 周) (n=8)	卡西莫森 10 mg/kg (第 3-4 周) (n=8)	卡西莫森 20 mg/kg (第 5-6 周) (n=8)	卡西莫森 30 mg/kg (第 7-8 周) (n=8)	卡西莫森 30 mg/kg (第 7 周至双盲期结束时) (n=8)	总计 (N=8)
[0266] ≥ 1 例 TEAE		4 (100)	5 (62.5)	3 (37.5)	3 (37.5)	4 (50.0)	7 (87.5)	8 (100)
操作性疼痛		1 (25.0)	0	0	2 (25.0)	2 (25.0)	3 (37.5)	4 (50.0)
头痛		0	1 (12.5)	0	0	1 (12.5)	2 (25.0)	3 (37.5)
呕吐		0	0	0	2 (25.0)	1 (12.5)	2 (25.0)	3 (37.5)
恶心		0	1 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	0	0	2 (25.0)
鼻咽炎		1 (25.0)	1 (12.5)	0	0	1 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)
肢体疼痛		1 (25.0)	0	0	0	1 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)
皮肤乳头瘤		1 (25.0)	0	0	0	1 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)
接触性皮炎		2 (50.0)	0	0	0	0	0	0
背痛		1 (25.0)	0	0	0	0	0	0
韧带扭伤		1 (25.0)	0	0	0	0	0	0
口咽痛		1 (25.0)	0	0	0	0	0	0
花斑癣		1 (25.0)	0	0	0	0	0	0

[0267] ^a仅包括发作日期在施用第一剂量的研究药物之后直到在开放标签期的第一剂量的TEAE。

[0268] 表4. $\geq 25\%$ 的患者在总卡西莫森组药物双盲、开放标签治疗期^a报告的治疗中出现的不良事件

	患者, n (%)	总卡西莫森组 (N=12)
[0269] ≥ 1 例 TEAE		12 (100)
鼻咽炎		9 (75.0)
咳嗽		4 (33.3)

	患者, n (%)	总卡西莫森组 (N=12)
[0270] 头痛		4 (33.3)
操作性疼痛		4 (33.3)
上呼吸道感染		4 (33.3)
呕吐		4 (33.3)
恶心		3 (25.0)
肢体疼痛		3 (25.0)
口咽痛		3 (25.0)
皮疹		3 (25.0)
胫骨骨折		3 (25.0)

[0271] ^a仅包括发生日期在施用第一剂量的卡西莫森之后的TEAE。

[0272] 治疗相关的TEAE包括2名接受卡西莫森治疗的患者中的1例中度缺铁和1例轻度潮红,以及1名接受安慰剂的患者中的轻度接触性皮炎。卡西莫森相关的TEAE在研究期间消退;安慰剂相关的TEAE在研究结束时仍在持续。

[0273] 在联合治疗期间,接受30mg/kg卡西莫森的患者发生了五例严重TEAE (1名患者为胫骨骨折,1名患者为菌血症、败血性栓塞和腔静脉血栓以及1名患者为股骨骨折)。所有5起事件均被视为与治疗无关,在研究期间消退,并且在进一步给药时不再复发。

[0274] 在血液学、凝血病、化学或其他临床实验室参数中未观察到模式、趋势或异常。在超声心动图的传导时间或功能评估中未观察到心脏信号。报告了一例瞬态室性心动过速,但该事件被认为与卡西莫森治疗无关,并且心电图归一化,没有后遗症。

[0275] 药代动力学

[0276] 对于30mg/kg剂量水平,在第7周和第60周时,平均血浆卡西莫森浓度与时间曲线相似。对于卡西莫森30mg/kg剂量水平,所有PK参数在第7周和第60周时相似(表5)。

[0277] 表5:按剂量水平和周划分的关键血浆卡西莫森非房室PK参数汇总

参数	第1周 卡西莫森 4 mg/kg (n=8)	第3周 卡西莫森 10 mg/kg (n=8) ^a	第5周 卡西莫森 20 mg/kg (n=8)	第7周 卡西莫森 30 mg/kg (n=8)	第60周 卡西莫森 30 mg/kg (n=12)
[0278] C_{max} , ng/mL	13,700 (25.0)	39,400 (11.7)	64,400 (27.4)	119,000 (33.6)	115,000 (31.5)
t_{max} , h	1.1 (0.9-1.2)	1.03 (0.9-1.2)	1.03 (0.8-1.2)	0.94 (0.8-1.2)	0.95 (0.8-1.1)
AUC_∞ ,	23,300 (29.5)	58,300 (16.0)	101,000 (17.7)	189,000 (27.5)	182,000 (33.9)

参数	第1周 卡西莫森 4 mg/kg (n=8)	第3周 卡西莫森 10 mg/kg (n=8) ^a	第5周 卡西莫森 20 mg/kg (n=8)	第7周 卡西莫森 30 mg/kg (n=8)	第60周 卡西莫森 30 mg/kg (n=12)
[0279] h·ng/mL					
V_{ss} , L/kg	0.369 (24.4)	0.343 (12.5)	0.407 (23.4)	0.319 (31.4)	0.367 (28.9)
CL , L/h/kg	0.177 (29.1)	0.181 (15.9)	0.205 (18.5)	0.163 (27.7)	0.180 (35.0)
t_{1/2} , h	2.92 (0.985)	3.29 (0.640)	3.71 (0.616)	3.82 (0.741)	3.45 (0.359)

[0280] 除t_{max}和t_{1/2}外,所有参数的值均显示为几何平均值(几何变异系数百分比);t_{max}表示为中位值(最小值-最大值);t_{1/2}表示为平均值(标准差)。

[0281] ^a在第3周,对于AUC_∞、V_{ss}、CL和t_{1/2},n=7。

[0282] AUC_∞,从时间0外推至无穷的浓度-时间曲线下面积。

[0283] 总结

[0284] 在这项研究中,卡西莫森30mg/kg在患有晚期DMD并且具有适合于外显子45跳跃的确认突变的患者中具有良好耐受性。大多数报告的TEAE的严重程度是轻度的,报告的治疗相关的TEAE很少,并且没有患者由于TEAE而停止研究药物或减少研究药物剂量。未发现心电图和超声心动图中有临床意义的实验室异常或恶化。卡西莫森PK分析表明,在以30mg/kg每周给药后,很少累积或没有累积。

[0285] *****

[0286] 本说明书中引用的所有公开和专利申请以引用的方式并入本文,就如同各个别公开或专利申请被具体地并且单独地指示以引用的方式并入本文中一般。

序列表

<110> 萨勒普塔医疗公司

<120> 用于治疗肌营养不良的方法

<130> 8174.45.W000

<140>

<141>

<150> 62/902, 518

<151> 2019-09-19

<150> 62/825, 573

<151> 2019-03-21

[0001]

<160> 1

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> 注释= “人工序列的描述: 合成
寡核苷酸”

<400> 1

caatgccatc ctggagttcc tg

22