

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-509438
(P2025-509438A)

(43)公表日 令和7年4月11日(2025.4.11)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 P	21/04 (2006.01)	A 6 1 P	21/04		4 C 0 8 6
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088		
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54		
A 6 1 K	47/22 (2006.01)	A 6 1 K	47/22		
		審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全151頁)			
(21)出願番号	特願2024-553854(P2024-553854)	(71)出願人	501237039		
(86)(22)出願日	令和5年3月16日(2023.3.16)		サレプタ セラピューティクス, インコ		
(85)翻訳文提出日	令和6年9月10日(2024.9.10)		ーポレイテッド		
(86)国際出願番号	PCT/US2023/064513		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2		
(87)国際公開番号	WO2023/178230		1 4 2, ケンブリッジ, ファースト		
(87)国際公開日	令和5年9月21日(2023.9.21)		ストリート 2 1 5		
(31)優先権主張番号	63/320,773	(74)代理人	100078282		
(32)優先日	令和4年3月17日(2022.3.17)		弁理士 山本 秀策		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100113413		
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV	(74)代理人	100181674		
	最終頁に続く	(74)代理人	弁理士 森下 夏樹		
		(74)代理人	100181674		
		(74)代理人	弁理士 飯田 貴敏		
		(74)代理人	100181641		
		(74)代理人	弁理士 石川 大輔		
		(74)代理人	230113332		
			最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーコンジュゲート

(57)【要約】
ヒトジストロフィン遺伝子におけるエクソンのスキッピングを引き起こす、新規なアンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲート、及びデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）に罹患している患者における筋ジストロフィーを治療する方法におけるその使用が、記載される。

【選択図】 図 1

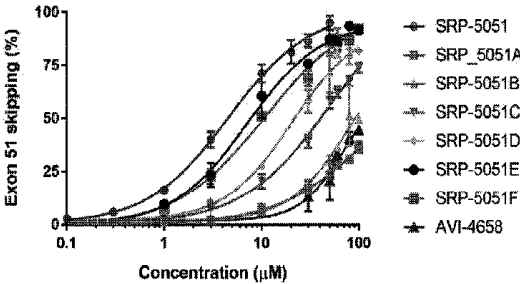


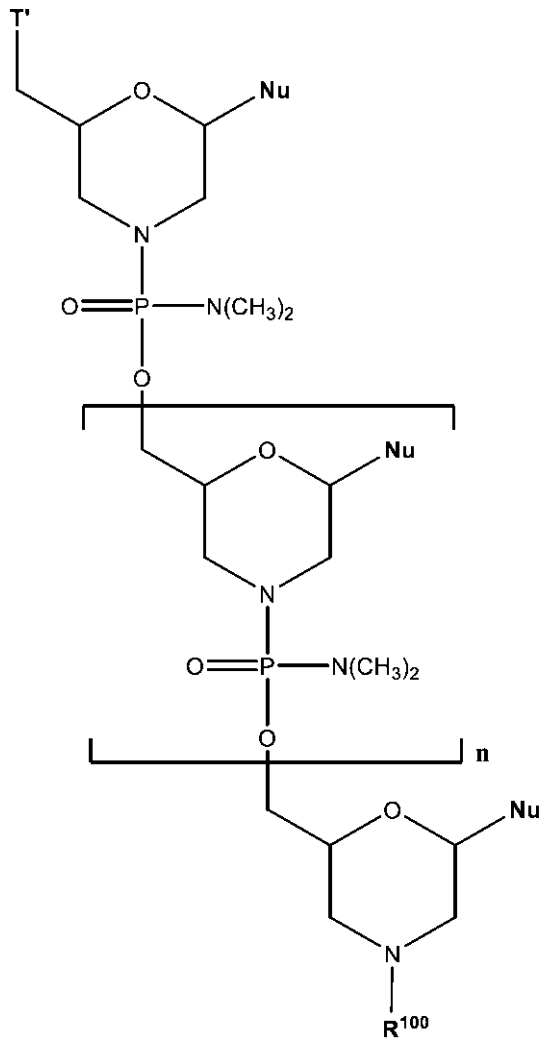
FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

【化 199】



(I)、

又はその薬学的に許容される塩であり、

式中、

 n は、1 ~ 40 であり、

各 Nu は、一緒になって、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソンアニーリング部位に相補的な標的配列を形成する核酸塩基であり、

 T' は、以下から選択される部分であり、

10

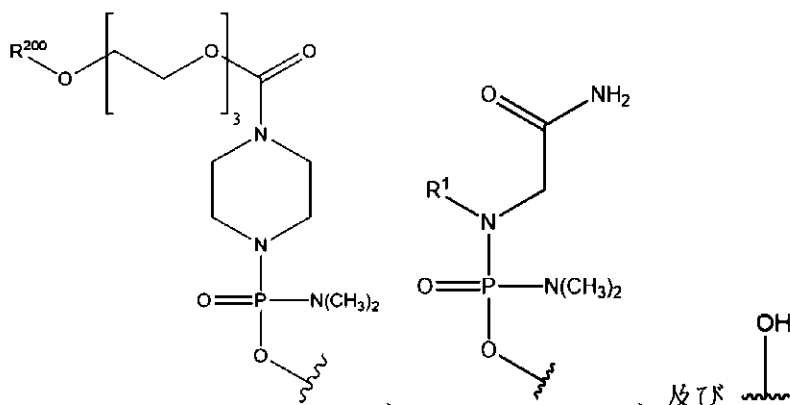
20

30

40

50

【化 2 0 0】



10

式中、

R^{100} は、RRRRRG-、RRRRG-、RRRG-、RRG-、RG-、及び G- からなる群から選択され、式中、R は、アルギニンであり、G は、グリシンであり、

R^{200} は、水素であり、

R^1 は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルである。

【請求項 2】

前記標的配列が、H51A (+66+95) として指定される、ジストロフィンプレ m RNA 中のエクソン 51 アニリング部位に相補的である、請求項 1 に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

20

【請求項 3】

前記標的配列が、H45A (-03+19) として指定される、ジストロフィンプレ m RNA 中のエクソン 45 アニリング部位に相補的である、請求項 1 に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 4】

前記標的配列が、H53A (+36+60) として指定される、ジストロフィンプレ m RNA 中のエクソン 53 アニリング部位に相補的である、請求項 1 に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

30

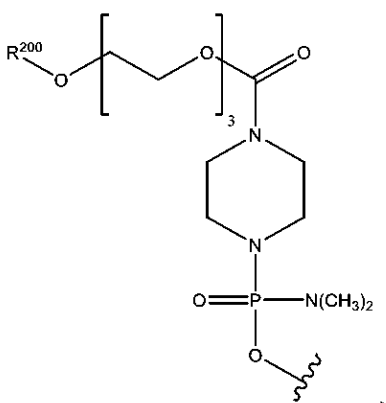
【請求項 5】

各 Nu が、独立して、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T)、アデニン (A)、5-メチルシトシン (5mC)、ウラシル (U)、及びヒポキサンチン (I) から選択される、請求項 1～4 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 6】

T' が、以下の部分であり：

【化 2 0 1】



40

50

式中、 R^{200} は、水素である、請求項1～5のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項7】

R^{100} が、 $RRRRRG-$ である、請求項1～6のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項8】

R^{100} が、 $RRRRG-$ である、請求項1～6のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項9】

R^{100} が、 $RRRG-$ である、請求項1～6のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

10

【請求項10】

R^{100} が、 $RRG-$ である、請求項1～6のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項11】

R^{100} が、 $RG-$ である、請求項1～6のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項12】

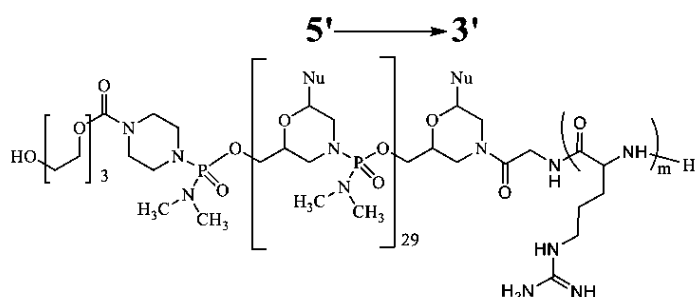
R^{100} が、 $G-$ である、請求項1～6のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

20

【請求項13】

式(V)を有する、請求項1～12のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

【化202】



30

(V)、

又はその薬学的に許容される塩であって、式中、

各Nuが、一緒になって、ジストロフィンプレmRNA中のエクソンアニーリング部位に相補的である標的配列を形成する核酸塩基であり、

mが、0、1、2、3、4、又は5である、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

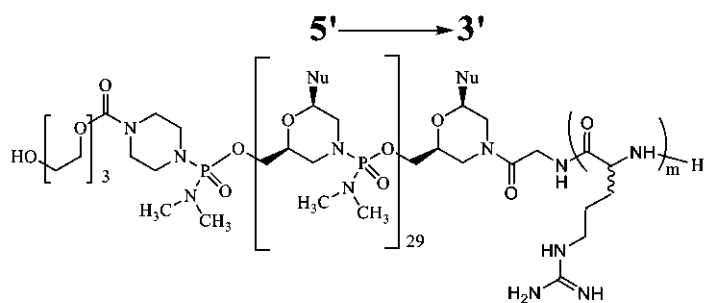
【請求項14】

40

式(VA)を有する、請求項1～13のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

50

【化 2 0 3】

 (VA) .

10

又はその薬学的に許容される塩であって、式中、mが、0、1、2、3、4、又は5であり、1～30及び5'から3'の各Nuが、

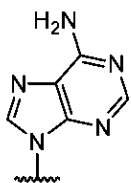
【表 28】

位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu
1	C	6	A	11	A	16	A	21	G	26	T
2	T	7	C	12	A	17	G	22	C	27	C
3	C	8	A	13	G	18	A	23	A	28	T
4	C	9	T	14	G	19	T	24	T	29	A
5	A	10	C	15	A	20	G	25	T	30	G

20

ここで、 A が、

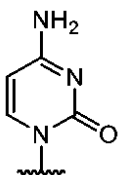
【化 2 0 4】



30

であり、Cが、

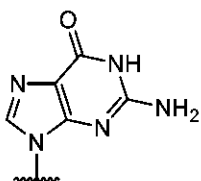
【化 2 0 5】



40

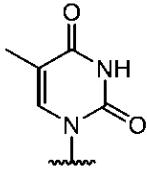
であり、 G が、

【化 2 0 6】



であり、 T が、

【化 2 0 7】

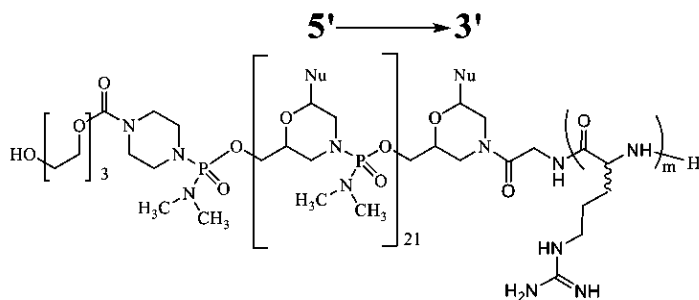


である、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 5】

式 (V I I) を有する、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート： 10

【化 2 0 8】



(V I I) 、

又はその薬学的に許容される塩であって、式中、

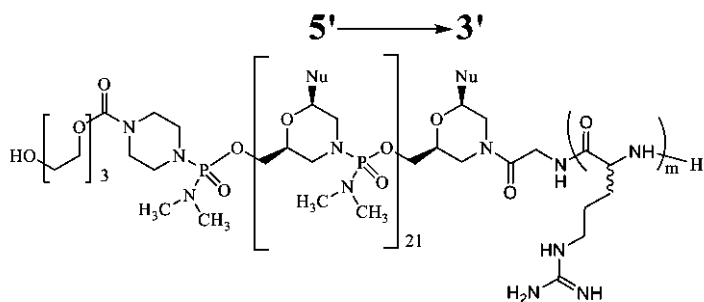
各 Nu が、一緒になって、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソンアニーリング部位に相補的である標的配列を形成する核酸塩基であり、

m が、0、1、2、3、4、又は 5 である、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 6】

式 (V I I A) を有する、請求項 1 ～ 1 2、又は 1 5 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート： 30

【化 2 0 9】



(V I I A)

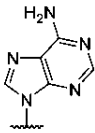
又はその薬学的に許容される塩であり、式中、m は、0、1、2、3、4、又は 5 であり、1 ～ 2 2 及び 5 ' から 3 ' の各 Nu は、以下の通りである：

【表 2 9】

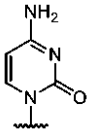
位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	C	6	C	11	C	16	G	21	T
2	A	7	C	12	T	17	T	22	G
3	A	8	A	13	G	18	T		
4	T	9	T	14	G	19	C		
5	G	10	C	15	A	20	C		

10

ここで、Aが、
【化 2 1 0】

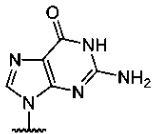


であり、Cが、
【化 2 1 1】



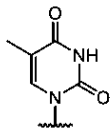
20

であり、Gが、
【化 2 1 2】



30

であり、Tが、
【化 2 1 3】



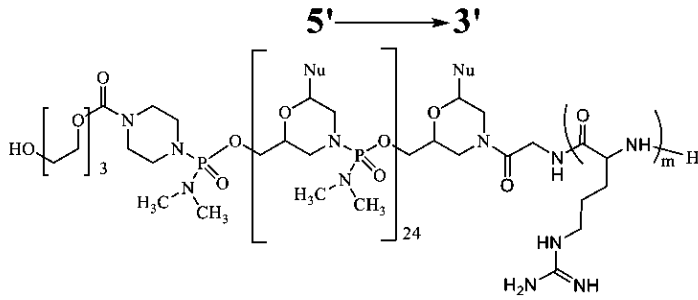
である、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。
【請求項 1 7】

40

式 (IX) を有する、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマー
コンジュゲート：

50

【化 2 1 4】



(IX)、

10

又はその薬学的に許容される塩であって、式中、

各 Nu が、一緒になって、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソンアニーリング部位に相補的である標的配列を形成する核酸塩基であり、

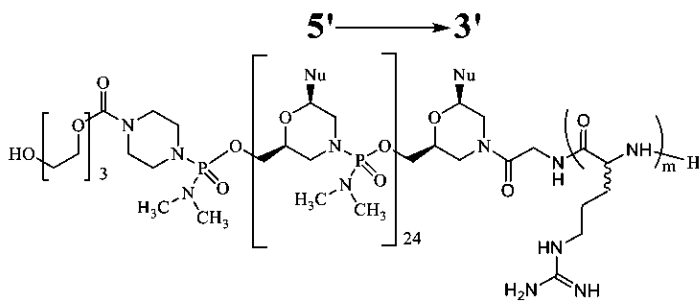
m が、0、1、2、3、4、又は 5 である、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 18】

式 (IXA) を有する、請求項 1～12、又は 17 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

【化 2 1 5】

20



(IXA)

30

又はその薬学的に許容される塩であって、式中、m が、0、1、2、3、4、又は 5 であり、

1～25、及び 5' から 3' の各 Nu が、以下の通りである：

【表 30】

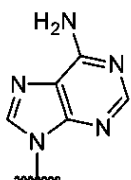
位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	G	6	C	11	G	16	G	21	T
2	T	7	T	12	T	17	A	22	G
3	T	8	C	13	T	18	A	23	T
4	G	9	C	14	C	19	G	24	T
5	C	10	G	15	T	20	G	25	C

40

ここで、A が、

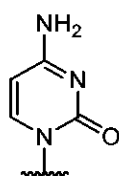
50

【化 2 1 6】



であり、C が、

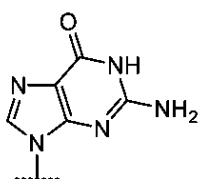
【化 2 1 7】



10

であり、G が、

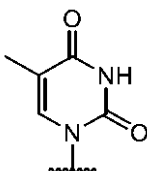
【化 2 1 8】



20

であり、T が、

【化 2 1 9】



30

である、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 9】

m が、0 である、請求項 1 3 ～ 1 8 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 2 0】

m が、1 である、請求項 1 3 ～ 1 8 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 2 1】

m が、2 である、請求項 1 3 ～ 1 8 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

40

【請求項 2 2】

m が、3 である、請求項 1 3 ～ 1 8 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 2 3】

m が、4 である、請求項 1 3 ～ 1 8 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 2 4】

m が、5 である、請求項 1 3 ～ 1 8 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

50

【請求項 25】

前記アンチセンスオリゴマーコンジュゲートが、遊離塩基である、請求項 1～24 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート。

【請求項 26】

前記アンチセンスオリゴマーコンジュゲートが、薬学的に許容される塩である、請求項 1～24 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート。

【請求項 27】

前記アンチセンスオリゴマーコンジュゲートが、塩酸塩である、請求項 1～24、又は 26 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート。

【請求項 28】

請求項 1～27 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 29】

前記医薬組成物が、非経口使用のために製剤化される、請求項 28 に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

エクソンスキッピングに適している変異を有するデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）を有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法であって、請求項 1～27 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩を、前記患者に投与することを含む、方法。

【請求項 31】

前記アンチセンスオリゴマーコンジュゲートが、ヒトジストロフィン遺伝子におけるエクソンスキッピングを引き起こす、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記エクソンが、エクソン 44、45、50、51、52、又は 53 から選択される、請求項 30 又は 31 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

前記エクソンが、エクソン 45、51、又は 53 から選択される、請求項 30～32 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 34】

アンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いて、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）を有する患者を治療する方法であって、請求項 1～27 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩を、前記患者に投与することを含む、方法。

【請求項 35】

エクソンスキッピングに適している変異を有するデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）を有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法であって、請求項 28 又は 29 の組成物及びその薬学的に許容される担体を、前記患者に投与することを含む、方法。

【請求項 36】

前記アンチセンスオリゴマーコンジュゲートが、ヒトジストロフィン遺伝子におけるエクソンスキッピングを引き起こす、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

前記エクソンが、エクソン 44、45、50、51、52、又は 53 から選択される、請求項 35 又は 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記エクソンが、エクソン 45、51、又は 53 から選択される、請求項 35～37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

アンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いて、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（

10

20

30

40

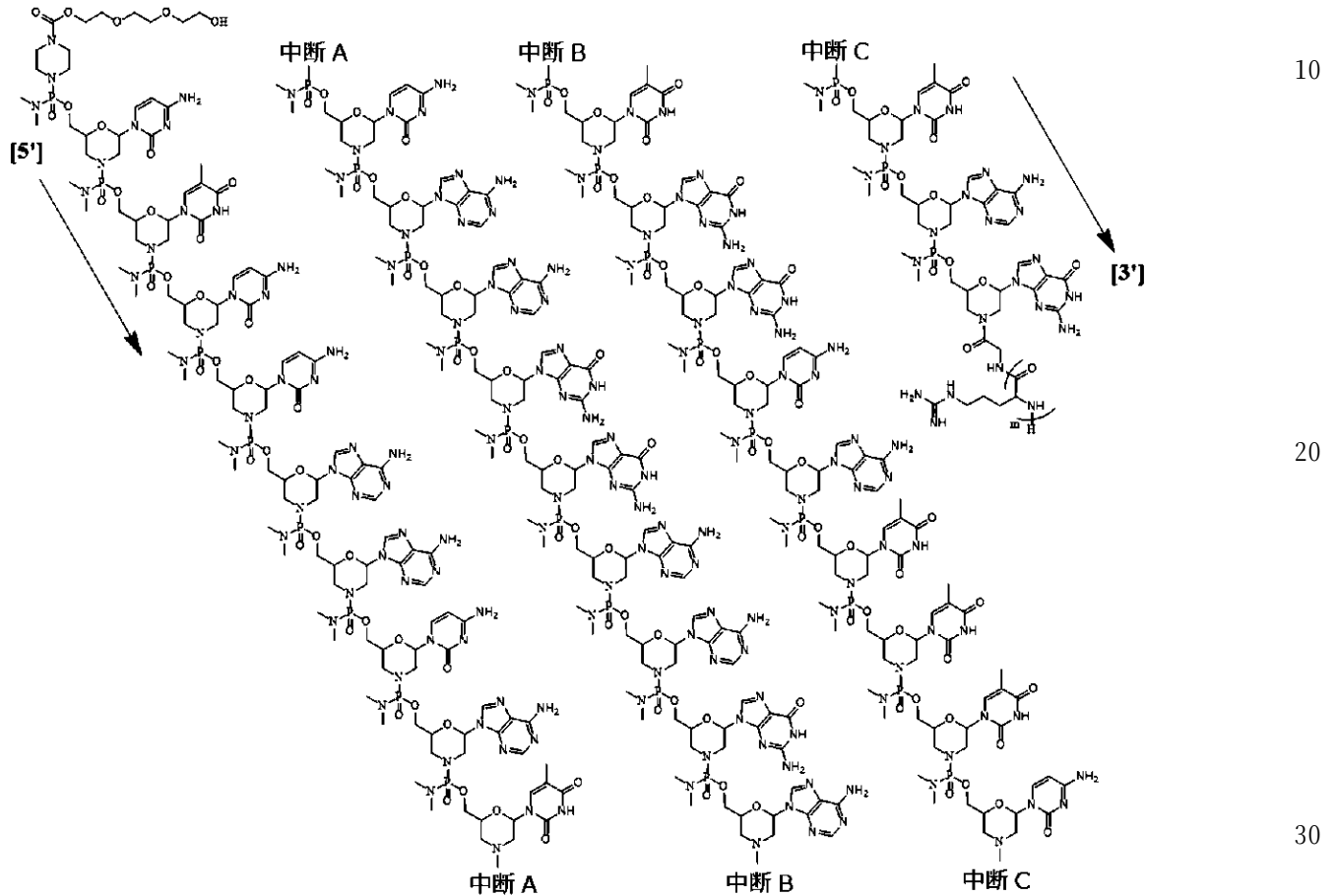
50

DMD)を有する患者を治療する方法であって、請求項28又は29に記載の組成物及び薬学的に許容される担体を、前記患者に投与することを含む、方法。

【請求項40】

エクソン51スキッピングに適している変異を有するデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)を有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法であって、式(VI)

【化220】



(VI)

又はその薬学的に許容される塩を、前記患者に投与することを含み、式中、mが、0、1、2、3、4、又は5である、方法。

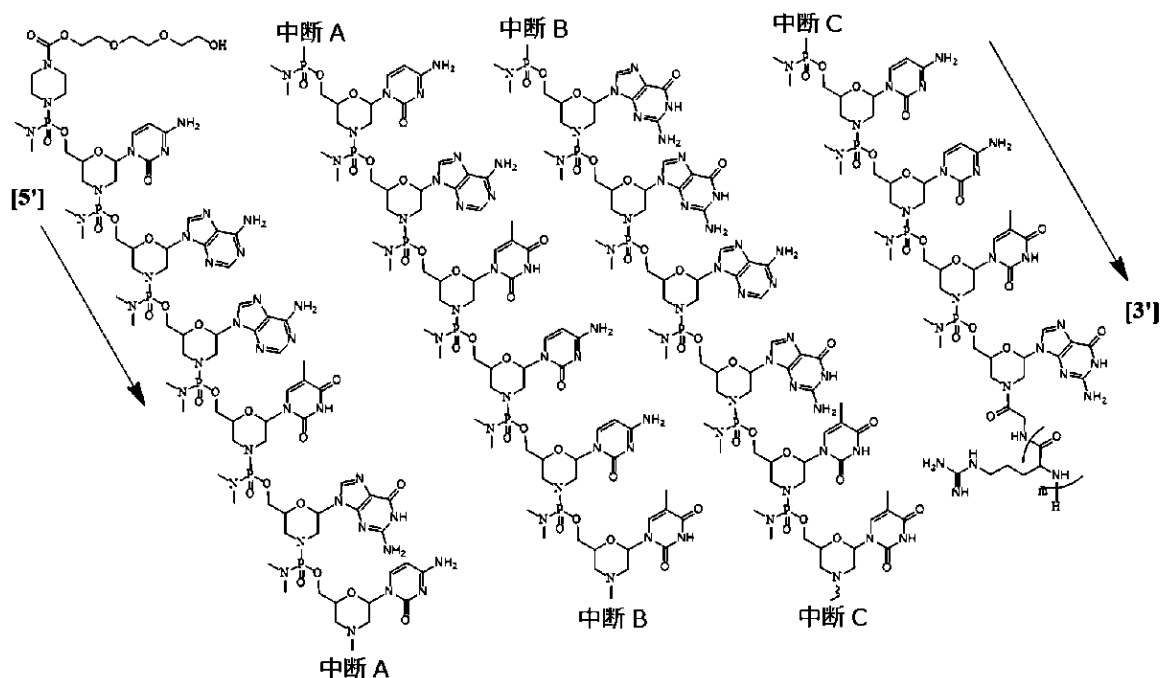
【請求項41】

エクソン45スキッピングに適している変異を有するデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)を有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法であって、式(VII)

40

50

【化 2 2 1】



10

20

(V I I I) 、

又はその薬学的に許容される塩を、前記患者に投与することを含み、式中、 m が、0、1、2、3、4、又は5である、方法。

【請求項 4 2】

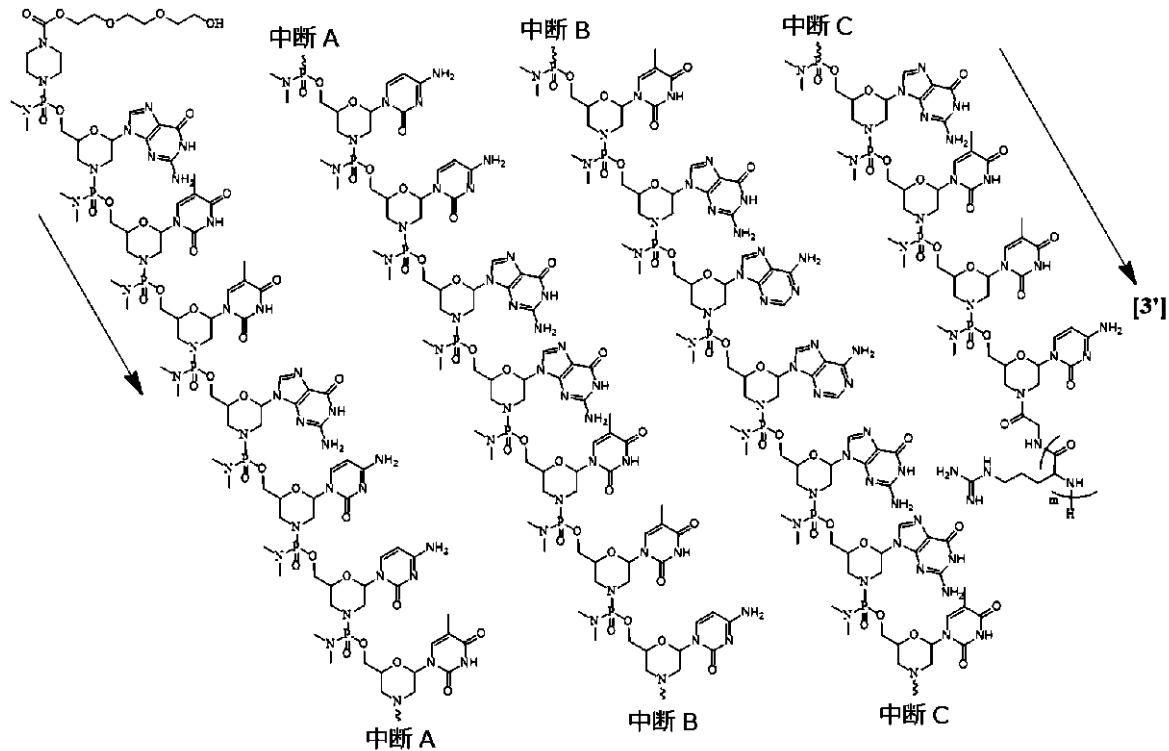
エクソン 5 スキッピングに適している変異を有するデュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) を有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法であって、式 (X) を有するアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

30

40

50

【化 2 2 2】



(X)

又はその薬学的に許容される塩を、前記患者に投与することを含み、式中、 m が、0、1、2、3、4、又は5である、方法。

【請求項 4 3】

エクソンスキッピングに適している変異を有する患者における、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）の治療に使用するための、請求項 1～27 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 4 4】

前記アンチセンスオリゴマーコンジュゲートが、前記ヒトジストロフィン遺伝子のエクソンのスキッピングを引き起こす、請求項 4 3 に記載の使用のためのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート。

【請求項 4 5】

前記エクソンが、エクソン 44、45、50、51、52、又は 53 から選択される、請求項 4 3 又は 4 4 に記載の使用のためのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート。

【請求項 4 6】

前記エクソンが、エクソン 45、51、又は 53 から選択される、請求項 4 3～4 5 のいずれか一項に記載の使用のためのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート。

【請求項 4 7】

エクソンスキッピングに適している変異を有する患者における、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）の治療に使用するための、請求項 1～27 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩を含む、医薬組成物。

【請求項 4 8】

前記アンチセンスオリゴマーコンジュゲートが、前記ヒトジストロフィン遺伝子のエクソンのスキッピングを引き起こす、請求項 4 7 に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 4 9】

前記エクソンが、エクソン 44、45、50、51、52、又は 53 から選択される、

10

20

30

40

50

請求項 47 又は 48 に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 50】

前記エクソンが、エクソン 45、51、又は 53 から選択される、請求項 47～49 のいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 51】

前記医薬組成物が、非経口使用のために製剤化される、請求項 47～50 のいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 52】

医薬として使用するための、請求項 1～27 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願)

本出願は、2022年3月17日に出願された米国仮出願第63／320,773号の利益を主張する。上記の出願の教示全体は、それらの全体が、参照により本明細書に組込まれる。

【0002】

(配列表)

本出願には、XML形式で電子的に提出された配列表が含まれ、それらの全体が、参照により本明細書に組込まれる。2023年3月16日に作成された当該XMLコピーは、4140__055PC01__SequenceListing__ST26と名付けられ、サイズは572,344バイトである。

【0003】

本開示は、特定のホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーアンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲートに関する。本開示は、ヒトジストロフィン遺伝子におけるエクソンのスキッピングを引き起こす、アンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲートを用いて、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）に罹患している患者における、筋ジストロフィーを治療するための方法に関する。

【背景技術】

【0004】

ジストロフィンは、骨格筋、横隔膜筋、及び心筋に影響を及ぼす、反復運動誘発性筋損傷から筋肉を保護する、重要な構造タンパク質である。デュシェンヌ型筋ジストロフィーは、ジストロフィン遺伝子の変異によって引き起こされる、稀で、重篤で、生命を脅かす、X連鎖性劣性神経筋変性疾患である。これらの変異は、ジストロフィンメッセンジャーリボ核酸（mRNA）のリーディングフレームを破壊し、機能性ジストロフィンタンパク質の翻訳を妨げる。エクソンのリーディングフレームを変化させるか、又は停止コドンを導入するか、又は全アウトオブフレームエクソンの除去若しくは1つ以上のエクソンの重複を特徴とする、任意のエクソンの変異は、機能性ジストロフィンの産生を妨げ、DMDをもたらす可能性がある。ジストロフィンタンパク質が存在しないことは、疾患の直接的な原因であり、患者は、幼児期から骨格筋機能のどんどん進行する劣化を伴い、通常30歳より前の早死につながる、予測可能な疾患経過をたどる。

【0005】

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）は、タンパク質ジストロフィンの発現の欠陥によって引き起こされる。タンパク質をコードする遺伝子は、DNAの200万を超えるヌクレオチドにわたって拡散された、79個のエクソンを含有する。エクソンのリーディングフレームを変化させるか、若しくは停止コドンを導入するか、又は全アウトオブフレームエクソンの除去若しくは1つ以上のエクソンの重複を特徴とする、任意のエクソンの変異は、機能性ジストロフィンの産生を妨げ、DMDをもたらす可能性がある。

【0006】

10

20

30

40

50

変異、典型的には、1つ以上のエクソンの欠失が、全ジストロフィン転写物に沿った正しいリーディングフレームをもたらし、これにより、mRNAのタンパク質への翻訳が早期に終結されない場合、より重症度の低い形態の筋ジストロフィーである、ベッカー型筋ジストロフィー（BMD）が生じることが分かっている。変異したジストロフィンプレ mRNAのプロセッシングにおける、上流、及び下流のエクソンの結合が、遺伝子の正しいリーディングフレームを維持する場合、結果は、ある程度の活性を保持する短い内部欠失を有するタンパク質をコードするmRNAであり、BMD表現型がもたらされる。

【0007】

長年にわたって、ジストロフィントタンパク質のリーディングフレームを変化させないエクソンの欠失が、BMD表現型を生じさせる一方で、フレームシフトを引き起こすエクソン欠失が、DMDを生じさせることが知られている（Monaco, Bertelson et al., 1988）。一般に、リーディングフレームを変化させ、したがって、適切なタンパク質翻訳を中断する、点変異、及びエクソン欠失を含む、ジストロフィン変異は、DMDをもたらす。また、いくつかのBMD、及びDMD患者が、複数のエクソンに及ぶ、エクソン欠失を有することにも留意すべきである。

【0008】

アンチセンスオリゴヌクレオチド、例えば、スプライススイッチングオリゴヌクレオチド（SSO）は、スプライソソームの立体遮断による、プレmRNAの選択的スプライシングを誘導するための、DMDの治療にうまく使用されている。SSOは、DMD遺伝子の変異のスキッピングを誘導するために、プレmRNA、典型的には、エクソンの特定の領域を標的とし、それによって、これらのアウトオブフレーム変異をインフレームで回復させて、内部で短縮されたが、機能的なジストロフィントタンパク質の産生を可能にするように、特別に設計されている。そのようなアンチセンスオリゴマーは、エクソン（いわゆる、エクソン内部配列）内、又はエクソンからイントロンの一部分に交差する、スプライスドナー若しくはスプライスアクセプター接合部で、完全に標的とすることが知られている。

【0009】

例えば、エテプリルセンは、エクソン51スキッピングが、リーディングフレームを回復させ、ジストロフィントタンパク質の機能性短縮形態を産生するのに適している、DMDを有する患者において、ヒトジストロフィン遺伝子のエクソン51をスキッピングするよう設計された、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー（PMO）である。米国食品医薬品局（FDA）は、2016年に、エクソン51スキッピングに適している、DMD遺伝子の確認された変異を有する患者における、DMDの治療のために、Exondys 51（登録商標）（エテプリルセン）を承認した。別の例として、同様に、PMOサブクラスのアンチセンスオリゴヌクレオチドであるゴロディルセン（Vyondys 53（登録商標））は、エクソン53スキッピングに適している、DMD遺伝子の確認された変異を有する患者における、DMDの治療のために承認された。加えて、同様に、PMOサブクラスのアンチセンスオリゴヌクレオチドであるカシメルセン（Amondys 45（登録商標））は、エクソン45スキッピングに適している、DMD遺伝子の確認された変異を有する患者における、DMDの治療のために米国で最近承認された。

【0010】

DMDのための細胞膜透過性ペプチドにコンジュゲートされた、アンチセンスオリゴマー（例えば、PPMO）の発見、及び開発も、研究分野であった（例えば、米国特許第10,888,578号、米国特許出願第16/469,104号、米国特許第11,000,600号を参照）。細胞膜透過性ペプチド（CPP）、例えば、アルギニンリッチペプチド輸送部分は、アンチセンスオリゴマーの細胞への透過を強化するのに有効であり、動物モデルの異なる筋肉群における、エクソンスキッピングを引き起こすことが示されている。

【0011】

したがって、細胞膜透過性ペプチドにコンジュゲートされたアンチセンスオリゴマーを

用いて前臨床モデルで達成された成功にも関わらず、ヒト患者において、そのようなコンジュゲートを用いてDMD、及びBMDを治療するための、安全かつ有効な投与パラダイムの必要性が依然としてある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】米国特許第10,888,578号明細書

【特許文献2】米国特許出願第16/469,104号

【特許文献3】米国特許第11,000,600号明細書

【発明の概要】

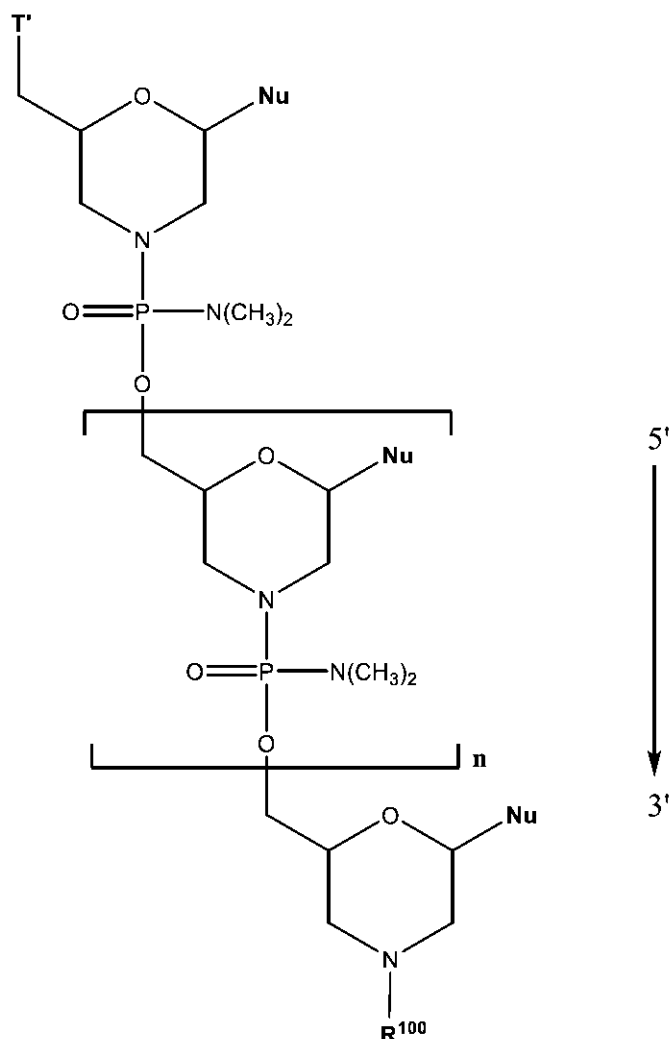
【0013】

式(I)による、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、薬理的に活性であることが見出されている。式(I)による、ある特定のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートはまた、例えば、筋肉、及び腎臓組織などの、異なる組織に分布することが見出されている。

【0014】

いくつかの態様では、本開示は、式(I)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

【化1】



(I)、

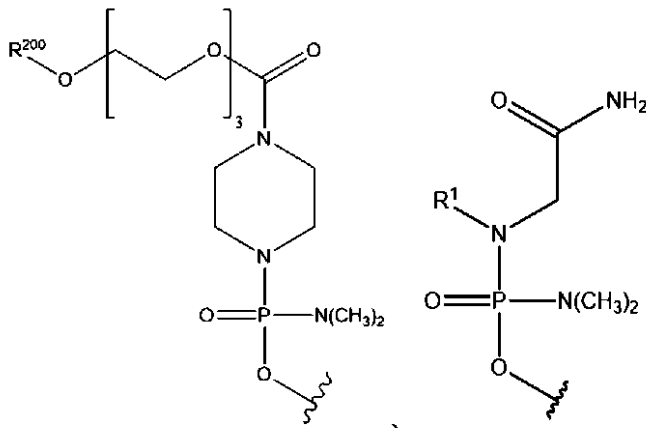
又はその薬学的に許容される塩に関し、
式中、

n は、 $1 \sim 40$ であり、

各 Nu は、一緒になって、ジストロフィンプレmRNA中のエクソンアニーリング部位に相補的な標的配列を形成する核酸塩基であり、

T' は、

【化2】



10

及び

【化3】



20

から選択される部分であり、式中、

R^{100} は、 $RRRRRG-$ 、 $RRRRG-$ 、 $RRRG-$ 、 $RRG-$ 、 $RG-$ 、及び $G-$ からなる群から選択され、式中、 R は、アルギニンであり、 G は、グリシンであり、

R^{200} は、水素であり、

R^1 は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルである。

いくつかの態様では、式 (I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩の標的配列は、 $H51A (+66+95)$ として指定される、ジストロフィンプレmRNA中の、エクソン51アニーリング部位に相補的である。

30

【0015】

いくつかの態様では、式 (I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩の標的配列は、 $H45A (-03+19)$ として指定される、ジストロフィンプレmRNA中の、エクソン45アニーリング部位に相補的である。

【0016】

いくつかの態様では、式 (I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩の標的配列は、 $H53A (+36+60)$ として指定される、ジストロフィンプレmRNA中の、エクソン53アニーリング部位に相補的である。

40

【0017】

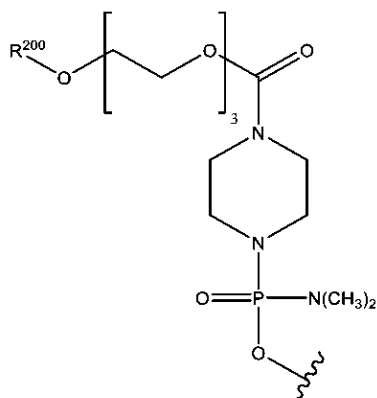
いくつかの態様では、式 (I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩中の、各 Nu は、独立して、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T)、アデニン (A)、5-メチルシトシン (5mC)、ウラシル (U)、及びヒポキサンチン (I) から選択される。

【0018】

いくつかの態様では、式 (I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩では、 T' は、部分：

50

【化 4】



式中、 R^{200} は、水素である。

【 0 0 1 9 】

いくつかの態様では、本開示は、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及びその薬学的に許容される塩を提供し、式中、 R^{100} は、RRRRRG-である。

【 0 0 2 0 】

いくつかの態様では、本開示は、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及びその薬学的に許容される塩を提供し、式中、 R^{100} は、RRRRG-である。

【 0 0 2 1 】

いくつかの態様では、本開示は、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及びその薬学的に許容される塩を提供し、式中、 R^{100} は、RRRG-である。

【 0 0 2 2 】

いくつかの態様では、本開示は、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及びその薬学的に許容される塩を提供し、式中、 R^{100} は、RRG-である。

【 0 0 2 3 】

いくつかの態様では、本開示は、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及びその薬学的に許容される塩を提供し、式中、 R^{100} は、RG-である。

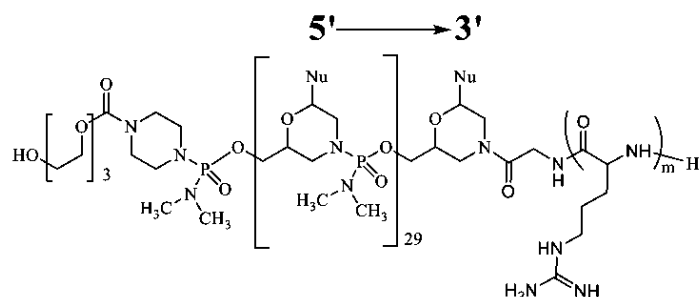
【 0 0 2 4 】

いくつかの態様では、本開示は、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及びその薬学的に許容される塩を提供し、式中、 R^{100} は、G-である。

【 0 0 2 5 】

別の態様では、本開示は、式（V）を有するアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

【化 5】



(V)

又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、

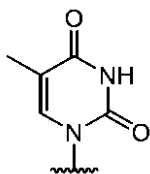
各 Nu は、一緒になって、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソンアニーリング部位に相補的である標的配列を形成する核酸塩基であり、

m は、 0 、 1 、 2 、 3 、 4 、又は 5 である。

【 0 0 2 6 】

であり、Tは、

【化10】



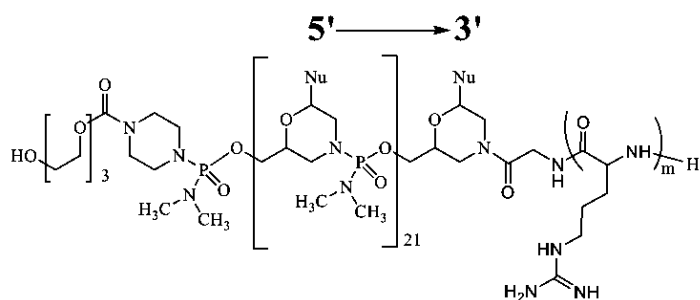
である。

【0027】

10

別の態様では、本開示は、式(VII)を有するアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

【化11】



20

(VII)、

又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、

各Nuは、一緒になって、ジストロフィンプレmRNA中のエクソンアニーリング部位に相補的である標的配列を形成する核酸塩基であり、

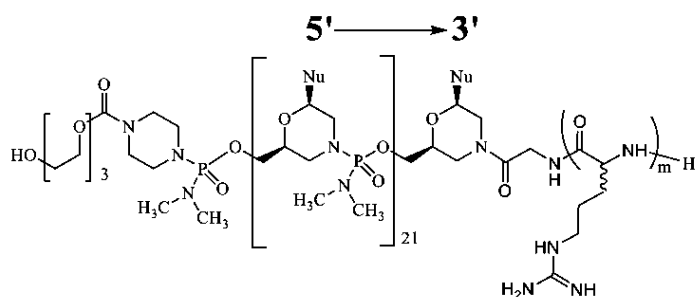
mは、0、1、2、3、4、又は5である。

【0028】

いくつかの実施形態では、式(VII)のアンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲートは、式(VIIA)に従い：

30

【化12】



(VIIA)

40

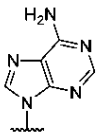
又はその薬学的に許容される塩であり、式中、mは、0、1、2、3、4、又は5であり、1～22及び5'から3'の各Nuは、以下の通りである：

【表 8】

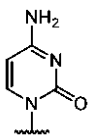
位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu
1	C	6	C	11	C	16	G	21	T
2	A	7	C	12	T	17	T	22	G
3	A	8	A	13	G	18	T		
4	T	9	T	14	G	19	C		
5	G	10	C	15	A	20	C		

10

ここで、A は、
【化 1 3】

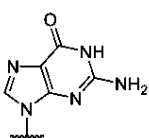


であり、C は、
【化 1 4】



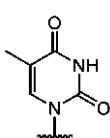
20

であり、G は、
【化 1 5】



30

であり、T は、
【化 1 6】

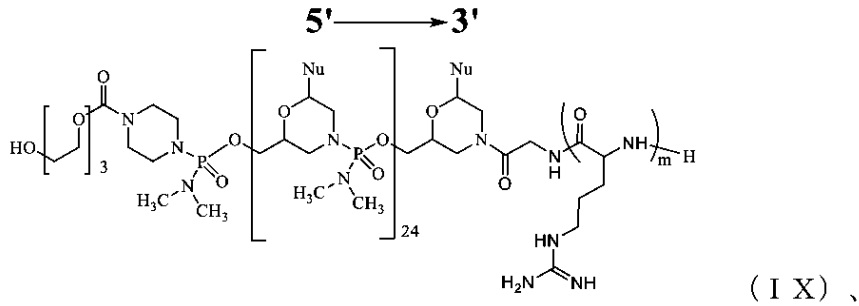


である。
【0 0 2 9】

40

別の態様では、本開示は、式（IX）を有するアンチセンスオリゴマーコンジュゲート
：

【化 1 7】



10

又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、

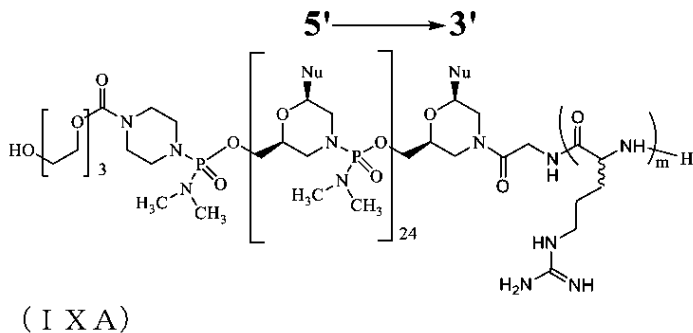
各 Nu は、一緒になって、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソンアニーリング部位に相補的である標的配列を形成する核酸塩基であり、

m は、0、1、2、3、4、又は 5 である。

【0030】

いくつかの実施形態では、式 (IX) アンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲートは、式 (IXA) に従い：

【化 1 8】



20

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、m は、0、1、2、3、4、又は 5 であり、

30

式中、1～25 及び 5' から 3' の各 Nu は、以下の通りである：

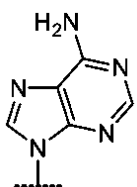
【表 9】

位置	Nu	位置	Nu	位置	Nu	位置	Nu	位置	Nu
5'から3'		5'から3'		5'から3'		5'から3'		5'から3'	
1	G	6	C	11	G	16	G	21	T
2	T	7	T	12	T	17	A	22	G
3	T	8	C	13	T	18	A	23	T
4	G	9	C	14	C	19	G	24	T
5	C	10	G	15	T	20	G	25	C

40

ここで、A は、

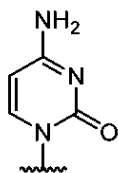
【化 1 9】



50

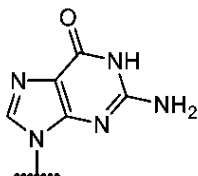
であり、Cは、

【化20】



であり、Gは、

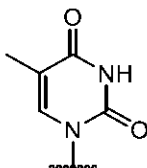
【化21】



10

であり、Tは、

【化22】



20

である。

【0031】

ある特定の態様では、本開示は、式(V)、(VA)、(VII)、(VIIA)、(IX)、若しくは(IXA)のいずれかのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、mは、0である。

【0032】

ある特定の態様では、本開示は、式(V)、(VA)、(VII)、VIIA)、(IX)、若しくは(IXA)のいずれかのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、mは、1である。

【0033】

ある特定の態様では、本開示は、式(V)、(VA)、(VII)、VIIA)、(IX)、若しくは(IXA)のいずれかのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、mは、2である。

【0034】

ある特定の態様では、本開示は、式(V)、(VA)、(VII)、VIIA)、(IX)、若しくは(IXA)のいずれかのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、mは、3である。

40

【0035】

ある特定の態様では、本開示は、式(V)、(VA)、(VII)、VIIA)、(IX)、若しくは(IXA)のいずれかのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、mは、4である。

【0036】

ある特定の態様では、本開示は、式(V)、(VA)、(VII)、VIIA)、(IX)、若しくは(IXA)のいずれかのアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、mは、5である。

【0037】

50

ある特定の実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、遊離塩基形態で提供される。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、塩酸塩などの、薬学的に許容される塩である。

【0038】

本開示はまた、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩などの、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートと、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、非経口使用のために製剤化される。

【0039】

本開示は、エクソンスキッピングに適している変異を有する、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）を有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法を提供し、方法は、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩などの、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、患者に投与することを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、ヒトジストロフィン遺伝子における、エクソンのスキッピングを引き起こす。いくつかの実施形態では、エクソンは、エクソン44、45、50、51、52、又は53から選択される。いくつかの実施形態では、エクソンは、エクソン45、51、又は53から選択される。

10

【0040】

本開示は、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）を有する患者を、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートで治療する方法を提供し、方法は、式（I）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩などの、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、患者に投与することを含む。

20

【0041】

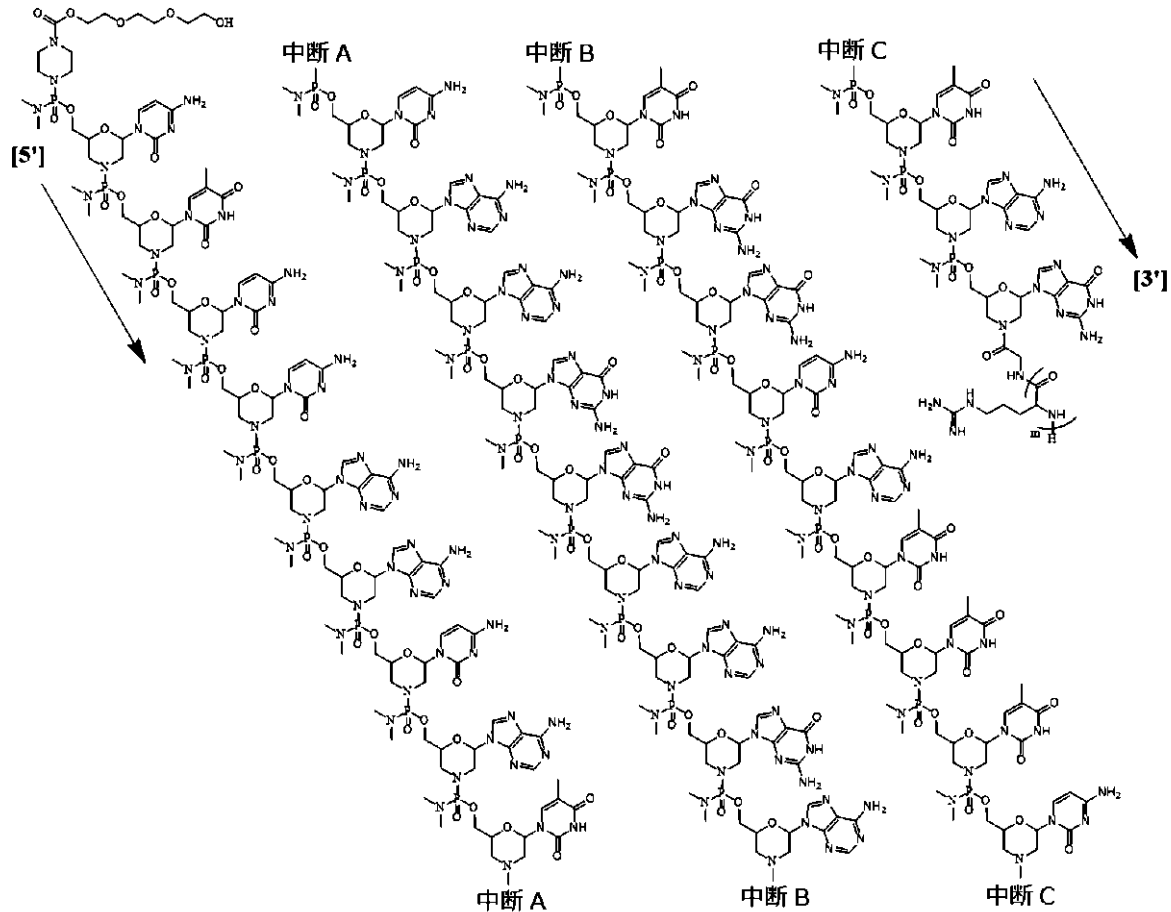
ある特定の態様では、本開示は、エクソン51スキッピングに適している変異を有する、DMDを有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法を提供し、方法は、式（VI）を有するアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

30

40

50

【化 2 3】



(V I)

又はその薬学的に許容される塩を、患者に投与することを含み、式中、 m は、0、1、2、3、4、又は5である。

【0042】

ある特定の態様では、本開示は、エクソン45スキッピングに適している変異を有する、DMDを有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法を提供し、方法は、式(V I I I)を有するアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

10

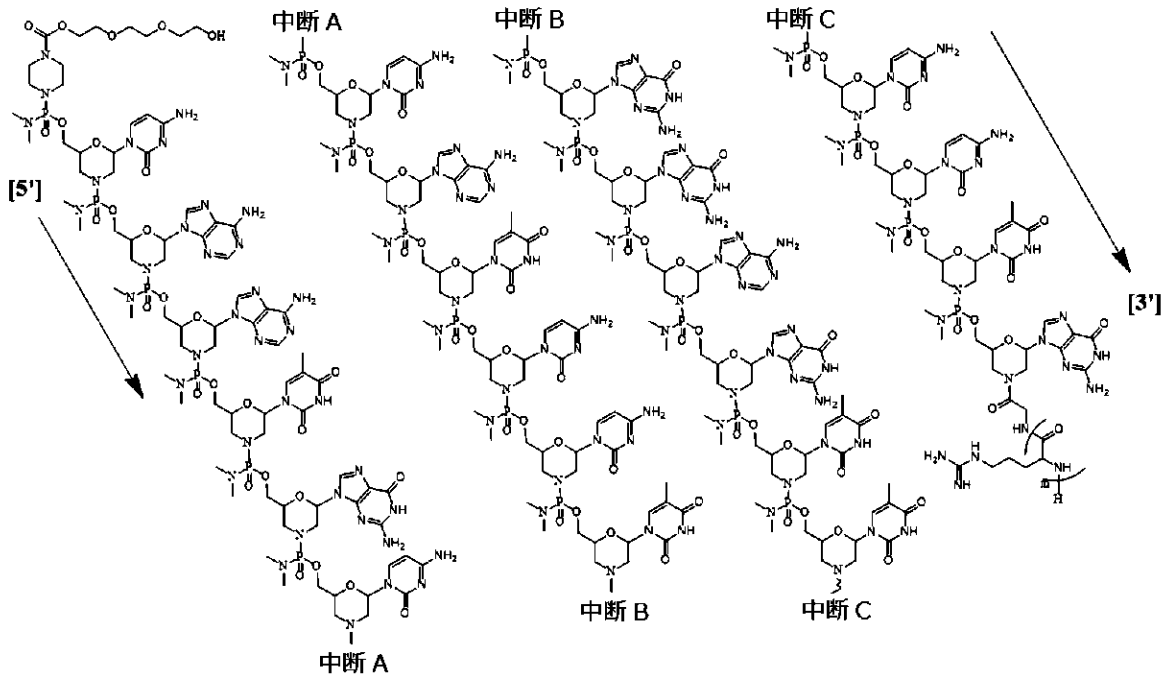
20

30

40

50

【化 2 4】



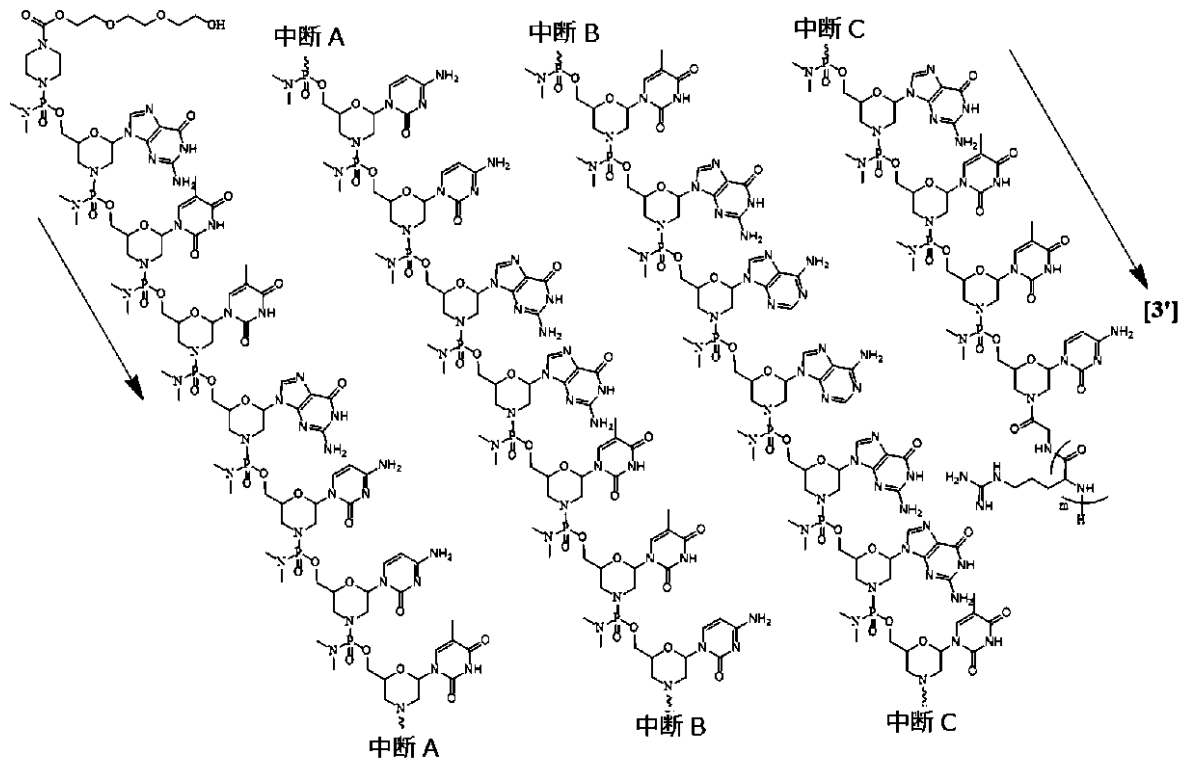
(V I I I) 、

又はその薬学的に許容される塩を、患者に投与することを含み、式中、 m は、0、1、2、3、4、又は5である。

【0043】

ある特定の態様では、本開示は、エクソン53スキッピングに適している変異を有する、DMDを有する患者の治療を、それを必要とする患者に行う方法を提供し、方法は、式(X)を有するアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

【化 25】



(X)

又はその薬学的に許容される塩を、患者に投与することを含み、式中、 m は、0、1、2、3、4、又は5である。

【図面の簡単な説明】

【0044】

【図1】エクソン51スキッピング(%)－濃度(μM)

【発明を実施するための形態】

【0045】

本開示は、患者における、DMD、及びBMDなどの、筋ジストロフィーを治療するための方法における、アンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲート、及びそれらの使用に関する。方法は、ヒトジストロフィン遺伝子において、エクソンスキッピングを誘導するために、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を、投与することを含む。

【0046】

定義

「約」とは、基準の数量、レベル、値、数、頻度、割合、寸法、サイズ、量、重量、又は長さに対して、30%、25%、20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、又は1%ほどまで変化する、数量、レベル、値、数、頻度、割合、寸法、サイズ、量、重量、又は長さを意味する。

【0047】

本明細書で使用される場合、「アルキル」という用語は、別段の定めがない限り、飽和直鎖又は分岐鎖炭化水素を指す。ある特定の実施形態では、アルキル基は、一級、二級、又は三級炭化水素である。ある特定の実施形態では、アルキル基は、1～10個の炭素原子、すなわち、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$ アルキルを含む。ある特定の実施形態では、アルキル基は、1～6個の炭素原子、すなわち、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルを含む。ある特定の実施形態では、アルキル基は、メチル、 CF_3 、 CCl_3 、 CFCl_2 、 CF_2Cl 、エチル、 CH_2CF_3 、 CF_2CF_3 、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、

トープチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、3-メチルペンチル、2,2-ジメチルブチル、及び2,3-ジメチルブチルからなる群から選択される。この用語は、ハロゲン化アルキル基を含む、置換アルキル基、及び非置換アルキル基の両方を含む。ある特定の実施形態では、アルキル基は、フッ素化アルキル基である。アルキル基が置換され得る部分の非限定的な例は、当業者に既知であるように、例えば、参照により本明細書に組込まれる、Greene, et al., *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, Second Edition, 1991で教示されるように、保護されていないか、又は必要に応じて保護されているかのいずれかの、ハロゲン（フルオロ、クロロ、ブロモ、若しくはヨード）、ヒドロキシル、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アルコキシ、アリールオキシ、ニトロ、シアノ、スルホン酸、硫酸塩、ホスホン酸、リン酸塩、又はホスホン酸塩からなる群から選択される。

10

【0048】

「エクソンスキッピングに適している」とは、対象、又は患者に関して本明細書で 사용되는場合、ジストロフィンプレmRNAの特定のエクソンのスキッピングを欠くことにより、リーディングフレームがアウトオブフレームとなり、それにより、プレmRNAの翻訳が妨げられて、対象又は患者が、機能性又は半機能性ジストロフィンを産生することができなくなる、ジストロフィン遺伝子の1つ以上の変異を有する、対象、及び患者を含むことが意図される。患者が、エクソンスキッピングに適しているジストロフィン遺伝子の変異を有するかを決定することは、十分に当業者の理解の範囲内である（例えば、Aartsma-Rus et al., (2009) *Hum Mutat.* 30:293-299、Gurvich et al., *Hum Mutat.* 2009; 30(4) 633-640、及びFletcher et al., (2010) *Molecular Therapy* 18(6) 1218-1223を参照）。

20

【0049】

「オリゴマー」及び「オリゴヌクレオチド」という用語は、互換的に使用され、サブユニット間結合によって結合される、サブユニットの配列を指す。ある特定の事例では、「オリゴマー」という用語は、「アンチセンスオリゴマー」に関連して使用される。「アンチセンスオリゴマー」について、各サブユニットは、(i) リボース糖又はその誘導体、及び(ii) それらに結合した核酸塩基からなり、これにより、塩基対合部分の順序は、サブユニット、サブユニット間結合、又は両方のいずれかが自然発生的ではないという条件で、標的配列内で、核酸：オリゴマーヘテロ二本鎖を形成するために、ワトソン-クリック塩基対合によって、核酸（典型的には、RNA）中の標的配列に相補的である、塩基配列を形成する。ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、PMOである。

30

【0050】

「相補的な」及び「相補性」という用語は、ワトソン-クリック塩基対合則によって互いに関連する、2つ以上のオリゴマー（すなわち、各々が、核酸塩基配列を含む）を指す。例えば、核酸塩基配列「T-G-A (5'→3')」は、核酸塩基配列「A-C-T (3'→5')」に相補的である。相補性は、「部分的」であり得、所与の核酸塩基配列の全てには満たない核酸塩基が、塩基対合則に従って、他の核酸塩基配列とマッチされる。例えば、いくつかの実施形態では、所与の核酸塩基配列と別の核酸塩基配列との間の相補性は、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、又は約95%であり得る。あるいは、例を続けると、所与の核酸塩基配列と別の核酸塩基配列との間に「完全な (complete)」、又は「完全な (perfect)」(100%) 相補性が存在し得る。核酸塩基配列間の相補性の程度は、配列間のハイブリダイゼーションの効率及び強度に、有意な影響を与える。

40

【0051】

「有効量」及び「治療有効量」という用語は、本明細書において互換的に使用され、所望の治療効果をもたらすのに有効である、単回投与として、又は連続投与の一部としてのいずれかで、哺乳動物対象に投与される、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートなどの

50

、治療化合物の量を指す。アンチセンスオリゴマーコンジュゲートについて、この効果は、典型的には、選択された標的配列の、翻訳若しくは天然のスプライスプロセッシングを阻害することによって、又は臨床的に有意な（統計的有意性）量のジストロフィンを産生することによって、もたらされる。

【0052】

「増強する」若しくは「増強すること」、又は「増加させる」若しくは「増加させること」、又は「刺激する」若しくは「刺激すること」とは、概して、1つ以上のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート又は医薬組成物が、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートなし、又は対照化合物のいずれかによって引き起こされる応答と比較して、細胞又は対象において、より大きい生理学的応答（すなわち、下流効果）をもたらす、又は引き起こす能力を指す。より大きい生理学的応答は、当該技術分野における理解、及び本明細書の記載から明らかな応答の中でも、ジストロフィタンパク質の機能的形態の発現の増加、又は筋組織におけるジストロフィン関連生物活性の増加を含み得る。筋機能の増加も測定され得、約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%、又は100%の、筋機能の増加又は改善を含む。機能性ジストロフィンを発現させる筋線維の割合も測定され得、筋線維の、約1%、2%、5%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%の、ジストロフィン発現の増加を含む。例えば、25～30%の線維がジストロフィンを発現させる場合、約40%の筋機能の改善が起こり得ることが示されている（例えば、Dello Russo et al, Proc Natl Acad Sci USA 99: 12979-12984, 2002を参照）。「増加した」又は「増強された」量は、典型的には、「統計的に有意な」量であり、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートなし（薬剤の非存在）又は対照化合物によって産生される量の、1.1、1.2、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50倍以上（例えば、500、1000倍、それらの間の、かつ1を超える、全ての整数及び小数点、例えば、1.5、1.6、1.7、1.8などを含む）である増加を含み得る。

【0053】

本明細書で使用される場合、「機能」、及び「機能性」などという用語は、生物学的、酵素的、又は治療的機能を指す。

【0054】

「機能性」ジストロフィタンパク質は、概して、典型的には、DMD又はBMDを有するある特定の対象に存在する、改変されたか又は「欠陥のある」形態のジストロフィタンパク質と比較して、そうでなければ筋ジストロフィーに特徴的である、筋組織の進行性分解を低減するのに十分な生物学的活性を有する、ジストロフィタンパク質を指す。ある特定の実施形態では、機能性ジストロフィタンパク質は、当該技術分野の通常の技術に従って測定されるように、野生型ジストロフィンのインビボの生物学的活性の、約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は100%（それらの間の全ての整数を含む）を有し得る。切断された形態のジストロフィン、例えば、本開示のある特定のエクソスキッピングアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの投与後に産生される、そのような形態が含まれる。

【0055】

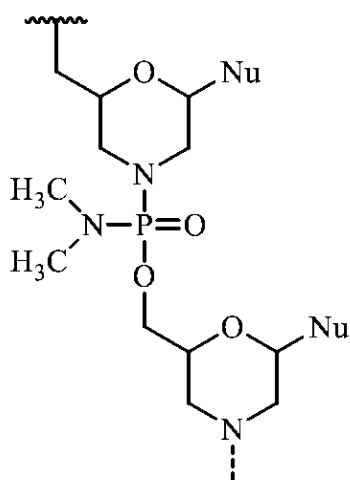
「ミスマッチ」という用語は、塩基対合則に従って標的pre-mRNAにマッチしないオリゴマー核酸塩基配列中の、1つ以上の核酸塩基（連続的であるか分離しているかに関わらず）を指す。多くの場合、完全相補性が望ましいが、いくつかの実施形態は、標的pre-mRNAに対して、1つ以上、ただし好ましくは、6、5、4、3、2、又は1つのミスマッチを含み得る。オリゴマー内の任意の位置における変動が含まれる。ある特定の実施

形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、内部の末端変動付近の、核酸塩基配列の変動を含み、存在する場合、典型的には、5'、及び／又は3'末端の、約6、5、4、3、2、又は1つのサブユニット内にある。

【0056】

「モルホリノ」、「モルホリノオリゴマー」、及び「PMO」という用語は、以下の一般構造：

【化26】



10

20

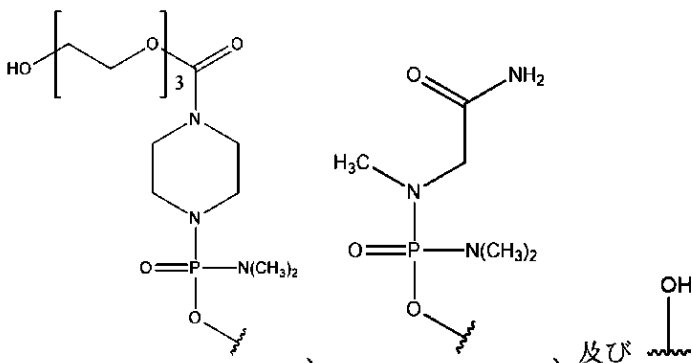
の、かつ Summerton, J., et al., *Antisense & Nucleic Acid Drug Development*, 7: 187-195 (1997) の図2に記載されるような、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーを指す。本明細書に記載されるモルホリノは、上記の一般構造の、全ての立体異性体、及び互変異性体を含む。モルホリノオリゴマーの合成、構造、及び結合特性は、米国特許第5,698,685号、同第5,217,866号、同第5,142,047号、同第5,034,506号、同第5,166,315号、同第5,521,063号、同第5,506,337号、同第8,076,476号、及び同第8,299,206号に詳述されており、これらの全ては、参照により本明細書に組込まれる。

30

【0057】

いくつかの態様では、モルホリノオリゴ（PMO）は、オリゴマーの5'又は3'末端で、「テール」部分とコンジュゲートされて、その安定性、及び／又は溶解性を高める。例示的なテールは、

【化27】



40

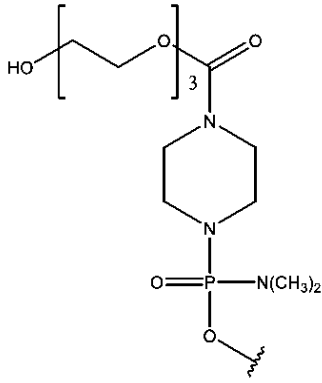
を含む。

【0058】

上記の例示的なテール部分のうち、「TEG」、又は「EG3」は、以下のテール部分を指す。

50

【化 2 8】

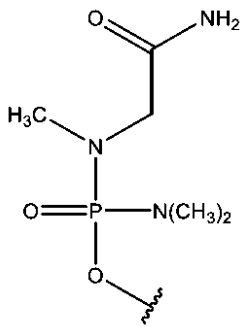


10

【0059】

上記の例示的なテール部分のうち、「GT」は、以下のテール部分を指す。

【化 2 9】

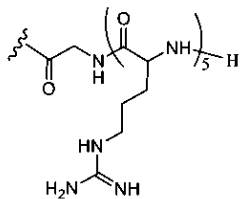


20

【0060】

本明細書で使用される場合、「RRRRRG-」という用語は、以下の構造を指す。

【化 3 0】

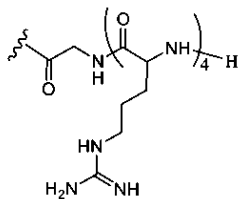


30

【0061】

本明細書で使用される場合、「RRRRRG-」という用語は、以下の構造を指す。

【化 3 1】



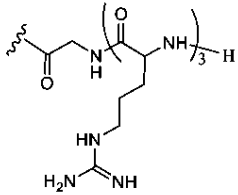
40

【0062】

本明細書で使用される場合、「RRRG-」という用語は、以下の構造を指す。

50

【化 3 2】

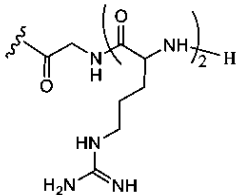


【0063】

本明細書で使用される場合、「RRG-」という用語は、以下の構造を指す。

10

【化 3 3】

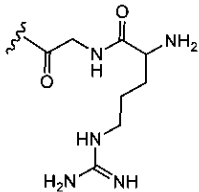


【0064】

本明細書で使用される場合、「RG-」という用語は、以下の構造を指す。

20

【化 3 4】

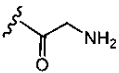


【0065】

本明細書で使用される場合、「G-」という用語は、以下の構造を指す。

【化 3 5】

30



【0066】

アルギニンペプチドの合成、及びオリゴマーにコンジュゲートする方法は、米国特許第 9, 161, 948 号、同第 10, 888, 578 号、同 11, 000, 600 号、米国出願公開第 2012/0289457 号、並びに国際特許出願公開第 2004/097017 号、同第 2009/005793 号、及び同第 2012/150960 号に更に記載されており、これらの開示は、参照によりそれらの全体が本明細書に組込まれる。

【0067】

40

「核酸塩基」(Nu)、「塩基対合部分」、又は「塩基」という用語は、自然発生的又は「天然」DNA 又は RNA (例えば、ウラシル、チミン、アデニン、シトシン、及びグアニン) で見られる、プリン又はピリミジン塩基、並びにこれらの自然発生的プリン及びピリミジンの類似体を指すために、互換的に使用される。これらの類似体は、結合親和性などの改善された特性を、オリゴマーに付与し得る。例示的な類似体としては、ヒポキサンチン (イノシンの塩基構成成分)、2, 6-ジアミノプリン、5-メチルシトシン、C5-プロピニル修飾ピリミジン、10-(9-(アミノエトキシ)フェノキサジニル) (G-クランプ) などが挙げられる。

【0068】

塩基対合部分の更なる例としては、ウラシル、チミン、アデニン、シトシン、グアニン

50

、及びヒポキサンチン（イノシン）（アシル保護基によって保護されたそれらの各々のアミノ基を有する）、２-フルオロウラシル、２-フルオロシトシン、５-ブロモウラシル、５-ヨードウラシル、２，６-ジアミノプリン、アザシトシン、シュードイソシトシン及びシュードウラシルなどのピリミジン類似体、並びに８-置換プリン、キサンチン、又はヒポキサンチン（後者の二つは自然分解生成物である）などの他の修飾核酸塩基が挙げられるが、これらに限定されない。以下：Chiu and Rana, RNA, 2003, 9, 1034-1048; Limbach et al. Nucleic Acids Research, 1994, 22, 2183-2196、及びRevankar and Rao, Comprehensive Natural Products Chemistry, vol. 7, 313に開示される修飾核酸塩基もまた企図され、これらの内容は、参照により本明細書に組込まれる。

10

【0069】

塩基対合部分の更なる例としては、１つ以上のベンゼン環が付加された、拡大サイズの核酸塩基が挙げられるが、これらに限定されない。Glen Research catalog (www.glenresearch.com)、Krueger et al., Acc. Chem. Res., 2007, 40, 141-150、Kool, ET, Acc. Chem. Res., 2002, 35, 936-943、Benner S. A., et al., Nat. Rev. Genet., 2005, 6, 553-543、Romesberg, F. E., et al., Curr. Opin. Chem. Biol., 2003, 7, 723-733、及びHirao, I., Curr. Opin. Chem. Biol., 2006, 10, 622-627（これらの内容は、参照により本明細書に組込まれる）に記載される核酸塩基置換は、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲートにおいて有用であると企図される。拡大サイズの核酸塩基の例としては、以下に示されるもの、並びにその互変異性体が挙げられる。

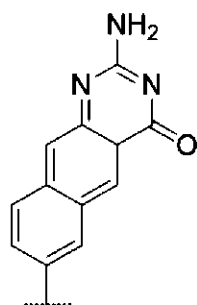
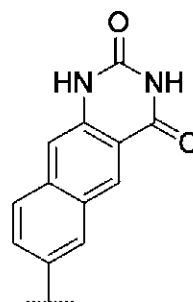
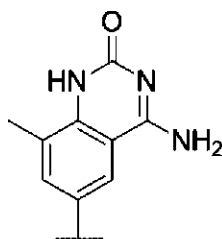
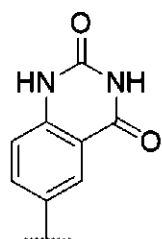
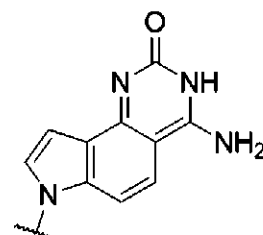
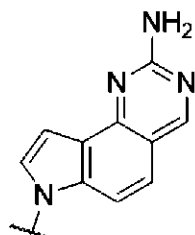
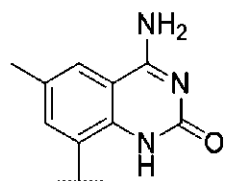
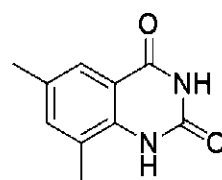
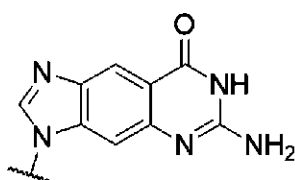
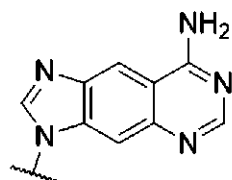
20

30

40

50

【化 3 6】



10

20

30

【0070】

「曝露」という用語は、用量（体内へのPPMO投入）、並びに血漿及び他の生体液中の、急性、又は統合PPMO濃度の様々な尺度（例えば、 C_{max} 、 C_{min} 、 C_{ss} 、 AUC ）を指す。「応答」という用語は、薬物の薬理学的効果の直接的な尺度を指す。応答には、潜在的な、又は許容される代替（例えば、血圧、マグネシウムレベル、又は心拍出量に対する効果）から、有効性、及び安全性に関連する短期、又は長期の臨床効果の全範囲に及ぶ、広範なエンドポイント又はバイオマーカーが含まれる。

【0071】

本明細書で使用される場合、「非経口投与」、及び「非経口的に投与される」という語句は、通常は注射による、腸内及び局所投与以外の投与様式を意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、脊髄内、及び胸骨内の注射及び注入を含むが、これらに限定されない。

40

【0072】

明確にするために、本開示の構造は、5'から3'に連続的であり、構造全体をコンパクトな形態で描写する利便性のために、「中断A」、「中断B」、及び「中断C」と示された、様々な図の中断が含まれている。当業者によって理解されるように、例えば、「中断A」の各表示は、これらの点における構造の図の続きを示す。当業者は、上記の構造における「中断B」、及び「中断C」の各場合について、同じことが当てはまることを理解する。しかしながら、図の中断のいずれも、上記の構造の実際の不連続を示すことを意図し

50

ておらず、当業者もそれらがそのように意味するものと理解しないであろう。

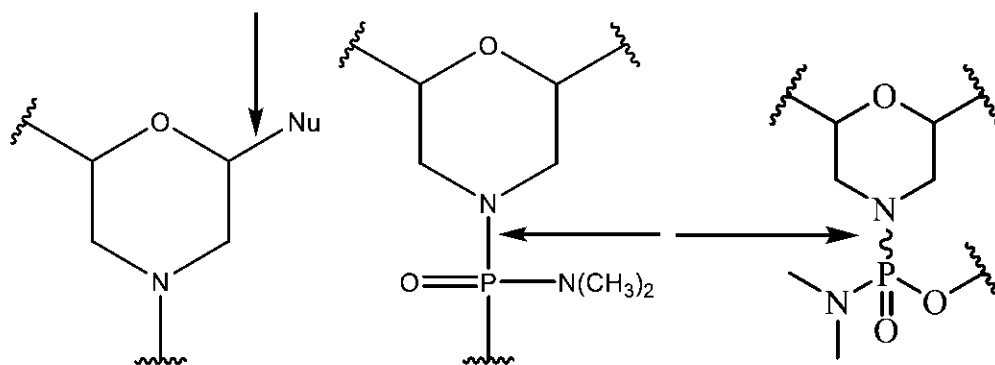
【0073】

本明細書で使用される場合、構造式内で使用される一組の括弧は、括弧間の構造特徴が繰り返されることを示す。いくつかの実施形態では、使用される括弧は、「[」及び「]」であり得、ある特定の実施形態では、繰り返す構造特徴を示すために使用される括弧は、「(」及び「)」であり得る。いくつかの実施形態では、括弧間の構造特徴の繰り返し反復数は、括弧の外側に示される数、例えば、2、3、4、5、6、7などである。様々な実施形態では、括弧間の構造特徴の繰り返し反復数は、「n」などの、括弧の外側に示される変数によって示される。

【0074】

本明細書で使用される場合、構造式内のキラル炭素、又はリン原子に引かれた、直鎖結合、又は曲がりくねった (s q u i g g l y) 結合は、キラル炭素、又はリンの立体化学が未定義であり、キラル中心の全ての形態を含むことが意図されていることを示す。そのような図の例が、以下に示される。

【化37】



【0075】

本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート

様々な態様では、本開示は、式 (I) に従うアンチセンスオリゴマーコンジュゲート：

10

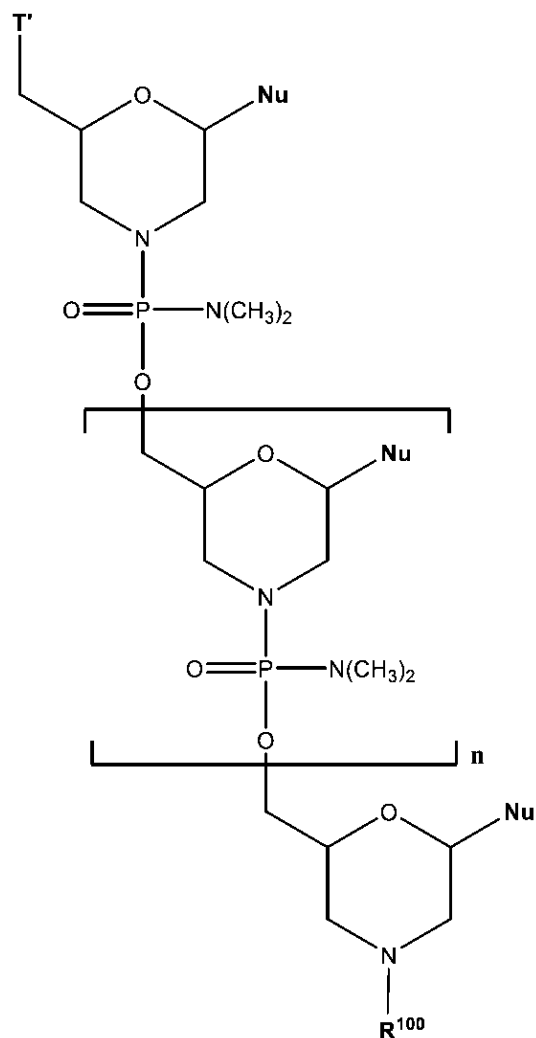
20

30

40

50

【化 3 8】



(I)

又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、

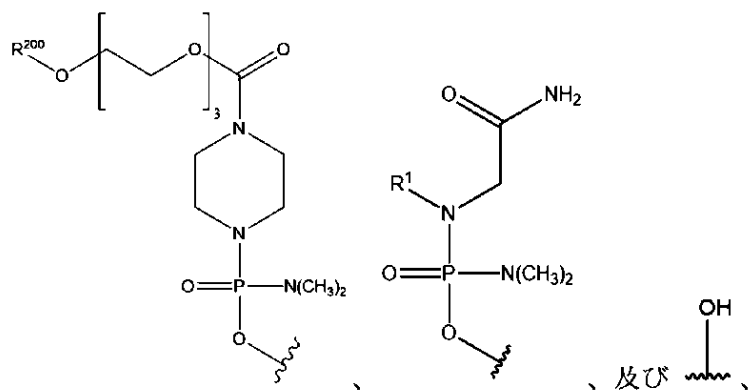
n は、1 ~ 40 であり、

各 Nu は、一緒になって標的配列を形成する核酸塩基であり、

ジストロフィンプレmRNA中のエクソンアニーリング部位に相補的であり、

T' は、以下から選択される部分であり、

【化 3 9】



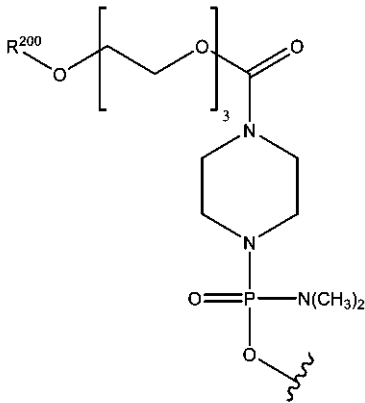
式中、

R^{100} は、 $RRRRRG-$ 、 $RRRRG-$ 、 $RRRG-$ 、 $RRG-$ 、 $RG-$ 、及び $G-$ からなる群から選択され、式中、 R は、アルギニンであり、 G は、グリシンであり、 R^{200} は、水素であり、 R^1 は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルである。

【0076】

いくつかの実施形態では、 T' は、以下の部分であり：

【化40】



10

式中、 R^{200} は、水素である。

20

【0077】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式(I)に従い、又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^{100} は、 $RRRRRG-$ である。

【0078】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式(I)に従い、又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^{100} は、 $RRRRG-$ である。

【0079】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式(I)に従い、又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^{100} は、 $RRRG-$ である。

【0080】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式(I)に従い、又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^{100} は、 $RRG-$ である。

30

【0081】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式(I)に従い、又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^{100} は、 $RG-$ である。

【0082】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式(I)に従い、又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^{100} は、 $G-$ である。

【0083】

いくつかの態様では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートのアンチセンスオリゴマーは、 $n+2$ 塩基対を有し、式中、式(I)の n は、 $1 \sim 40$ 、任意選択的に、 $13 \sim 38$ 、任意選択的に、 $13 \sim 28$ 、任意選択的に、 $13 \sim 23$ 、又は任意選択的に、 $13 \sim 18$ である。換言すれば、オリゴマーは、 $15 \sim 40$ 、 $15 \sim 35$ 、 $15 \sim 30$ 、 $15 \sim 25$ 、又は $15 \sim 20$ 個のヌクレオチドの長さである。

40

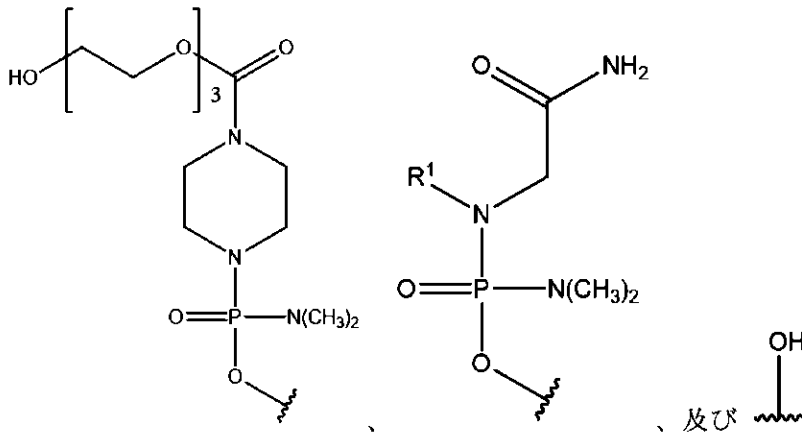
【0084】

いくつかの態様では、式(I)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、ヒトジストロフィン遺伝子において、エクソンのスキッピングを引き起こす。いくつかの態様では、エクソンは、エクソン44、45、50、51、52、又は53から選択される。ある特定の態様では、エクソンは、エクソン45、51、又は53から選択される。

【0085】

50

【化 4 2】



R^1 は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

m は、0、1、2、3、4、又は5であり、

標的配列は、ジストロフィンプレRNA 中のアニーリング部位に相補的である。

【0086】

様々な態様では、アンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲートは、式 (III) に従い：

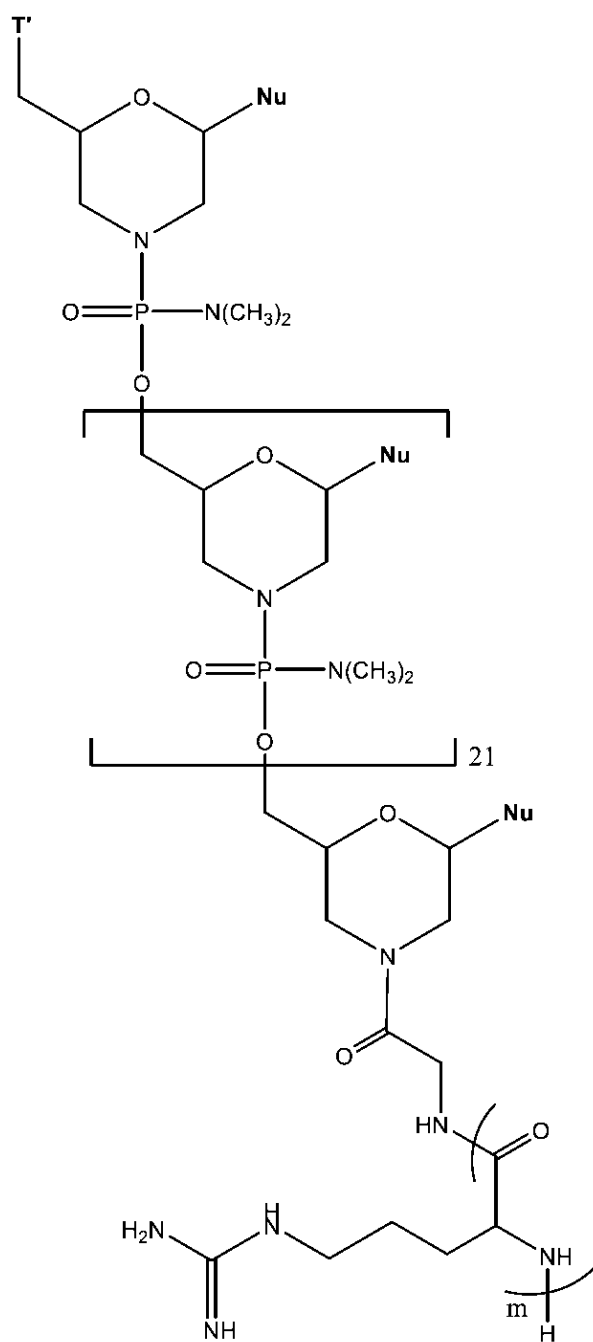
20

30

40

50

【化 4 3】



(III)

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、
 各 Nu は、一緒になって標的配列を形成する核酸塩基であり、
 T' は、以下から選択される部分であり：

10

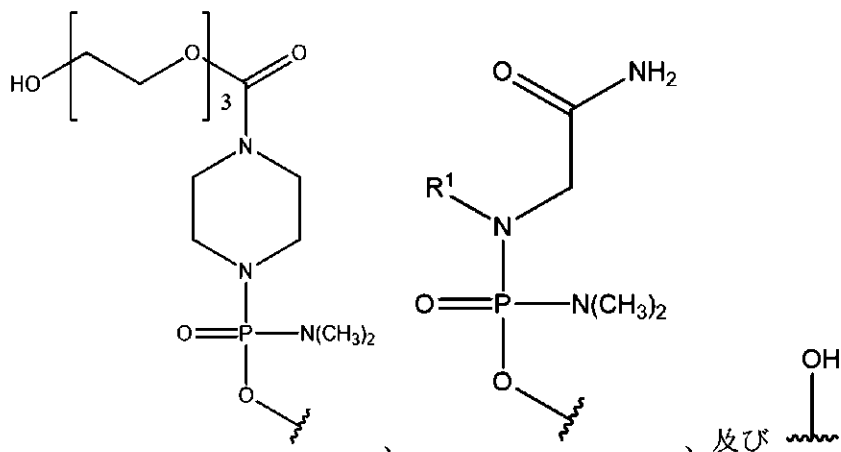
20

30

40

50

【化 4 4】



10

R^1 は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

m は、0、1、2、3、4、又は5であり、

標的配列は、ジストロフィンプレRNA中のアニーリング部位に相補的である。

【0087】

様々な態様では、アンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲートは、式(IV)に従い：

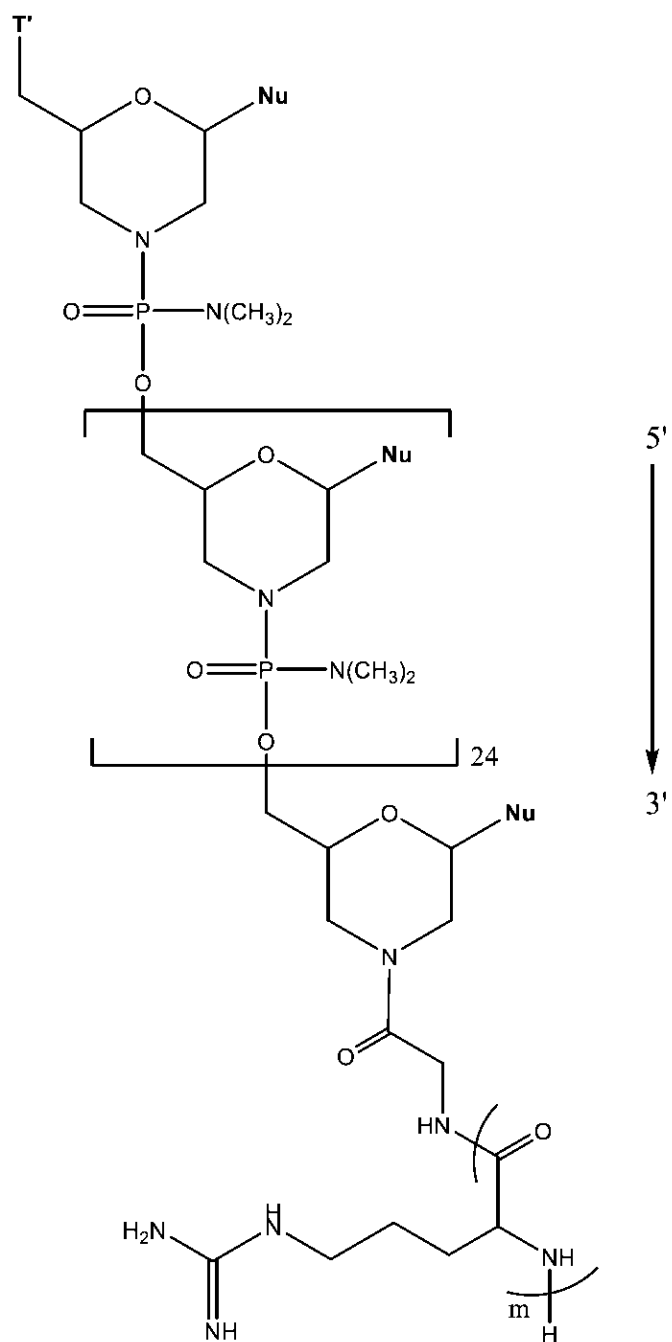
20

30

40

50

【化 4 5】



(IV)

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、
 各 Nu は、一緒になって標的配列を形成する核酸塩基であり、
 T' は、以下から選択される部分であり：

10

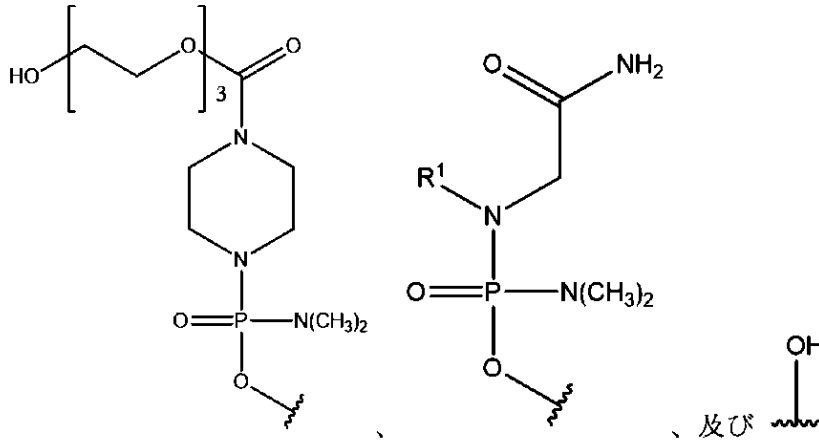
20

30

40

50

【化 4 6】



R¹ は、C₁～C₆ アルキルであり、

m は、0、1、2、3、4、又は 5 であり、

標的配列は、ジストロフィンプレ RNA 中のアニーリング部位に相補的である。

【0088】

いくつかの態様では、組成物中のアンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲートは、ジストロフィンプレ mRNA の、エクソン 44、エクソン 45、エクソン 50、エクソン 51、エクソン 52、又はエクソン 53 の標的領域の、15～35 個の核酸塩基に相補的な配列を含む。これらのジストロフィンエクソンを標的とし、スキッピングするように設計された、オリゴヌクレオチド配列は、当該技術分野に記載されている。例えば、WO 2018/129384、WO 2019/060775、WO 2020/219820、WO 2018/007475、WO 2018/091544、WO 2020/089325、WO 2004/048570、WO 2020/028832、WO 2017/062862、米国特許第 10,683,322 号、米国特許第 8,969,551 号、米国特許第 10,781,448 号、米国特許第 9,988,629 号、米国特許第 9,840,706 号、米国特許第 10,851,373 号、WO 2020/004675 号、及び WO 2020/0158792 号の PCT 公開出願、及び発行された米国特許に記載されており、その配列開示は本明細書に組込まれる。

【0089】

多数の例示的な標的配列が、以下に記載される。これらの配列は、モルホリノ標的配列として提供され、式 (I) のアンチセンスオリゴヌクレオチドコンジュゲートに組込まれる。

【0090】

いくつかの態様では、標的配列は、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソン 51 アニーリング部位に相補的である。いくつかの態様では、部位は、H51A (+66+95) として指定される。いくつかの態様では、標的配列は、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソン 45 アニーリング部位に相補的である。いくつかの態様では、部位は、H45A (-03+19) として指定される。いくつかの態様では、標的配列は、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソン 53 アニーリング部位に相補的である。いくつかの態様では、部位は、H53A (+36+60) として指定される。

【0091】

様々な実施形態では、T' は、

10

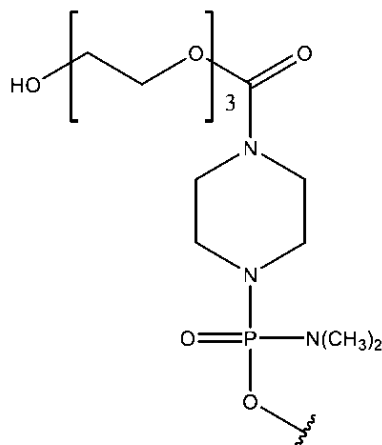
20

30

40

50

【化 4 7】



10

である。

【0092】

様々な実施形態では、 R^1 は、メチル、 CF_3 、 CCl_3 、 $CFCl_2$ 、 CF_2Cl 、エチル、 CH_2CF_3 、 CF_2CF_3 、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、3-メチルペンチル、2,2-ジメチルブチル、又は2,3-ジメチルブチルである。

20

【0093】

いくつかの実施形態では、式(I)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、そのHCl(塩酸)塩である。ある特定の実施形態では、HCl塩は、.5HCl塩である。ある特定の実施形態では、HCl塩は、.4HCl塩である。ある特定の実施形態では、HCl塩は、.3HCl塩である。ある特定の実施形態では、HCl塩は、.2HCl塩である。ある特定の実施形態では、HCl塩は、.1HCl塩である。

【0094】

いくつかの実施形態では、各Nuは、独立して、シトシン(C)、グアニン(G)、チミン(T)、アデニン(A)、5-メチルシトシン(5mC)、ウラシル(U)、及びヒポキサンチン(I)から選択される。

30

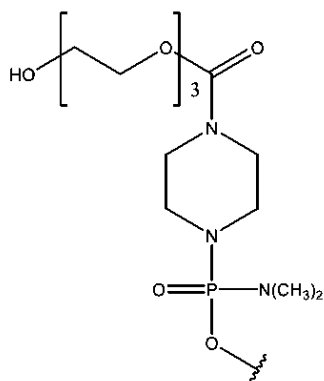
【0095】

いくつかの実施形態では、標的配列は、5'-CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG-3'(配列番号1)であり、式中、各チミン(T)は、任意選択的に、ウラシル(U)である。

【0096】

様々な実施形態では、T'は、

【化 4 8】



40

であり、標的配列は5'-CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCT

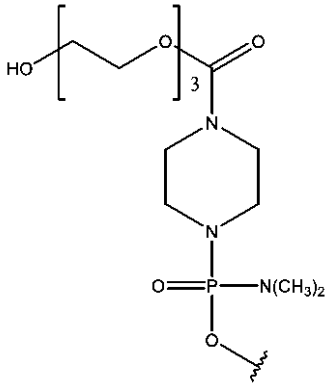
50

AG-3'（配列番号1）であり、式中、各チミン（T）は、任意選択的に、ウラシル（U）である。

【0097】

様々な実施形態では、T'は、

【化49】



10

であり、標的配列は、5'-CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTC TAG-3'（配列番号1）である。

【0098】

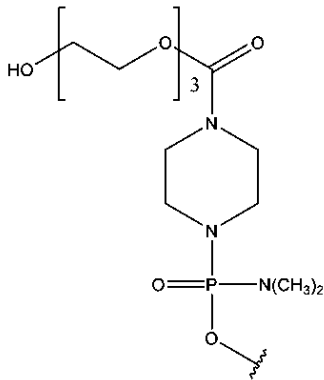
いくつかの実施形態では、標的配列は、5'-CAATGCCATCCTGGAGTTCCTG-3'（配列番号2）であり、式中、各チミン（T）は、任意選択的に、ウラシル（U）である。

20

【0099】

様々な実施形態では、T'は、

【化50】



30

であり、標的配列は、5'-CAATGCCATCCTGGAGTTCCTG-3'（配列番号2）であり、式中、各チミン（T）は、任意選択的に、ウラシル（U）である。

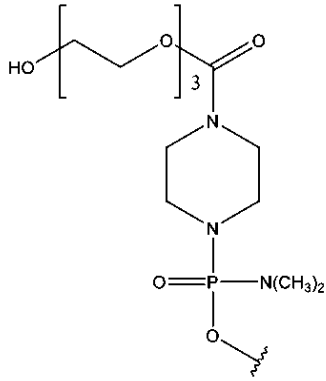
【0100】

様々な実施形態では、T'は、

40

50

【化 5 1】



10

であり、標的配列は、5' - C A A T G C C A T C C T G G A G T T C C T G - 3' (配列番号 2) である。

【0 1 0 1】

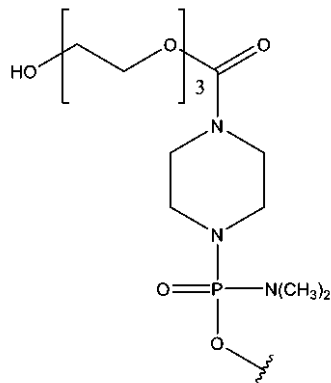
いくつかの実施形態では、標的配列は、5' - G T T G C C T C C G G T T C T G A A G G T G T T C - 3' (配列番号 3) であり、式中、各チミン (T) は、任意選択的に、ウラシル (U) である。

【0 1 0 2】

様々な実施形態では、T' は、

20

【化 5 2】



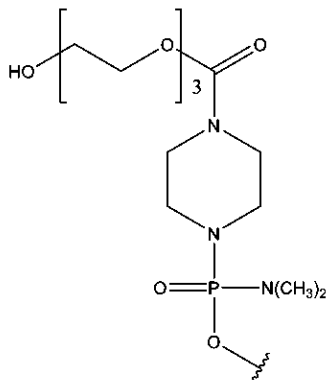
30

であり、標的配列は、5' - G T T G C C T C C G G T T C T G A A G G T G T T C - 3' (配列番号 3) であり、式中、各チミン (T) は、任意選択的に、ウラシル (U) である。

【0 1 0 3】

様々な実施形態では、T' は、

【化 5 3】



40

50

【 0 1 0 4 】

【化 5 4】



(V)

【 0 1 0 5 】

20

【 0 1 0 6 】

【化 5 5】



(VA)

40

【 0 1 0 7 】

【 0 1 0 8 】

様々な実施形態では、1～30及び5'から3'の各Nuは、以下の通りである：

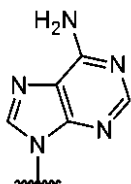
【表 10】

位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	C	6	A	11	A	16	A	21	G	26	X
2	X	7	C	12	A	17	G	22	C	27	C
3	C	8	A	13	G	18	A	23	A	28	X
4	C	9	X	14	G	19	X	24	X	29	A
5	A	10	C	15	A	20	G	25	X	30	G

10

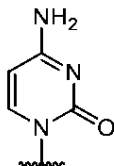
ここで、Aは、

【化 56】



であり、Cは、

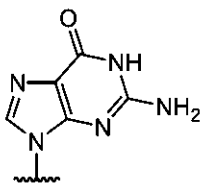
【化 57】



20

であり、Gは、

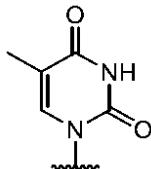
【化 58】



30

であり、Xは、

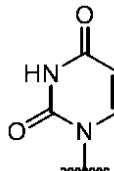
【化 59】



40

又は

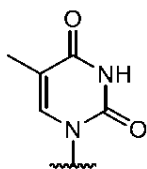
【化 60】



50

である。ある特定の実施形態では、各 X は、独立して、

【化 6 1】



である。

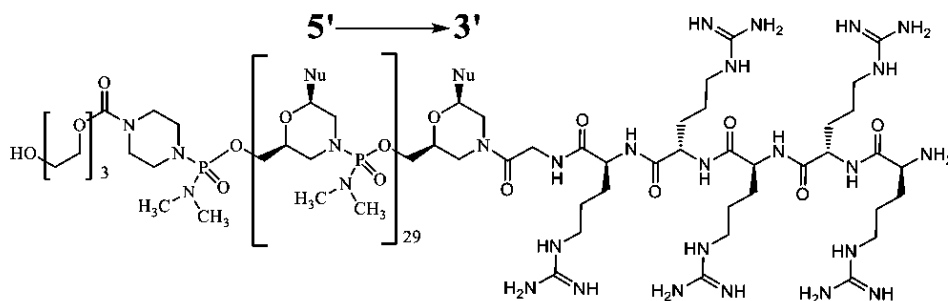
【0109】

いくつかの実施形態では、式 (V) 又は式 (VA) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、その HCl 塩 (塩酸) 塩である。ある特定の実施形態では、m は、5 であり、HCl 塩は、. 5 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、m は、4 であり、HCl 塩は、. 4 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、m は、3 であり、HCl 塩は、. 3 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、m は、2 であり、HCl 塩は、. 2 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、m は、1 であり、HCl 塩は、. HCl 塩である。

【0110】

例えば、式 (VA) のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (VB) 又は式 (VC) に従い、

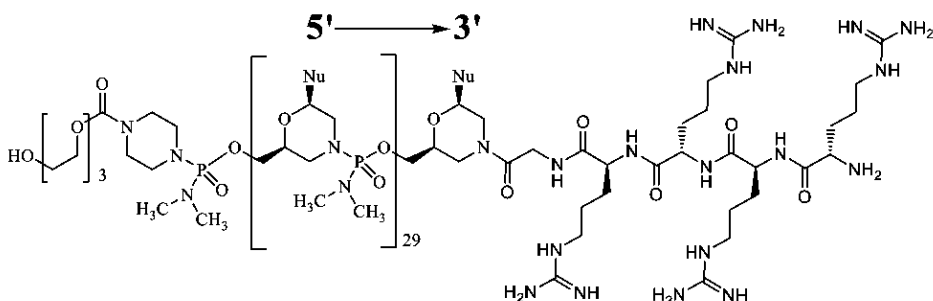
【化 6 2】



(VB)

又は

【化 6 3】



(VC)

又はその薬学的に許容される塩 (HCl 塩など) であり、式中、各 Nu は、一緒になって、H51A (+66+95) として指定される、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソン 51 アニリング部位に相補的である、標的配列を形成する核酸塩基である。

【0111】

例えば、式 (VA) のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (VD) 又は式 (VE) に従い、

10

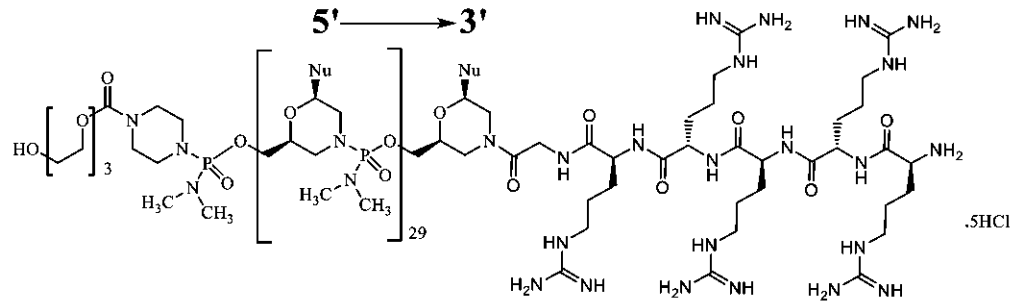
20

30

40

50

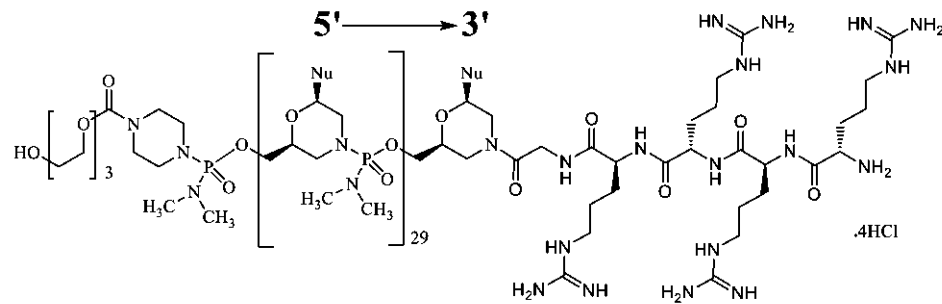
【化 6 4】



10

(VD)

又は
【化 6 5】



20

(VE)

式中、各Nuは、一緒になって、H51A(+66+95)として指定される、ジストロフィンプレmRNA中のエクソン51アニーリング部位に相補的である、標的配列を形成する核酸塩基である。

30

【0112】

いくつかの実施形態では、式(VB)、(VC)、(VD)、及び(VE)内の各Nuは、独立して、シトシン(C)、グアニン(G)、チミン(T)、アデニン(A)、5-メチルシトシン(5mC)、ウラシル(U)、及びヒポキサンチン(I)から選択される。

【0113】

様々な実施形態では、1~30及び5'から3'の各Nuは、以下の通りである：

【表11】

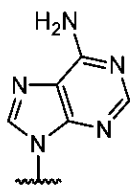
位置	Nu	位置	Nu	位置	Nu	位置	Nu	位置	Nu	位置	Nu
5'から3'		5'から3'		5'から3'		5'から3'		5'から3'		5'から3'	
1	C	6	A	11	A	16	A	21	G	26	X
2	X	7	C	12	A	17	G	22	C	27	C
3	C	8	A	13	G	18	A	23	A	28	X
4	C	9	X	14	G	19	X	24	X	29	A
5	A	10	C	15	A	20	G	25	X	30	G

40

ここで、Aは、

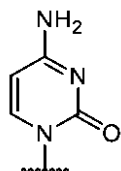
50

【化 6 6】



であり、Cは、

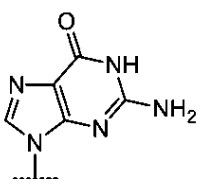
【化 6 7】



10

であり、Gは、

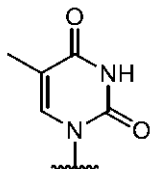
【化 6 8】



20

であり、Xは、

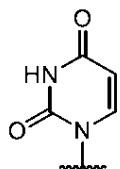
【化 6 9】



30

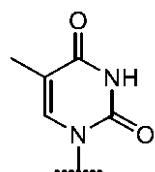
又は

【化 7 0】



である。ある特定の実施形態では、各 X は、

【化 7 1】



である。

【0 1 1 4】

例えば、式 (V)、式 (VA)、式 (VB)、式 (VC)、式 (VD)、及び式 (VE

50

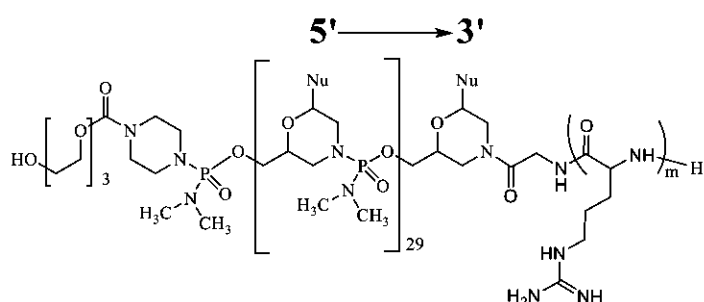
）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、標的配列は、5' - C T C C A A C A T C A A G G A A G A T G G C A T T T C T A G - 3'（配列番号1）であり、式中、各チミン（T）は、任意選択的に、ウラシル（U）である。例えば、式（V）、式（VA）、式（VB）、式（VC）、式（VD）、及び式（VE）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、標的配列は、5' - C T C C A A C A T C A A G G A A G A T G G C A T T T C T A G - 3'（配列番号1）である。

【 0 1 1 5 】

例えば、式（Ⅰ）、又は式（Ⅱ）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式（Ⅴ）に従い：

10

【化 7 2】



20

(V)

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、mは、0、1、2、3、4、又は5であり、1～30及び5'～3'の各Nuは、以下の通りである：

【表 1 2】

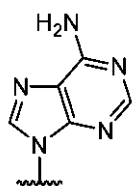
位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu
1	C	6	A	11	A	16	A	21	G	26	T
2	T	7	C	12	A	17	G	22	C	27	C
3	C	8	A	13	G	18	A	23	A	28	T
4	C	9	T	14	G	19	T	24	T	29	A
5	A	10	C	15	A	20	G	25	T	30	G

30

【 0 1 1 6 】

ここで、 A は、

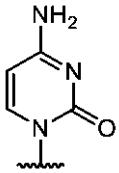
【化 7 3】



40

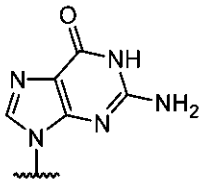
であり、 C は、

【化 7 4】



であり、Gは、

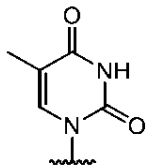
【化 7 5】



10

であり、Tは、式（V I）で表される

【化 7 6】



20

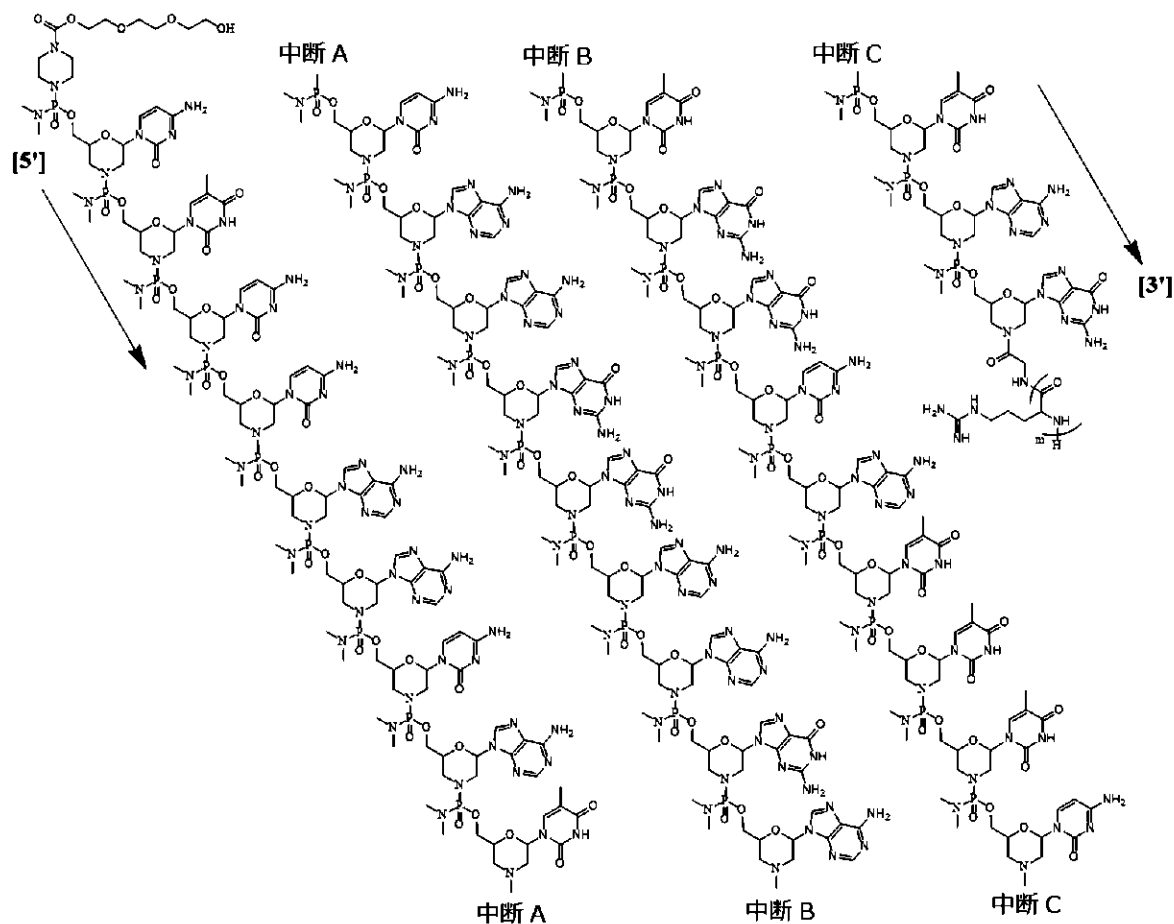
であり：

30

40

50

【化 7 7】



10

20

(V I)

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 m は、0、1、2、3、4、又は5である。

30

【0117】

いくつかの実施形態では、式(V I)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、そのHCl塩である。ある特定の実施形態では、 m は、5であり、HCl塩は、. 5 HCl塩である。ある特定の実施形態では、 m は、4であり、HCl塩は、. 4 HCl塩である。ある特定の実施形態では、 m は、3であり、HCl塩は、. 3 HCl塩である。ある特定の実施形態では、 m は、2であり、HCl塩は、. 2 HCl塩である。ある特定の実施形態では、 m は、1であり、HCl塩は、. HCl塩である。

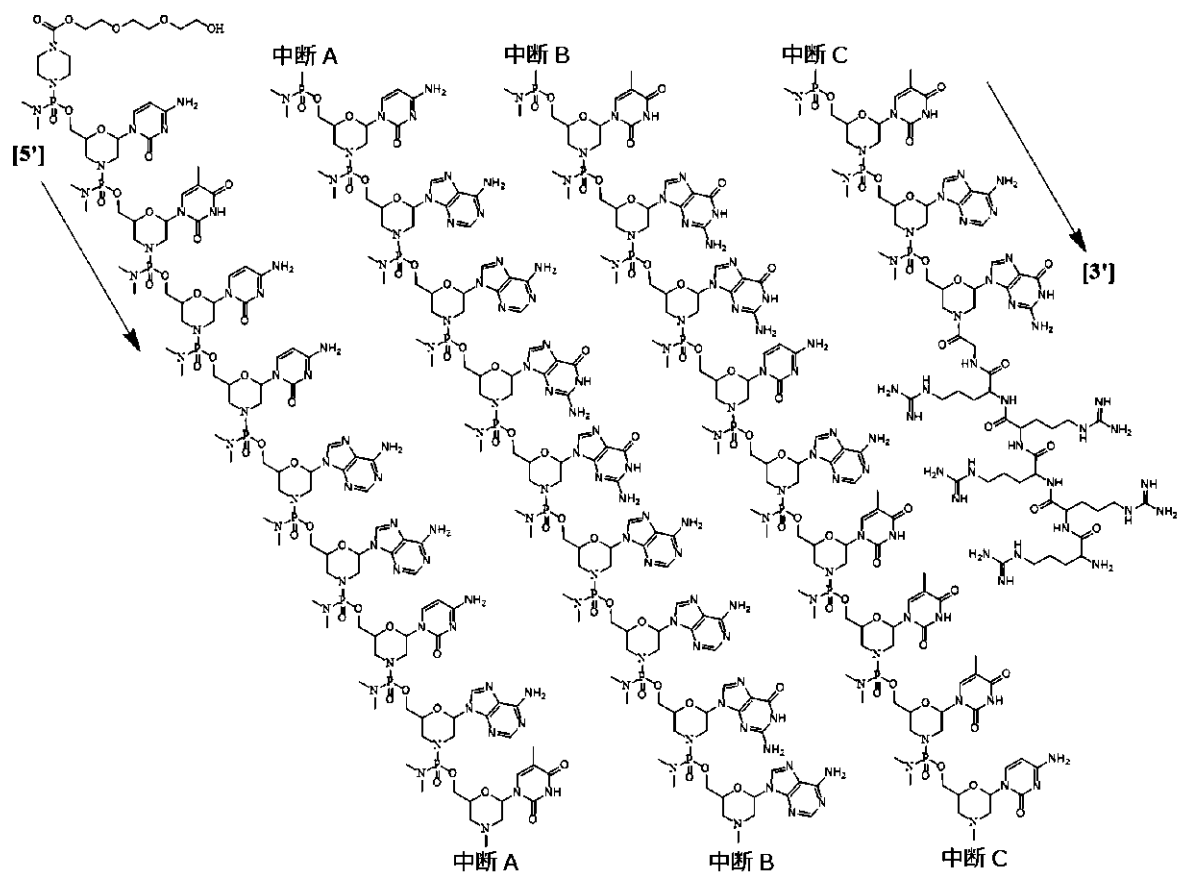
【0118】

例えば、式(V I)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式(V I A)、又は式(V I B)に従い：

40

50

【化 7 8】



(V I A)、

又は

10

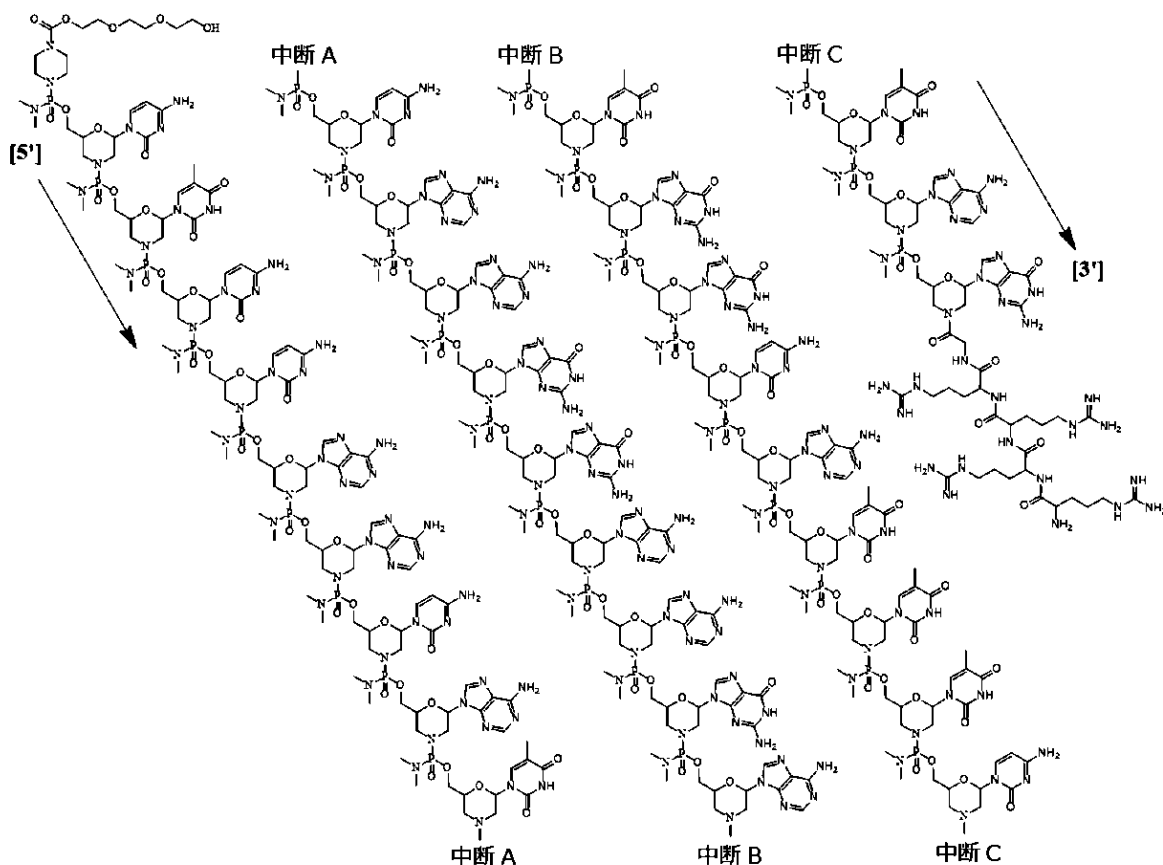
20

30

40

50

【化 7 9】



10

20

(V I B)

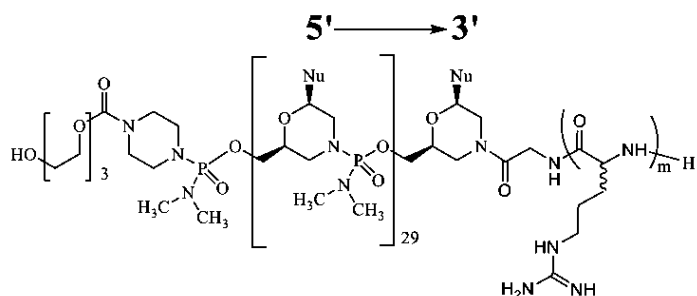
又はその薬学的に許容される塩、例えば、HCl塩である。

【0119】

例えば、式 (I)、及び式 (II) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (VA) に従い。

30

【化 8 0】



40

(VA)、

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、mは、0、1、2、3、4、又は5であり、1～30及び5'～3'の各Nuは、以下の通りである：

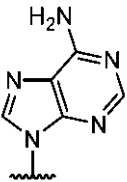
50

【表 1 3】

位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu
1	C	6	A	11	A	16	A	21	G	26	T
2	T	7	C	12	A	17	G	22	C	27	C
3	C	8	A	13	G	18	A	23	A	28	T
4	C	9	T	14	G	19	T	24	T	29	A
5	A	10	C	15	A	20	G	25	T	30	G

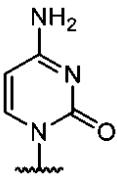
10

ここで、A は、
【化 8 1】



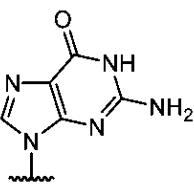
20

であり、C は、
【化 8 2】

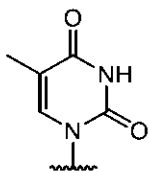


30

であり、G は、
【化 8 3】



であり、T は、式（V I C）で表される
【化 8 4】

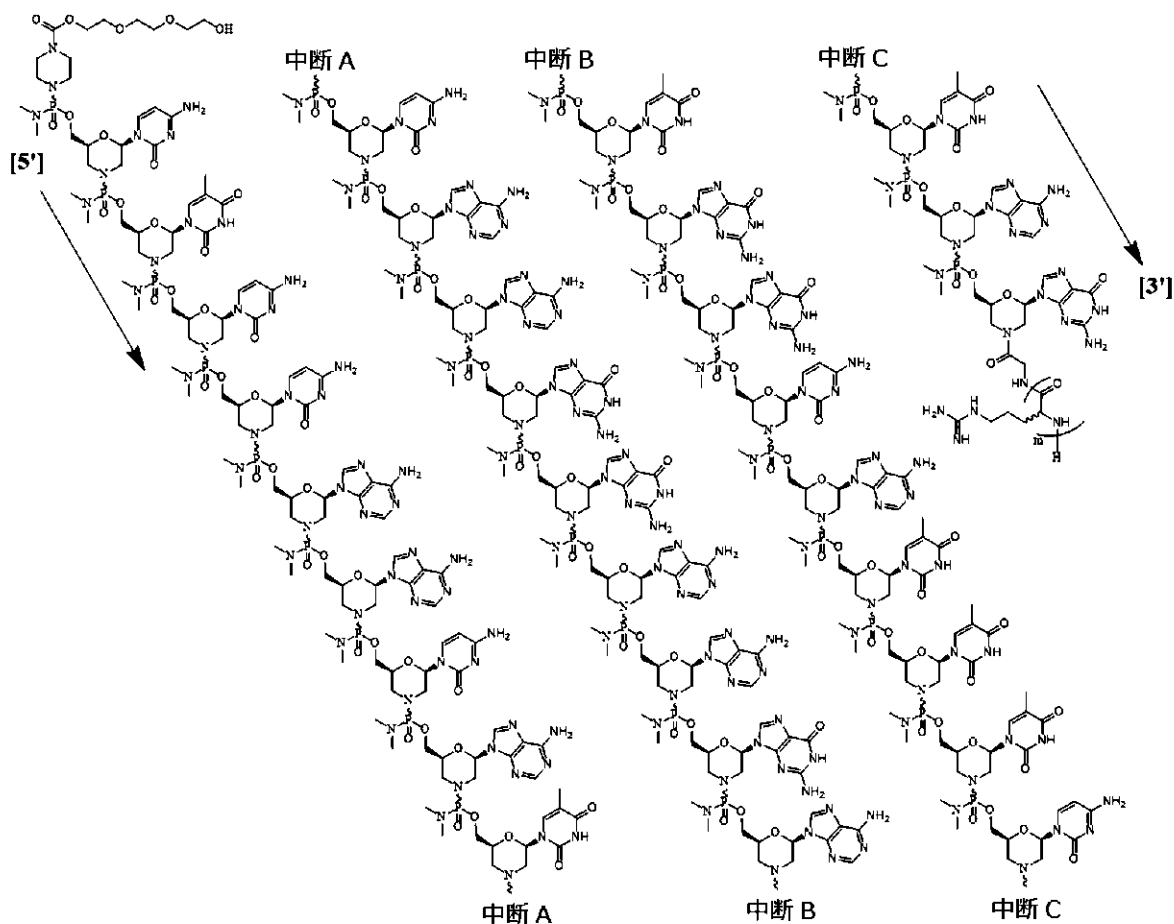


40

であり：

50

【化 8 5】



10

20

(V I C)

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 m は、0、1、2、3、4、又は5である。

30

【0 1 2 0】

いくつかの実施形態では、式 (V I C) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、その H C l (塩酸) 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、5であり、H C l 塩は、 $\cdot 5$ H C l 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、4であり、H C l 塩は、 $\cdot 4$ H C l 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、3であり、H C l 塩は、 $\cdot 3$ H C l 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、2であり、H C l 塩は、 $\cdot 2$ H C l 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、1であり、H C l 塩は、 $\cdot$ H C l 塩である。

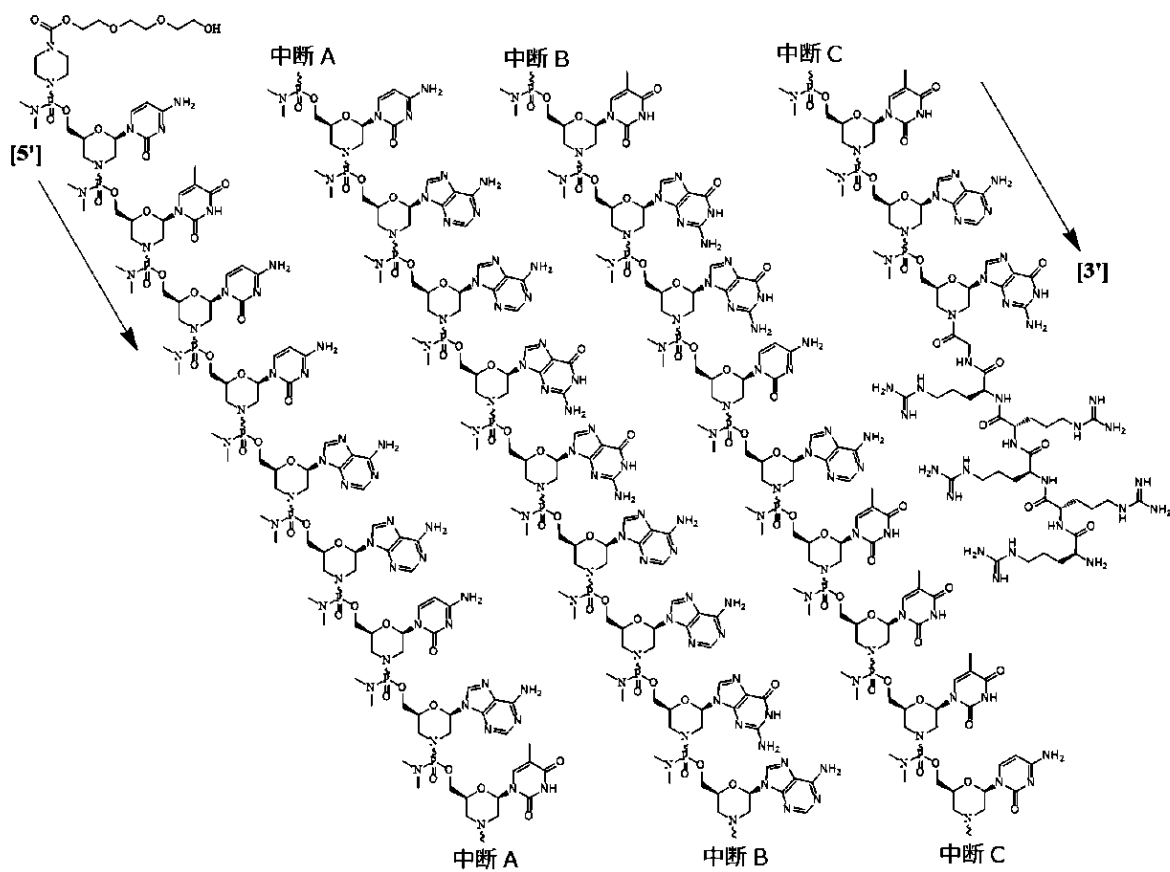
【0 1 2 1】

例えば、式 (V I C) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (V I C)、又は式 (V I E) に従い、

40

50

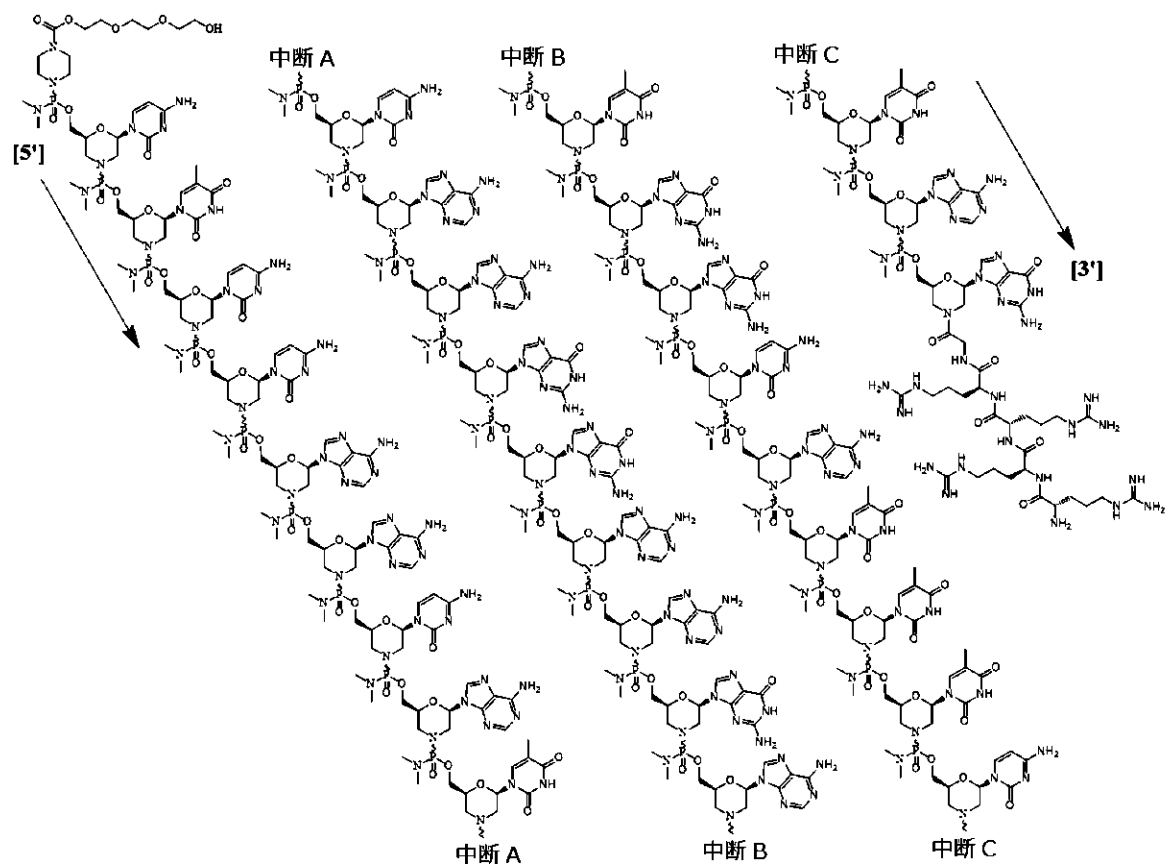
【化 8 6】



(VID)

又は

【化 8 7】



10

20

(V I E)

又はその薬学的に許容される塩、例えば、HCl塩である。

【0122】

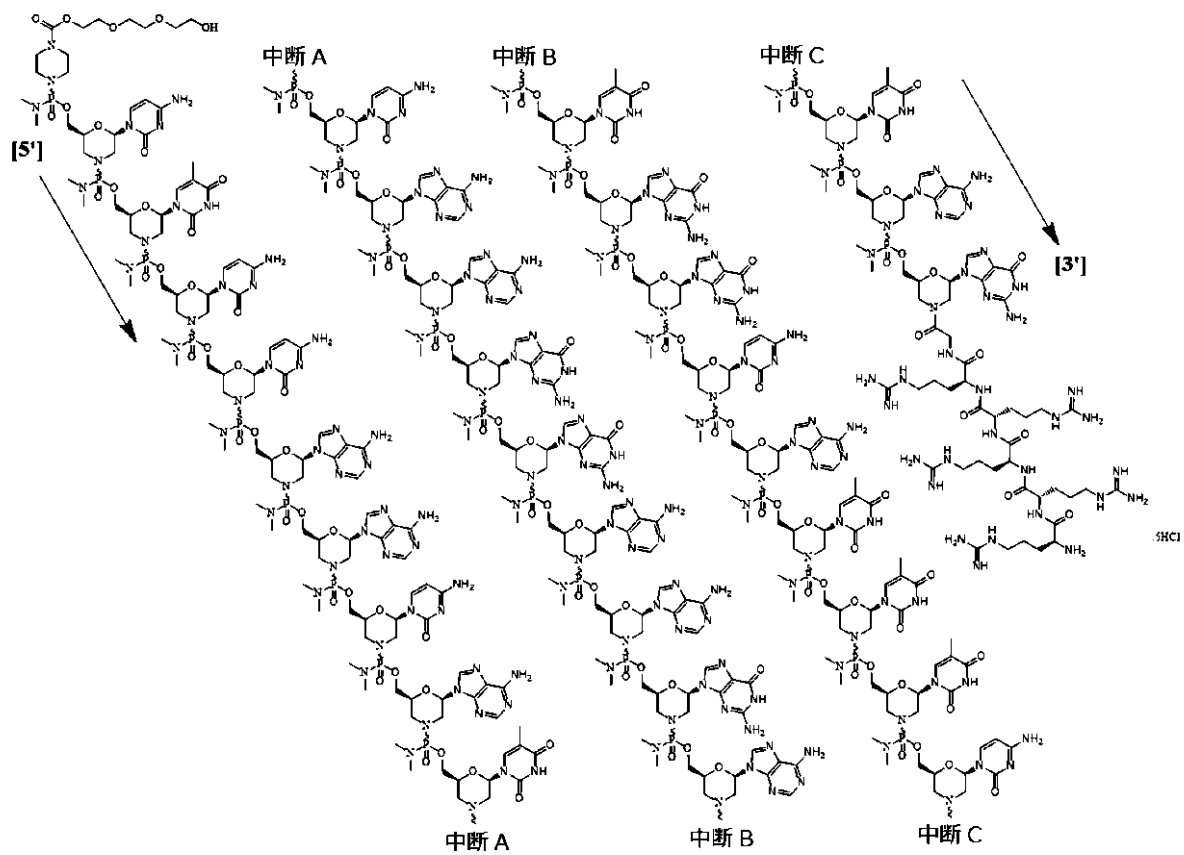
例えば、式(V I C)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式(V I F)、又は式(V I G)に従う：

30

40

50

【化 8 8】



(V I F)

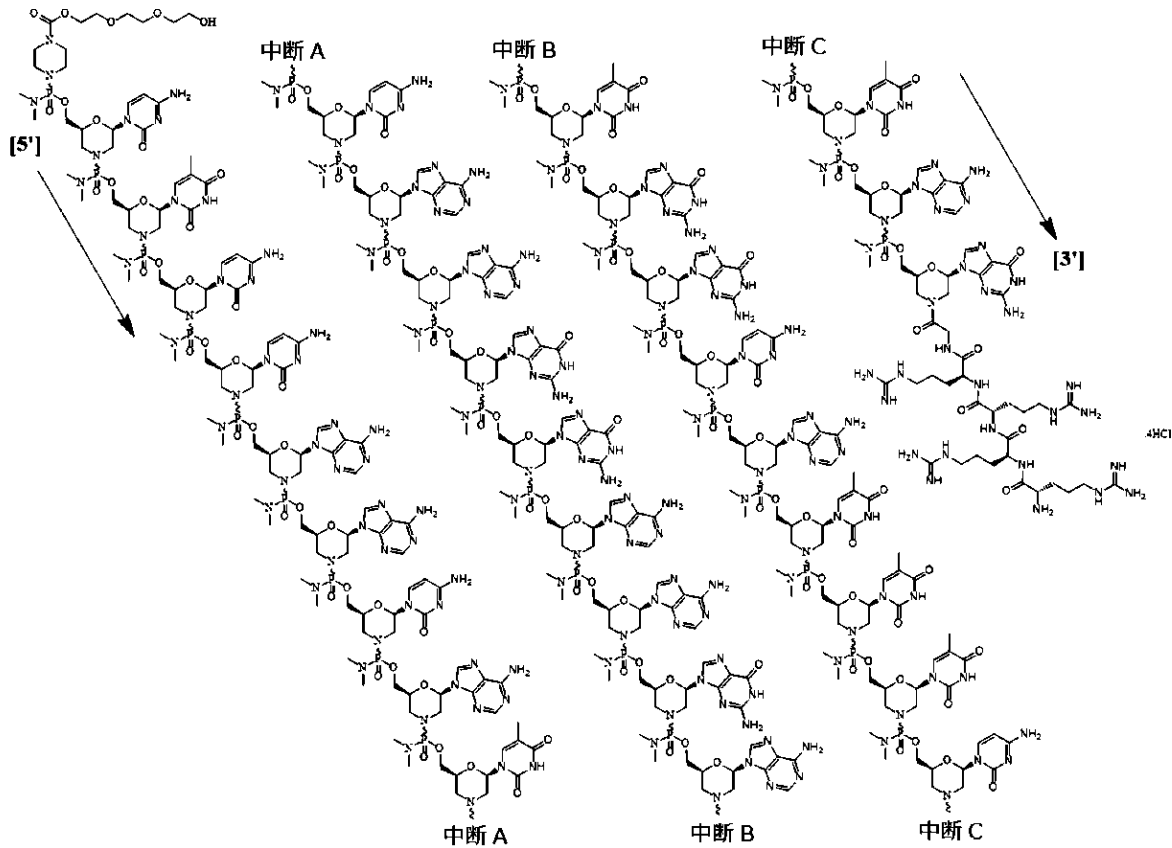
又は

30

40

50

【化 8 9】

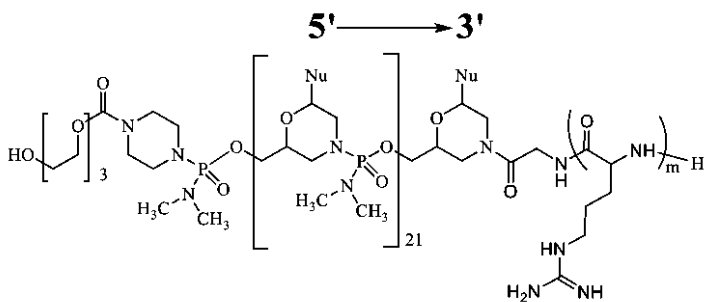


(V I G)。

【 0 1 2 3】

例えば、式 (I)、又は式 (I I I) のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (V I I) に従い：

【化 9 0】



(V I I) 、

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、

各 Nu は、一緒になって、H 4 5 A (− 0 3 + 1 9) として指定される、ジストロフィンプレ m R N A 中のエクソン 4 5 アニールン部位に相補的である、標的配列を形成する核酸塩基であり、m は、0、1、2、3、4、又は 5 である。

【 0 1 2 4】

例えば、式 (V I I) のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (V I I A) に従い：

10

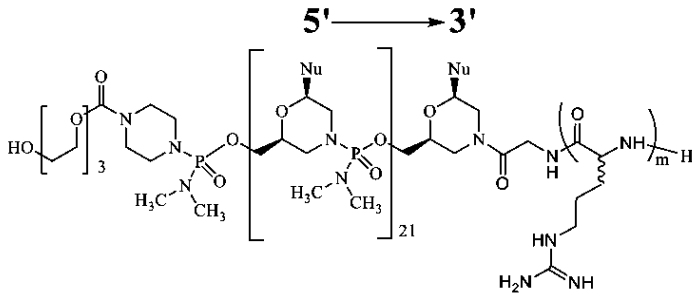
20

30

40

50

【化 9 1】



(V I I A)、

10

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、

各 Nu は、一緒になって、H 4 5 A (− 0 3 + 1 9) として指定される、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソン 4 5 アニリング部位に相補的である、標的配列を形成する核酸塩基であり、m は、0、1、2、3、4、又は 5 である。

【0 1 2 5】

いくつかの実施形態では、式 (V I I)、又は式 (V I I A) の各 Nu は、独立して、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T)、アデニン (A)、5-メチルシトシン (5 m C)、ウラシル (U)、及びヒポキサンチン (I) から選択される。

【0 1 2 6】

20

様々な実施形態では、1 ~ 2 2 及び 5 ' から 3 ' の各 Nu は、以下の通りである：

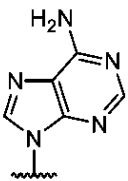
【表 1 4】

位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	C	6	C	11	C	16	G	21	X
2	A	7	C	12	X	17	X	22	G
3	A	8	A	13	G	18	X		
4	X	9	X	14	G	19	C		
5	G	10	C	15	A	20	C		

30

ここで、A は、

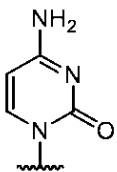
【化 9 2】



40

であり、C は、

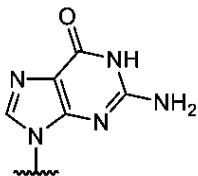
【化 9 3】



であり、G は、

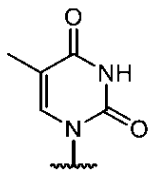
50

【化 9 4】



であり、X は、

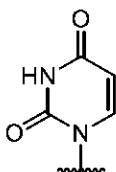
【化 9 5】



10

又は

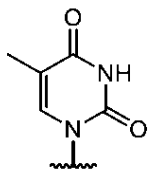
【化 9 6】



20

である。ある特定の実施形態では、各 X は、独立して、

【化 9 7】



30

である。

【0 1 2 7】

いくつかの実施形態では、式 (V I I)、又は式 (V I I A) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、その H C l (塩酸) 塩である。ある特定の実施形態では、m は、5 であり、H C l 塩は、. 5 H C l 塩である。ある特定の実施形態では、m は、4 であり、H C l 塩は、. 4 H C l 塩である。ある特定の実施形態では、m は、3 であり、H C l 塩は、. 3 H C l 塩である。ある特定の実施形態では、m は、2 であり、H C l 塩は、. 2 H C l 塩である。ある特定の実施形態では、m は、1 であり、H C l 塩は、. H C l 塩である。

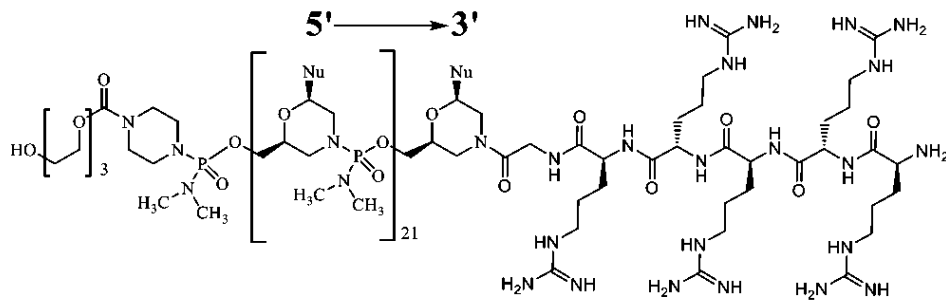
40

【0 1 2 8】

例えば、式 (V I I A) のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (V I I B)、又は式 (V I I C) に従い：

50

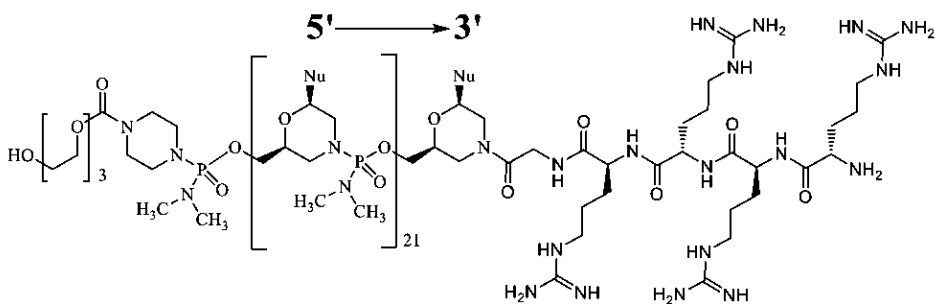
【化 9 8】



(V I I B)

10

【化 9 9】



(V I I C)

20

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、各 Nu は、一緒になって、H 4 5 A (ー 0 3 + 1 9) として指定される、ジストロフィンプレ mRNA 中のエクソン 4 5 アニールング部位に相補的である、標的配列を形成する核酸塩基である。

【0 1 2 9】

いくつかの実施形態では、式 (V I I B)、又は式 (V I I C) 中の各 Nu は、独立して、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T)、アデニン (A)、5-メチルシトシン (5mC)、ウラシル (U)、及びヒポキサンチン (I) から選択される。

【0 1 3 0】

30

様々な実施形態では、1 ~ 2 2 及び 5' から 3' の各 Nu は、以下の通りである：

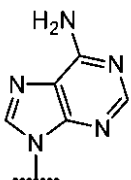
【表 1 5】

位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	C	6	C	11	C	16	G	21	X
2	A	7	C	12	X	17	X	22	G
3	A	8	A	13	G	18	X		
4	X	9	X	14	G	19	C		
5	G	10	C	15	A	20	C		

40

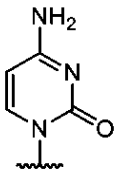
ここで、A は、

【化 1 0 0】

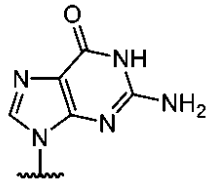


50

であり、Cは、
【化101】

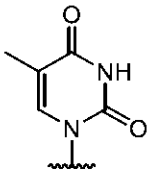


であり、Gは、
【化102】



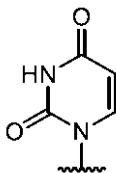
10

であり、Xは、
【化103】



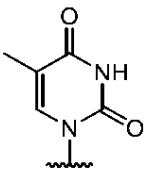
20

又は
【化104】



30

である。ある特定の実施形態では、各Xは、
【化105】



40

である。

【0131】

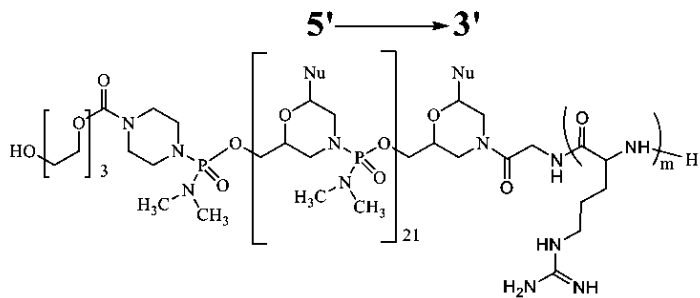
例えば、式(VII)、式(VIIA)、式(VIIB)、及び式(VIIC)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、標的配列は、5'-CAATGCCATCCTGGAGTTCTCTG-3' (配列番号2) であり、式中、各チミン(T)は、任意選択的に、ウラシル(U)である。例えば式(VII)、式(VIIA)、式(VIIB)、及び式(VIIC)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、様々な実施形態では、標的配列は、5'-CAATGCCATCCTGGAGTTCTCTG-3' (配列番号2) である。

【0132】

50

例えば、式（Ⅰ）、又は式（ⅠⅠⅠ）のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式（ⅤⅠⅠ）に従い：

【化１０６】



10

（ⅤⅠⅠ）

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、mは、0、1、2、3、4、又は5であり、1～22及び5'から3'の各Nuは、以下の通りである：

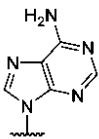
【表１６】

位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	C	6	C	11	C	16	G	21	T
2	A	7	C	12	T	17	T	22	G
3	A	8	A	13	G	18	T		
4	T	9	T	14	G	19	C		
5	G	10	C	15	A	20	C		

20

ここで、Aは、

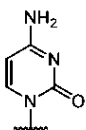
【化１０７】



30

であり、Cは、

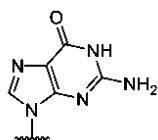
【化１０８】



40

であり、Gは、

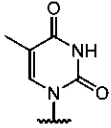
【化１０９】



であり、Tは、式（ⅤⅠⅠⅠ）で表される

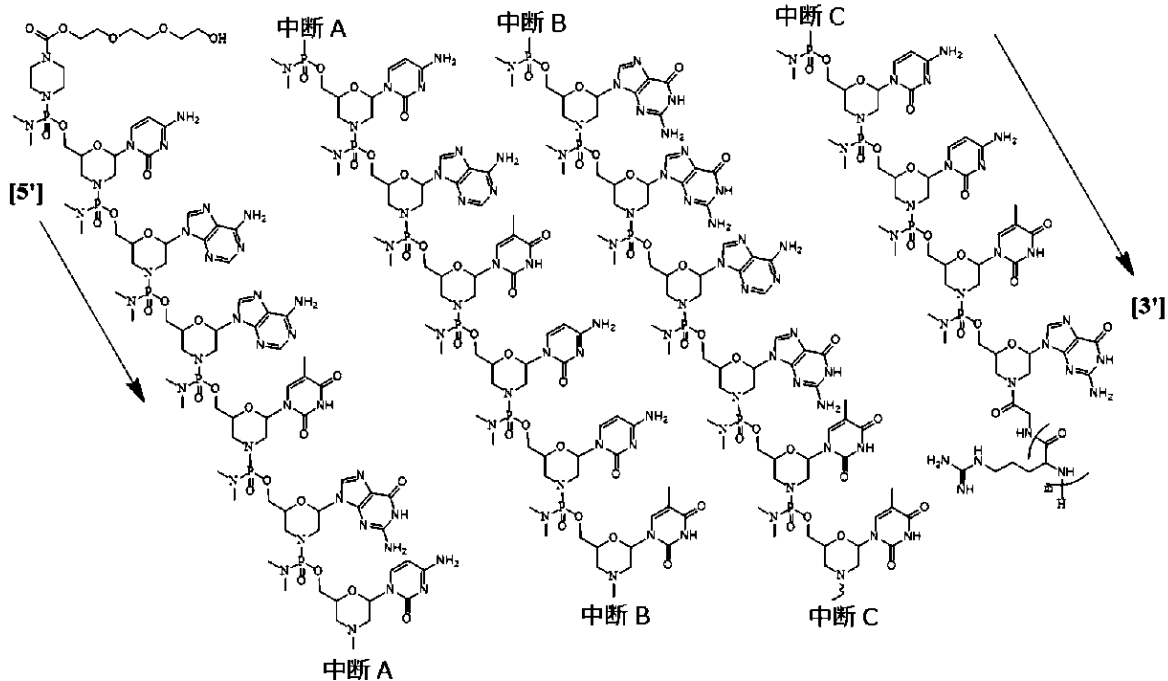
50

【化 1 1 0】



であり：

【化 1 1 1】



(V I I I) 、

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 m は、0、1、2、3、4、又は5である。

【0 1 3 3】

いくつかの実施形態では、式 (V I I I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、その HCl (塩酸) 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、5であり、HCl 塩は、 $\cdot 5$ HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、4であり、HCl 塩は、 $\cdot 4$ HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、3であり、HCl 塩は、 $\cdot 3$ HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、2であり、HCl 塩は、 $\cdot 2$ HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、1であり、HCl 塩は、 $\cdot 1$ HCl 塩である。

【0 1 3 4】

例えば、式 (V I I I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (V I I I A) 、又は式 (V I I I B) に従い：

10

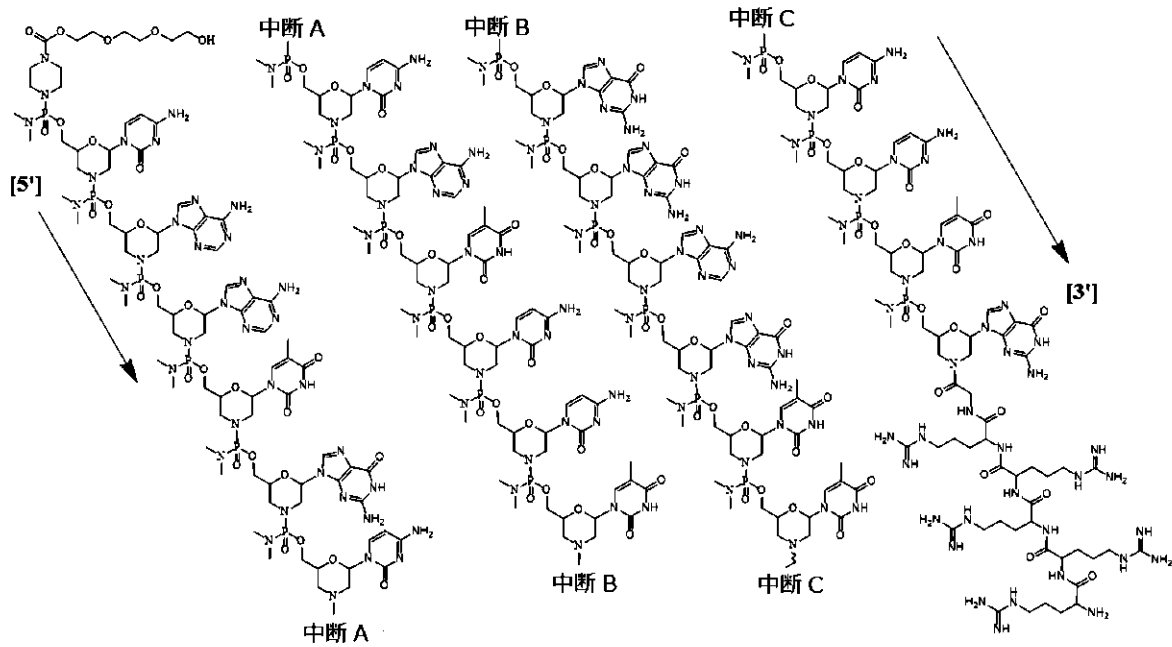
20

30

40

50

【化 1 1 2】



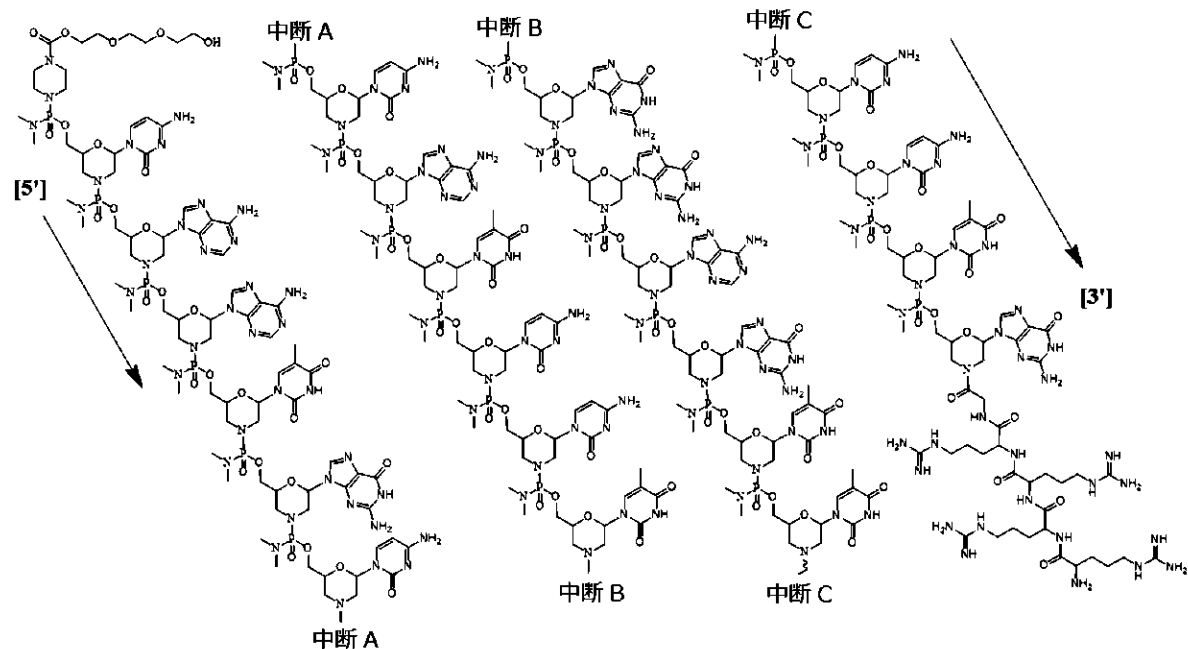
10

(V I I I A)

20

又は

【化 1 1 3】



30

40

(V I I I B)

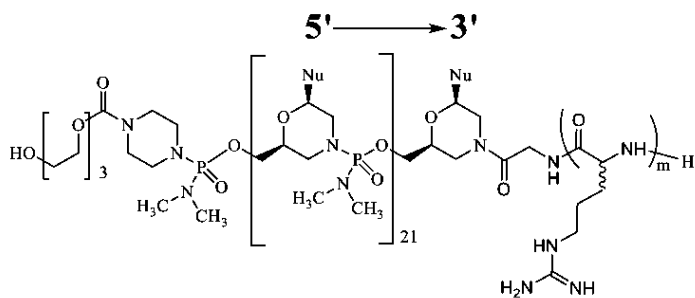
又はその薬学的に許容される塩、例えば、HCl塩である。

【0 1 3 5】

例えば、式 (I)、又は式 (I I I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (V I I A) に従い：

50

【化 1 1 4】



(V I I A)

10

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、mは、0、1、2、3、4、又は5であり、1～22及び5'から3'の各Nuは、以下の通りである：

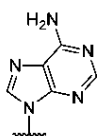
【表 1 7】

位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	C	6	C	11	C	16	G	21	T
2	A	7	C	12	T	17	T	22	G
3	A	8	A	13	G	18	T		
4	T	9	T	14	G	19	C		
5	G	10	C	15	A	20	C		

20

ここで、Aは、

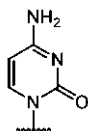
【化 1 1 5】



30

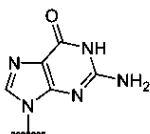
であり、Cは、

【化 1 1 6】



であり、Gは、

【化 1 1 7】

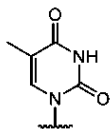


40

であり、Tは、式 (V I I I C) で表される

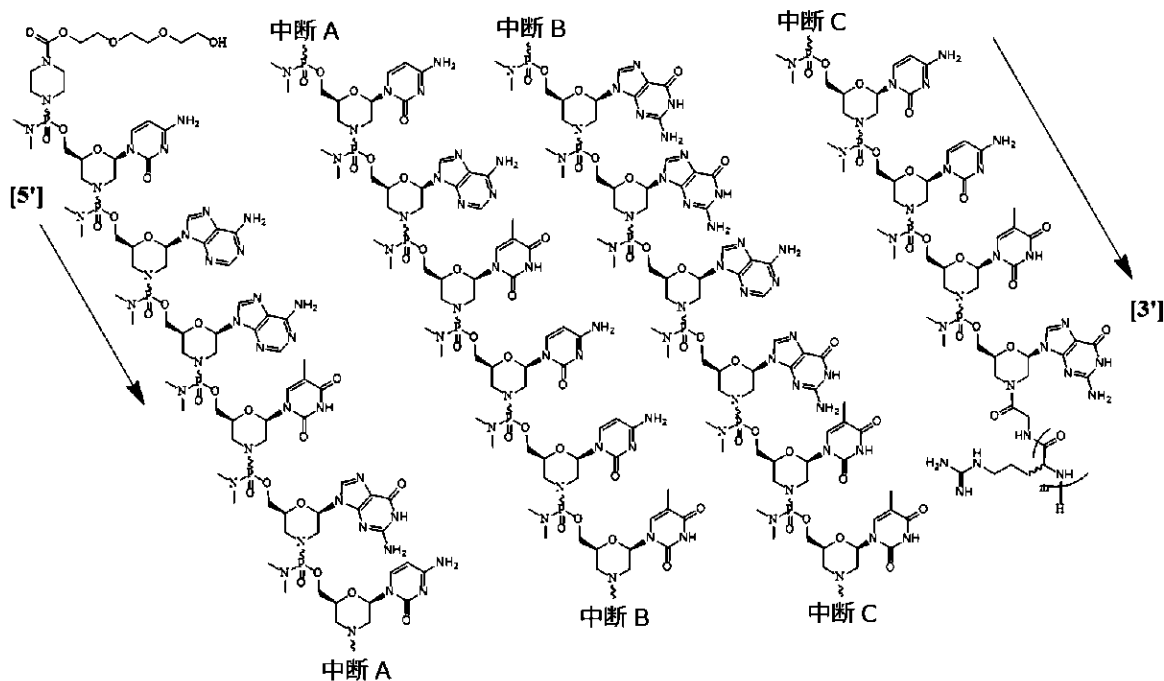
50

【化 1 1 8】



であり：

【化 1 1 9】



(V I I I C)、

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 m は、0、1、2、3、4、又は5である。

【0 1 3 6】

いくつかの実施形態では、式 (V I I I C) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、その HCl (塩酸) 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、5であり、HCl 塩は、. 5 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、4であり、HCl 塩は、. 4 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、3であり、HCl 塩は、. 3 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、2であり、HCl 塩は、. 2 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、1であり、HCl 塩は、. HCl 塩である。

【0 1 3 7】

例えば、式 (V I I I C) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (V I I I D)、又は式 (V I I I E) に従い：

10

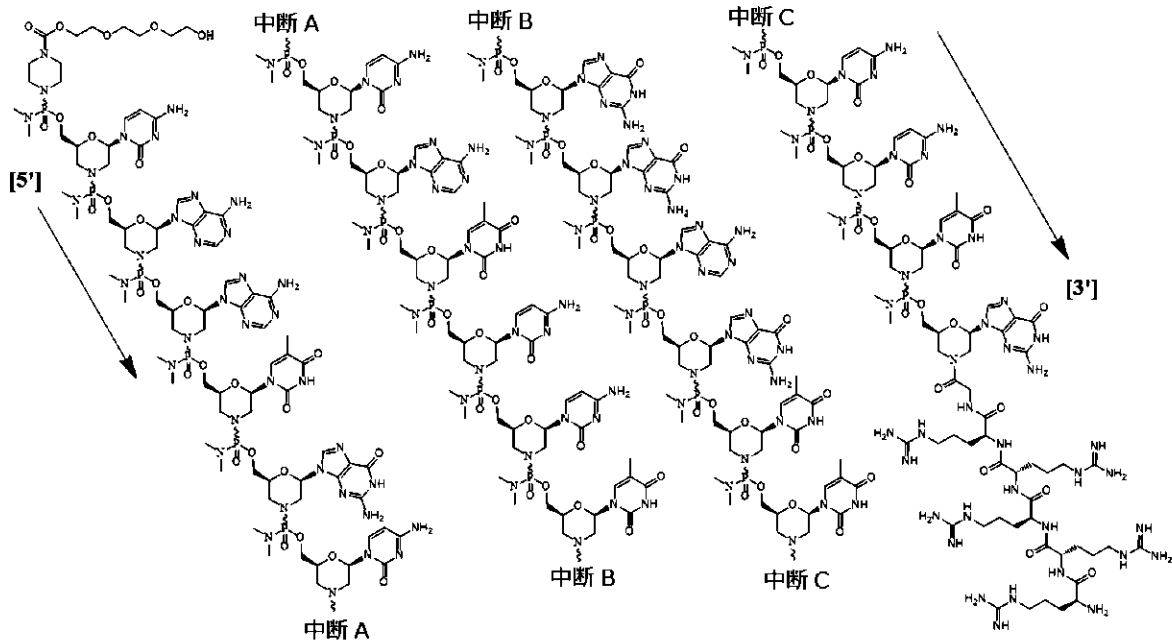
20

30

40

50

【化 1 2 0】



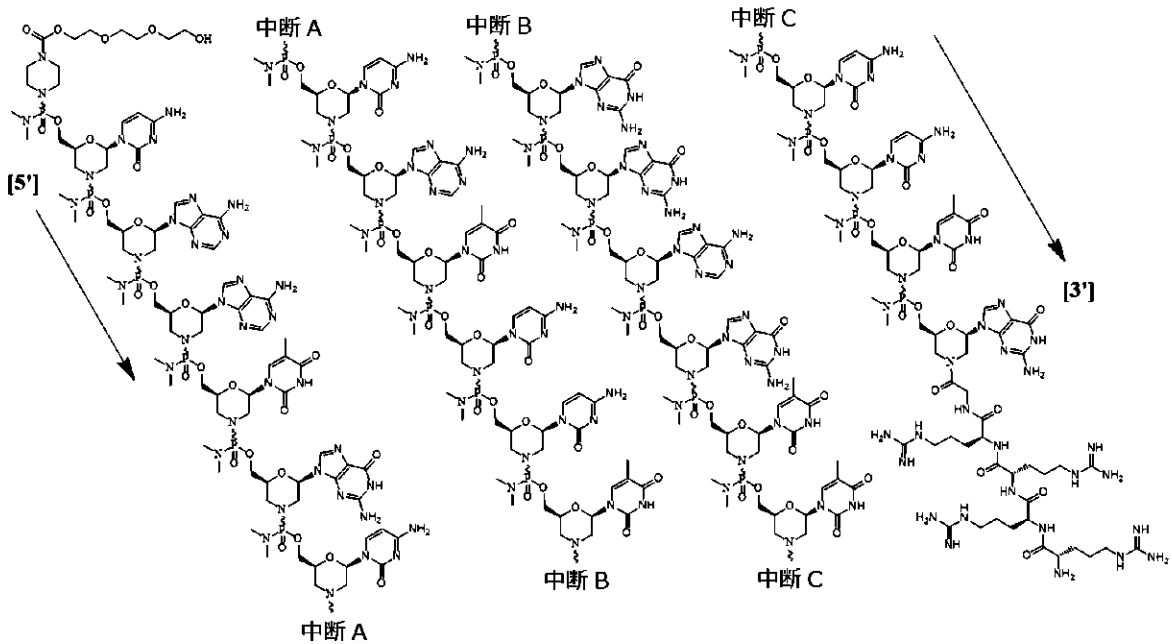
10

(V I I I D)

20

又は

【化 1 2 1】



30

40

(V I I I E)

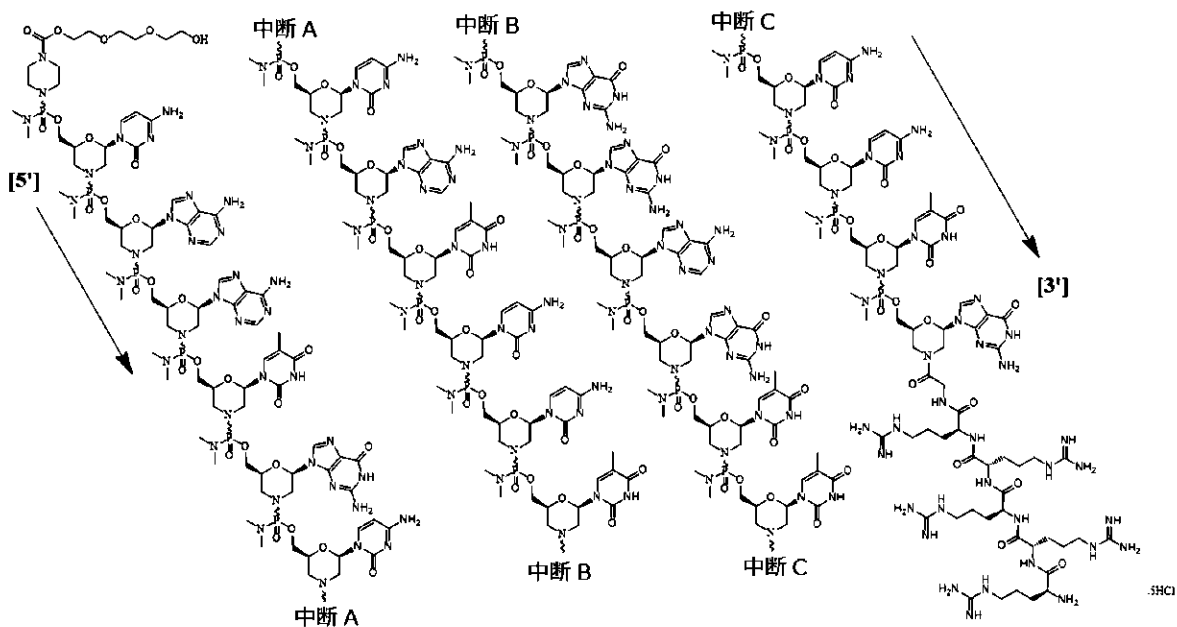
又はその薬学的に許容される塩、例えば、HCl塩である。

【0 1 3 8】

例えば、式 (V I I I C) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (V I I I F)、又は式 (V I I I G) に従う：

50

【化 1 2 2】



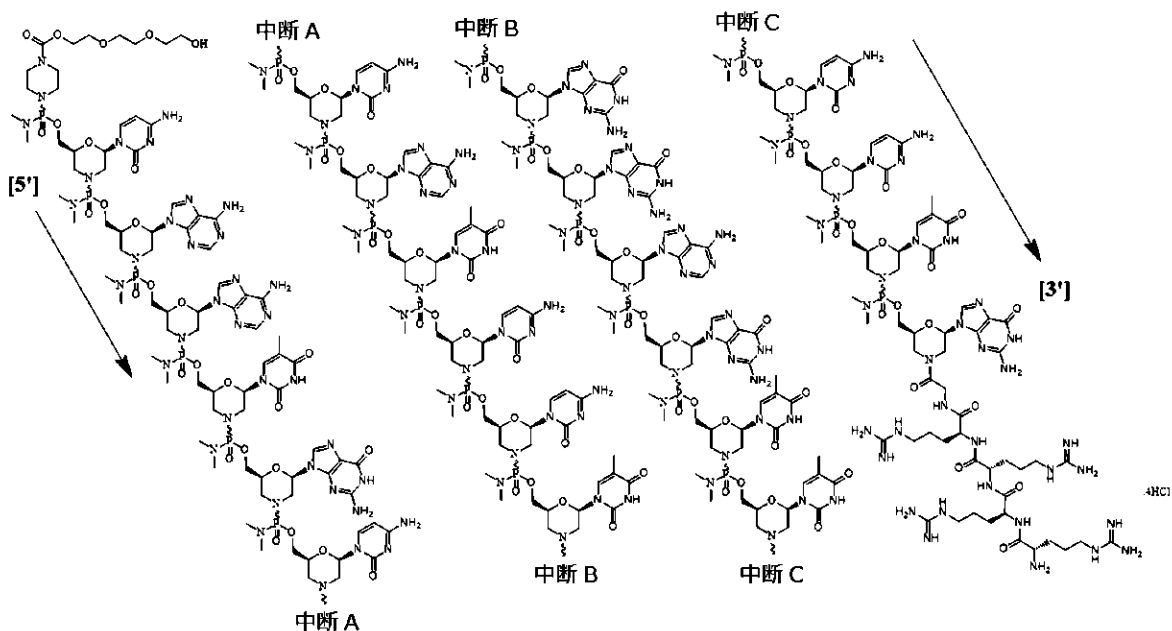
10

(V I I I F)

20

又は

【化 1 2 3】



30

(V I I I G)。

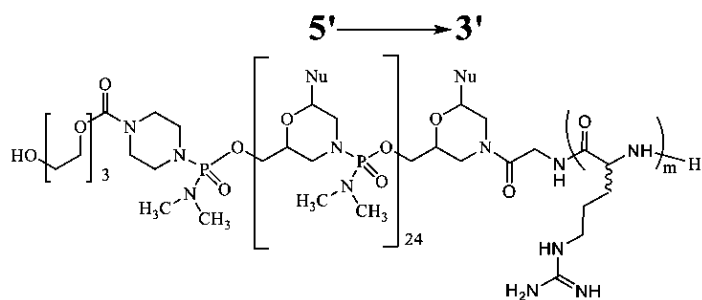
40

【0 1 3 9】

例えば、式 (I)、又は式 (IV) のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (IX) に従い：

50

【化 1 2 4】



(IX)、

10

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、

各 Nu は、一緒になって、H 5 3 A (+ 3 6 + 6 0) として指定される、ジストロフィンプレ m R N A 中のエクソン 5 3 アニールング部位に相補的である、標的配列を形成する核酸塩基であり、

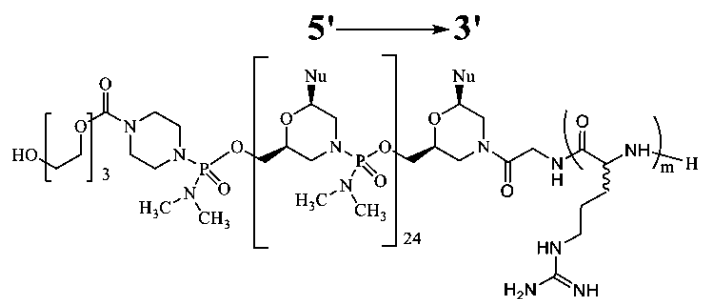
m は、0、1、2、3、4、又は 5 である。

【0 1 4 0】

例えば、式 (IX) のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (IX A) :

【化 1 2 5】

20



(IXA)、

30

又はその薬学的に許容される塩に従い、式中、

各 Nu は、一緒になって、H 5 3 A (+ 3 6 + 6 0) として指定される、ジストロフィンプレ m R N A 中のエクソン 5 3 アニールング部位に相補的である、標的配列を形成する核酸塩基であり、

m は、0、1、2、3、4、又は 5 である。

【0 1 4 1】

いくつかの実施形態では、式 (IX)、又は式 (IX A) 中の各 Nu は、独立して、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T)、アデニン (A)、5-メチルシトシン (5mC)、ウラシル (U)、及びヒポキサンチン (I) から選択される。

【0 1 4 2】

40

様々な実施形態では、1 ~ 2 5、及び 5' から 3' の各 Nu は、以下の通りである :

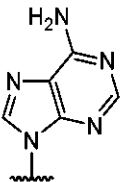
50

【表 1 8】

位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	G	6	C	11	G	16	G	21	X
2	X	7	X	12	X	17	A	22	G
3	X	8	C	13	X	18	A	23	X
4	G	9	C	14	C	19	G	24	X
5	C	10	G	15	X	20	G	25	C

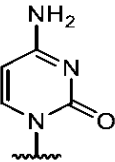
10

ここで、Aは、
【化 1 2 6】



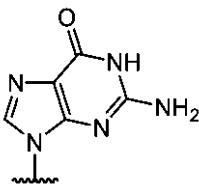
20

であり、Cは、
【化 1 2 7】



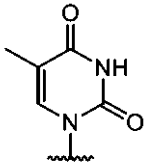
30

であり、Gは、
【化 1 2 8】

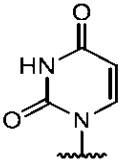


40

であり、Xは、
【化 1 2 9】

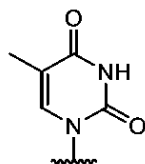


又は
【化 1 3 0】



50

【化 1 3 1】



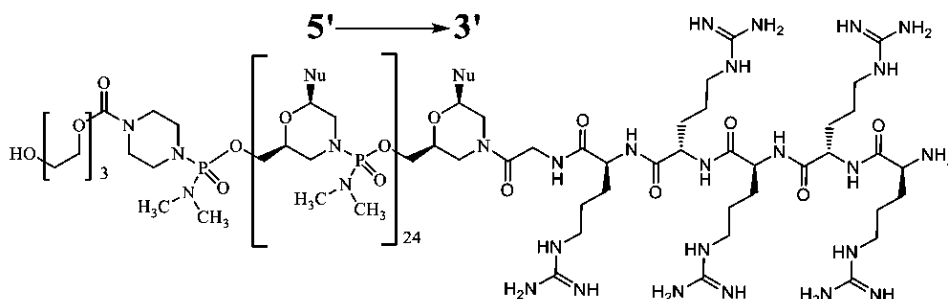
【 0 1 4 3 】

10

【 0 1 4 4 】

20

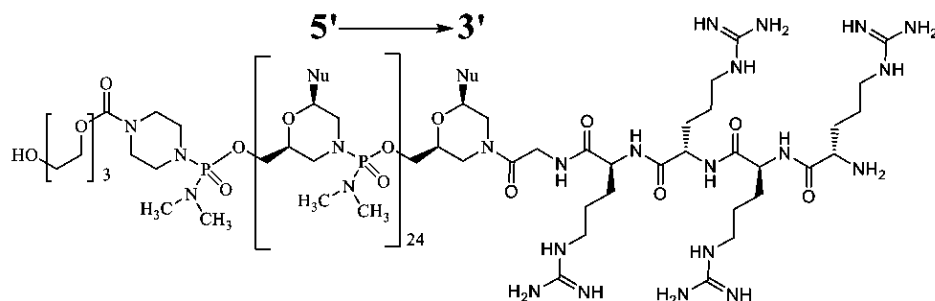
【化 1 3 2】



(I X B)

30

【化 1 3 3】



(IXC)

40

【 0 1 4 5 】

【 0 1 4 6 】

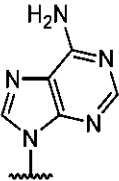
50

様々な実施形態では、1～25、及び5'から3'の各Nuは、以下の通りである：
【表19】

位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu	位置 5'から3'	Nu
1	G	6	C	11	G	16	G	21	X
2	X	7	X	12	X	17	A	22	G
3	X	8	C	13	X	18	A	23	X
4	G	9	C	14	C	19	G	24	X
5	C	10	G	15	X	20	G	25	C

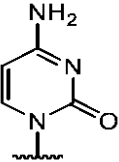
10

ここで、Aは、
【化134】

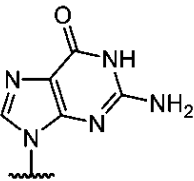


20

であり、Cは、
【化135】

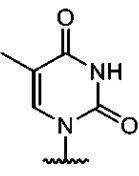


であり、Gは、
【化136】



30

であり、Xは、
【化137】

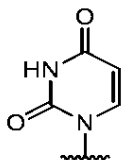


40

又は

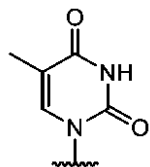
50

【化 1 3 8】



である。ある特定の実施形態では、各 X は、

【化 1 3 9】



10

である。

【0 1 4 7】

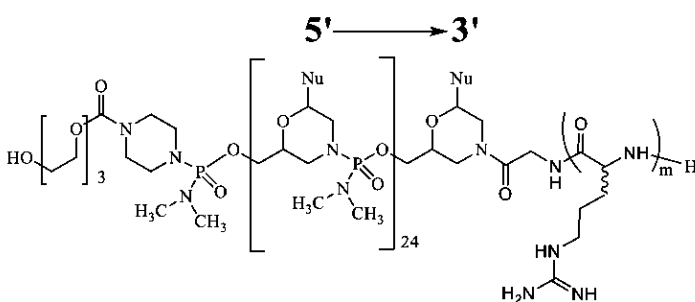
例えば、式 (I X)、式 (I X A)、式 (I X B)、及び式 (I X C) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、標的配列は、5'-G T T G C C T C C G G T T C T G A A G G T G T T C-3' (配列番号 3) であり、各チミン (T) は、任意選択的に、ウラシル (U) である。例えば、式 (I X)、式 (I X A)、式 (I X B)、及び式 (I X C) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、様々な実施形態では、標的配列は、5'-G T T G C C T C C G G T T C T G A A G G T G T T C-3' (配列番号 3) である。

20

【0 1 4 8】

例えば、式 (I)、又は式 (I V) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (I X) に従い：

【化 1 4 0】



30

(I X)

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、m は、0、1、2、3、4、又は 5 であり、

40

1 から 2 5、及び 5' から 3' の各 Nu は、以下である：

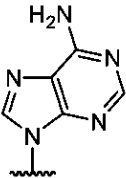
50

【表 2 0】

位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu
1	G	6	C	11	G	16	G	21	T
2	T	7	T	12	T	17	A	22	G
3	T	8	C	13	T	18	A	23	T
4	G	9	C	14	C	19	G	24	T
5	C	10	G	15	T	20	G	25	C

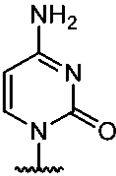
10

ここで、A は、
【化 1 4 1】



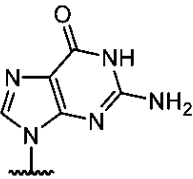
20

であり、C は、
【化 1 4 2】



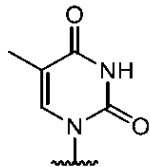
30

であり、G は、
【化 1 4 3】



40

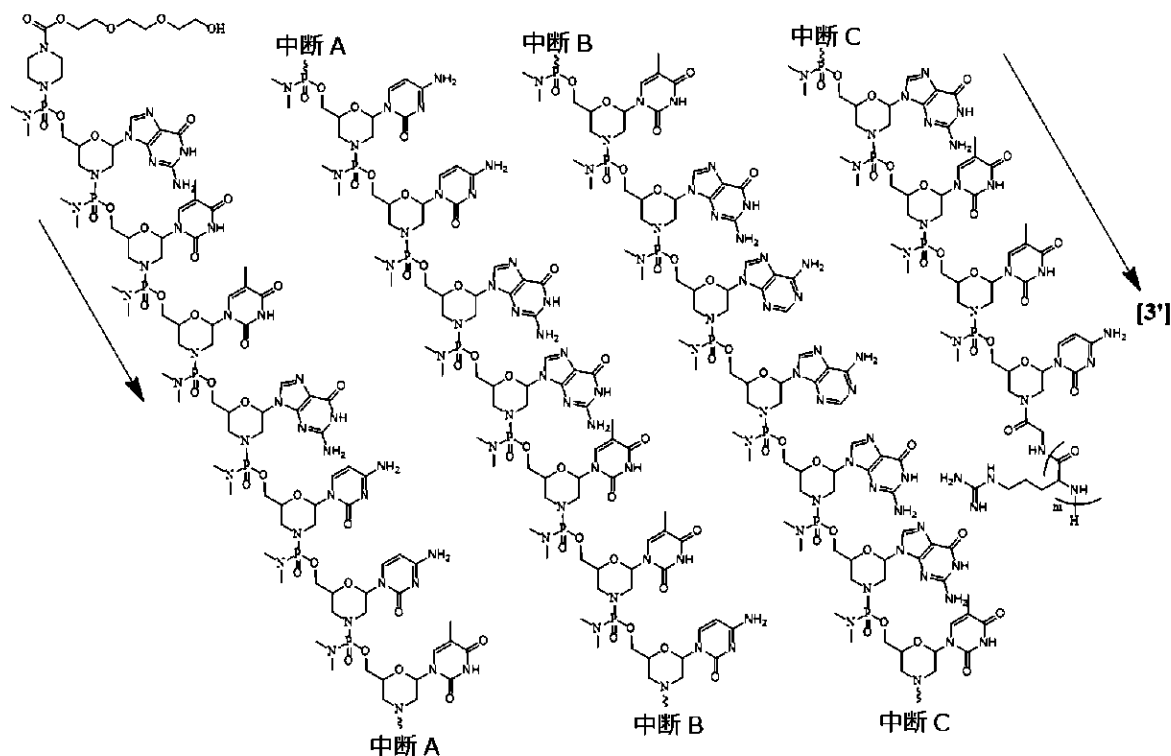
であり、T は、
【化 1 4 4】



であり、式 (X) によって表され：

50

【化 1 4 5】



10

20

(X)

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、 m は、0、1、2、3、4、又は5である。

【0 1 4 9】

いくつかの実施形態では、式 (X) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、その HCl (塩酸) 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、5であり、HCl 塩は、. 5 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、4であり、HCl 塩は、. 4 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、3であり、HCl 塩は、. 3 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、2であり、HCl 塩は、. 2 HCl 塩である。ある特定の実施形態では、 m は、1であり、HCl 塩は、. HCl 塩である。

30

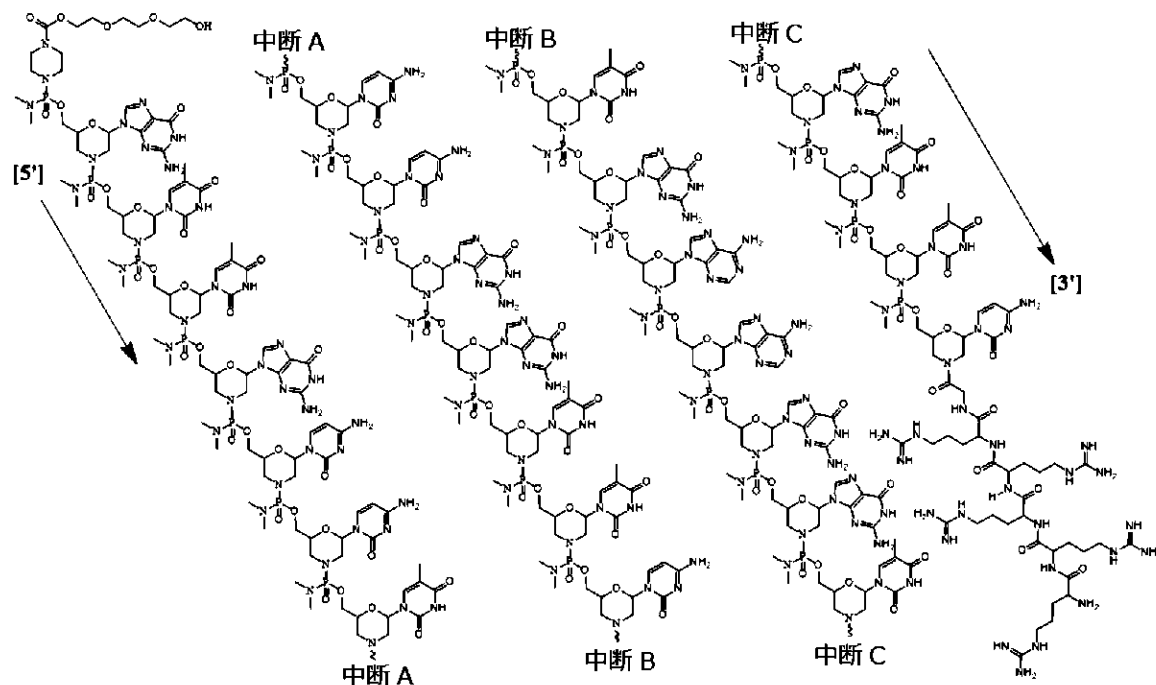
【0 1 5 0】

例えば、式 (X) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (X A)、又は式 (X B) に従い：

40

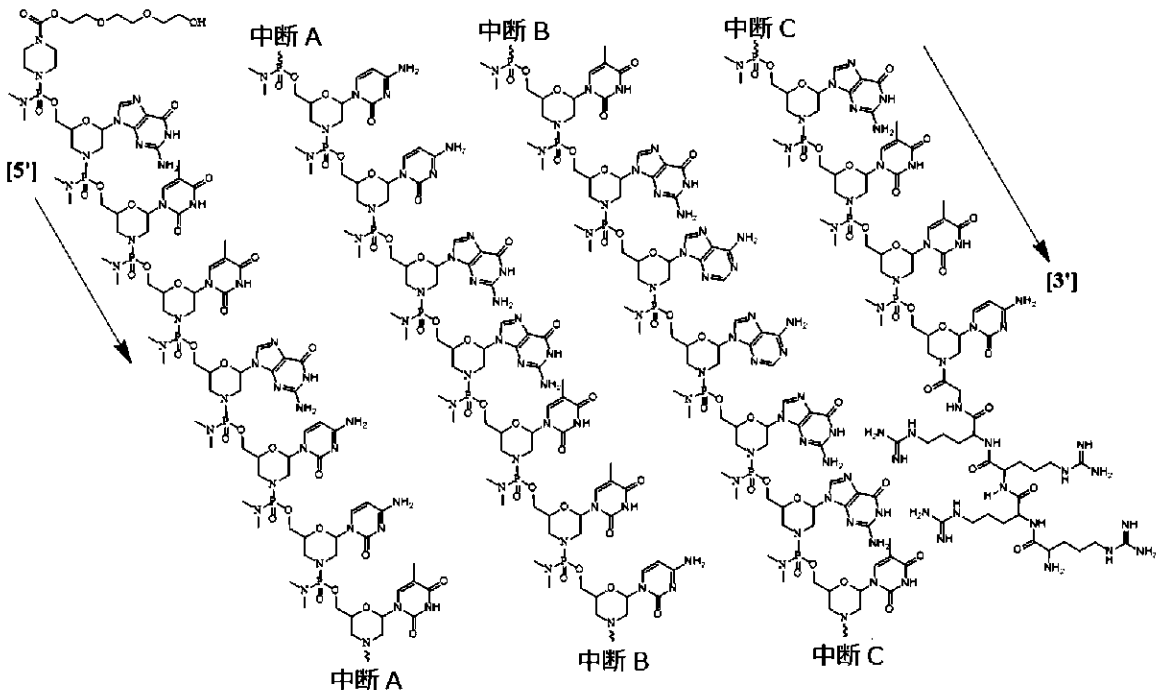
50

【化 1 4 6】



(X A)、

【化 1 4 7】



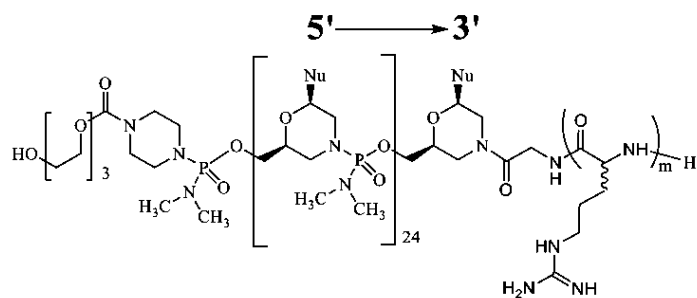
(X B)

又はその薬学的に許容される塩、例えば、HCl 塩である。

【0151】

例えば、式 (I)、又は (IV) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (IX A) に従い：

【化 1 4 8】



(I X A)

10

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、mは、0、1、2、3、4、又は5であり、

式中、1～25、及び5'から3'の各Nuは、以下の通りである：

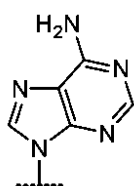
【表 2 1】

位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu	位置 5'から 3'	Nu
1	G	6	C	11	G	16	G	21	T
2	T	7	T	12	T	17	A	22	G
3	T	8	C	13	T	18	A	23	T
4	G	9	C	14	C	19	G	24	T
5	C	10	G	15	T	20	G	25	C

20

ここで、 A は、

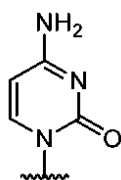
【化 1 4 9】



30

であり、Cは、

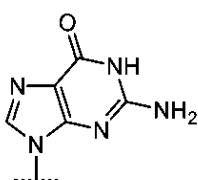
【化 1 5 0】



40

であり、 G は、

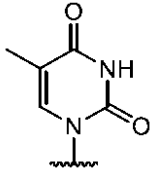
【化 1 5 1】



であり、 T は、式 (XC) で表される

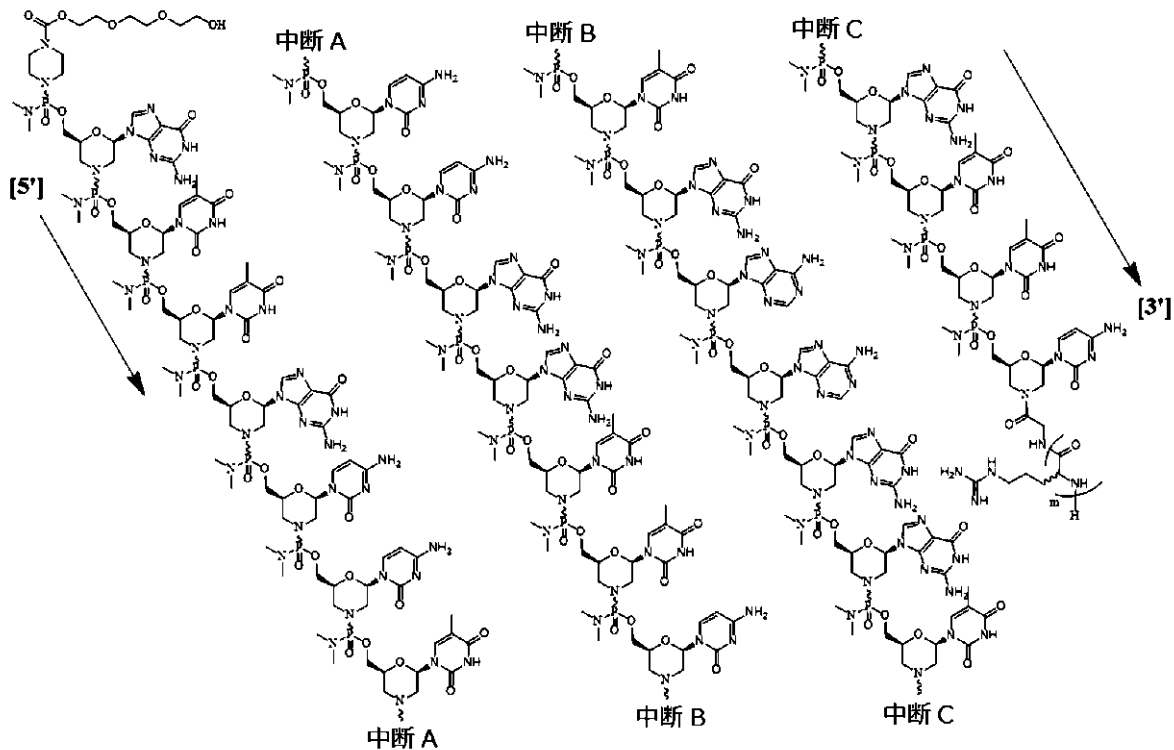
50

【化 1 5 2】



であり：

【化 1 5 3】



(XC)、

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、mは、0、1、2、3、4、又は5である。

【0 1 5 2】

いくつかの実施形態では、式 (XC) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、そのHCl塩である。ある特定の実施形態では、mは、5であり、HCl塩は、 $\cdot 5\text{HCl}$ 塩である。ある特定の実施形態では、mは、4であり、HCl塩は、 $\cdot 4\text{HCl}$ 塩である。ある特定の実施形態では、mは、3であり、HCl塩は、 $\cdot 3\text{HCl}$ 塩である。ある特定の実施形態では、mは、2であり、HCl塩は、 $\cdot 2\text{HCl}$ 塩である。ある特定の実施形態では、mは、1であり、HCl塩は、 $\cdot \text{HCl}$ 塩である。

【0 1 5 3】

例えば、式 (XC) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (XD)、又は式 (XE) に従い：

10

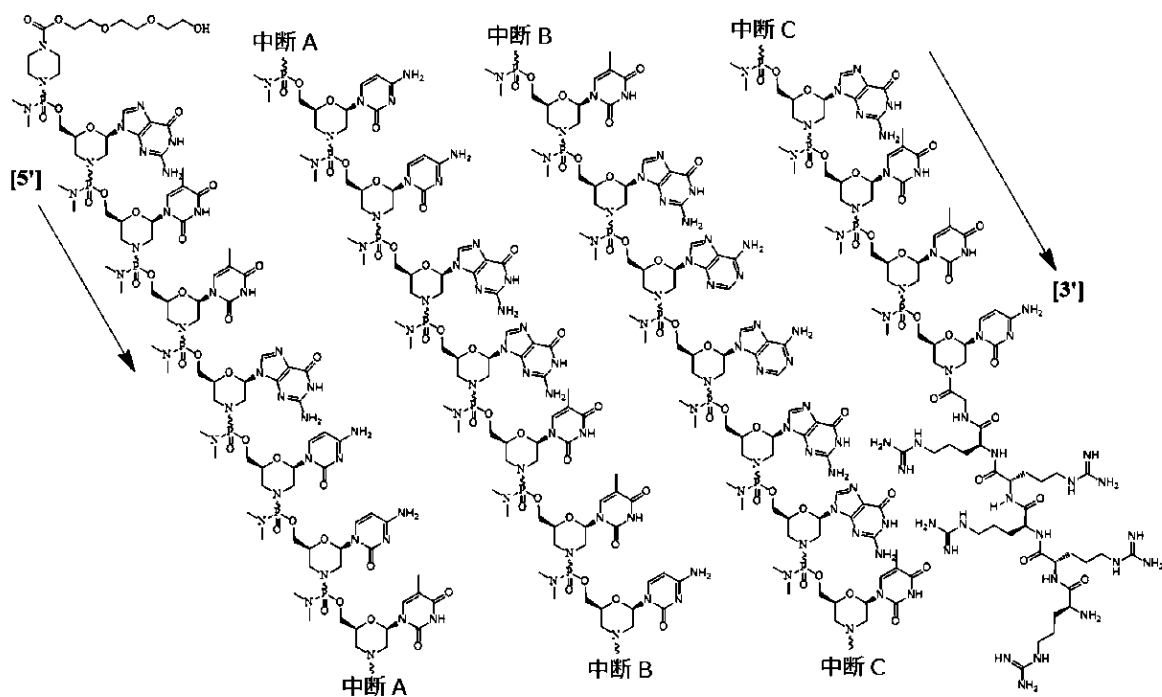
20

30

40

50

【化 1 5 4】

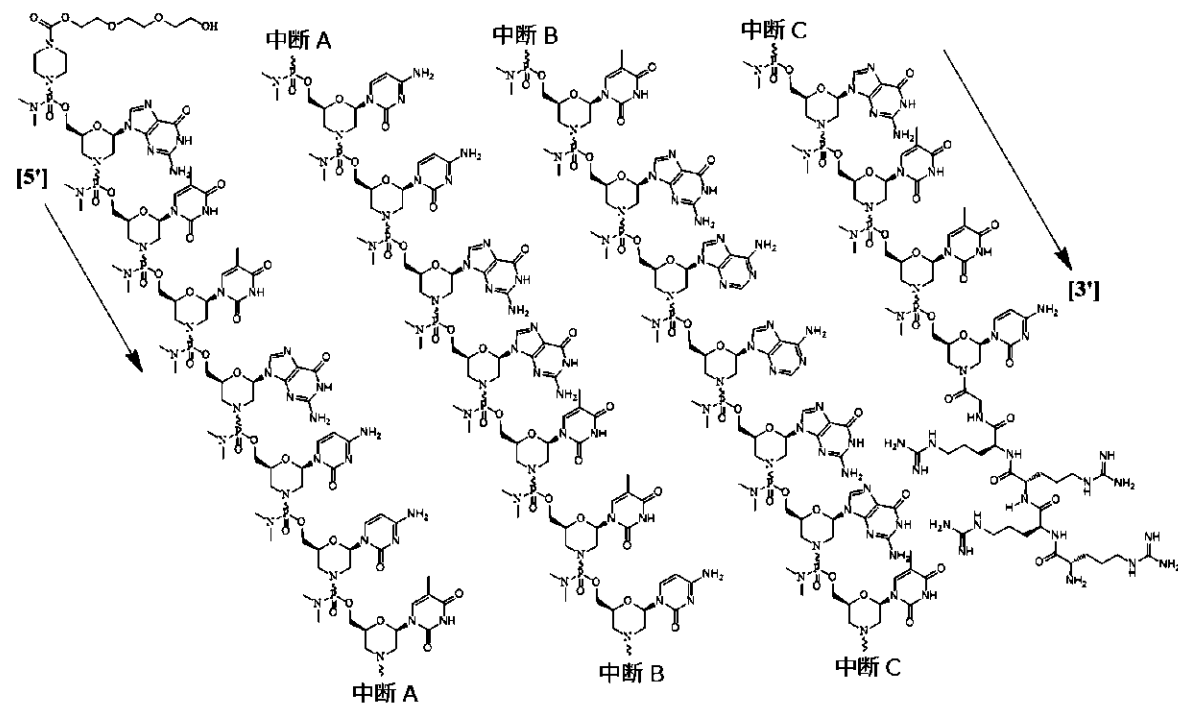


10

20

(XC)

【化 1 5 5】



30

40

(XD)、

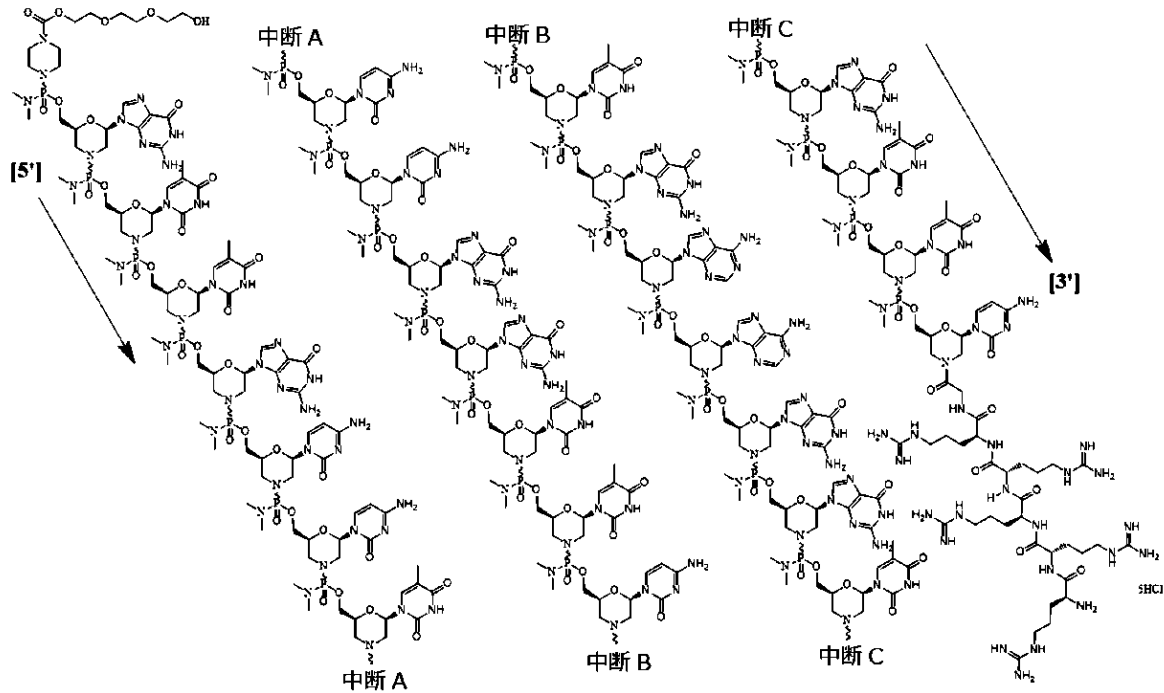
又はその薬学的に許容される塩、例えば、HCl塩である。

【0 1 5 4】

例えば、式 (XC) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式 (XF)、又は式 (XG) に従う：

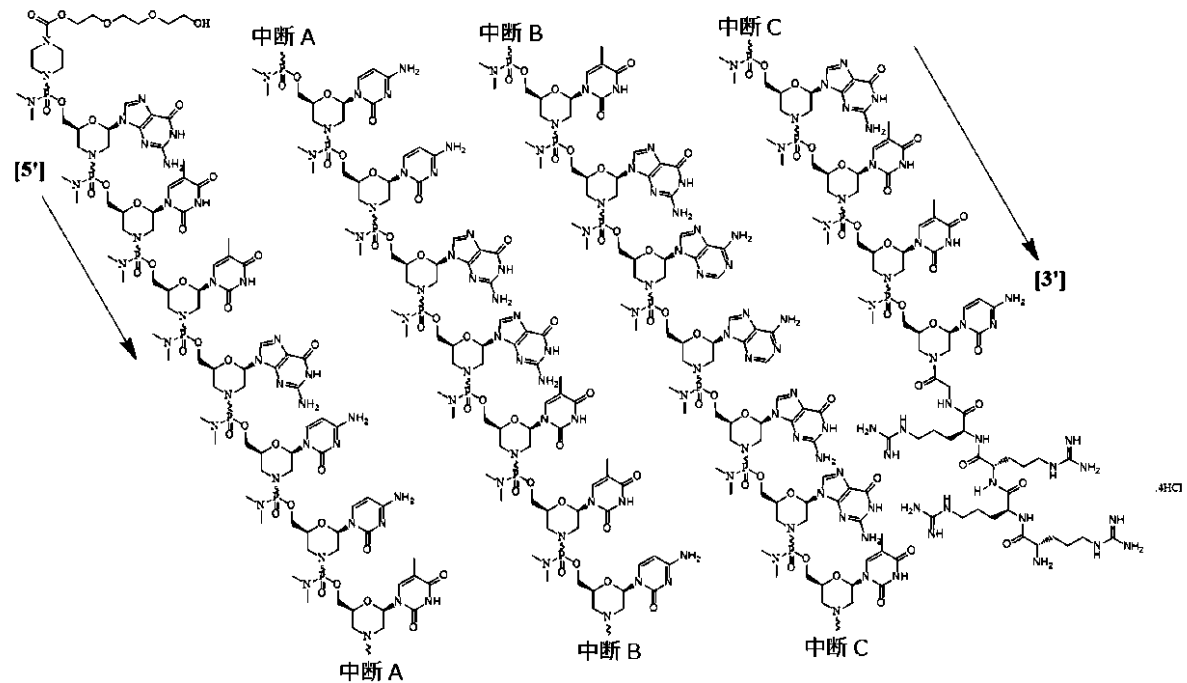
50

【化 1 5 6】



(X F)

【化 1 5 7】



(X G)。

【0 1 5 5】

一態様では、本開示は、選択された標的に結合して、ヒトジストロフィン遺伝子におけるエクソンスキッピングを誘導することができる、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を提供し、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩は、アニーリング部位として指定される、ジストロフィンプレmRNAのエクソン51標的領域に相補的である、塩基の配列を含み、塩基配列、及びアニーリング部位は、以下の1つから選択される：

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 1】

アニーリング部位	塩基配列 [5'から 3']
H51D(+16-07)、配列番号 4	CTC ATA CCT TCT GCT TGA TGA TC
H50D(+103+127)、配列番号 5	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H51A(+61+82)、配列番号 6	GAA GAT GGC ATT TCT AGT TTG G
H51A(+61+83)、配列番号 7	GGA AGA TGG CAT TTC TAG TTT GG
H51A(+61+89)、配列番号 8	CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG TTT GG
H51A(+66+89)、配列番号 9	CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG
H51A(+66+93)、配列番号 10	CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT CTA G
H51A(+69+92)、配列番号 11	CAA CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC
H51A(+69+96)、配列番号 12	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT C
H51A(+74+96)、配列番号 13	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+99)、配列番号 14	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+100)、配列番号 15	GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+102)、配列番号 16	CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+103)、配列番号 17	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+75+96)、配列番号 18	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG G
H51A(+75+99)、配列番号 19	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG G
H51A(+76+99)、配列番号 20	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG
H51A(+76+105)、配列番号 21	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG
H51A(+80+103)、配列番号 22	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA G
H51A(+80+105)、配列番号 23	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51A(+80+107)、配列番号 24	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA GGA AG
H51A(+80+108)、配列番号 25	CCA GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51A(+83+103)、配列番号 26	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG G
H51A(+83+105)、配列番号 27	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG
H51A(+83+107)、配列番号 28	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA GG
H51A(+83+109)、配列番号 29	GCC AGA GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG G
H51A(+84+107)、配列番号 30	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA G
H51A(+84+111)、配列番号 31	CTG CCA GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AG
H51A(+84+105)、配列番号 32	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AG
H51A(+87+109)、配列番号 33	GCC AGA GCA GGT ACC TCC AAC ATC
H51A(+93+116)、配列番号 34	GAA ATC TGC CAG AGC AGG TAC CTC
H51A(+75+100)、配列番号 35	GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GG
H51A(+74+101)、配列番号 36	AGG TAC CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+74+98)、配列番号 37	TAC CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+74+97)、配列番号 38	ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+94)、配列番号 39	TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+93)、配列番号 40	CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 2】

H51A(+74+92)、配列番号 41	CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+69+99)、配列番号 42	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT C
H51A(+70+99)、配列番号 43	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT
H51A(+71+99)、配列番号 44	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TT
H51A(+72+99)、配列番号 45	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA T
H51A(+73+99)、配列番号 46	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA
H51A(+77+99)、配列番号 47	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG AT
H51A(+78+99)、配列番号 48	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG A
H51A(+79+99)、配列番号 49	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51.SA.(-60-36)、配列番号 50	GAA GAA AAA GAA AAA TTA GAA ACA C
H51.SA.(-50-26)、配列番号 51	AAG GAA AAA AGA AGA AAA AGA AAA A
H51.SA.(-45-21)、配列番号 52	GCA AAA AGG AAA AAA GAA GAA AAA G
H51.SA.(-40-16)、配列番号 53	TTT TTG CAA AAA GGA AAA AAG AAG A
H51.SA.(-35-11)、配列番号 54	TTG GGT TTT TGC AAA AAG GAA AAA A
H51.SA.(-30-6)、配列番号 55	ATA TTT TGG GTT TTT GCA AAA AGG A
H51.SA.(-25-1)、配列番号 56	CTA AAA TAT TTT GGG TTT TTG CAA A
H51.SA.(-20+5)、配列番号 57	AGG AGC TAA AAT ATT TTG GGT TTT T
H51.SA.(-15+10)、配列番号 58	TGA GTA GGA GCT AAA ATA TTT TGG G
H51.SA.(-10+15)、配列番号 59	CAG TCT GAG TAG GAG CTA AAA TAT T
H51.SA.(-5+20)、配列番号 60	AGT AAC AGT CTG AGT AGG AGC TAA A
H51.SA.(-1+24)、配列番号 61	CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG C
H51.SA.(-65-41)、配列番号 62	AAA AGA AAA ATT AGA AAC ACA AGC T
H51.SA.(-70-46)、配列番号 63	AAA AAT TAG AAA CAC AAG CTA AAG A
H51.SA.(-75-51)、配列番号 64	TTA GAA ACA CAA GCT AAA GAG CCA A
H51.SA.(-80-56)、配列番号 65	AAC ACA AGC TAA AGA GCC AAT TTC A
H51.SA.(-85-61)、配列番号 66	AAG CTA AAG AGC CAA TTT CAA TAA C
H51.SA.(-90-66)、配列番号 67	AAA GAG CCA ATT TCA ATA ACA ATA A
H51.SA.(-95-71)、配列番号 68	GCC AAT TTC AAT AAC AAT AAG TCA A
H51.SA.(-100-76)、配列番号 69	TTT CAA TAA CAA TAA GTC AAA TTT A
H51A(+1+30)、配列番号 70	GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG
H51A(+10+39)、配列番号 71	CCA CAG GTT GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT
H51A(+6+35)、配列番号 72	AG GTT GTG TCA CCA GA GTA ACA GTC TGA GT
H51A(+49+78)、配列番号 73	ATG GCA TTT CTA GTT TGG AGA TGG CAG TTT
H51A(+1+25)、配列番号 74	ACC AGA GTA ACA GTC TGA GTA GGA G
H51A(+4+28)、配列番号 75	GTC ACC AGA GTA ACA GTC TGA GTA G
H51A(+16+40)、配列番号 76	ACC ACA GGT TGT GTC ACC AGA GTA A
H51A(+21+45)、配列番号 77	TAG TAA CCA CAG GTT GTG TCA CCA G
H51A(+26+50)、配列番号 78	TTC CTT AGT AAC CAC AGG TTG TGT C
H51A(+31+55)、配列番号 79	GCA GTT TCC TTA GTA ACC ACA GGT T
H51A(+36+60)、配列番号 80	AGA TGG CAG TTT CCT TAG TAA CCA C

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 3】

H51A(+41+65)、配列番号 81	TTT GGA GAT GGC AGT TTC CTT AGT A
H51A(+86+110)、配列番号 82	TGC CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT C
H51A(+91+115)、配列番号 83	AAA TCT GCC AGA GCA GGT ACC TCC A
H51A(+96+120)、配列番号 84	GGT TGA AAT CTG CCA GAG CAG GTA C
H51A(+101+125)、配列番号 85	AGC CCG GTT GAA ATC TGC CAG AGC A
H51A(+106+130)、配列番号 86	GTC CAA GCC CGG TTG AAA TCT GCC A
H51A(+111+135)、配列番号 87	GTT CTG TCC AAG CCC GGT TGA AAT C
H51A(+116+140)、配列番号 88	GGT AAG TTC TGT CCA AGC CCG GTT G
H51A(+121+145)、配列番号 89	CAG TCG GTA AGT TCT GTC CAA GCC C
H51A(+126+150)、配列番号 90	AAA GCC AGT CGG TAA GTT CTG TCC A
H51A(+131+155)、配列番号 91	CAG AGA AAG CCA GTC GGT AAG TTC T
H51A(+136+160)、配列番号 92	TCA AGC AGA GAA AGC CAG TCG GTA A
H51A(+141+165)、配列番号 93	CTT GAT CAA GCA GAG AAA GCC AGT C
H51A(+146+170)、配列番号 94	TAT AAC TTG ATC AAG CAG AGA AAG C
H51A(+151+175)、配列番号 95	GAT TTT ATA ACT TGA TCA AGC AGA G
H51A(+156+180)、配列番号 96	TCT GTG ATT TTA TAA CTT GAT CAA G
H51A(+161+185)、配列番号 97	CAC CCT CTG TGA TTT TAT AAC TTG A
H51A(+166+190)、配列番号 98	ACC ATC ACC CTC TGT GAT TTT ATA A
H51A(+171+195)、配列番号 99	CAC CCA CCA TCA CCC TCT GTG ATT T
H51A(+176+200)、配列番号 100	AAG GTC ACC CAC CAT CAC CCT CTG T
H51A(+181+205)、配列番号 101	TCC TCA AGG TCA CCC ACC ATC ACC C
H51A(+186+210)、配列番号 102	TGA TAT CCT CAA GGT CAC CCA CCA T
H51A(+191+215)、配列番号 103	CTC GTT GAT ATC CTC AAG GTC ACC C
H51A(+196+220)、配列番号 104	ATC ATC TCG TTG ATA TCC TCA AGG T
H51A(+201+225)、配列番号 105	TGA TGA TCA TCT CGT TGA TAT CCT C
H51A(+206+230)、配列番号 106	CTG CTT GAT GAT CAT CTC GTT GAT A
H51D(+211-02)、配列番号 107	ACC TTC TGC TTG ATG ATC ATC TCG T
H51D(+214-05)、配列番号 108	CAT ACC TTC TGC TTG ATG ATC ATC T
H51D(+217-08)、配列番号 109	TCT CAT ACC TTC TGC TTG ATG ATC A
H51D(+220-11)、配列番号 110	TTT TCT CAT ACC TTC TGC TTG ATG A
H51D(+223-14)、配列番号 111	ATT TTT TCT CAT ACC TTC TGC TTG A
H51D(+226-17)、配列番号 112	ATC ATT TTT TCT CAT ACC TTC TGC T
H51D(+229-20)、配列番号 113	TTT ATC ATT TTT TCT CAT ACC TTC T
H51D(+232-23)、配列番号 114	ACT TTT ATC ATT TTT TCT CAT ACC T
H51D(-02-26)、配列番号 115	CCA ACT TTT ATC ATT TTT TCT CAT A
H51A(+1+30)、配列番号 116	GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG

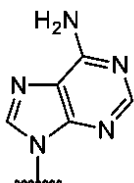
10

20

30

40

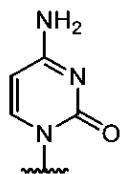
ここで、Aは、
【化 1 5 8】



であり、Cは、

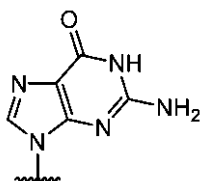
50

【化 1 5 9】



であり、Gは、

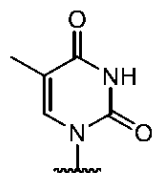
【化 1 6 0】



10

であり、Tは、

【化 1 6 1】



20

である。

【0 1 5 6】

一態様では、塩基配列、及びアニーリング部位は、以下の1つから選択される：

30

40

50

【表 2 3 - 1】

アニーリング部位	塩基配列 [5'から 3']
H51A(+66+95)、配列番号 117	CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG
H51A(+74+97)、配列番号 118	ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+70+99)、配列番号 119	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT
H51A(+72+99)、配列番号 120	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA T
H51A(+68+87)、配列番号 121	TCA AGG AAG ATG GCA TTT CT
H51A(+68+87)、配列番号 122	UCA AGG AmAGm AmUGm GmCA UUU CU
H53A(+36+60)、配列番号 123	GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT GTT C
H53A(+36+60)、配列番号 124	GTT G5mC5mC T5mC5mC GGT T5mC T GAA GGT GTT 5mC
H53A(+36+56)、配列番号 125	CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC
H53A(+23+47)、配列番号 126	CTG AAG GTG TTC TTG TAC TTC ATC C
H53A(+32+56)、配列番号 127	CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC TTG T
H53A(+33+60)、配列番号 128	GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT GTT CTT G
H53A(+30+59)、配列番号 129	TTG CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC TTG TAC
H53A(+39+62)、配列番号 130	CTG TTG CCT CCG GTT CTG AAG GTG
H53A(+36+69)、配列番号 131	CAT TCA ACT GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT G
H53A(+45+62)、配列番号 132	CTG TTG CCT CCG GTT CTG
H45A(-03+19)、配列番号 133	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-09+25)、配列番号 134	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-03+25)、配列番号 135	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-06+25)、配列番号 136	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-12+19)、配列番号 137	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-09+19)、配列番号 138	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-12+16)、配列番号 139	TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-14+25)、配列番号 140	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC CAA
H45A(-08+19)、配列番号 141	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA
HM45A(-07+25)、配列番号 142	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AG
H45A(-12+22)、配列番号 143	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-09+22)、配列番号 144	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-09+30)、配列番号 145	TTG CCG CTG CCC AAT GCC ATC CTG GAG TTC CTG TAA GAT
H45A(-06+22)、配列番号 146	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-06+28)、配列番号 147	GCC GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-03+22)、配列番号 148	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-03+28)、配列番号 149	GCC GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(+9+26)、配列番号 150	m5CGm5C TGC m5Cm5CA ATG m5Cm5CA Um5Cm5C
H44A(-10+15)、配列番号 151	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG GTA A
H44A(-07+15)、配列番号 152	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG G
H44M(-07+17)、配列番号 153	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AGG

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2】

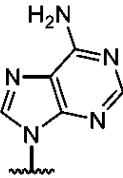
H44A(-08+15)、配列番号 154	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG GT
H44A(-06+15)、配列番号 155	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG
H44A(-08+17)、配列番号 156	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AGG T
H44A(-06+17)、配列番号 157	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AG
H50D(+04-18)、配列番号 158	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG C
H50D(+07-18)、配列番号 159	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H50D(+07-16)、配列番号 160	GAT CCA GTA TAC TTA CAG GCT CC
H50D(+07-17)、配列番号 161	GGA TCC AGT ATA CTT ACA GGC TCC
H50A(-19+07)、配列番号 162	ACT TCC TCT TTA ACA GAA AAG CAT AC
H50D(+07-15)、配列番号 163	ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H50A(-02+23)、配列番号 164	GAG CTC AGA TCT TCT AAC TTC CTC T
H50D(+06-18)、配列番号 165	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC
H50D(+07-20)、配列番号 166	ATG GGA TCC AGT ATA CTT ACA GGC TCC
H52A(-01+24)、配列番号 167	CTG TTC CAA ATC CTG CAT TGT TGC C

10

【 0 1 5 7 】

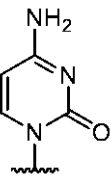
ここで、A は、
【化 1 6 2】

20



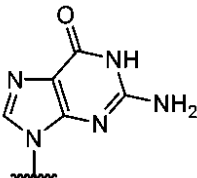
であり、C は、
【化 1 6 3】

30



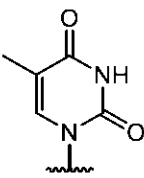
であり、G は、
【化 1 6 4】

40

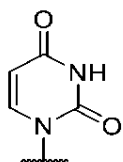


であり、T は、
【化 1 6 5】

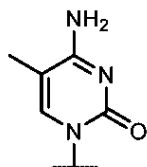
50



であり、Uは、
【化166】



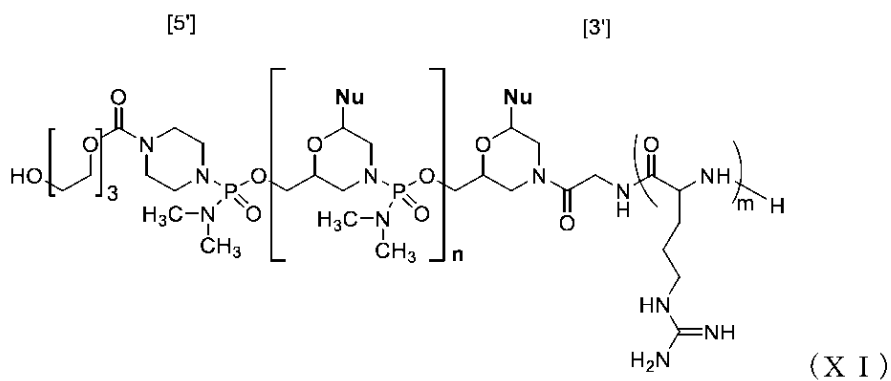
であり、G mは、メチル化グアニンであり、A mは、メチル化アデニンであり、m 5 Cは、
【化 1 6 7】



である。

【 0 1 5 8 】

別の態様では、本開示は、式 (X I) のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、
【化 168】



又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、mは、0、1、2、3、4、又は5であり、1～(n+1)及び5'から3'の各Nuは、以下の配列である：

40

50

【表 2 4 - 1】

アニーリング部位	配列 [5'から 3']
H51A(+61+90)、配列番号 168	ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT CTA GTT TGG
H51D(+16-07)、配列番号 169	CTC ATA CCT TCT GCT TGA TGA TC
H50D(+103+127)、配列番号 170	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H51A(+81+105)、配列番号 171	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AA
H51A(+71+100)、配列番号 172	GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC ATT
H51A(+48+73)、配列番号 173	ATT TCT AGT TTG GAG ATG GCA GTT TC
H51A(+59+84)、配列番号 174	GGA AGA TGG CAT TTC TAG TTT GGA G
H51A(+64+88)、配列番号 175	CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG TT
H51A(+89+113)、配列番号 176	ATC TGC CAG AGC AGG TAC CTC CAA C
H51A(+49+68)、配列番号 177	TAG TTT GGA GAT GGC AGT TT
H51A(+64+83)、配列番号 178	GGA AGA TGG CAT TTC TAG TT
H51A(+80+98)、配列番号 179	TAC CTC CAA CAT CAA GGA AG
H51A(+94+113)、配列番号 180	ATC TGC CAG AGC AGG TAC CT
H51A(+109+128)、配列番号 181	CCA AGC CCG GTT GAA ATC TG
H51A(+61+82)、配列番号 182	GAA GAT GGC ATT TCT AGT TTG G
H51A(+61+83)、配列番号 183	GGA AGA TGG CAT TTC TAG TTT GG
H51A(+61+89)、配列番号 184	CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG TTT GG
H51A(+66+89)、配列番号 185	CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG
H51A(+66+93)、配列番号 186	CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT CTA G
H51A(+69+92)、配列番号 187	CAA CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC
H51A(+69+96)、配列番号 188	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT C
H51A(+74+96)、配列番号 189	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+99)、配列番号 190	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+100)、配列番号 191	GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+102)、配列番号 192	CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+103)、配列番号 193	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+75+96)、配列番号 194	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG G
H51A(+75+99)、配列番号 195	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG G
H51A(+76+99)、配列番号 196	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG
H51A(+76+105)、配列番号 197	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG
H51A(+80+103)、配列番号 198	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA G
H51A(+80+105)、配列番号 199	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51A(+80+107)、配列番号 200	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA GGA AG
H51A(+80+108)、配列番号 201	CCA GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51A(+83+103)、配列番号 202	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG G
H51A(+83+105)、配列番号 203	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG
H51A(+83+107)、配列番号 204	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA GG

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 2】

H51A(+83+109)、配列番号 205	GCC AGA GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG G
H51A(+84+107)、配列番号 206	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA G
H51A(+84+111)、配列番号 207	CTG CCA GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AG
H51A(+84+105)、配列番号 208	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AG
H51A(+87+109)、配列番号 209	GCC AGA GCA GGT ACC TCC AAC ATC
H51A(+93+116)、配列番号 210	GAA ATC TGC CAG AGC AGG TAC CTC
H51A(+75+100)、配列番号 211	GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GG
H51A(+74+101)、配列番号 212	AGG TAC CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+74+98)、配列番号 213	TAC CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+74+97)、配列番号 214	ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+94)、配列番号 215	TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+93)、配列番号 216	CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+92)、配列番号 217	CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+69+99)、配列番号 218	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT C
H51A(+70+99)、配列番号 219	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT
H51A(+71+99)、配列番号 220	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TT
H51A(+72+99)、配列番号 221	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA T
H51A(+73+99)、配列番号 222	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA
H51A(+77+99)、配列番号 223	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG AT
H51A(+78+99)、配列番号 224	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG A
H51A(+79+99)、配列番号 225	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51.SA.(-60-36)、配列番号 226	GAA GAA AAA GAA AAA TTA GAA ACA C
H51.SA.(-50-26)、配列番号 227	AAG GAA AAA AGA AGA AAA AGA AAA A
H51.SA.(-45-21)、配列番号 228	GCA AAA AGG AAA AAA GAA GAA AAA G
H51.SA.(-40-16)、配列番号 229	TTT TTG CAA AAA GGA AAA AAG AAG A
H51.SA.(-35-11)、配列番号 230	TTG GGT TTT TGC AAA AAG GAA AAA A
H51.SA.(-30-6)、配列番号 231	ATA TTT TGG GTT TTT GCA AAA AGG A
H51.SA.(-25-1)、配列番号 232	CTA AAA TAT TTT GGG TTT TTG CAA A
H51.SA.(-20+5)、配列番号 233	AGG AGC TAA AAT ATT TTG GGT TTT T
H51.SA.(-15+10)、配列番号 234	TGA GTA GGA GCT AAA ATA TTT TGG G
H51.SA.(-10+15)、配列番号 235	CAG TCT GAG TAG GAG CTA AAA TAT T
H51.SA.(-5+20)、配列番号 236	AGT AAC AGT CTG AGT AGG AGC TAA A
H51.SA.(-1+24)、配列番号 237	CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG C
H51.SA.(-65-41)、配列番号 238	AAA AGA AAA ATT AGA AAC ACA AGC T
H51.SA.(-70-46)、配列番号 239	AAA AAT TAG AAA CAC AAG CTA AAG A
H51.SA.(-75-51)、配列番号 240	TTA GAA ACA CAA GCT AAA GAG CCA A
H51.SA.(-80-56)、配列番号 241	AAC ACA AGC TAA AGA GCC AAT TTC A
H51.SA.(-85-61)、配列番号 242	AAG CTA AAG AGC CAA TTT CAA TAA C
H51.SA.(-90-66)、配列番号 243	AAA GAG CCA ATT TCA ATA ACA ATA A
H51.SA.(-95-71)、配列番号 244	GCC AAT TTC AAT AAC AAT AAG TCA A

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 3】

H51.SA.(-100-76)、配列番号 245	TTT CAA TAA CAA TAA GTC AAA TTT A
H51A(+1+30)、配列番号 246	GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG
H51A(+10+39)、配列番号 247	CCA CAG GTT GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT
H51A(+6+35)、配列番号 248	AGG TTG TGT CAC CAG AGT AAC AGT CTG AGT
H51A(+49+78)、配列番号 249	ATG GCA TTT CTA GTT TGG AGA TGG CAG TTT
H51A(+1+25)、配列番号 250	ACC AGA GTA ACA GTC TGA GTA GGA G
H51A(+4+28)、配列番号 251	GTC ACC AGA GTA ACA GTC TGA GTA G
H51A(+16+40)、配列番号 252	ACC ACA GGT TGT GTC ACC AGA GTA A
H51A(+21+45)、配列番号 253	TAG TAA CCA CAG GTT GTG TCA CCA G
H51A(+26+50)、配列番号 254	TTC CTT AGT AAC CAC AGG TTG TGT C
H51A(+31+55)、配列番号 255	GCA GTT TCC TTA GTA ACC ACA GGT T
H51A(+36+60)、配列番号 256	AGA TGG CAG TTT CCT TAG TAA CCA C
H51A(+41+65)、配列番号 257	TTT GGA GAT GGC AGT TTC CTT AGT A
H51A(+86+110)、配列番号 258	TGC CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT C
H51A(+91+115)、配列番号 259	AAA TCT GCC AGA GCA GGT ACC TCC A
H51A(+96+120)、配列番号 260	GGT TGA AAT CTG CCA GAG CAG GTA C
H51A(+101+125)、配列番号 261	AGC CCG GTT GAA ATC TGC CAG AGC A
H51A(+106+130)、配列番号 262	GTC CAA GCC CGG TTG AAA TCT GCC A
H51A(+111+135)、配列番号 263	GTT CTG TCC AAG CCC GGT TGA AAT C
H51A(+116+140)、配列番号 264	GGT AAG TTC TGT CCA AGC CCG GTT G
H51A(+121+145)、配列番号 265	CAG TCG GTA AGT TCT GTC CAA GCC C
H51A(+126+150)、配列番号 266	AAA GCC AGT CGG TAA GTT CTG TCC A
H51A(+131+155)、配列番号 267	CAG AGA AAG CCA GTC GGTA AGT TCT
H51A(+136+160)、配列番号 268	TCA AGC AGA GAA AGC CAG TCG GTA A
H51A(+141+165)、配列番号 269	CTT GAT CAA GCA GAG AAA GCC AGT C
H51A(+146+170)、配列番号 270	TAT AAC TTGA TCA AGC AGA GAA AGC
H51A(+151+175)、配列番号 271	GAT TTT ATA ACT TGA TCA AGC AGA G
H51A(+156+180)、配列番号 272	TCT GTG ATT TTA TAA CTT GAT CAA G
H51A(+161+185)、配列番号 273	CAC CCT CTG TGA TTT TAT AAC TTG A
H51A(+166+190)、配列番号 274	ACC ATC ACC CTC TGT GAT TTT ATA A
H51A(+171+195)、配列番号 275	CAC CCA CCA TCA CCC TCT GTG ATT T
H51A(+176+200)、配列番号 276	AAG GTC ACC CAC CAT CAC CCT CTG T
H51A(+181+205)、配列番号 277	TCC TCA AGG TCA CCC ACC ATC ACC C
H51A(+186+210)、配列番号 278	TGA TAT CCT CAA GGT CAC CCA CCA T
H51A(+191+215)、配列番号 279	CTC GTT GAT ATC CTC AAG GTC ACC C
H51A(+196+220)、配列番号 280	ATC ATC TCG TTG ATA TCC TCA AGG T
H51A(+201+225)、配列番号 281	TGA TGA TCA TCT CGT TGA TAT CCT C
H51A(+206+230)、配列番号 282	CTG CTT GAT GAT CAT CTC GTT GAT A
H51D(+211-02)、配列番号 283	ACC TTC TGC TTG ATG ATC ATC TCG T
H51D(+214-05)、配列番号 284	CAT ACC TTC TGC TTG ATG ATC ATC T

10

20

30

40

50

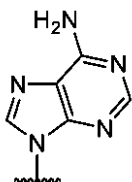
【表 2 4 - 4】

H51D(+217-08)、配列番号 285	TCT CAT ACC TTC TGC TTG ATG ATC A
H51D(+220-11)、配列番号 286	TTT TCT CAT ACC TTC TGC TTG ATG A
H51D(+223-14)、配列番号 287	ATT TTT TCT CAT ACC TTC TGC TTG A
H51D(+226-17)、配列番号 288	ATC ATT TTT TCT CAT ACC TTC TGC T
H51D(+229-20)、配列番号 289	TTT ATC ATT TTT TCT CAT ACC TTC T
H51D(+232-23)、配列番号 290	ACT TTT ATC ATT TTT TCT CAT ACC T
H51D(-02-26)、配列番号 291	CCA ACT TTT ATC ATT TTT TCT CAT A
H51A(+1+30)、配列番号 292	GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG

10

ここで、A は、

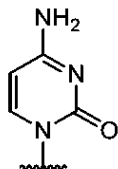
【化 1 6 9】



であり、C は、

20

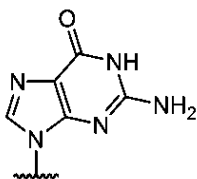
【化 1 7 0】



であり、G は、

30

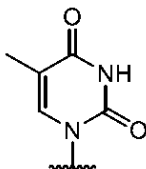
【化 1 7 1】



であり、T は、

40

【化 1 7 2】



である。

【0 1 5 9】

一態様では、塩基配列、及びアニーリング部位は、以下の 1 つから選択される：

50

【表 2 5 - 1】

アニーリング部位	塩基配列 [5'から 3']
H51A(+66+95)、配列番号 293	CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG
H51A(+74+97)、配列番号 294	ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+70+99)、配列番号 295	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT
H51A(+72+99)、配列番号 296	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA T
H51A(+68+87)、配列番号 297	TCA AGG AAG ATG GCA TTT CT
H51A(+68+87)、配列番号 298	UCA AGG AmAGm AmUGm GmCA UUU CU
H53A(+36+60)、配列番号 299	GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT GTT C
H53A(+36+60)、配列番号 300	GTT G5mC5mC T5mC5mC GGT T5mC T GAA GGT GTT 5mC
H53A(+36+56)、配列番号 301	CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC
H53A(+23+47)、配列番号 302	CTG AAG GTG TTC TTG TAC TTC ATC C
H53A(+32+56)、配列番号 303	CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC TTG T
H53A(+33+60)、配列番号 304	GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT GTT CTT G
H53A(+30+59)、配列番号 305	TTG CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC TTG TAC
H53A(+39+62)、配列番号 306	CTG TTG CCT CCG GTT CTG AAG GTG
H53A(+36+69)、配列番号 307	CAT TCA ACT GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT G
H53A(+45+62)、配列番号 308	CTG TTG CCT CCG GTT CTG
H45A(-03+19)、配列番号 309	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-09+25)、配列番号 310	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-03+25)、配列番号 311	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-06+25)、配列番号 312	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-12+19)、配列番号 313	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-09+19)、配列番号 314	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-12+16)、配列番号 315	TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-14+25)、配列番号 316	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC CAA
H45A(-08+19)、配列番号 317	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA
HM45A(-07+25)、配列番号 318	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AG
H45A(-12+22)、配列番号 319	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-09+22)、配列番号 320	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-09+30)、配列番号 321	TTG CCG CTG CCC AAT GCC ATC CTG GAG TTC CTG TAA GAT
H45A(-06+22)、配列番号 322	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-06+28)、配列番号 323	GCC GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-03+22)、配列番号 324	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-03+28)、配列番号 325	GCC GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(+9+26)、配列番号 326	m5C-G-m5C-T-G-C-m5C-m5C-A-A-T-G-m5C-m5C-A-U-m5C-m5C
H44A(-10+15)、配列番号 327	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG GTA A
H44A(-07+15)、配列番号 328	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG G
H44M(-07+17)、配列番号 329	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AGG

10

20

30

40

50

【表 2 5 - 2】

H44A(-08+15)、配列番号 330	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG GT
H44A(-06+15)、配列番号 331	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG
H44A(-08+17)、配列番号 332	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AGG T
H44A(-06+17)、配列番号 333	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AG
H50D(+04-18)、配列番号 334	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG C
H50D(+07-18)、配列番号 335	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H50D(+07-16)、配列番号 336	GAT CCA GTA TAC TTA CAG GCT CC
H50D(+07-17)、配列番号 337	GGA TCC AGT ATA CTT ACA GGC TCC
H50A(-19+07)、配列番号 338	ACT TCC TCT TTA ACA GAA AAG CAT AC
H50D(+07-15)、配列番号 339	ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H50A(-02+23)、配列番号 340	GAG CTC AGA TCT TCT AAC TTC CTC T
H50D(+06-18)、配列番号 341	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC
H50D(+07-20)、配列番号 342	ATG GGA TCC AGT ATA CTT ACA GGC TCC
H52A(-01+24)、配列番号 343	CTG TTC CAA ATC CTG CAT TGT TGC C

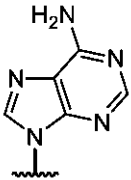
10

【0 1 6 0】

ここで、A は、

【化 1 7 3】

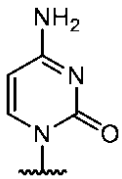
20



であり、C は、

【化 1 7 4】

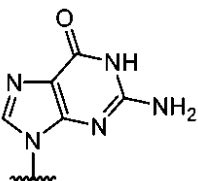
30



であり、G は、

【化 1 7 5】

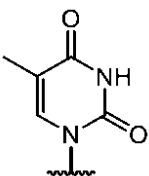
40



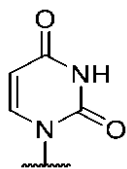
であり、T は、

【化 1 7 6】

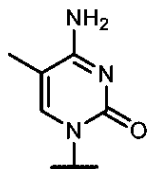
50



であり、Uは、
【化177】



であり、Gmは、メチル化グアニンであり、Amは、メチル化アデニンであり、m5Cは、
【化178】



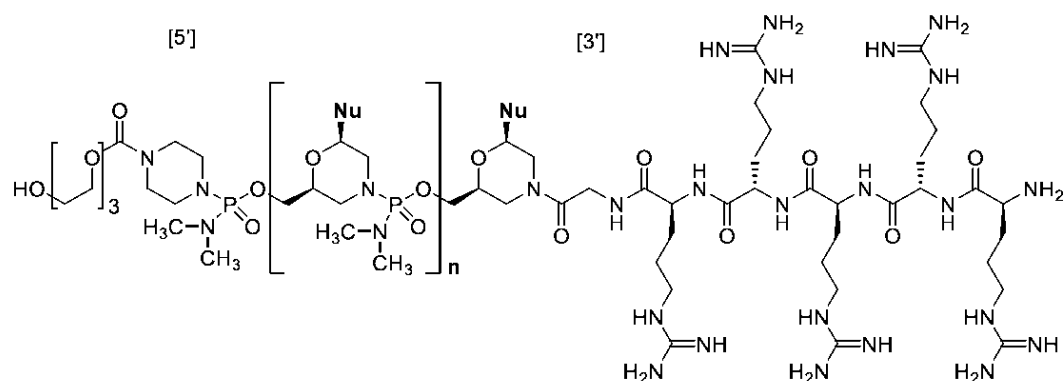
である。

【0161】

いくつかの実施形態では、式(XI)のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、そのHCl(塩酸)塩である。ある特定の実施形態では、mは、5であり、HCl塩は、. 5HCl塩である。ある特定の実施形態では、mは、4であり、HCl塩は、. 4HCl塩である。ある特定の実施形態では、mは、3であり、HCl塩は、. 3HCl塩である。ある特定の実施形態では、mは、2であり、HCl塩は、. 2HCl塩である。ある特定の実施形態では、mは、1であり、HCl塩は、. HCl塩である。

【0162】

別の態様では、本開示は、式(XIA)、又は式(XIB)のアンチセンスオリゴマー：
【化179】



(XIA)

10

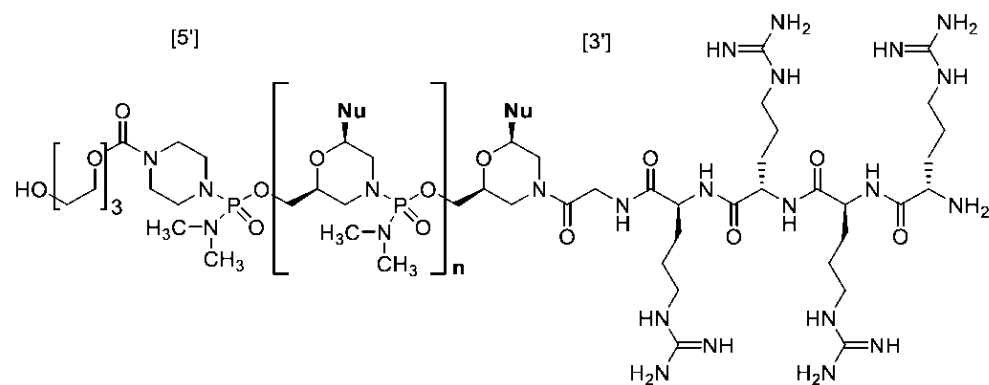
20

30

40

50

【化 180】



(X I B)

又はその薬学的に許容される塩を提供し、式中、 $1 \sim (n + 1)$ 及び $5'$ から $3'$ の各 Nu は、以下の配列の核酸塩基に対応する：

20

30

40

50

【表 2 6 - 1】

アニーリング部位	配列 [5'から 3']
H51A(+61+90)、配列番号 344	ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT CTA GTT TGG
H51D(+16-07)、配列番号 345	CTC ATA CCT TCT GCT TGA TGA TC
H50D(+103+127)、配列番号 346	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H51A(+81+105)、配列番号 347	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AA
H51A(+71+100)、配列番号 348	GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC ATT
H51A(+48+73)、配列番号 349	ATT TCT AGT TTG GAG ATG GCA GTT TC
H51A(+59+84)、配列番号 350	GGA AGA TGG CAT TTC TAG TTT GGA G
H51A(+64+88)、配列番号 351	CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG TT
H51A(+89+113)、配列番号 352	ATC TGC CAG AGC AGG TAC CTC CAA C
H51A(+49+68)、配列番号 353	TAG TTT GGA GAT GGC AGT TT
H51A(+64+83)、配列番号 354	GGA AGA TGG CAT TTC TAG TT
H51A(+80+98)、配列番号 355	TAC CTC CAA CAT CAA GGA AG
H51A(+94+113)、配列番号 356	ATC TGC CAG AGC AGG TAC CT
H51A(+109+128)、配列番号 357	CCA AGC CCG GTT GAA ATC TG
H51A(+61+82)、配列番号 358	GAA GAT GGC ATT TCT AGT TTG G
H51A(+61+83)、配列番号 359	GGA AGA TGG CAT TTC TAG TTT GG
H51A(+61+89)、配列番号 360	CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG TTT GG
H51A(+66+89)、配列番号 361	CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG
H51A(+66+93)、配列番号 362	CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT CTA G
H51A(+69+92)、配列番号 363	CAA CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC
H51A(+69+96)、配列番号 364	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT C
H51A(+74+96)、配列番号 365	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+99)、配列番号 366	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+100)、配列番号 367	GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+102)、配列番号 368	CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+103)、配列番号 369	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+75+96)、配列番号 370	CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG G
H51A(+75+99)、配列番号 371	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG G
H51A(+76+99)、配列番号 372	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG
H51A(+76+105)、配列番号 373	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG
H51A(+80+103)、配列番号 374	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA G
H51A(+80+105)、配列番号 375	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51A(+80+107)、配列番号 376	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA GGA AG
H51A(+80+108)、配列番号 377	CCA GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51A(+83+103)、配列番号 378	GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG G
H51A(+83+105)、配列番号 379	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AGG
H51A(+83+107)、配列番号 380	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA GG

10

20

30

40

50

【表 2 6 - 2】

H51A(+83+109)、配列番号 381	GCC AGA GCA GGT ACC TCC AAC ATC AAG G
H51A(+84+107)、配列番号 382	CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT CAA G
H51A(+84+111)、配列番号 383	CTG CCA GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AG
H51A(+84+105)、配列番号 384	GAG CAG GTA CCT CCA ACA TCA AG
H51A(+87+109)、配列番号 385	GCC AGA GCA GGT ACC TCC AAC ATC
H51A(+93+116)、配列番号 386	GAA ATC TGC CAG AGC AGG TAC CTC
H51A(+75+100)、配列番号 387	GGT ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GG
H51A(+74+101)、配列番号 388	AGG TAC CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+74+98)、配列番号 389	TAC CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+74+97)、配列番号 390	ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+94)、配列番号 391	TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+74+93)、配列番号 392	CCA ACA TCA AGG AAG ATG GC
H51A(+74+92)、配列番号 393	CAA CAT CAA GGA AGA TGG C
H51A(+69+99)、配列番号 394	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT C
H51A(+70+99)、配列番号 395	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT
H51A(+71+99)、配列番号 396	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TT
H51A(+72+99)、配列番号 397	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA T
H51A(+73+99)、配列番号 398	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA
H51A(+77+99)、配列番号 399	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG AT
H51A(+78+99)、配列番号 400	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG A
H51A(+79+99)、配列番号 401	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG
H51.SA.(-60-36)、配列番号 402	GAA GAA AAA GAA AAA TTA GAA ACA C
H51.SA.(-50-26)、配列番号 403	AAG GAA AAA AGA AGA AAA AGA AAA A
H51.SA.(-45-21)、配列番号 404	GCA AAA AGG AAA AAA GAA GAA AAA G
H51.SA.(-40-16)、配列番号 405	TTT TTG CAA AAA GGA AAA AAG AAG A
H51.SA.(-35-11)、配列番号 406	TTG GGT TTT TGC AAA AAG GAA AAA A
H51.SA.(-30-6)、配列番号 407	ATA TTT TGG GTT TTT GCA AAA AGG A
H51.SA.(-25-1)、配列番号 408	CTA AAA TAT TTT GGG TTT TTG CAA A
H51.SA.(-20+5)、配列番号 409	AGG AGC TAA AAT ATT TTG GGT TTT T
H51.SA.(-15+10)、配列番号 410	TGA GTA GGA GCT AAA ATA TTT TGG G
H51.SA.(-10+15)、配列番号 411	CAG TCT GAG TAG GAG CTA AAA TAT T
H51.SA.(-5+20)、配列番号 412	AGT AAC AGT CTG AGT AGG AGC TAA A
H51.SA.(-1+24)、配列番号 413	CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG C
H51.SA.(-65-41)、配列番号 414	AAA AGA AAA ATT AGA AAC ACA AGC T
H51.SA.(-70-46)、配列番号 415	AAA AAT TAG AAA CAC AAG CTA AAG A
H51.SA.(-75-51)、配列番号 416	TTA GAA ACA CAA GCT AAA GAG CCA A
H51.SA.(-80-56)、配列番号 417	AAC ACA AGC TAA AGA GCC AAT TTC A
H51.SA.(-85-61)、配列番号 418	AAG CTA AAG AGC CAA TTT CAA TAA C
H51.SA.(-90-66)、配列番号 419	AAA GAG CCA ATT TCA ATA ACA ATA A
H51.SA.(-95-71)、配列番号 420	GCC AAT TTC AAT AAC AAT AAG TCA A

10

20

30

40

50

【表 2 6 - 3】

H51.SA.(-100-76)、配列番号 421	TTT CAA TAA CAA TAA GTC AAA TTT A
H51A(+1+30)、配列番号 422	GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG
H51A(+10+39)、配列番号 423	CCA CAG GTT GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT
H51A(+6+35)、配列番号 424	AGG TTG TGT CAC CAG AGT AAC AGT CTG AGT
H51A(+49+78)、配列番号 425	ATG GCA TTT CTA GTT TGG AGA TGG CAG TTT
H51A(+1+25)、配列番号 426	ACC AGA GTA ACA GTC TGA GTA GGA G
H51A(+4+28)、配列番号 427	GTC ACC AGA GTA ACA GTC TGA GTA G
H51A(+16+40)、配列番号 428	ACC ACA GGT TGT GTC ACC AGA GTA A
H51A(+21+45)、配列番号 429	TAG TAA CCA CAG GTT GTG TCA CCA G
H51A(+26+50)、配列番号 430	TTC CTT AGT AAC CAC AGG TTG TGT C
H51A(+31+55)、配列番号 431	GCA GTT TCC TTA GTA ACC ACA GGT T
H51A(+36+60)、配列番号 432	AGA TGG CAG TTT CCT TAG TAA CCA C
H51A(+41+65)、配列番号 433	TTT GGA GAT GGC AGT TTC CTT AGT A
H51A(+86+110)、配列番号 434	TGC CAG AGC AGG TAC CTC CAA CAT C
H51A(+91+115)、配列番号 435	AAA TCT GCC AGA GCA GGT ACC TCC A
H51A(+96+120)、配列番号 436	GGT TGA AAT CTG CCA GAG CAG GTA C
H51A(+101+125)、配列番号 437	AGC CCG GTT GAA ATC TGC CAG AGC A
H51A(+106+130)、配列番号 438	GTC CAA GCC CGG TTG AAA TCT GCC A
H51A(+111+135)、配列番号 439	GTT CTG TCC AAG CCC GGT TGA AAT C
H51A(+116+140)、配列番号 440	GGT AAG TTC TGT CCA AGC CCG GTT G
H51A(+121+145)、配列番号 441	CAG TCG GTA AGT TCT GTC CAA GCC C
H51A(+126+150)、配列番号 442	AAA GCC AGT CGG TAA GTT CTG TCC A
H51A(+131+155)、配列番号 443	CAG AGA AAG CCA GTC GGTA AGT TCT
H51A(+136+160)、配列番号 444	TCA AGC AGA GAA AGC CAG TCG GTA A
H51A(+141+165)、配列番号 445	CTT GAT CAA GCA GAG AAA GCC AGT C
H51A(+146+170)、配列番号 446	TAT AAC TTGA TCA AGC AGA GAA AGC
H51A(+151+175)、配列番号 447	GAT TTT ATA ACT TGA TCA AGC AGA G
H51A(+156+180)、配列番号 448	TCT GTG ATT TTA TAA CTT GAT CAA G
H51A(+161+185)、配列番号 449	CAC CCT CTG TGA TTT TAT AAC TTG A
H51A(+166+190)、配列番号 450	ACC ATC ACC CTC TGT GAT TTT ATA A
H51A(+171+195)、配列番号 451	CAC CCA CCA TCA CCC TCT GTG ATT T
H51A(+176+200)、配列番号 452	AAG GTC ACC CAC CAT CAC CCT CTG T
H51A(+181+205)、配列番号 453	TCC TCA AGG TCA CCC ACC ATC ACC C
H51A(+186+210)、配列番号 454	TGA TAT CCT CAA GGT CAC CCA CCA T
H51A(+191+215)、配列番号 455	CTC GTT GAT ATC CTC AAG GTC ACC C
H51A(+196+220)、配列番号 456	ATC ATC TCG TTG ATA TCC TCA AGG T
H51A(+201+225)、配列番号 457	TGA TGA TCA TCT CGT TGA TAT CCT C
H51A(+206+230)、配列番号 458	CTG CTT GAT GAT CAT CTC GTT GAT A
H51D(+211-02)、配列番号 459	ACC TTC TGC TTG ATG ATC ATC TCG T
H51D(+214-05)、配列番号 460	CAT ACC TTC TGC TTG ATG ATC ATC T

10

20

30

40

50

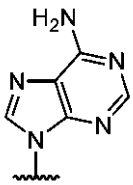
【表 2 6 - 4】

H51D(+217-08)、配列番号 461	TCT CAT ACC TTC TGC TTG ATG ATC A
H51D(+220-11)、配列番号 462	TTT TCT CAT ACC TTC TGC TTG ATG A
H51D(+223-14)、配列番号 463	ATT TTT TCT CAT ACC TTC TGC TTG A
H51D(+226-17)、配列番号 464	ATC ATT TTT TCT CAT ACC TTC TGC T
H51D(+229-20)、配列番号 465	TTT ATC ATT TTT TCT CAT ACC TTC T
H51D(+232-23)、配列番号 466	ACT TTT ATC ATT TTT TCT CAT ACC T
H51D(-02-26)、配列番号 467	CCA ACT TTT ATC ATT TTT TCT CAT A
H51A(+1+30)、配列番号 468	GTG TCA CCA GAG TAA CAG TCT GAG TAG GAG

10

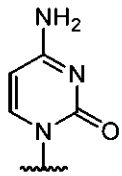
ここで、A は、

【化 1 8 1】



であり、C は、

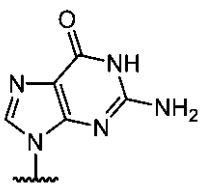
【化 1 8 2】



20

であり、G は、

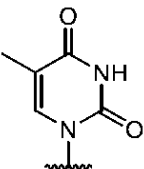
【化 1 8 3】



30

であり、T は、

【化 1 8 4】



40

である。

【0 1 6 3】

一態様では、塩基配列、及びアニーリング部位は、以下の 1 つから選択される：

50

【表 2 7 - 1】

アニーリング部位	塩基配列 [5'から 3']
H51A(+66+95)、配列番号 469	CTC CAA CAT CAA GGA AGA TGG CAT TTC TAG
H51A(+74+97)、配列番号 470	ACC TCC AAC ATC AAG GAA GAT GGC
H51A(+70+99)、配列番号 471	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA TTT
H51A(+72+99)、配列番号 472	GTA CCT CCA ACA TCA AGG AAG ATG GCA T
H51A(+68+87)、配列番号 473	TCA AGG AAG ATG GCA TTT CT
H51A(+68+87)、配列番号 474	UCA AGG AmAGm AmUGm GmCA UUU CU
H53A(+36+60)、配列番号 475	GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT GTT C
H53A(+36+60)、配列番号 476	GTT G5mC5mC T5mC5mC GGT T5mC T GAA GGT GTT 5mC
H53A(+36+56)、配列番号 477	CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC
H53A(+23+47)、配列番号 478	CTG AAG GTG TTC TTG TAC TTC ATC C
H53A(+32+56)、配列番号 479	CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC TTG T
H53A(+33+60)、配列番号 480	GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT GTT CTT G
H53A(+30+59)、配列番号 481	TTG CCT CCG GTT CTG AAG GTG TTC TTG TAC
H53A(+39+62)、配列番号 482	CTG TTG CCT CCG GTT CTG AAG GTG
H53A(+36+69)、配列番号 483	CAT TCA ACT GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT G
H53A(+45+62)、配列番号 484	CTG TTG CCT CCG GTT CTG
H45A(-03+19)、配列番号 485	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-09+25)、配列番号 486	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-03+25)、配列番号 487	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-12+19)、配列番号 488	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-06+25)、配列番号 489	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-09+19)、配列番号 490	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-12+16)、配列番号 491	TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-14+25)、配列番号 492	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC CAA
H45A(-08+19)、配列番号 493	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA
HM45A(-07+25)、配列番号 494	GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AG
H45A(-12+22)、配列番号 495	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA TAC C
H45A(-09+22)、配列番号 496	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA AGA T
H45A(-09+30)、配列番号 497	TTG CCG CTG CCC AAT GCC ATC CTG GAG TTC CTG TAA GAT
H45A(-06+22)、配列番号 498	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-06+28)、配列番号 499	GCC GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT GTA A
H45A(-03+22)、配列番号 500	GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(-03+28)、配列番号 501	GCC GCT GCC CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G
H45A(+9+26)、配列番号 502	m5CGm5C TGC m5Cm5CA ATG m5Cm5CA Um5Cm5C
H44A(-10+15)、配列番号 503	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG GTA A
H44A(-07+15)、配列番号 504	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG G

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 2】

H44M(-07+17)、配列番号 505	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AGG
H44A(-08+15)、配列番号 506	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG GT
H44A(-06+15)、配列番号 507	GAT CTG TCA AAT CGC CTG CAG
H44A(-08+17)、配列番号 508	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AGG T
H44A(-06+17)、配列番号 509	CAG ATC TGT CAA ATC GCC TGC AG
H50D(+04-18)、配列番号 510	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG C
H50D(+07-18)、配列番号 511	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H50D(+07-16)、配列番号 512	GAT CCA GTA TAC TTA CAG GCT CC
H50D(+07-17)、配列番号 513	GGA TCC AGT ATA CTT ACA GGC TCC
H50A(-19+07)、配列番号 514	ACT TCC TCT TTA ACA GAA AAG CAT AC
H50D(+07-15)、配列番号 515	ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC C
H50A(-02+23)、配列番号 516	GAG CTC AGA TCT TCT AAC TTC CTC T
H50D(+06-18)、配列番号 517	GGG ATC CAG TAT ACT TAC AGG CTC
H50D(+07-20)、配列番号 518	ATG GGA TCC AGT ATA CTT ACA GGC TCC
H52A(-01+24)、配列番号 519	CTG TTC CAA ATC CTG CAT TGT TGC C

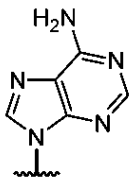
10

【 0 1 6 4 】

ここで、Aは、

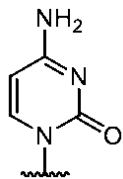
20

【化 1 8 5】



であり、Cは、

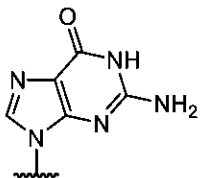
【化 1 8 6】



30

であり、Gは、

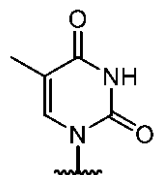
【化 1 8 7】



40

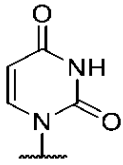
であり、Tは、

【化 1 8 8】

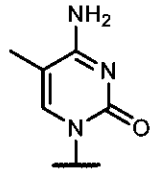


50

であり、Uは、
【化189】



であり、Gmは、メチル化グアニンであり、Amは、メチル化アデニンであり、m5Cは、
【化190】



である。

【0165】

核酸塩基修飾及び置換

ある特定の実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、RNA核酸塩基、及びDNA核酸塩基（多くの場合、当該技術分野では単に「塩基」と称される）から構成される。RNA塩基は、アデニン（A）、ウラシル（U）、シトシン（C）、及びグアニン（G）として一般的に既知である。DNA塩基は、アデニン（A）、チミン（T）、シトシン（C）、及びグアニン（G）として一般的に既知である。様々な実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、シトシン（C）、グアニン（G）、チミン（T）、アデニン（A）、5-メチルシトシン（5mC）、ウラシル（U）、及びヒポキサンチン（I）から構成される。

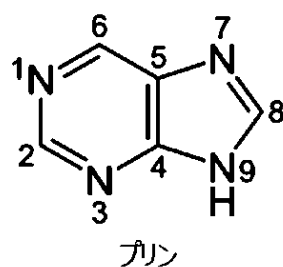
【0166】

ある特定の実施形態では、オリゴマー中の、1つ以上のRNA塩基、又はDNA塩基は、RNA塩基、又はDNA塩基以外の塩基で、修飾、又は置換され得る。修飾、又は置換塩基を含有するオリゴマーは、核酸中で最も一般的に見られる1つ以上のプリン、又はピリミジン塩基が、それほど一般的ではないか、又は非天然の塩基で置換された、オリゴマーを含む。

【0167】

プリン塩基は、以下の一般式によって記載されるように、イミダゾール環に融合したピリミジン環を含む。

【化191】



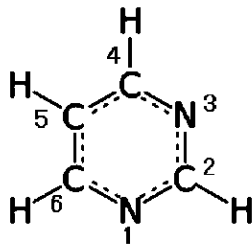
【0168】

アデニン、及びグアニンは、核酸中で最も一般的に見られる、2つのプリン核酸塩基である。他の自然発生的プリンとしては、N⁶-メチルアデニン、N²-メチルグアニン、ヒポキサンチン、及び7-メチルグアニンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0169】

ピリミジン塩基は、以下の一般式によって記載されるように、6員ピリミジン環を含む。

【化192】



ピリミジン

10

【0170】

シトシン、ウラシル、及びチミンは、核酸中で最も一般的に見られる、ピリミジン塩基である。他の自然発生的ピリミジンとしては、5-メチルシトシン、5-ヒドロキシメチルシトシン、シュードウラシル、及び4-チオウラシルが挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態では、本明細書に記載されるオリゴマーは、ウラシルの代わりに、チミン塩基を含有する。

【0171】

他の好適な塩基としては、2, 6-ジアミノプリン、オロト酸、アグマチジン、リジン、2-チオピリミジン（例えば、2-チオウラシル、2-チオチミン）、G-クランプ及びその誘導体、5-置換ピリミジン（例えば、5-ハロウラシル、5-プロピニルウラシル、5-プロピニルシトシン、5-アミノメチルウラシル、5-ヒドロキシメチルウラシル、5-アミノメチルシトシン、5-ヒドロキシメチルシトシン、Super T）、7-デアザグアニン、7-デアザアデニン、7-アザ-2, 6-ジアミノプリン、8-アザ-7-デアザグアニン、8-アザ-7-デアザアデニン、8-アザ-7-デアザ-2, 6-ジアミノプリン、Super G、Super A、及びN4-エチルシトシン、又はその誘導体、N²-シクロペンチルグアニン（cPent-G）、N²-シクロペンチル-2-アミノプリン（cPent-AP）、及びN²-プロピル-2-アミノプリン（Pr-AP）、シュードウラシル、又はその誘導体、並びに2, 6-ジフルオロトルエンのような縮重若しくはユニバーサル塩基、又は塩基部位のような塩基の不存在（例えば、1-デオキシリボース、1, 2-ジデオキシリボース、1-デオキシ-2-O-メチルリボース；あるいは環酸素が窒素で置き換えられたピロリジン誘導体（アザリボース））が挙げられるが、これらに限定されない。Super A、Super G、及びSuper Tの誘導体の例は、米国特許第6, 683, 173号（Epoch Biosciences）に見ることができ、これは、参照により完全に本明細書に組込まれる。cPent-G、cPent-AP、及びPr-APは、siRNAに組込まれた場合、免疫賦活作用を低減することが示された（Peacock H. et al. J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 9200）。シュードウラシルは、ウラシルの自然発生的異性化バージョンであり、ウリジンにおける通常のN-グリコシドというより、むしろC-グリコシドによる。シュードウリジン含有合成mRNAは、ウリジン含有mPvNAと比較して、改善された安全性プロファイルを有し得る（WO2009127230、参照によりその全体が本明細書に組込まれる）。

20

30

40

【0172】

ある特定の核酸塩基は、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの結合親和性を高めるために、特に有用である。これらには、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、並びにN-2、N-6、及びO-6置換プリン（2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシル、及び5-プロピニルシトシンを含む）が含まれる。5-メチルシトシン置換は、核酸二本鎖の安定性を、0.6~1.2℃増加させることが示されており、

50

更に具体的には、2'-O-メトキシエチル糖修飾と組合わせた場合に、現在より好ましい塩基置換である。追加の例示的な修飾核酸塩基には、核酸塩基の少なくとも1つの水素原子がフッ素で置換されているものが含まれる。

【0173】

本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの薬学的に許容される塩

本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲートのある特定の実施形態は、アミノ、又はアルキルアミノなどの塩基性官能基を含有し得、ひいては、薬学的に許容される酸と、薬学的に許容される塩を形成することができる。この点における「薬学的に許容される塩」という用語は、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの、比較的非毒性の、無機酸、及び有機酸付加塩を指す。これらの塩は、投与ビヒクル、又は剤形製造プロセスにおいて原位置で調製される得るか、又は本開示の精製されたアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、その遊離塩基形態で、好適な有機酸、若しくは無機酸と別々に反応させ、その後の精製中に、そのようにして形成された塩を単離することによって、調製され得る。代表的な塩としては、臭化水素酸塩、塩酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、酢酸塩、吉草酸塩、オレイン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、トシル酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフチル酸塩、メシル酸塩、グルコヘプトン酸塩、ラクトビオン酸塩、及びラウリルスルホン酸塩などが挙げられる。（例えば、Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19を参照）。

10

20

【0174】

主題のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの薬学的に許容される塩は、例えば、非毒性の有機酸又は無機酸からの、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートの、従来の非毒性塩、又は四級アンモニウム塩を含む。例えば、そのような従来の非毒性塩としては、無機酸に由来するもの、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、スルファミン酸、リン酸、硝酸など、並びに有機酸から調製された塩、例えば、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール、ステアリン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、パルミチン酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、スルファニル酸、2-アセトキシ安息香酸、フマル酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、シュウ酸、イソチオン酸などが挙げられる。

30

【0175】

ある特定の実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、1つ以上の酸性官能基を含有し得、ひいては、薬学的に許容される塩基と、薬学的に許容される塩を形成することができる。これらの事例において、「薬学的に許容される塩」という用語は、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの、比較的非毒性の、無機塩基、及び有機塩基付加塩を指す。これらの塩は同様に、投与ビヒクル、又は剤形製造プロセスにおいて原位置で調製され得るか、又は精製されたアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、その遊離酸形態で、好適な塩基、例えば、薬学的に許容される金属カチオンの水酸化物、炭酸塩、若しくは重炭酸塩と、アンモニアと、又は薬学的に許容される有機一級アミン、二級アミン、若しくは三級アミンと別々に反応させることによって調製され得る。代表的なアルカリ、又はアルカリ土類塩としては、リチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、及びアルミニウム塩などが挙げられる。塩基付加塩の形成に有用な代表的な有機アミンとしては、エチルアミン、ジエチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジンなどが挙げられる。（例えば、上記のBergeらを参照）。

40

【0176】

製剤、及び投与様式

【0177】

ある特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの、治療送達に好適な、製剤、又は医薬組成物を提供する。DMDのための

50

細胞膜透過性ペプチドにコンジュゲートされたアンチセンスオリゴマー（例えば、PPMO）を含む医薬製剤は、例えば、米国特許第10,888,578号に記載されており、その開示は、参照により本明細書に組込まれる。ある特定の実施形態では、本開示は、1つ以上の薬学的に許容される担体（添加剤）、及び／又は希釈剤と共に製剤化した、治療有効量の、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの1つ以上を含む、薬学的に許容される組成物を提供する。本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、単独で投与することは可能であるが、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、医薬製剤（組成物）として投与することが好ましい。一実施形態では、製剤のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式（I）に従う。

【0178】

別の態様では、本開示は、本開示のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体は、リン酸緩衝液を含む、生理食塩水である。

【0179】

「薬学的に許容される」という語句は、物質、又は組成物が、製剤を含む他の成分、及び／又はそれを用いて治療される対象と、化学的、及び／又は毒性学的に適合性がなければならぬことを意味する。

【0180】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」という語句は、非毒性、不活性固体、半固体若しくは液体充填剤、希釈剤、封入材料、又は任意の種類の製剤補助剤を意味する。薬学的に許容される担体として役立ち得る、材料のいくつかの例としては、製剤者の判断に従って、糖類、例えば、ラクトース、グルコース、スクロース、デンプン、例えば、トウモロコシデンプン、及びジャガイモデンプン、セルロース、及びその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、及び酢酸セルロー、粉末トラガカント、麦芽、ゼラチン、タルク、賦形剤、例えば、カカオバター、及び坐剤ワックス、油、例えば、ピーナッツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、及び大豆油、グリコール、例えば、プロピレングリコール、エステル、例えば、オレイン酸エチル、及びラウリン酸エチル、寒天、緩衝剤、例えば、水酸化マグネシウム、及び水酸化アルミニウム、アルギニン酸、パイロジェンフリー水、等張生理食塩水、リンゲル液、エチルアルコール、リン酸緩衝液、非毒性適合性潤滑剤、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、及びステアリン酸マグネシウム、着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤、芳香剤、防腐剤、及び酸化防止剤がある。

【0181】

本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートに適用可能であり得る、核酸分子の送達の方法は、例えば、Akhtar et al., 1992, Trends Cell Bio., 2:139; Delivery Strategies for Antisense Oligonucleotide Therapeutics, ed. Akhtar, 1995, CRC Press; and Sullivan et al., PCT WO94/02595に記載されている。これら及び他のプロトコルは、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを含む、実質的に任意の核酸分子の送達に利用され得る。

【0182】

本開示の医薬組成物は、固体又は液体形態での投与のために、特別に製剤化され得、以下：（1）経口投与、例えば、ドレンチ（水性、又は非水性の、溶液、又は懸濁液）、錠剤（口腔、舌下、又は全身吸収を標的とする）、ボラス、散剤、顆粒剤、舌に適用するためのペースト、（2）非経口投与、例えば、滅菌溶液、若しくは懸濁液、又は徐放性製剤としての、例えば、皮下注射、筋肉内注射、静脈内注射、又は硬膜外注射による、（3）局所適用、例えば、皮膚に適用するためのクリーム、軟膏、又は制御放出性パッチ、若しくはスプレーとして、（4）腔内投与、又は直腸内投与、例えば、ペッサリー、クリーム、又は発泡体として、（5）舌下投与、（6）眼内投与、（7）経皮投与、或いは（8

10

20

30

40

50

）経鼻投与に適合されたものを含む。

【0183】

薬学的に許容される担体として役立ち得る、材料のいくつかの例としては、限定されないが、（１）糖類、例えば、ラクトース、グルコース、及びスクロース、（２）デンプン、例えば、トウモロコシデンプン、及びジャガイモデンプン、（３）セルロース、及びその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、及び酢酸セルロース、（４）粉末トラガカント、（５）麦芽、（６）ゼラチン、（７）タルク、（８）賦形剤、例えば、ココアバター、及び坐剤ワックス、（９）油、例えば、ピーナッツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、及び大豆油、（１０）グリコール、例えば、プロピレングリコール、（１１）ポリオール、例えば、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、及びポリエチレングリコール、（１２）エステル、例えば、オレイン酸エチル、及びラウリン酸エチル、（１３）寒天、（１４）緩衝剤、例えば、水酸化マグネシウム、及び水酸化アルミニウム、（１５）アルギニン酸、（１６）パイロジェンフリー水、（１７）等張生理食塩水、（１８）リンゲル液、（１９）エチルアルコール、（２０）pH緩衝液、（２１）ポリエステル、ポリカーボネート、及び／又はポリ無水物、並びに（２２）医薬製剤に用いられる他の非毒性適合性物質が挙げられる。

10

【0184】

本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いた製剤に好適な、薬剤の追加の非限定的な例としては、PEGコンジュゲート核酸、リン脂質コンジュゲート核酸、親油性部分を含有する核酸、ホスホロチオエート、様々な組織への薬物の侵入を増強することができるP糖タンパク質阻害剤（例えば、Pluronic（登録商標）P85）、生分解性ポリマー、例えば、インプラント後の徐放性送達のためのポリ（D，L-ラクチド-コグリコリド）ミクロスフェア（Emerich, D F et al., 1999, Cell Transplant, 8, 47-58）Alkermes, Inc. Cambridge, Mass., 及び負荷ナノ粒子、例えば、血液脳関門を通して薬物を送達することができ、神経取込み機構を変化させることができる、ポリブチルシアノアクリレートからなるもの（Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 23, 941-949, 1999）が挙げられる。

20

【0185】

本開示はまた、ポリ（エチレングリコール）（「PEG」）脂質（PEG修飾、分岐若しくは非分岐、若しくはそれらの組み合わせ、又は長期循環型リポソーム若しくはステルスリポソーム）を含有する、表面修飾リポソームを含む組成物の使用を特徴とする。本開示のオリゴマーコンジュゲートはまた、様々な分子量の共有結合PEG分子も含むことができる。これらの製剤は、標的組織における薬物の蓄積を増加させるための方法を提供する。このクラスの薬物担体は、単核細胞貪食系（MPS、又はRES）による、オプソニン化及び排除に抵抗し、それによって、封入薬物の血液循環時間の延長、及び組織曝露の増強を可能にする（Lasica et al., Chem. Rev. 1995, 95, 2601-2627; Ishiwata et al., Chem. Pharm. Bull. 1995, 43, 1005-1011）。そのようなリポソームは、恐らく、溢血、及び血管新生標的組織における捕捉によって、腫瘍に選択的に蓄積することが示されている（Lasica et al., Science 1995, 267, 1275-1276; Oku et al., 1995, Biochim. Biophys. Acta, 1238, 86-90）。長期循環型リポソームは、特に、MPSの組織に蓄積することが知られている、従来のカチオン性リポソームと比較して、DNA、及びRNAの、薬物動態、及び薬力学を増強する（Liu et al., J. Biol. Chem. 1995, 42, 24864-24870; Choi et al., 国際特許公開第WO96/10391号、Ansell et al., 国際特許公開第WO96/10390号、Holland et al., 国際特許公開第WO96/10392号）。また、長期循環型リポソームは、肝臓や脾臓などの代

30

40

50

謝的に攻撃的なMPS組織において、蓄積を回避するそれらの能力に基づいて、カチオン性リポソームと比較して、より大きい程度まで、薬物をヌクレアーゼ分解から保護する可能性が高い。

【0186】

更なる実施形態では、本開示は、米国特許第6,692,911号、同第7,163,695号、及び同第7,070,807号に記載されるような、送達のために調製されたアンチセンスオリゴマー医薬組成物を含む。この点に関して、一実施形態では、本開示は、単独で、又はPEG（例えば、分岐若しくは非分岐PEG、又は両方の混合物）と組合わせて、PEG及び標的化部分と組合わせて、あるいは架橋剤と組合わせた上記のいずれかの、リシン、及びヒスチジン（HK）のコポリマー（米国特許第7,163,695号、同第7,070,807号、及び6,692,911号に記載）を含む組成物中の、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、グルコン酸修飾ポリヒスチジン、又はグルコニル化ポリヒスチジン／トランスフェリンーポリリシンを含む、医薬組成物中の、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートを提供する。当業者であれば、His、及びLysに類似した特性を有するアミノ酸が、組成物内で置換され得ることも認識するであろう。

10

【0187】

湿潤剤、乳化剤、及び潤滑剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、及びステアリン酸マグネシウム）、着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤、芳香剤、防腐剤、並びに酸化防止剤も組成物中に存在し得る。

20

【0188】

薬学的に許容される酸化防止剤の例としては、（1）水溶性酸化防止剤、例えば、アスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなど、（2）油性酸化防止剤、例えば、パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール（BHA）、ブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、レシチン、没食子酸プロピル、アルファートコフェロールなど、及び（3）金属キレート剤、例えば、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ソルビトール、酒石酸、リン酸などが挙げられる。

【0189】

これらの製剤、又は医薬組成物を調製する方法には、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、担体、及び、任意選択的に、1つ以上の副成分と会合させるステップを含む。概して、製剤は、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、液体担体、若しくは微粉化固体担体、又はその両方と、均一かつ密接に会合させ、次いで、必要に応じて、生成物を成形することによって調製される。

30

【0190】

経口投与に適した本開示の製剤は、カプセル、カシェー、丸薬、錠剤、ロゼンジ（風味付けした基剤、通常は、スクロース、及びアカシア、若しくはトラガカント）、散剤、顆粒、又は水性若しくは非水性の溶液中の、溶液若しくは懸濁液として、又は水中油若しくは油中水の液体エマルジョンとして、又はエリキシル剤若しくはシロップとして、又はパステル剤（不活性塩基、例えば、ゼラチン、及びグリセリン、若しくはスクロース、及びアカシア）、及び／又はマウスウォッシュとしての形態などであってもよく、各々は、有効成分として、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの所定量を含有する。本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートはまた、ボーラス、舐剤、又はペーストとして投与されてもよい。

40

【0191】

非経口投与に好適な医薬組成物は、1つ以上の薬学的に許容される滅菌等張水溶液若しくは非水溶液、分散液、懸濁液、若しくはエマルジョン、又は使用直前に滅菌注射用溶液若しくは分散液に再構成され得る滅菌粉末と組合わせて、本開示の1つ以上のオリゴマーコンジュゲートを含み得、これらは、糖、アルコール、酸化防止剤、緩衝液、静菌剤、製剤を意図されたレシピエントの血液と等張にする溶質、又は懸濁剤、若しくは増粘剤を含

50

有し得る。本開示の医薬組成物で用いられ得る、好適な水性、及び非水性担体の例としては、水、エタノール、ポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、及びそれらの好適な混合物、オリーブ油などの植物油、及びオレイン酸エチルなどの注射用有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング材料の使用によって、分散液の場合に必要な粒径の維持によって、及び界面活性剤の使用によって、維持され得る。一実施形態では、医薬組成物のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、式（I）に従う。

【0192】

これらの医薬組成物はまた、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、及び分散剤などの、アジュバントも含有し得る。主題のオリゴマーコンジュゲートに対する微生物の作用の防止は、様々な抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などを含むことによって確保され得る。また、糖、塩化ナトリウムなどの等張剤を、組成物に含むことが、望ましい場合もある。更に、注射用剤形の持続的吸収は、モノステアリン酸アルミニウム、及びゼラチンなどの、吸収を遅延させる薬剤を含むことによってもたらされ得る。

【0193】

場合によっては、薬物の効果を延長するために、皮下注射、又は筋肉内注射からの、薬物の吸収を遅らせることが望ましい。これは、当該技術分野で既知の方法の中でも特に、水溶性が乏しい、結晶性、又は非晶質材料の、液体懸濁液の使用によって達成され得る。次いで、薬物の吸収速度は、その溶解速度に依存し、溶解速度は、従って、結晶サイズ、及び結晶形態に依存し得る。あるいは、非経口的に投与された薬物形態の吸収の遅延は、薬物を油ビヒクルに溶解、又は懸濁することによって、達成される。

【0194】

注射用デポー形態は、ポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中で、主題のオリゴマーコンジュゲートの、マイクロカプセルマトリックスを形成することによって、作製され得る。ポリマーに対するオリゴマーの比率、及び用いられる特定のポリマーの性質に応じて、オリゴマー放出の速度が制御され得る。他の生分解性ポリマーの例としては、ポリ（オルトエステル）、及びポリ（無水物）が挙げられる。デポー注射用製剤はまた、体内組織と適合性のある、リポソーム、又はマイクロエマルジョンに薬物を封入することによっても、調製され得る。

【0195】

本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートが、ヒト、及び動物に、医薬品として投与される時に、それらは、それ自体として、又は例えば、薬学的に許容される担体と組合わせたアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの0.1～99%（より好ましくは10～30%）を含有する医薬組成物として、投与され得る。

【0196】

本開示の製剤、又は調製物は、経口的、非経口的、局所的、又は直腸に投与され得る。これらは、典型的には、各投与経路に好適な形態で投与される。例えば、それらは、錠剤若しくはカプセルの形態で、注射、吸入、目薬、軟膏、坐剤、若しくは点滴によって、ローション若しくは軟膏によって局所的に、又は坐剤によって直腸に、投与される。

【0197】

選択される投与経路にかかわらず、好適な水和形態で使用され得る、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及び／又は本開示の医薬組成物は、当業者に既知の従来の方法によって、薬学的に許容される剤形に製剤化され得る。本開示の医薬組成物中の有効成分の実際の投与量レベルは、患者に対して許容できないほど毒性であることなく、特定の患者、組成物、及び投与様式に対して望ましい治療応答を達成するために有効である、有効成分の量を得るために変動し得る。

【0198】

選択される投与量レベルは、用いられる本開示の特定のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はそのエステル、塩、若しくはアミドの活性、投与経路、投与時刻、用いら

10

20

30

40

50

れる特定のオリゴマーの排泄速度又は代謝速度、吸収の速度及び程度、治療期間、用いられる特定のオリゴマーと組合わせて使用される他の薬物、化合物、及び／又は材料、治療中の患者の年齢、性別、体重、条件、全般的な健康状態、及び既往歴、並びに医学技術で周知の同様の要因を含む、様々な要因に依存する。

【0199】

当該技術分野における通常の技術を有する医師、又は獣医であれば、必要な医薬組成物の有効量を容易に決定、及び処方することができる。例えば、医師、又は獣医は、所望の治療効果を達成するために必要とされるレベルよりも低いレベルで、医薬組成物中で用いられる本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの投与を開始し、望ましい効果が達成されるまで、投与量を徐々に増加させることができる。概して、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの好適な1日用量は、治療効果をもたらすのに有効な最低用量である、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートの量である。そのような有効用量は、概して、本明細書に記載される要因に依存する。概して、患者のための本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの、経口、静脈内、脳室内、及び皮下用量は、示された効果のために使用される場合、1日当たり、体重1キログラム当たり、約0.0001～約100mgの範囲である。

【0200】

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、概して、約10～160mg/kg、又は20～160mg/kgの用量で投与される。場合によっては、160mg/kgを超える用量が必要である場合もある。いくつかの実施形態では、静脈内投与の用量は、約0.5mg～160mg/kgである。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、約0.5mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg、又は10mg/kgの用量で投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、約10mg/kg、11mg/kg、12mg/kg、15mg/kg、18mg/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、100mg/kg、105mg/kg、110mg/kg、115mg/kg、120mg/kg、125mg/kg、130mg/kg、135mg/kg、140mg/kg、145mg/kg、150mg/kg、155mg/kg、160mg/kg（それらの間の全ての整数を含む）の用量で投与される。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、10mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、20mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、30mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、40mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、60mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、80mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、160mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、50mg/kgで投与される。

【0201】

いくつかの実施形態では、式(VI)、式(VIII)、若しくは式(X)のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、概して、約10～約160mg/kg、又は約20～約160mg/kgの用量で投与される。いくつかの実施形態では、静脈内投与のための、式(VI)、式(VIII)、若しくは式(X)のアンチセンスオリ

ゴマー、又はその薬学的に許容される塩の用量は、約 0.5 mg ~ 160 mg / kg である。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 0.5 mg / kg、約 1 mg / kg、約 2 mg / kg、約 3 mg / kg、約 4 mg / kg、約 5 mg / kg、約 6 mg / kg、約 7 mg / kg、約 8 mg / kg、約 9 mg / kg、又は約 10 mg / kg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 10 mg / kg、11 mg / kg、12 mg / kg、15 mg / kg、18 mg / kg、20 mg / kg、21 mg / kg、25 mg / kg、26 mg / kg、27 mg / kg、28 mg / kg、29 mg / kg、30 mg / kg、31 mg / kg、32 mg / kg、33 mg / kg、34 mg / kg、35 mg / kg、36 mg / kg、37 mg / kg、38 mg / kg、39 mg / kg、40 mg / kg、41 mg / kg、42 mg / kg、43 mg / kg、44 mg / kg、45 mg / kg、46 mg / kg、47 mg / kg、48 mg / kg、49 mg / kg、50 mg / kg、51 mg / kg、52 mg / kg、53 mg / kg、54 mg / kg、55 mg / kg、56 mg / kg、57 mg / kg、58 mg / kg、59 mg / kg、60 mg / kg、65 mg / kg、70 mg / kg、75 mg / kg、80 mg / kg、85 mg / kg、90 mg / kg、95 mg / kg、100 mg / kg、105 mg / kg、110 mg / kg、115 mg / kg、120 mg / kg、125 mg / kg、130 mg / kg、135 mg / kg、140 mg / kg、145 mg / kg、150 mg / kg、155 mg / kg、160 mg / kg (それらの間の全ての整数を含む) の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 10 mg / kg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 20 mg / kg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 30 mg / kg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 40 mg / kg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 60 mg / kg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 80 mg / kg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 160 mg / kg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、式 (VI)、式 (VII)、若しくは式 (X) のアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩は、約 50 mg / kg の用量で投与される。

10

20

30

40

50

【0202】

必要に応じて、活性化合物の有効な 1 日用量は、1 日を通して適切な間隔で、任意選択的に単位剤形で、別々に投与される、2、3、4、5、6 回、又はそれ以上の部分用量として投与されてもよい。ある特定の状況では、投与は、1 日 1 回の投与である。ある特定の実施形態では、投与は、機能性ジストロフィンタンパク質の所望の発現を維持するために、必要に応じて、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 日毎、又は 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 週毎、又は 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 カ月毎に 1 回以上の投与である。ある特定の実施形態では、投与は、2 週間に 1 度、1 回以上の投与である。いくつかの実施形態では、投与は、2 週間に 1 度、1 回の投与である。様々な実施形態では、投与は、毎月、1 回以上の投与である。ある特定の実施形態では、投与は、毎月、1 回の投与である。

【0203】

様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、10 mg / kg で毎

週投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 20 mg/kg で毎週投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 30 mg/kg で毎週投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 40 mg/kg で毎週投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 60 mg/kg で毎週投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 80 mg/kg で毎週投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 100 mg/kg で毎週投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 160 mg/kg で毎週投与される。本明細書で使用される場合、毎週とは、1週間毎の、当該技術分野で一般に認められた意味を有すると理解される。

10

【0204】

様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 10 mg/kg で、隔週投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 20 mg/kg で、隔週投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 30 mg/kg で、隔週投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 40 mg/kg で、隔週投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 60 mg/kg で、隔週投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 80 mg/kg で、隔週投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 100 mg/kg で、隔週投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 160 mg/kg で、隔週投与される。本明細書で使用される場合、隔週とは、2週間毎の、当該技術分野で一般に認められた意味を有すると理解される。

20

【0205】

様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 10 mg/kg で、3週間毎に投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 20 mg/kg で、3週間毎に投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 30 mg/kg で、3週間毎に投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 40 mg/kg で、3週間毎に投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 60 mg/kg で、3週間毎に投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 80 mg/kg で、3週間毎に投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 100 mg/kg で、3週間毎に投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 160 mg/kg で、3週間毎に投与される。本明細書で使用される場合、3週間毎とは、3週間に1回の、当該技術分野で一般に認められた意味を有すると理解される。

30

【0206】

様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 10 mg/kg で、毎月投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 20 mg/kg で、毎月投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 30 mg/kg で、毎月投与される。様々な実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 40 mg/kg で、毎月投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 60 mg/kg で、毎月投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 80 mg/kg で、毎月投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 100 mg/kg で、毎月投与される。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、 160 mg/kg で、毎月投与される。本明細書で使用される場合、毎月とは、月毎の、当該技術分野で一般に認められた意味を有すると理解される。

40

【0207】

当該技術分野で理解されるように、毎週、隔週、三週間毎、又は毎月の投与は、本明細書で考察されるように、1回、又は複数回の、投与、又は部分投与であってもよい。

50

【0208】

本明細書に記載される核酸分子、及びアンチセンスオリゴマーは、当業者に既知の様々な方法によって細胞に投与され、このような方法としては、限定されないが、本明細書に記載され、かつ当該技術分野において既知であるような、リポソームへの封入、イオントフォレーシス、又はヒドロゲル、シクロデキストリン、生分解性ナノカプセル、及び生体接着性ミクロスフェアなどの他のベヒクルへの組込みが挙げられる。ある特定の実施形態では、マイクロエマルジョン化技術を利用して、親油性（非水溶性）医薬品の、バイオアベイラビリティを改善し得る。例としては、Trimetrine (Dordunoo, S. K., et al., Drug Development and Industrial Pharmacy, 17(12), 1685-1713, 1991)、及びREV 5901 (Sheen, P. C., et al., J Pharm Sci 80(7), 712-714, 1991)が挙げられる。利点の中でも特に、マイクロエマルジョン化は、循環系の代わりにリンパ系への吸収を優先的に誘導し、それによって、肝臓を迂回し、肝胆道循環における化合物の破壊を防止することによって、増強されたバイオアベイラビリティを提供する。

10

【0209】

開示の一態様では、製剤は、本明細書に提供されるオリゴマーから形成されるミセル、及びミセルが約100nm未満の平均直径を有する少なくとも1つの両親媒性担体を含む。より好ましい実施形態は、約50nm未満の平均直径を有するミセルを提供し、更により好ましい実施形態は、約30nm未満、又は更に約20nm未満の平均直径を有するミセルを提供する。

20

【0210】

全ての好適な両親媒性担体が企図されるが、現在好ましい担体は、概して、一般的に安全とみなされている（GRAS）状態を有し、かつ本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを可溶化すること、及び溶液が複雑な水相（ヒト胃腸管に見られるものなど）と接触する後の段階でマイクロ乳化することの、両方ができる担体である。通常、これらの要件を満たす両親媒性成分は、2～20のHLB（親水性－親油性のバランス）値を有し、それらの構造は、C-6～C-20の範囲の、直鎖脂肪族基を含有する。例としては、ポリエチレングリコール化脂肪酸グリセリド、及びポリエチレングリコールがある。

【0211】

両親媒性担体の例としては、飽和、及び一不飽和ポリエチレングリコール化脂肪酸グリセリド、例えば、完全、又は部分的に水素化された、様々な植物油から得られるものが挙げられる。そのような油は、有利には、トリ－、ジ－、及びモノ－脂肪酸グリセリド、並びに対応する脂肪酸の、ジ－、及びモノ－ポリ（エチレングリコール）エステルからなり得、特に好ましい脂肪酸組成物としては、カプリン酸4～10%、カプリン酸3～9%、ラウリン酸40～50%、ミリスチン酸14～24%、パルミチン酸4～14%、及びステアリン酸5～15%が挙げられる。別の有用なクラスの両親媒性担体としては、飽和、若しくは一不飽和脂肪酸（SPAN（登録商標）シリーズ）、又は対応するエトキシ化類似体（TWEEN（登録商標）シリーズ）を有する、部分的にエステル化された、ソルビタン、及び／又はソルビトールが挙げられる。

30

40

【0212】

Gelucireシリーズ、Labrafil、Labrasol、又はLauroglycol（全てGattefosse Corporation, Saint Priest, Franceによって製造及び流通）、PEG－モノ－オレイン酸、PEG－ジ－オレイン酸、PEG－モノ－ラウリン酸、及びジ－ラウリン酸、レシチン、ポリソルベート80など（米国、及び世界中の多くの企業によって、製造、及び流通）を含む市販の両親媒性担体が、特に有用であり得る。

【0213】

ある特定の実施形態では、送達は、本開示の医薬組成物を好適な宿主細胞に導入するために、リポソーム、ナノカプセル、微粒子、ミクロスフェア、脂質粒子、ベシクルなどを

50

使用することによって起こり得る。特に、本開示の医薬組成物は、脂質粒子、リポソーム、ベシクル、ナノスフェア、ナノ粒子などのいずれかに封入されて、送達用に製剤化され得る。そのような送達ビヒクルの製剤化、及び使用は、既知、かつ従来の技術を使用して行われ得る。

【0214】

本開示での使用に適した親水性ポリマーは、容易に水溶性であり、ベシクル形成脂質に共有結合することができ、かつ毒性作用なしにインビボで耐容性がある（すなわち、生体適合性である）ものである。好適なポリマーとしては、ポリ（エチレングリコール）（PEG）、ポリ乳酸（ポリラクチドとも呼ばれる）、ポリグリコール酸（ポリグリコリドとも呼ばれる）、ポリ乳酸-ポリグリコール酸コポリマー、及びポリビニルアルコールが挙げられる。ある特定の実施形態では、ポリマーは、約100若しくは120ダルトン～最大で約5,000若しくは10,000ダルトン、又は約300ダルトン～約5,000ダルトンの重量平均分子量を有する。他の実施形態では、ポリマーは、約100～約5,000ダルトンの重量平均分子量を有する、又は約300～約5,000ダルトンの重量平均分子量を有する、ポリ（エチレングリコール）である。ある特定の実施形態では、ポリマーは、約750ダルトンの重量平均分子量を有するポリ（エチレングリコール）、例えば、PEG（750）である。ポリマーは、その中のモノマーの数によっても定義され得、本開示の好ましい実施形態は、少なくとも約3つのモノマーのポリマーを利用し、3つのモノマーからなるそのようなPEGポリマーは、分子量が約132ダルトンである。

【0215】

本開示での使用に適し得る他の親水性ポリマーとしては、ポリビニルピロリドン、ポリメトキサゾリン、ポリエチルオキサゾリン、ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリジメチルアクリルアミド、及び誘導体化セルロース、例えば、ヒドロキシメチルセルロース、又はヒドロキシエチルセルロースが挙げられる。

【0216】

ある特定の実施形態では、本開示の製剤は、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリアルキレン、アクリルエステル及びメタクリルエステルのポリマー、ポリビニルポリマー、ポリグリコリド、ポリシロキサン、ポリウレタン及びそのコポリマー、セルロース、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレン、乳酸及びグリコール酸のポリマー、ポリ無水物、ポリ（オルソ）エステル、ポリ（ブチック酸）（butic acid）、ポリ（吉草酸）、ポリ（ラクチド-c-o-プロラクトン）、多糖類、タンパク質、ポリヒアルロン酸、ポリシアノアクリレート、並びにそれらのブレンド、混合物、又はコポリマーからなる群から選択される生体適合性ポリマーを含む。

【0217】

シクロデキストリンは、6、7、又は8グルコース単位からなる環状オリゴ糖であり、各々ギリシャ文字 α 、 β 、又は γ によって示される。グルコース単位は、 α -1,4-グルコシド結合によって連結される。糖単位の椅子型配座の結果として、全ての二次ヒドロキシル基（C-2、C-3における）が環の一方の側に位置する一方で、C-6における全ての一次ヒドロキシル基は、他方の側に位置する。結果として、外面は親水性であり、シクロデキストリンを水溶性にする。対照的に、シクロデキストリンの空洞は、それらが、原子C-3、及びC-5の水素によって、並びにエーテル様酸素によって覆われているため、疎水性である。これらのマトリックスは、例えば、17 α -エストラジオールなどのステロイド化合物を含む、様々な比較的疎水性の化合物との複合体形成を可能にする（例えば、van Uden et al., Plant Cell Tiss. Org. Cult. 38:1-3-113 (1994)を参照）。複合体形成は、ファンデルワールス相互作用、及び水素結合形成によって起こる。シクロデキストリンの化学的性質に関する一般的なレビューについては、Wenz, Agnew. Chem. Int. Ed. Engl., 33:803-822 (1994)を参照。

【0218】

シクロデキストリン誘導体の物理化学的性質は、置換の種類、及び程度に大きく依存す

る。例えば、それらの水溶性は、不溶性（例えば、トリアセチル-β-サイクロデキストリン）から、147%可溶性（w/v）（G-2-β-サイクロデキストリン）の範囲である。更に、それらは、多くの有機溶媒に可溶性である。サイクロデキストリンの特性は、それらの溶解性を増減させることによって、様々な製剤構成成分の溶解度の制御を可能にする。

【0219】

多数のサイクロデキストリン、及びそれらの調製のための方法が、記載されている。例えば、Parmeter (I), et al. (米国特許第3,453,259号)、及びGramera, et al. (米国特許第3,459,731号)は、電気的中性サイクロデキストリンについて記載した。他の誘導体としては、カチオン特性を有するサイクロデキストリン [Parmeter (II)、米国特許第3,453,257号]、不溶性架橋サイクロデキストリン (Solms、米国特許第3,420,788号)、及びアニオン特性を有するサイクロデキストリン [Parmeter (III)、米国特許第3,426,011号]が挙げられる。アニオン特性を有するサイクロデキストリン誘導体のうち、カルボン酸、亜リン酸、亜ホスフィン酸、ホスホン酸、リン酸、チオホスホン酸、チオスルフィン酸、及びスルホン酸は、親サイクロデキストリンに付加されている [Parmeter (III)、上記参照]。更に、スルホアルキルエーテルサイクロデキストリン誘導体は、Stellaら (米国特許第5,134,127号)によって記載されている。

【0220】

リポソームは、水性内部区画を周囲する、少なくとも1つの脂質二重層膜からなる。リポソームは、膜の種類、及びサイズによって特徴付けられ得る。小型単一ラメラベシクル (SUV) は、単一膜を有し、典型的には、直径が、0.02~0.05 μmの間の範囲であり、大型単一ラメラベシクル (LUV) は、典型的には、0.05 μmよりも大きい。大型オリゴラメラベシクル、及び多重ラメラベシクルは、複数の、通常は同心性の膜層を有し、典型的には、0.1 μmよりも大きい。いくつかの非同心膜を有するリポソーム、すなわち、より大きいベシクル内に含有されるいくつかのより小さいベシクルは、多胞体ベシクルと呼ばれる。

【0221】

本開示の一態様は、本開示のアンチセンスオリゴマーを含有するリポソームを含む製剤に関し、リポソーム膜は、増加した担持能力を有するリポソームを提供するように、製剤化される。あるいは、又は加えて、本開示のアンチセンスオリゴマーは、リポソームのリポソーム二重層内に含有され得るか、又はその上に吸着され得る。本開示のアンチセンスオリゴマーは、脂質界面活性剤と凝集され、リポソームの内部空間内に担持され得る。これらの場合、リポソーム膜は、活性薬剤-界面活性剤凝集体の崩壊効果に抵抗するように、製剤化される。

【0222】

本開示の一実施形態によると、リポソームの脂質二重層は、ポリ(エチレングリコール) (PEG) で誘導体化された脂質を含有し、これにより、PEG鎖は、脂質二重層の内面から、リポソームによって封入された内部空間へと延在し、かつ脂質二重層の外部から、周囲環境へと延在する。

【0223】

本開示のリポソーム内に含有される活性薬剤は、可溶化形態である。界面活性剤、及び活性薬剤の凝集体（対象の活性薬剤を含有する、エマルジョン、又はミセルなど）は、本開示によるリポソームの内部空間内に封入され得る。界面活性剤は、活性薬剤を、分散、及び可溶化するように作用し、様々な鎖長（例えば、約C14~約C20）の、生体適合性リゾホスファチジルコリン (LPG) を含むがこれに限定されない、任意の好適な、脂肪族、脂環式、又は芳香族界面活性剤から選択され得る。PEG-脂質などのポリマー誘導体化脂質は、ミセル/膜融合を阻害するように作用するため、また界面活性剤分子へのポリマーの添加が、界面活性剤のCMCを減少させ、ミセル形成を助けるため、ミセル形

成にも利用され得る。マイクロモル範囲のCMOを有する界面活性剤が好ましく、より高いCMC界面活性剤を利用して、本開示のリポソーム内に封入されたミセルを調製し得る。

【0224】

本開示によるリポソームは、当該技術分野で既知の様々な技術のいずれかによって調製され得る。例えば、米国特許 第4,235,871号、公開PCT出願第WO96/14057号、New RRC、Liposomes: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), pages 33-104; and Lasic DD, Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1993を参照されたい。例えば、本開示のリポソームは、リポソーム中で所望の誘導体化脂質の最終モルパーセントに相当する脂質濃度で、親水性ポリマーで誘導体化された脂質を、予め形成されたリポソームに拡散することによって、例えば、予め形成されたリポソームを、脂質グラフトポリマーから構成されるミセルに曝露することによって、調製され得る。親水性ポリマーを含有するリポソームはまた、当該技術分野で既知のように、均質化、脂質場水和、又は押出技術によって形成され得る。

10

【0225】

別の例示的な製剤化手順において、活性薬剤はまず、疎水性分子を容易に可溶化する、リゾホスファチジルコリン、又は他の低CMC界面活性剤（ポリマーグラフト脂質を含む）中での、音波処理によって分散される。次いで、活性薬剤の得られたミセル懸濁液を使用して、好適なモルパーセントの、ポリマーグラフト脂質、又はコレステロールを含有する、乾燥脂質試料を再水和する。次いで、脂質及び活性薬剤懸濁液は、当該技術分野で既知の押出技術を使用してリポソームに形成され、得られたリポソームは、標準的なカラム分離によって、封入されていない溶液から分離される。

20

【0226】

本開示の一態様では、リポソームは、選択されたサイズ範囲において、実質的に均一なサイズを有するように調製される。1つの効果的なサイズ決定方法は、選択された均一な孔径を有する一連のポリカーボネート膜を通して、リポソームの水性懸濁液を押し出すことを伴い、膜の孔径は、その膜を通した押出によってもたらされる、リポソームの最大サイズに概ね相当する。例えば、米国特許 第4,737,323号（1988年4月12日）を参照されたい。ある特定の実施形態では、DharmaFECT（登録商標）、及びLipofectamine（登録商標）などの試薬を利用して、ポリヌクレオチド、又はタンパク質を、細胞に導入し得る。

30

【0227】

本開示の製剤の放出特性は、封入材料、封入薬物の濃度、及び放出調節剤の存在に依存する。例えば、放出は、例えば、胃の中のような低pH、又は腸の中のような高pHでのみ放出する、pH感受性コーティングを使用して、pH依存性になるように操作され得る。腸溶性コーティングは、胃を通過する後まで、放出が起こらないように使用され得る。異なる材料に封入されたシアナミドの、複数のコーティング、又は混合物を使用して、胃内で初期放出を得て、続いて、腸内で後の放出を得ることができる。放出はまた、塩、又は細孔形成剤を含むことによっても操作され得、これは、カプセルからの拡散による、水取込み、又は薬物の放出を増加させることができる。薬物の溶解性を修正する賦形剤はまた、放出速度を制御するためにも使用され得る。マトリックスの分解、又はマトリックスからの放出を増強する薬剤も、組込まれ得る。それらは、薬剤に添加され得るか、別個の相（すなわち、微粒子として）として添加され得るか、又は化合物に応じてポリマー相で共溶解され得る。ほとんどの場合、量は、0.1～30パーセント（w/wポリマー）の間であるべきである。分解促進剤の種類としては、硫酸アンモニウム、及び塩化アンモニウムなどの無機塩、クエン酸、安息香酸、及びアスコルビン酸などの有機酸、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸カルシウム、炭酸亜鉛、及び水酸化亜鉛などの無機塩基、並び

40

50

にプロタミン硫酸塩、スペルミン、コリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、及びトリエタノールアミンなどの有機塩基、並びにTwee n（登録商標）、及びPlu r o n i c（登録商標）などの界面活性剤が挙げられる。マトリックスに微細構造を付与する、細孔形成剤（すなわち、無機塩、及び糖類などの、水溶性化合物）が、微粒子として添加される。範囲は、典型的には、1～30パーセント（w/wポリマー）の間である。

【0228】

また、取込みは、腸内の粒子の滞留時間を変化させることによって、操作され得る。これは、例えば、粒子を、封入材料、粘膜接着性ポリマーでコーティングするか、封入材料、粘膜接着性ポリマーとして選択することによって、達成され得る。例としては、遊離カルボキシル基を有するほとんどのポリマー、例えば、キトサン、セルロース、及び特に、ポリアクリレート（本明細書で使用される場合、ポリアクリレートは、アクリレート基、並びにシアノアクリレート、及びメタクリレートなどの修飾アクリレート基を含む、ポリマーを指す）が挙げられる。

【0229】

アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、外科用若しくは医療用のデバイス、又はインプラント内に含有されるように製剤化され得るか、又はそれによって放出されるように適合され得る。ある特定の態様では、インプラントは、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートで、コーティングされ得るか、又は別の方法で処理され得る。例えば、ヒドロゲル、又は生体適合性及び／若しくは生分解性ポリマーなどの他のポリマーを使用して、本開示の医薬組成物で、インプラントをコーティングし得る（すなわち、組成物は、ヒドロゲル、又は他のポリマーを使用することによって、医療デバイスと共に使用するように適合され得る）。医療デバイスを薬剤でコーティングするための、ポリマー、及びコポリマーは、当該技術分野で周知である。インプラントの例としては、ステント、薬剤溶出性ステント、縫合糸、人工器官、血管カテーテル、透析カテーテル、血管グラフト、人工心臓弁、心臓ペースメーカー、埋込み型除細動器、I V 針、接骨及び骨形成用デバイス、例えば、ピン、スクリュー、プレート、及び他のデバイス、並びに創傷治療のための人工組織マトリックスが挙げられるが、これらに限定されない。

【0230】

本明細書に提供される方法に加えて、本開示による使用のためのアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、他の医薬品から類推して、ヒト又は獣医学で使用するための、任意の便利な方法で投与するために、製剤化され得る。アンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及びそれらの対応する製剤は、単独で、又は筋芽細胞移植、幹細胞療法、アミノグリコシド系抗生物質の投与、プロテアソーム阻害剤、及び上方制御療法（例えば、ジストロフィンの常染色体パラログである、ユートロフィンの上方制御）などの、筋ジストロフィーの治療における他の治療戦略と組合わせて、投与され得る。

【0231】

いくつかの実施形態では、追加の治療薬は、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートの投与の前に、それと同時に、又はその後、投与されてもよい。例えば、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、ステロイド、及び／又は抗生物質と組合わせて投与されてもよい。ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、バックグラウンドステロイド理論（例えば、間欠的、又は長期／連続的バックグラウンドステロイド療法）を受けている患者に投与される。例えば、いくつかの実施形態では、患者は、アンチセンスオリゴマーの投与前にコルチコステロイドを用いて治療されており、ステロイド療法を受け続けている。いくつかの実施形態では、ステロイドは、糖質コルチコイド、又はプレドニゾンである。

【0232】

記載される投与経路は、当業者が、任意の特定の動物、及び状態にとって、最適な投与経路、及び任意の投与量を容易に決定することができるため、指針としてのみ意図される。インビトロ、及びインビボの両方で、機能的な新規な遺伝物質を細胞に導入するための、複数のアプローチが試みられている（F r i e d m a n n （1989） S c i e n

10

20

30

40

50

ce, 244:1275-1280)。これらのアプローチには、発現する遺伝子の修飾レトロウイルスへの組み込み、(Friedmann (1989) *supra*; Rosenberg (1991) *Cancer Research* 51(18), suppl.: 5074S-5079S)、非レトロウイルスベクター(例えば、アデノ関連ウイルスベクター)への組み込み(Rosenfeld, et al. (1992) *Cell*, 68:143-155; Rosenfeld, et al. (1991) *Science*, 252:431-434)、又はリポソームを介した異種プロモーター-エンハンサーエレメントに連結された導入遺伝子の送達(Friedmann (1989), *supra*; Brigham, et al. (1989) *Am. J. Med. Sci.*, 298:278-281; Nabel, et al. (1990) *Science*, 249:1285-1288; Hazinski, et al. (1991) *Am. J. Resp. Cell Molec. Biol.*, 4:206-209、及びWang and Huang (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 84:7851-7855)、リガンド特異的、カチオン系輸送システムとの結合(Wu and Wu (1988) *J. Biol. Chem.*, 263:14621-14624)、又はネイキッドDNA、発現ベクターの使用(Nabel et al. (1990), *supra*; Wolff et al. (1990) *Science*, 247:1465-1468)が含まれる。導入遺伝子の組織への直接注射は、局所発現のみをもたらす(Rosenfeld (1992) *supra*; Rosenfeld et al. (1991) *supra*; Brigham et al. (1989) *supra*; Nabel (1990) *supra*; and Hazinski et al. (1991) *supra*)。Brighamらのグループ(*Am. J. Med. Sci.* (1989) 298:278-281 and *Clinical Research* (1991) 39 (要約))は、DNAリポソーム複合体の、静脈内、又は気管内のいずれかの投与後の、マウスの肺のインビボトランスフェクションのみを報告している。ヒト遺伝子治療手順のレビュー文献の一例は、Anderson, *Science* (1992) 256:808-813である。

10

20

30

40

50

【0233】

更なる実施形態では、本開示の医薬組成物は、Han et al., *Nat. Comms.* 7, 10981 (2016) (この全体は、参照により本明細書に組み込まれる)に提供されるように、炭水化物を追加的に含み得る。いくつかの実施形態では、本開示の医薬組成物は、5%のヘキソース炭水化物を含み得る。例えば、本開示の医薬組成物は、5%のグルコース、5%のフルクトース、又は5%のマンノースを含み得る。ある特定の実施形態では、本開示の医薬組成物は、2.5%のグルコース、及び2.5%のフルクトースを含み得る。いくつかの実施形態では、本開示の医薬組成物は、5体積%の量で存在するアラビノース、5体積%の量で存在するグルコース、5体積%の量で存在するソルビトール、5体積%の量で存在するガラクトース、5体積%の量で存在するフルクトース、5体積%の量で存在するキシリトール、5体積%の量で存在するマンノース、各々が2.5体積%の量で存在するグルコースと、フルクトースの組み合わせ、並びに5.7体積%の量で存在するグルコースと、2.86体積%の量で存在するフルクトースと、1.4体積%の量で存在するキシリトールとの組み合わせから選択される、炭水化物を含んでもよい。

【0234】

ある特定の態様では、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートは、液体医薬製剤で投与され、コンジュゲートの濃度は、約50mg/mlである。

【0235】

選択される投与経路に関わらず、好適な水和形態で使用され得る本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、及び／又は本開示の医薬組成物は、当業者に既知の従来的な方法によって、薬学的に許容される剤形に製剤化され得る。本開示の医薬組成物中の有効

成分の実際の投与量レベルは、患者に対して許容できないほど毒性であることなく、特定の患者、組成物、及び投与様式に対して望ましい治療応答を達成するために有効である有効成分の量を得るために、変動し得る。

【0236】

使用方法

本開示に記載される投与レジメンを使用して、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いた治療を、それを必要とする患者に行うことができる。

【0237】

一態様では、本開示は、DMDの治療を必要とする対象において、それを行うための方法を提供し、対象は、エクソンスキッピングに適している、ジストロフィン遺伝子の変異を有し、方法は、対象に、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを投与することを含む。いくつかの態様では、エクソンは、ヒトジストロフィン遺伝子の、エクソン44、エクソン45、エクソン50、エクソン51、エクソン52、又はエクソン53である。

【0238】

別の態様では、本開示は、エクソンスキッピング（例えば、エクソン44、エクソン45、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53スキッピング）に適している、ジストロフィン遺伝子の変異を有する対象において、mRNAリーディングフレームを修復させて、ジストロフィン産生を誘導する方法を提供し、方法は、対象に、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを投与することを含む。

【0239】

別の態様では、本開示は、エクソンスキッピングに適している、ジストロフィン遺伝子の変異を有する対象において、mRNAプロセシング中に、ジストロフィンプレmRNAから、エクソン（例えば、エクソン44、エクソン45、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53）を除外する方法を提供し、方法は、対象に、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを投与することを含む。別の態様では、本開示は、エクソンスキッピング（例えば、エクソン44、エクソン45、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53スキッピング）に適している、ジストロフィン遺伝子の変異を有する対象において、ジストロフィンプレmRNAのエクソン（例えば、エクソン44、エクソン45、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53）を結合する方法を提供し、方法は、対象に、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを投与することを含む。

【0240】

ジストロフィン合成、又は産生に関する「修復」という用語は、概して、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いた治療後の、筋ジストロフィー患者における、先端を切断された形態のジストロフィンを含む、ジストロフィタンパク質の産生を指す。いくつかの実施形態では、治療は、患者における、新規のジストロフィン産生の、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は100%（それらの間の全ての整数を含む）の増加をもたらす。いくつかの実施形態では、治療は、対象における、ジストロフィン陽性線維の数を、正常の、少なくとも、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、又は約95%～100%に増加させる。他の実施形態では、治療は、対象における、ジストロフィン陽性線維の数を、正常の、約20%～約60%、又は約30%～約50%に増加させる。治療後の患者のジストロフィン陽性線維の割合は、公知の技術を使用して、筋生検によって決定され得る。例えば、筋生検は、患者の上腕二頭筋などの、好適な筋肉から収集され得る。

【0241】

陽性ジストロフィン線維の割合の分析は、治療前、及び／若しくは治療後、又は治療過程全体を通じた時点において、実施され得る。いくつかの実施形態では、治療後の生検は、治療前の生検と対側の筋肉から収集される。治療前、及び治療後のジストロフィン発現

10

20

30

40

50

分析は、ジストロフィンのための、任意の好適なアッセイを使用して実施され得る。いくつかの実施形態では、免疫組織化学的検出は、モノクローナル抗体、又はポリクローナル抗体などの、ジストロフィンのためのマーカーである抗体を使用して、筋生検からの組織切片上で実施される。例えば、ジストロフィンのための高感度マーカーである、M A N D Y S 1 0 6 抗体が使用され得る。任意の好適な二次抗体が、使用され得る。

【0242】

いくつかの実施形態では、ジストロフィン陽性線維の割合は、陽性線維数を、カウントした総線維数で除算することによって計算される。正常な筋肉試料は、100%のジストロフィン陽性線維を有する。したがって、ジストロフィン陽性線維の割合は、正常の割合として表され得る。治療前の筋肉、及び復帰線維における、ジストロフィンの微量レベルの存在を制御するために、治療後の筋肉におけるジストロフィン陽性線維をカウントする場合、ベースラインは、患者からの治療前の筋肉切片を使用して設定され得る。これは、その患者の治療後の筋肉切片における、ジストロフィン陽性線維をカウントするための、閾値として使用され得る。他の実施形態では、抗体で染色された組織切片は、Bioquant 画像分析ソフトウェア (Bioquant Image Analysis Corporation, Nashville, TN) を使用した、ジストロフィン定量化にも使用され得る。総ジストロフィン蛍光シグナル強度は、正常の割合として報告され得る。更に、モノクローナル、又はポリクローナル抗ジストロフィン抗体を用いた、ウェスタンブロット分析を使用して、ジストロフィン陽性線維の割合を決定することができる。例えば、Leica Biosystems からの、抗ジストロフィン抗体 NCLE-D y s 1 が使用され得る。また、ジストロフィン陽性線維の割合は、サルコグリカン複合体 (β , γ)、及び／又は神経 NOS の、構成成分の発現を決定することによっても、分析することができる。

【0243】

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いた治療は、治療なしで予想される、DMD 患者における、進行性呼吸筋機能障害及び／又は不全を、遅らせるか、又は低減する。いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いた治療は、治療なしで予想される、換気補助の必要性を、低減、又は排除し得る。いくつかの実施形態では、疾患の経過を追跡するための呼吸機能の測定、並びに可能性のある治療介入の評価には、最大吸気圧 (MIP)、最大呼気圧 (MEP)、及び努力肺活量 (FVC) が含まれる。MIP、及び MEP は、各々、吸入中、及び呼気中に、人が発生させることができる圧力レベルを測定し、かつ呼吸筋力の感度尺度である。MIP は、横隔膜の筋力低下の尺度である。

【0244】

いくつかの実施形態では、MEP は、MIP、及び FVC を含む、他の肺機能検査における変化の前に低下し得る。ある特定の実施形態では、MEP は、呼吸機能障害の早期指標であり得る。ある特定の実施形態では、FVC は、最大吸気後の努力呼気中に排出される、空気の総体積を測定するために使用され得る。DMD 患者において、FVC は、10 代前半まで身体的成長と同時に増加する。しかしながら、成長が病気の進行によって遅くなる又は不良になり、筋力低下が進行すると、肺活量は下降期に入り、10~12 歳の後、年間約 8~8.5 パーセントの平均速度で低下する。ある特定の実施形態では、予測 MIP パーセント (MIP は、体重で調整)、予測 MEP パーセント (MEP は、年齢で調整)、及び予測 FVC パーセント (FVC は、年齢、及び身長で調整) は、支持的分析である。

【0245】

本明細書で使用される場合、「対象」及び「患者」という用語は、DMD 若しくは BMD、又はこれらの状態に関連する症状のいずれか (例えば、筋線維の消失) を有するか、又はそのリスクがある対象 (又は患者) など、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いて治療され得る症状を示す、又は症状を示すリスクがある、任意の動物を含む。好適な対象 (又は患者) には、実験動物 (マウス、ラット、ウサギ、又はモルモット

など)、家畜、及び家庭用動物、又はペット(ネコ、又はイヌなど)が含まれる。非ヒト霊長類、及び好ましくはヒト患者(又は対象)が含まれる。また、エクソンスキッピング(例えば、エクソン44、エクソン45、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53スキッピング)に適している、ジストロフィン遺伝子の変異を有する対象(又は患者)において、ジストロフィンを産生する方法も含まれる。

【0246】

本明細書で使用される場合、「全身投与」、「全身に投与される」、「末梢投与」、及び「末梢に投与される」という語句は、化合物、薬物、又はそれ以外の他の物質の中樞神経系への直接の投与を意味し、これにより、患者の系内に入り、したがって、代謝、及び例えば、皮下投与などの他の類似のプロセスの対象となる。

【0247】

「標的配列」という語句は、標的プレmRNA中のヌクレオチドの配列に相補的である、オリゴマーの核酸塩基の配列を指す。本開示のいくつかの態様では、標的プレmRNA中のヌクレオチドの配列は、H51A(+66+95)として指定される、ジストロフィンプレmRNA中の、エクソン51アニーリング部位である。本開示のいくつかの態様では、標的プレmRNA中のヌクレオチドの配列は、H45A(-03+19)として指定される、ジストロフィンプレmRNA中の、エクソン45アニーリング部位である。いくつかの態様では、標的プレmRNA中のヌクレオチドの配列は、H53A(+36+60)として指定される、ジストロフィンプレmRNA中の、エクソン53アニーリング部位である。

【0248】

対象(例えば、ヒトなどの哺乳動物)の「治療」は、対象の自然経過を変化させる試みにおいて使用される、任意の種類の介入である。治療は、限定するものではないが、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその医薬組成物の投与を含み、予防的に、又は病理学的事象の開始若しくは病原体との接触の後のいずれかに、実施され得る。治療は、ある特定の形態の筋ジストロフィーにおけるような、ジストロフィタンパク質に関連した疾患、又は状態の、症状、又は病理に対する、任意の望ましい効果を含み、例えば、治療されている疾患、又は状態の、1つ以上の測定可能なマーカーの、最小限の変化、又は改善を含み得る。また、治療されている疾患、若しくは状態の進行速度を低下させること、その疾患、若しくは状態の発症を遅延させること、又はその発症の重症度を低減することを対象とし得る、「予防的」治療も含まれる。「治療」、又は「予防」は、必ずしも疾患若しくは状態、又はその随伴症状の、完全な根絶、治癒、又は予防を示すものではない。

【0249】

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーを用いた治療は、新規のジストロフィン産生を増加させ、治療なしで予想され得る、疾患進行を遅延させ、歩行不能を遅らせるか若しくは低減し、筋肉の炎症を低減し、筋肉損傷を低減し、筋機能を改善し、肺機能の喪失を低減し、かつ／又は筋肉再生を増強する。いくつかの実施形態では、治療は、疾患進行を維持するか、遅延させるか、又は遅らせる。いくつかの実施形態では、治療は、歩行を維持するか、又は歩行不能を低減する。いくつかの実施形態では、治療は、肺機能を維持するか、又は肺機能の喪失を低減する。いくつかの実施形態では、治療は、例えば、6分間歩行試験(6MWT)によって測定されるように、患者の安定した歩行距離を維持するか、又は増加させる。いくつかの実施形態では、治療は、10メートルを歩行／走行する時間(すなわち、10メートル歩行／走行テスト)を維持するか、又は減少させる。いくつかの実施形態では、治療は、仰臥位から立ち上がるまでの時間(すなわち、起立時間試験)を維持するか、又は減少させる。いくつかの実施形態では、治療は、4つの標準階段を上る時間(すなわち、4階段上昇試験)を維持するか、又は減少させる。いくつかの実施形態では、治療は、例えば、MRI(例えば、脚筋のMRI)によって測定されるように、患者の筋肉の炎症を維持するか、又は低減する。いくつかの実施形態では、MRIは、T2及び／又は脂肪画分を測定して、筋変性を特定する。MRIは、炎

10

20

30

40

50

症、浮腫、筋肉損傷、及び脂肪浸潤によって引き起こされる、筋肉の構造、及び組成の変化を特定することができる。

【0250】

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを用いた治療は、新規のジストロフィン産生を増加させ、治療なしで予測される、歩行不能を遅らせるか、又は低減する。例えば、治療は、対象の歩行能力（例えば、歩行の安定化）を安定化するか、維持するか、改善するか、又は増加させ得る。いくつかの実施形態では、治療は、例えば、McDonald, et al. (Muscle Nerve, 2010; 42: 966-74、参照により本明細書に組込まれる) によって記載される、6分間歩行試験 (6MWT) によって測定されるように、患者の安定した歩行距離を維持するか、又は増加させる。6分間歩行距離 (6MWD) の変化は、絶対値、変化率、又は%予測値の変化として表され得る。いくつかの実施形態では、治療は、健康な同等者と比較して、対象における20%の不足から、6MWTで、安定した歩行距離を維持するか、又は改善する。健康な同等者の典型的なパフォーマンスと比較した、6MWTにおけるDMD患者のパフォーマンスは、%予測値を計算することによって決定され得る。例えば、%予測6MWDは、男性の場合、以下の方程式を使用して計算され得る： $196.72 + (39.81 \times \text{年齢}) - (1.36 \times \text{年齢}^2) + (132.28 \times \text{身長 (メートル)})$ 。女性の場合、%予測6MWDは、以下の方程式を使用して計算され得る： $188.61 + (51.50 \times \text{年齢}) - (1.86 \times \text{年齢}^2) + (86.10 \times \text{身長 (メートル)})$ (Henricson et al. PLoS Curr., 2012, version 2 (参照により本明細書に組込まれる))。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーを用いた治療は、患者における、安定した歩行距離を、ベースラインから、3、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、又は50メートル超（それらの間の全ての整数を含む）まで増加させる。

【0251】

DMD患者の筋機能の喪失は、正常な小児の成長、及び発達の背景に対して起こり得る。実際に、DMDを有する小児は、進行性筋肉障害にもかかわらず、約1年の過程にわたって、6MWT中の歩行距離の増加を示し得る。いくつかの実施形態では、DMD患者からの6MWDは、定型発達の対照対象、並びに年齢及び性別が一致した対象からの、既存の標準データと比較される。いくつかの実施形態では、正常な成長、及び発達は、標準データにフィッティングされた、年齢、及び身長に基づく方程式を使用して説明され得る。そのような方程式を使用して、DMDを有する対象における6MWDを、パーセント予測 (%予測) 値に変換することができる。ある特定の実施形態では、%予測6MWDデータの分析は、正常な成長、及び発達を説明する方法を表し、若年齢（例えば、7歳以下）における機能の増加が、DMD患者における能力の改善というよりむしろ安定を表すことを示し得る (Henricson et al. PLoS Curr., 2012, version 2、参照により本明細書に組込まれる)。

【0252】

異なるアンチセンス分子間を区別するために、アンチセンス分子の命名法システムが提案、及び公開された (Mann et al., (2002) J Gen Med 4, 644-654を参照)。この命名法は、以下に示されるように、全てが同じ標的領域に向けられたいくつかのわずかに異なるアンチセンス分子を試験する場合に、特に適切なものとなった。

【数】

H # A / D (x : y)

【0253】

最初の文字は、種を示す（例えば、H：ヒト、M：マウス、C：イヌ）。「#」は、標的ジストロフィンエクソン番号を示す。「A / D」は、各々エクソンの始点、及び終点における、アクセプター、又はドナースプライス部位を示す。(x : y) は、アニーリング座標を表し、「-」、又は「+」は、各々イントロン、又はエクソン配列を示す。例えば

、A (−6 + 18) は、標的エクソンの前にあるイントロンの最後の6塩基、及び標的エクソンの最初の18塩基を示す。最も近いスプライス部位がアクセプターになるため、これらの座標の前に「A」が付く。ドナースプライス部位におけるアニーリング座標の記載は、D (+2 − 18) であり得、最後の2エクソン塩基、及び最初の18イントロン塩基が、アンチセンス分子のアニーリング部位に対応する。エクソンアニーリング座標全体は、A (+65 + 85)、つまり、そのエクソンの始点から65番目〜85番目のヌクレオチドの部位によって表される。

【0254】

エクソンスキッピングを使用した、ジストロフィンリーディングフレームの修復

ジストロフィン遺伝子のアウトオブフレーム変異によって引き起こされる、DMDの治療に対する潜在的な治療アプローチは、インフレーム変異によって引き起こされるBMDとして既知である、より軽度な形態のジストロフィン異常症によって示唆される。アウトオブフレーム変異をインフレーム変異に変換する能力は、仮定では、mRNAリーディングフレームを保持し、内部で短縮されたが機能的な、ジストロフィタンパク質を産生する。本開示のアンチセンスオリゴマーコンジュゲートを、これを達成するように設計した。

10

【0255】

ヒトジストロフィンプレmRNAの標的領域に相補的であり、エクソンスキッピングを誘導する、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートの効果を分析するための臨床アウトカムは、ジストロフィン陽性線維(PDPF)の割合、6分間歩行試験(6MWT)、歩行不能(LOA)、ノースター歩行評価(NSAA)、肺機能検査(PFT)、外部の支持なしで(仰臥位から)立ち上がる能力、デノボジストロフィン産生、及び他の機能的尺度を含む。

20

【0256】

いくつかの実施形態では、本開示は、エクソンスキッピング(例えば、エクソン44、45、50、51、52、53)に適している、ジストロフィン遺伝子の変異を有する対象における、ジストロフィンを産生するための方法を提供し、方法は、本明細書に記載されるように、対象に、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を投与することを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、エクソンスキッピング(例えば、エクソン44、45、50、51、52、53)に適している、ジストロフィン遺伝子の変異を有する、デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)を有する対象における、mRNAリーディングフレームを修復して、ジストロフィタンパク質産生を誘導する方法を提供する。タンパク質産生は、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)、ウェスタンブロット分析、又は免疫組織化学検査(IHC)によって測定され得る。

30

【0257】

いくつかの実施形態では、本開示は、DMDの治療を必要とする対象において、それを行う方法を提供し、対象は、エクソンスキッピング(例えば、エクソン44、45、50、51、52、53)に適している、ジストロフィン遺伝子の変異を有し、方法は、本明細書に記載されるように、対象に、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を投与することを含む。様々な実施形態では、対象の治療は、疾患進行の遅延によって測定される。いくつかの実施形態では、対象の治療は、対象における歩行の維持、又は対象における歩行不能の低減によって測定される。いくつかの実施形態では、歩行は、6分間歩行試験(6MWT)を使用して測定される。ある特定の実施形態では、歩行は、ノースター歩行評価(NSAA)を使用して測定される。

40

【0258】

様々な実施形態では、本開示は、DMDを有する対象における、肺機能を維持するか、又は肺機能の喪失を低減するための方法を提供し、対象は、エクソンスキッピング(例えば、エクソン44、45、50、51、52、53)に適している、DMD遺伝子の変異を有し、方法は、本明細書に記載されるように、対象に、アンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を投与することを含む。いくつかの実施形態で

50

は、肺機能は、最大呼気圧（MEP）として測定される。ある特定の実施形態では、肺機能は、最大吸気圧（MIP）として測定される。いくつかの実施形態では、肺機能は、努力肺活量（FVC）として測定される。

【0259】

ある特定の態様では、本開示の方法は、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩を含む、医薬製剤を、DMDを有する対象に投与することを含み、製剤中のコンジュゲートの濃度は、約50mg/mlである。

【0260】

ある特定の実施形態では、療法に使用するための、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲートが記載される。ある特定の実施形態では、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの治療に使用するための、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲートが記載される。ある特定の実施形態では、療法に使用するための薬剤の製造に使用するための、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲートが記載される。ある特定の実施形態では、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの治療のための薬剤の製造に使用するための、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーコンジュゲートが記載される。

【実施例】

【0261】

上記の開示は、理解を明確にする目的で、例示、及び実施例によってある程度詳細に記載されてきたが、本開示の教示を踏まえて、添付の特許請求の範囲の趣旨、又は範囲から逸脱することなく、ある特定の変更、及び修正がそれに対して成され得ることは、当業者に容易に明らかになるであろう。以下の実施例は、例示としてのみ提供されるものであり、限定するものではない。当業者であれば、実質的に類似した結果をもたらすように変更、又は修正され得る、様々な重要ではないパラメーターを容易に認識するであろう。

【0262】

実施例1. 式（VIC）のPPMOによるエクソン51スキッピング活性のインビトロ評価

以下の式（VIC）の構造に従う、6つのPPMO全てのエクソン51スキッピング活性を評価した：

10

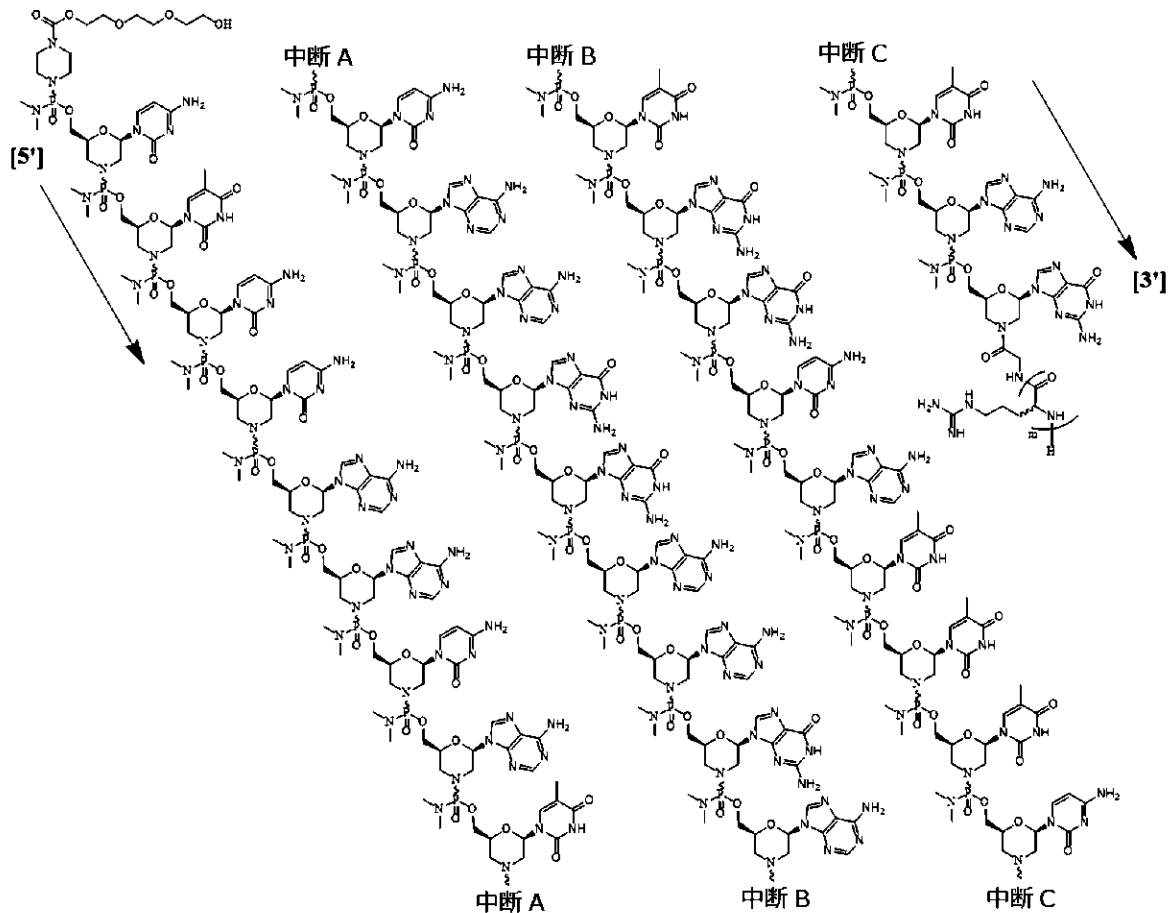
20

30

40

50

【化 1 9 3】



10

20

式中、mは、0、1、2、3、4、又は5であり、標的配列は、5' - CTCCAAC
ATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG - 3' (配列番号1) である。

【0 2 6 3】

試験した6つのPPMOを、例えば、米国特許第10,888,578号に記載される
プロトコルに従って合成し、インハウスで特徴解析し、表1に記載する (Gは、グリシン
であり、Rは、アルギニンである)。

30

【表 1】

表 1

表 1

PPMO	m	PMO に結合したコンジュゲート	MW
PPMO-10	0	G-	10362.99
PPMO-11	1	RG-	10555.65
PPMO-12	2	RRG-	10748.3
PPMO-13	3	RRRG-	10940.95
PPMO-14	4	RRRRG-	11133.6
PPMO-15	5	RRRRRG-	11326.25

40

表 1

【0 2 6 4】

エクソンスキッピング分析

6つのPPMOのインビトロエクソンスキッピング活性を、DMD遺伝子のエクソン5
2に、エクソン51スキッピング適欠失を有する、ドナー由来の不死化筋芽細胞を使用し

50

て、DMDの細胞モデルで測定した。アッセイについては、筋芽細胞を、筋管に分化させ、エクソンスキッピング活性を、 $0.1 \sim 100 \mu\text{M}$ の範囲の濃度のPPMOを用いた、96時間の処置後に、ddPCRによって測定した。 $100 \mu\text{M}$ で測定した、試験したPPMOの、効力、及び最大エクソンスキッピング活性を、以下の表2に示す。最大エクソンスキッピング活性は、最大活性を示した濃度で測定された、4つの技術的複製のスキップされたコピーの割合の、平均、及び標準偏差である。

【表2】

表2

PPMO	EC ₅₀ (μM)	最大 $\pm$ SD(%)
PPMO-15	11.0	92 $\pm$ 0.9
PPMO-14	7.2	92 $\pm$ 1.3
PPMO-13	20.5	82 $\pm$ 0.5
PPMO-12	51.8	74 $\pm$ 2.2
PPMO-11	ND	50 $\pm$ 0.6
PPMO-10	ND	36 $\pm$ 2.7

EC₅₀=半最大有効濃度

ND=未決定

SD=標準偏差

【0265】

PPMO-11、及びPPMO-10のEC₅₀値は、不完全な濃度応答曲線のために、正確に決定することができなかった。

【0266】

結果は、試験したPPMOの全てが薬理的に活性であり、エクソンスキッピング活性を示すことを示す。試験した全てのPPMOは、アッセイにおいて、測定可能な、濃度依存性エクソンスキッピング活性を有した。

【0267】

材料及び方法

細胞株及び培養条件

16歳の健常ドナー（参照AB1190C16PV）、及びエクソン52の欠失を有する16歳のDMD患者（参照KM1328DMD16PV）の副腎筋から単離され、前述したように、hTERT、及びCDK4の異所性発現により、Institute of Myologyによって不死化された、筋芽細胞（Mamchaoui, K. et al., Skeletal Muscle 1(1):34, 2011）を、このアッセイに使用した。細胞を、培地199、1体積、ダルベッコ変法イーグル培地（DMEM）、4体積、20%ウシ胎児血清、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ゲンタマイシン、 $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ フェチュイン、 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ bFGF、 $5 \text{ ng}/\text{ml}$ EGF、 $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ デキサメタゾン、 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ インスリンを含有する増殖培地中、1%コラーゲンI、及び0.5% MaxGel（Sigma-Aldrich E0282）でコーティングした組織培養プレートにおいて、 $50 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ にて、3時間、37℃で維持した。

【0268】

化合物試験

試験の直前に、全ての化合物を滅菌水に溶解し、分光光度計によって濃度を確認した。筋芽細胞を、1%コラーゲンI、及び0.5% MaxGel（Sigma-Aldrich E0282）でコーティングされた、96ウェル透明底撮像プレート（Perkin Elmer #6055300）中、 $50 \mu\text{l}/\text{ウェル}$ で、37℃で、3時間、6000細胞/ウェルの増殖培地に播種した。播種の24時間後、培養を、DMEM、2%熱不

活化 FBS、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ゲンタマイシン、及び 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ インスリンを含有する分化培地に切替えた。分化培地への切替えの 48 時間後、PPMO を添加し、培養物を、分析前に更に 4 日間インキュベートし、合計で約 96 時間の連続化合物曝露を行った。

【0269】

ヒト DMD Exon 51 スキッピングの ddPCR 分析

製造業者の推奨に従って、DNAase 処理を用いた、RN easy Micro-column (QIAGEN カタログ番号 74004) を使用して RNA を単離した。30 ng の単離 RNA を、最初に、70 °C で 2 分間変性させ、以下の表 3 に従って、One-step RT-ddPCR Advanced Kit for Probes (BioRad カタログ番号 1864021)、及び PnP 混合物からの試薬と混合した。自動液滴発生器を使用して、調製された RNA 試料混合物から液滴を生成した。液滴生成後、プレート を密封し、以下の表 4 のサーモサイクラープログラムに従って、C 1000 サーマサイクラー (BioRad) 上で実行した。FAM、及び HEX 陽性液滴のコピー数は、QX200 液滴リーダーによって決定される。エクソンスキッピングの割合は、FAM 陽性液滴のコピー数 / (FAM 陽性液滴のコピー数 + HEX 陽性液滴のコピー数) * 100 として決定される。GraphPad Prism 8 を使用して、全てのデータを分析し、4 パラメータロジスティック曲線のフィッティングに基づき、EC50 を決定した。

【表 3】

表 3

A. RNA 混合物を調製するためのレシピ

試薬	1 RXN (μl)	PnP 混合物を、200 μl 中に 20X として分注し、最終濃度は、900nM プライマー、及び 250nM プローブである。
水	9.1	
Supermix	5.5	
逆転写酵素	2.2	
300nM DTT	1.1	
PnP	1.1	
30ng RNA/試料	3	

B. プライマー及びプローブ配列

	プライマー名	配列
Del52 SKP51	DYS-d52-F006、 配列番号 520	AAAGCAGCCTGACCTAGCTCCTG
	DYS-d52-F006、 配列番号 521	TCAGCTTCTTCCTTAGCTTCCAGCC
	DYS-WT-exon51-P001、 配列番号 522	/5HEX/AC ACA ACC T/ZEN/G TGG TTA CTA AGG AAA CTG CCA TCT CC/3IABkFO/
	DYS-d525KP51-P003、 配列番号 523	/56- FAM/TGACCACTA/ZEN/TTGGAGCCTTTGAAAGAATTCAGA ATCAGT/3IABkFO/

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4
使用するサーモサイクラープログラム

サイクル工程	温度 (°C)	時間	サイクル
RT	43	60 分	1
酵素活性化	95	10 分	1
変性	95	30 秒	70
アニーリング/伸張 (ランプ 2C/秒)	58	60 秒	
	72	2 分	
酵素不活性化	98	10 分	1
保持	4	∞	

10

【0270】

実施例 2. PPMO-1 投与後の、非ヒト霊長類 (NHP)、及び m d x マウスにおける、式 (VIC) の PPMO の曝露に関するインビボ試験

20

1. NHP 試験。カニクイザルへの PPMO-1 の静脈内 (IV) 投与後の、式 (VIC) の PPMO の血漿曝露の評価

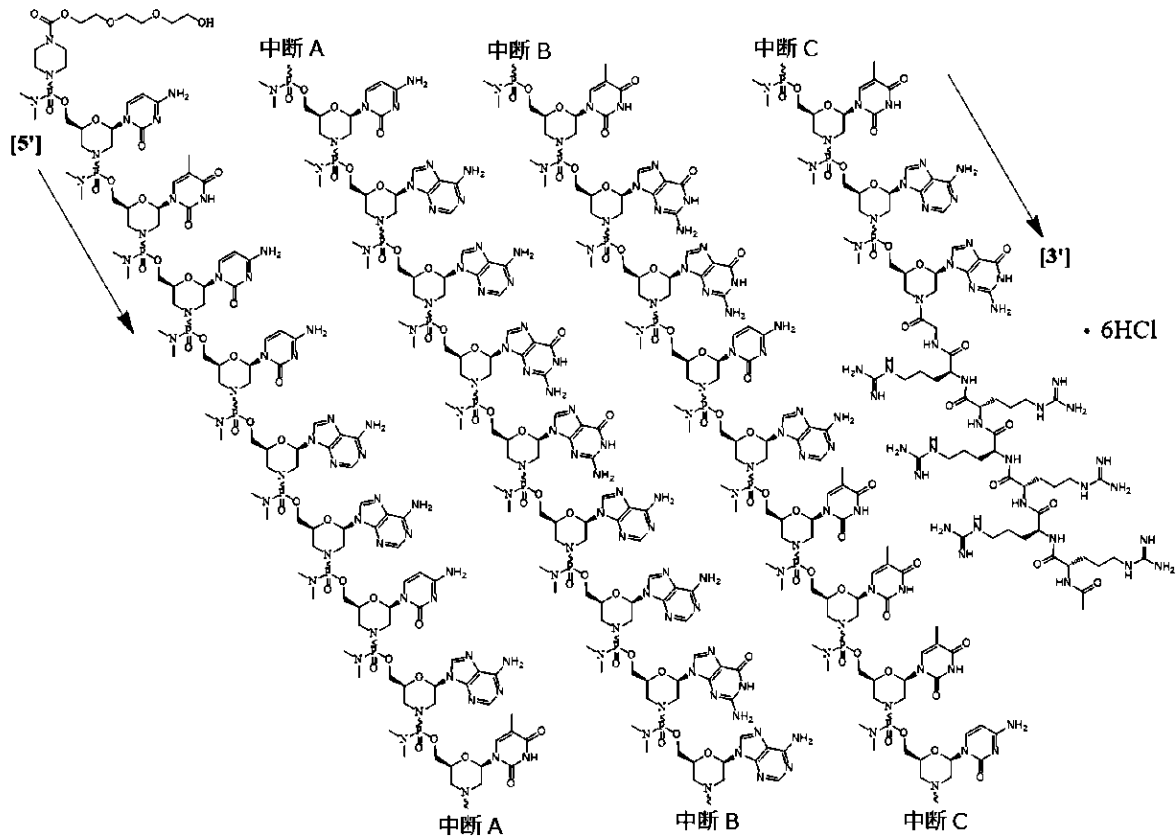
非ヒト霊長類 (NHP) は、4 週間に一度、すなわち、1 日目、29 日目、57 日目、及び 85 日目に、30、又は 60 mg / kg の用量レベルで、PPMO-1 の 1 時間 IV 注入を受けた。血液試料を、1 日目に、投与前、各注入の開始の、1、2、4、8、12、16、及び 24 時間後に収集した。血液を血漿に処理して、液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC / MS / MS) による、PPMO-1、及びその代謝物の濃度分析を行った。PPMO-1 は、以下の構造を有する、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートである：

30

40

50

【化 1 9 4】



【0 2 7 1】

2. mdx マウスにおける試験 雄のジストロフィー (mdx) マウスへの、 ^{14}C -PPMO-1 の単回静脈内 (IV) 投与後の、式 (VIC) の PPMO の分布の評価

雄の mdx マウスは、 51.6 mg/kg の平均用量で、 ^{14}C -PPMO-1 の単回静脈内注射を受けた。 ^{14}C -PPMO-1 を、 10 mg/mL で注射するための、 0.9% (w/v) 塩化ナトリウム中の水溶液として製剤化し、 $220 \mu\text{Ci}/\text{動物重量 kg}$ の放射活性レベルで投与した。血液試料を、投与後、約 0.083 、 0.25 、 0.5 、 1 、 2 、 4 、 6 、 8 、及び 24 時間で、心臓穿刺によって、各マウスから収集した。投与後、 0.083 、 0.25 、 0.5 、 1 、 2 、 4 、 6 、 8 、及び 24 時間で、第二群の雄マウスから得られた血漿試料を、時点別にプールして、 0.3 g の各試料を含む、9つのプール試料を生成した。その後、9つのプールをプールして、時間加重プール法 (Hop et al., 1998) を使用して決定された、 $2.84 \sim 306 \mu\text{L}$ の間の各時点プールを含む、単一の $0.083 \sim 24$ 時間の AUC 代表的プール試料を生成した。投与後、 $0 \sim 24$ 時間、及び $24 \sim 48$ 時間で雄マウスから収集した尿試料を、 $0.3 \text{ g} \sim 0.5 \text{ g}$ の各試料を含む、全ての動物にわたってプールした。試料を、一定の割合 (10%) の試料重量を使用して、プールした。

【0 2 7 2】

投与後、 $0 \sim 24$ 、 $24 \sim 48$ 、 $48 \sim 72$ 時間で、雄マウスから収集した糞便試料を、 $1.1 \sim 1.6 \text{ g}$ の各試料を含む、必要に応じて全ての動物にわたってプールした。試料を、一定の割合 (5%) の試料重量を使用して、プールした。

【0 2 7 3】

PPMO-1、及びその代謝産物定量分析のために、各プールした試料の放射活性を、液体シンチレーション計数 (LSC)、及び LC/MS によって決定した。

【0 2 7 4】

結果：

PPMO-1は、NHP血漿中の主要分析物として特定され、PPMO-10、及びPPMO-11は、各々、30mg/kg、及び60mg/kgでPPMO-1を投与された、PPMO-1のAUC_{last}の、10.5%、及び6.7%、及び3.7%、及び3.1%で、主要代謝産物として特定された。総曝露(AUC_{last})は、PPMO-1、PPMO-10、及びPPMO-11で、各々、257±138 h*ug/mL、20±7 h*ug/mL、及び8±4 h*ug/mLであった。5つの他の代謝物(PPMO-12、PPMO-13、PPMO-14、PPMO-15、及びPMO)を検出し、PPMO-10、及びPPMO-11よりも低いレベルで同定した。観察されたPPMO-15データは、PPMO-1の同様の保持時間に起因して、LC-MS/MS信号の漏出に少なくとも部分的に起因し、したがって、PPMO-15レベルは、過大評価され得ることに留意されたい。

10

【0275】

mdxマウスでは、PPMO-10、及びPPMO-11代謝物が、全てのマトリックス(血漿、尿、及び糞便)で特定された。血漿抽出物の、放射線化学分析、及びLC-MS分析により、SRP-5051を、雄マウスに¹⁴C-PPMO-1を静脈内投与した後の、最も豊富な血漿成分として特定した。初期LC-MS条件(勾配1)下で、AUCブール血漿中の¹⁴C-PPMO-1の濃度は、1510 ng当量の¹⁴C-PPMO-1/g (ng当量/g)、又は試料放射活性の66.6%であった。共溶出PPMO-11、及びPPMO-10の濃度は、試料放射活性の、547 ng当量/g、又は24.1%であった。LC-MSによって特定されなかったM3は、69.7 ng等量/g、又は試料放射活性の3.1%の血漿濃度を有した。改訂されたLC-MS条件(勾配2)下で、PPMO-1、PPMO-11、及びPPMO-10の濃度は、各々、1370、251、及び258 ng当量/g、又は各々、サンプル放射活性の60.5%、11.1%、及び11.4%であった。未同定M4は、138 ng/g、又は6.1%の血漿放射活性の血漿濃度を有した。

20

【0276】

尿中では、放射線化学的、及びLC-MS分析により、PPMO-1、PPMO10、及びPPMO-11が特定された。2つの追加の放射性標識された成分(M4、及びM5)を、放射線化学分析によって定量化したが、LC-MSによって識別することができなかった。最初のLC-MS条件(勾配1)では、PPMO-1は、放射性用量の24.3%を占め、共溶出PPMO-11、及びPPMO-10は、用量の32.1%を占めた。改訂されたLC-MS条件(勾配2)下で、PPMO-1、PPMO11、及びPPMO-10を部分的に分離し、用量の、22.0%、14.6%、及び17.3%を各々占めた。未同定ピークM4、及びM5は、各々、用量の、約0.35%、及び1.1%を占める超微量～微量の成分であった。PPMO-11、及びPPMO-10を微量代謝物として定量し、特定した、糞便抽出物の放射線化学的、及びLC-MS分析。PPMO-1は、糞便では検出されなかった。M5は、放射線化学分析によって定量化されたが、LC-MSによって識別されなかった。共溶出(勾配1)代謝物PPMO-11及びPPMO-10は、用量の6.3%を占めた。改訂されたLC-MS条件(勾配2)下では、PPMO-11、及びPPMO-10は、各々、用量の約1.6%、及び4.5%を占め、一方、未識別の微量成分M5は、用量の、0.5%未満を占めた。

30

40

【0277】

結論

PPMO-1、及びその7つの加水分解代謝物を検出し、30、及び60mg/kgの、PPMO-1のNHPへのIV注入後、LC/MS法を使用して定量した。PPMO-1は、注入終了時に最も高いレベルが観察され、その後、双指数的に低下した主要成分として特定された。全ての代謝物の大きさは、特に投与後最初の8時間の間、PPMO-1の大きさよりもはるかに低かった。PPMO-10は最も豊富な代謝物であることが見出され、PPMO-11がそれに続き、各々、PPMO-1 AUCの、7~10%、及び3~4%であり、一方で、残りの5つの代謝物は、はるかに低い濃度で検出され、一部だ

50

け定量化可能であった。

【0278】

雄のmdxマウスに ^{14}C -PPMO-1を単回静脈内投与した後、PPMO-1は、血漿、及び尿中で最も豊富な成分であり、血漿試料の放射活性の60～67%、及び尿中用量の22%を占めた。PPMO-1は、糞便では検出されなかった。PPMO-11、及びPPMO-10は、血漿、尿、及び糞便中の主要代謝物として特定された。3つの追加の放射性標識されたピークを、放射性化学検出によって定量化したが、LC-MSによって識別することはできなかった。

【0279】

実施例3. ^{14}C -PPMO-2投与後のmdxマウスにおける、式(VIIIC)のPPMOの血漿、及び組織分布のインビボ試験

10

【0280】

mdxマウスにおける試験 雄のジストロフィー(mdx)マウスへの、 ^{14}C -PPMO-2の単回静脈内(IV)投与後の、式(VIIIC)のPPMOの分布の評価

【0281】

Mdxマウスは、53.6mg/kgの平均用量で、 ^{14}C -PPMO-2の単回IVボラス注射を受けた。 ^{14}C -PPMO-2を、10mg/mLの0.9塩化ナトリウム水溶液中で製剤化し、228µCi/動物重量kgの平均放射活性レベルで投与した。全血、及び選択された組織の試料を、投与後、約0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、24、48、96、144、288、360、及び432時間で収集した。投与後、0.083、0.25、0.5、1、2、及び4時間で、雄のmdxマウスから得られた血漿試料を、時点別にプールして、0.1gの各試料を含む、0.083、0.25、0.5、1、2、及び4時間のプール試料を生成した。投与後、0～24時間、及び24～72時間で収集した尿試料をプールして、各試料の15重量%を含む、0～24時間、及び24～72時間のプール試料を生成した。投与後、0～24、24～48、及び48～72時間で収集した糞便試料を、収集間隔によってプールして、0～24時間、及び24～72時間プール試料を生成し、これには、6～10重量%(等価重量パーセント)の各試料が含まれた。

20

【0282】

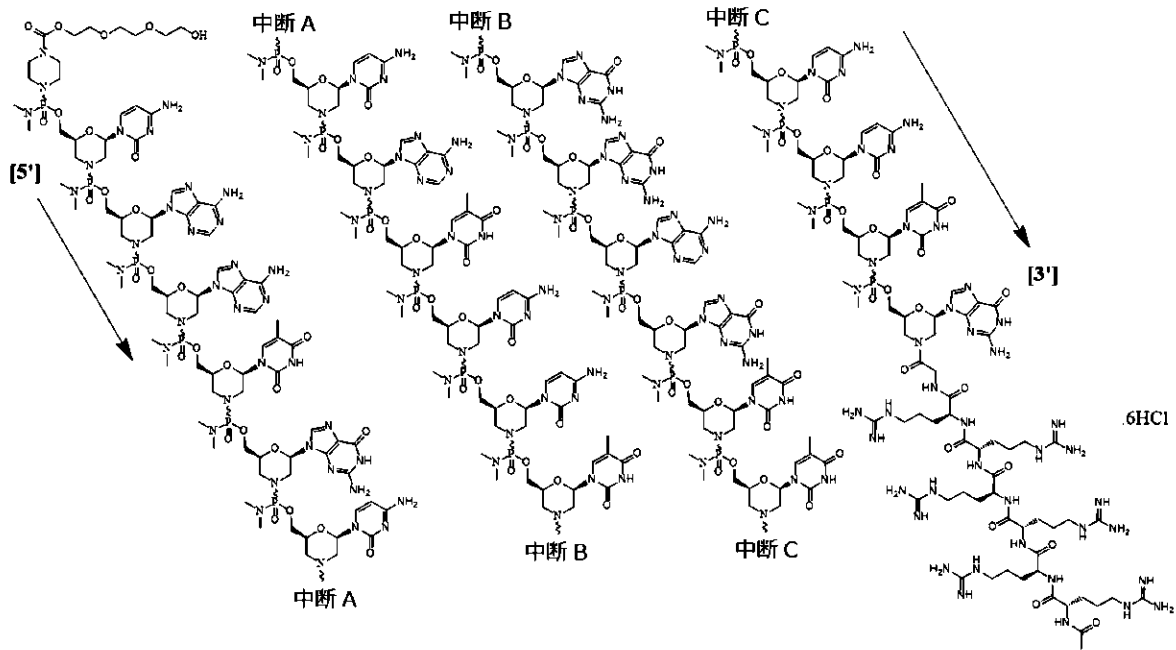
投与後2、24、48、96、144、288、360時間、及び432時間でマウスから収集された、筋肉、及び腎臓試料を、収集間隔によってプールし、試料全体を含む、2時間、24時間～96時間、144時間～288時間、及び360時間～432時間のプール試料を生成した。各プールした試料の放射活性を、LSCによって決定した。プールされた試料をLC/MSによって分析して、PPMO-2、及びその代謝物の濃度を決定した。PPMO-2は、以下の構造を有する、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートである：

30

40

50

【化 1 9 5】



10

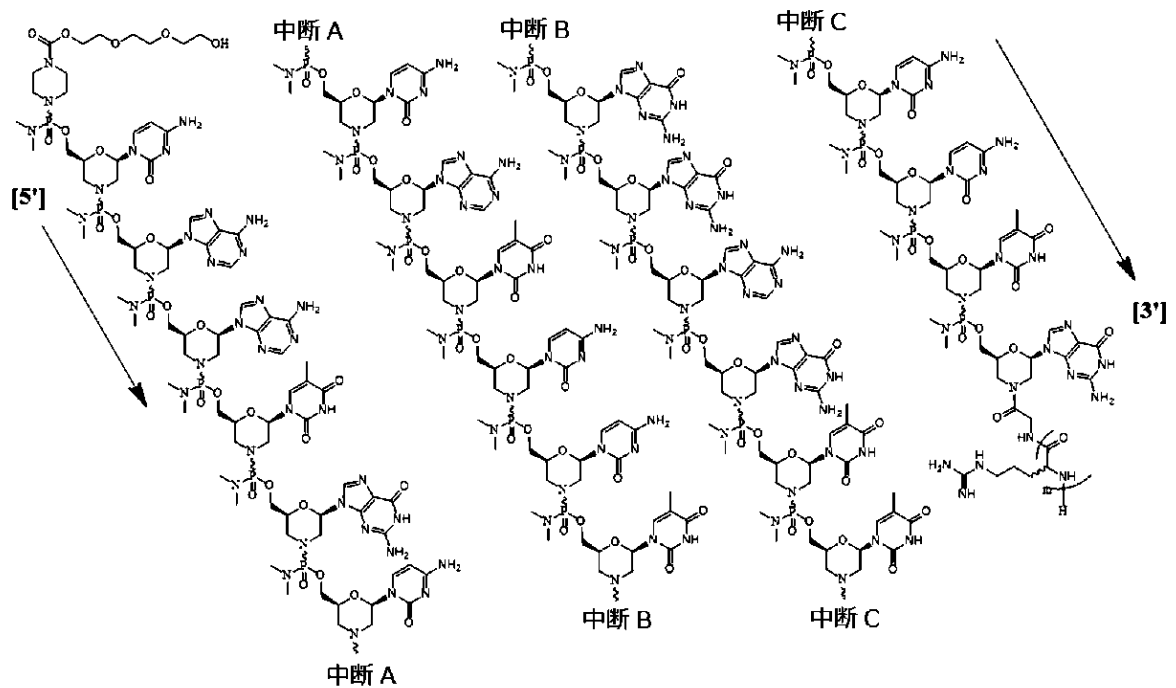
20

【 0 2 8 3】

結果

14C-PPMO-2は、14C-PPMO-2の単回静脈内投与後、雄のmdxマウスにおいて代謝を受けた。LC-MSにより、5つの代謝物が特定され、血漿、尿、糞便、筋肉、及び腎臓で特徴付けられた。特定された化合物は、式(VIIIC)に従う構造を有する：

【化 1 9 6】



30

40

(VIIIC)、

【 0 2 8 4】

ここで、標的配列は、5'-CAATGCCATCCTGGAGTTCCTG-3' (配 50

列番号 2) であり、m は、以下の表 5 に記載される通りである：

【表 5】

表 5

PPMO	m	PMO に結合したコンジュゲート
PPMO-20	0	G-
PPMO-21	1	RG-
PPMO-22	2	RRG-
PPMO-23	3	RRRG-
PPMO-24	4	RRRRG-

10

【0285】

PPMO-24, PPMO-23、及び PPMO-22 は、糞便を除いて、全てのマトリックスに存在し、PPMO-21、及び PPMO-20 は、全てのマトリックスに存在した。PPMO-2 は、糞便を除いて、全てのマトリックスで特定された。

【0286】

最も豊富な血漿成分は、PPMO-2 であり、ピーク濃度は、 $206 \mu\text{g}$ 当量 ^{14}C -PPMO-2 / g であった (PPMO-2、及び特定された代謝産物について決定された総 AUC の 67.5%、並びに HPLC カラムに注入された総放射活性の 33.48~91.52% を表す)。PPMO-24, PPMO-23, PPMO-22, PPMO-21、及び PPMO-20 のピーク濃度は、5.56、4.86、5.87、10.8、及び $9.40 \mu\text{g}$ 等価物 ^{14}C -PPMO-2 / g であった。AUC_{0-t} に基づき、血漿中で同定され定量可能な全ての代謝物は、同定された代謝物の総 AUC の 10% 未満を示し、微量とみなされた。例外は、PPMO-20 であり、合計の 14.3% を示した。投与後 0~72 時間にわたる投与用量の 29.8% を占める PPMO-20 は、尿中で最も豊富な成分であった。PPMO-2 は、投与後 0~24 時間にわたって尿中で投与された用量の 3.22% を占め、投与後 24~72 時間にわたって尿中で検出されなかった。PPMO-20 はまた、糞便中で最も豊富な成分であり、投与後 0~72 時間にわたって投与された用量の 2.44% を占めた。PPMO-2 は、糞便では観察されなかった。

20

30

【0287】

組織 (二頭筋、及び腎臓) については、PPMO-20 は再び最も豊富な成分であり、ピーク濃度は、各々、3.32、及び $960 \mu\text{g}$ 当量 ^{14}C -PPMO-2 / g であった (筋肉について HPLC カラムに注入された総放射活性の 12.03~15.28% の間、腎臓について 83.73、及び 92.32%)。PPMO-2 は、二頭筋では、投与後 2 時間で定量可能であり、腎臓では、投与後 432 時間まで全ての試料プールで定量可能であり、ピーク濃度は、各々、0.863、及び $33.1 \mu\text{g}$ 当量 ^{14}C -PPMO-2 / g であった。

【0288】

結論

雄の mdx マウスに ^{14}C -PPMO-2 を単回 IV 投与した後、SRP-5045 は、雄のマウスで代謝を受け、最大 11 個の ^{14}C 関連ピークを産生し、そのうち 5 つが LC-MS によって特定された。N-アセチル基の損失を伴う末端アルギニン (R) アミノ酸の加水分解は、 ^{14}C -PPMO-2 の主要な生体内変換経路であった。PPMO-20、及び PPMO-21 代謝物は、全てのマトリックスで特定された。糞便を除き、他の代謝物が、全てのマトリックスで特定された。PPMO-2 は、糞便を除き、全てのマトリックスに存在した。

【0289】

PPMO-2 は、投与後 0.083 時間でのピーク濃度が試料放射活性の 91.52%

50

を表す、血漿中の主要成分として特定された。PPMO-20は、総曝露（AUC_{last}）の14.3%を占める、主要代謝物として特定された。他の全ての代謝物曝露は、総AUCの、2.98～7.52%の間の範囲であった。PPMO-20は、尿、糞便、二頭筋、及び腎臓中の主要代謝物として同定され、尿、及び糞便中の試料放射活性の、29.8%（0～24時間）、2.44%（0～24時間）、並びに二頭筋、及び腎臓中の試料放射活性の、37.5、及び87.67%でのピーク濃度を占めた。他の代謝物は、全てのマトリックスにおいて、微量代謝物として特定された。

【0290】

実施例4 ^{14}C -PPMO-3投与後のmdxマウスにおける、式（XC）のPPMOの血漿、及び組織分布のインビボ試験C-PPMO-3

mdxマウスにおける試験 雄のジストロフィー（mdx）マウスへの ^{14}C -PPMO-3の単回静脈内（IV）投与後の、式（XC）のPPMOの分布の評価。

【0291】

mdxマウスは、48.7mg/kgの平均用量で、 ^{14}C -PPMO-3の単回IVボラス注射を受けた。PPMO-3を、10mg/mLで、0.9%（w/v）塩化ナトリウム中の水溶液として製剤化し、215µCi/動物重量kgの平均放射活性レベルで投与した。尿、及び糞便を、投与前（一晚）、及び投与後336時間まで24時間間隔で、収集した。全血、及び選択された組織の試料を、投与後、約0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8、24、48、72、96、120、及び144時間で収集した。

【0292】

投与後、0.083、0.25、0.5、1、及び2時間で、雄マウスから得られた血漿試料を、時点別にプールして、等体積の各試料を含む、0.083、0.25、0.5、1、及び2時間のプール試料を生成した。投与後、0～24、24～48、48～72、72～96、96～120、120～144、144～168、168～192、192～216、216～240、288～312、及び312～336時間で、雄マウスから収集した尿試料をプールして、各試料を10～20重量%含む（均等な間隔パーセント）、0～24、24～48、48～72、72～144、144～240、及び288～336時間のプール試料を生成した。投与後、0～24、24～48、48～72、72～96、96～120、120～144、288～312、及び312～336時間で、雄マウスから収集した糞便試料をプールして、各試料を4～5重量%含む（均等な間隔パーセント）、0～72、72～144、及び288～336時間のプール試料を生成した。

【0293】

投与後、0.25、1、4、8、24、48、96、120、及び144時間で、雄マウスから得られた二頭筋試料をプールして、各試料を100重量%含む。0.25～4、8、24、48、及び96～144時間のプール試料を生成した。

【0294】

投与後、0.25、1、4、8、24、48、96、120、及び144時間で、雄マウスから得られた腎臓試料をプールして、各試料を100重量%含む、0.25～4、8、24、48、及び96～144時間のプール試料を生成した。

【0295】

全てのマトリックスからの試料を、LSCによって分析して、放射活性を決定し、LC/MSによって分析して、PPMO-3、及びその代謝物を定量化した。

【0296】

PPMO-3は、以下の構造を有する、アンチセンスオリゴマーコンジュゲートである：

10

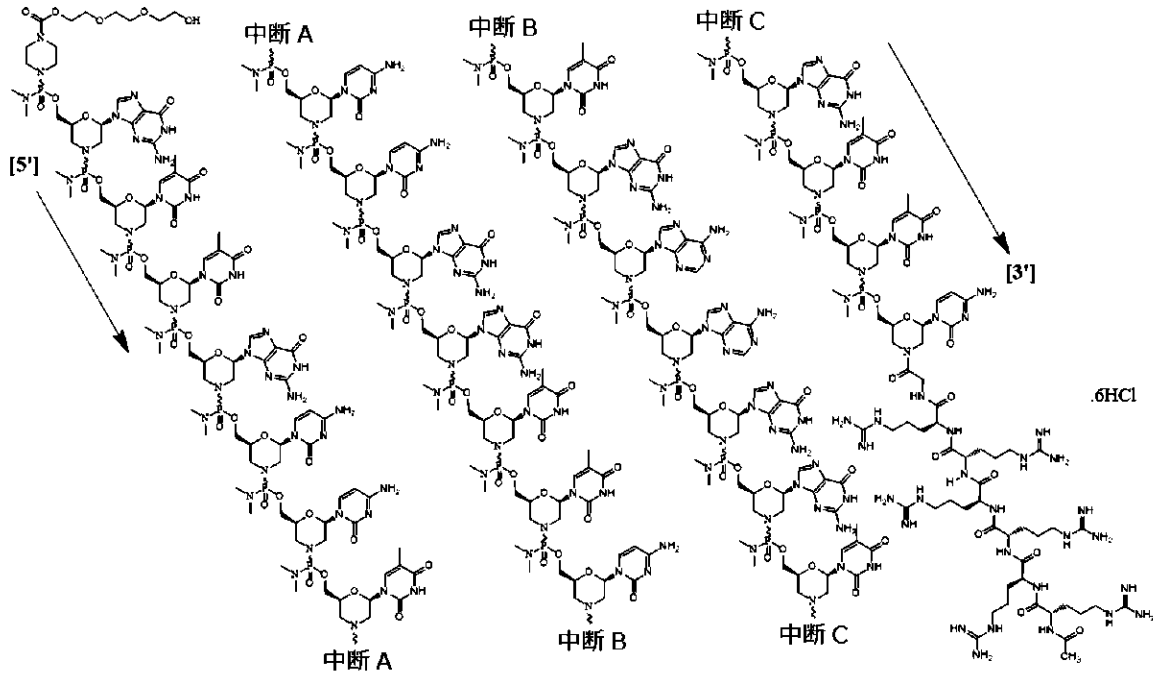
20

30

40

50

【化 1 9 7】



10

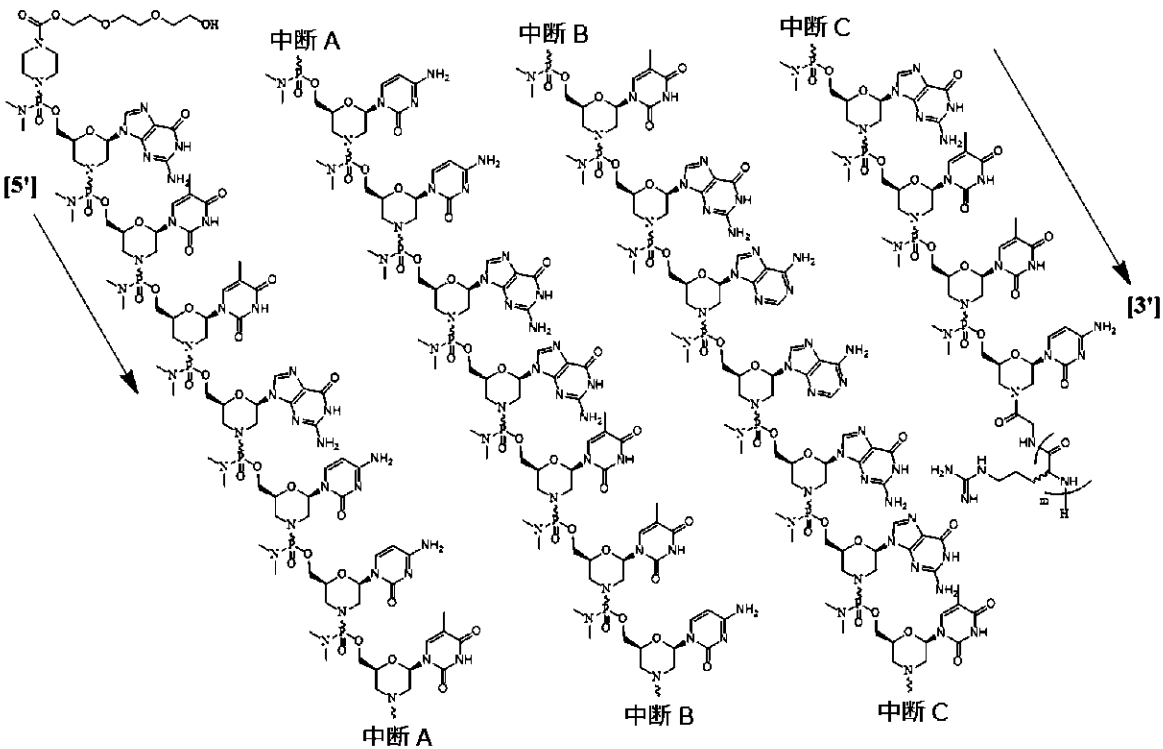
20

【 0 2 9 7】

結果

1 4 C - P P M O - 3 は、1 4 C - P P M O - 3 の単回静脈内投与後に、雄マウスにおいて代謝を受け、4つの代謝物が、LC-MSによって特定され、特徴付けられた。特定された化合物は、式 (X C) に従う構造を有する：

【化 1 9 8】



30

40

【 0 2 9 8】

ここで、標的配列は、5' - G T T G C C T C C G G T T C T G A A G G T G T T C - 3' (配列番号 3) であり、m は、以下の表 6 に記載される通りである：

50

【表 6】

表 6

PPMO	m	PMO に結合したコンジュゲート
PPMO-30	0	G-
PPMO-31	1	RG-
PPMO-33	3	RRRG-
PPMO-34	4	RRRRG-

【0299】

PPMO-30、及びPPMO-31もまた、インハウスで合成した。PPMO-33、及びPPMO-34は、血漿、及び尿中に存在し、PPMO-31は、血漿、尿、及び糞便中に存在し、PPMO-30は、血漿、尿、糞便、及び腎臓中に存在した。代謝産物PPMO-30は、尿中、及び糞便で特定された最も豊富な代謝物であり、PPMO-31もまた、尿中で顕著なレベルで存在した。最も豊富な血漿成分は、PPMO-3、及びPPMO-33であり、それに対して共溶出は、総ピーク濃度（ C_{max} ）が 109000 ng-eq/g であった。血漿試料中の広範なクロマトグラフィーピークにより、PPMO-3、及びPPMO-33の保持時間は類似しているため、したがって、PPMO-33寄与は過大評価され、部分的にPPMO-3に起因する可能性がある。PPMO-31は、 13200 ng-eq/g の C_{max} を有する、最も豊富な同定代謝物であった。注目すべき濃度の別の成分は、 33100 ng-eq/g のピーク濃度でのU5（特定せず）であった。PPMO-3、及び関連化合物の、血漿中の放射活性の平均 C_{max} は、投与後0.083時間で観察された。最も高い C_0 値は、PPMO-33、及びPPMO-3（共溶出ピーク）で観察され、 209000 ng-eq/g であり、血漿半減期は0.502時間、曝露（ AUC_{0-t} ）は $42000 \text{ ng-eq} \cdot \text{h/g}$ であり、総 AUC_{0-t} の43.71%を表す（特定された代謝産物、及び薬物動態パラメータが計算可能であった未同定成分の、総AUCに基づいて計算された）。PPMO-31は顕著な濃度であり、総 AUC_{0-t} の11.34%を表し、 C_0 は 14600 ng-eq/g 、曝露は $10900 \text{ ng-eq} \cdot \text{h/g}$ であった。

【0300】

尿中で最も豊富な成分は、投与後0～336時間にわたって投与された用量の27.3%を占めるPPMO-30であった。PPMO-31も顕著であり、投与後0～336時間にわたって投与された用量の15.3%を占めた。PPMO-33は、投与後0～336時間にわたって尿中で投与された用量の5.27%を占め、PPMO-3は、1.79%を占めた。糞便では、最も豊富な成分はPPMO-30であり、0～336時間にわたって投与された用量の4.27%を占めるPPMO-30であり、PPMO-3は、観察されなかった。二頭筋において最も豊富な成分はU6（未同定）であり、ピーク濃度は、 23100 ng 当量の $^{14}\text{C-PPMO-3/g}$ であり、PPMO-3は、この組織では観察されなかった。PPMO-30は、腎臓において最も豊富な代謝物であり、ピーク濃度は 419000 ng 当量の $^{14}\text{C-PPMO-3/g}$ であり、試料の放射活性の15.81%を表す。PPMO-3は、 152000 ng 等価物 $^{14}\text{C-PPMO-3/g}$ の濃度で分析した、最初のプール時点（投与後0.25～4時間）で腎臓中に存在し、48時間で定量化可能であり、また投与後96～144時間のプール試料中で定量化可能であった。

【0301】

結論

PPMO-3は、 $^{14}\text{C-PPMO-3}$ の単回静脈内投与後に、雄mdxマウスにおいて代謝を受け、LC-MSによって、四つの代謝物が特定された。末端アルギニン（R）アミノ酸の加水分解は、 $^{14}\text{C-PPMO-3}$ の主要な生体内変換経路であった。

【 0 3 0 2 】

特定された4つの代謝物について、末端アルギニンアミノ酸の加水分解により、血漿、及び尿中に存在するPPMO-33、及びPPMO-34、血漿、尿、及び糞便中に存在するPPMO-31、並びに血漿、尿、糞便、及び腎臓中に存在するPPMO-30が生成した。PPMO-3は、血漿、尿、及び腎臓で特定された。代謝産物PPMO-30は、尿中、及び糞便中で同定された、最も豊富な代謝産物であり、血漿中では、PPMO-31であった。

【 図 面 】

【 図 1 】

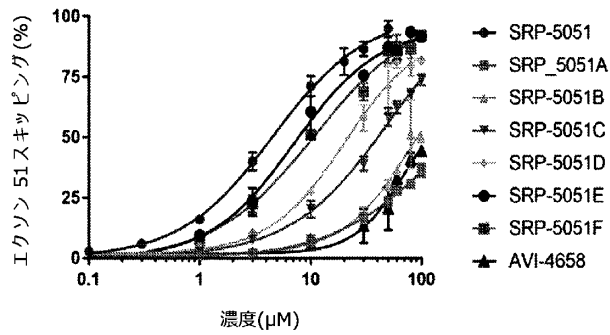


図 1

【 配 列 表 】

2025509438000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2023/064513

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C12N15/113 A61K31/712 A61P21/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, Sequence Search, CHEM ABS Data, EMBL, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/067975 A1 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]; CATABASIS PHARMACEUTICALS INC [US]) 4 April 2019 (2019-04-04) paragraphs [0070] - [0079], [0089]; sequences 1, 22, 59, 60 -----	1-7, 13-18, 24-52
X	WO 2020/123574 A1 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 18 June 2020 (2020-06-18) page 2 - page 5; claims 1-14; table 1; sequence 21 -----	1-7, 13-18, 24-52
X	WO 2017/062835 A2 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 13 April 2017 (2017-04-13) paragraph [0333] - paragraph [0339]; claims 1-13, 32-55, 60, 67, 77, 83, 93; table 5; sequences 77, 84, 85 ----- -/--	1-7, 13-18, 24-52

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 June 2023

Date of mailing of the international search report

22/08/2023

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bucka, Alexander

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/064513

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/153240 A2 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 25 September 2014 (2014-09-25) page 37 - page 38; claims 1-10,17-20; sequences 1,20,21 -----	1-7, 13-18, 24-52
A	WO 2012/150960 A1 (AVI BIOPHARMA INC [US]; HANSON GUNNAR J [US]) 8 November 2012 (2012-11-08) example 30; sequence 32, -----	1-7, 13-18, 24-52
A	WO 2014/144978 A2 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 18 September 2014 (2014-09-18) page 43 - page 44; table 1; sequences 1,8,9,18,19 -----	1-7, 13-18, 24-52
X,P	WO 2022/140535 A1 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 30 June 2022 (2022-06-30) pages 2,17,18; claims 1-29; sequences 1,7,17 -----	1-7, 13-18, 24-52

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2023/064513
Box No. 1	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1.	With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)). ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.	
2.	☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.	
3.	Additional comments:	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/064513

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
7, 24 (completely); 1-6, 13-18, 25-52 (partially)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2023/064513

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 7, 24(completely); 1-6, 13-18, 25-52(partially)

An antisense oligomer conjugate of Formula (I) displayed in claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein n is 1-40; each Nu is a nucleobase, which, taken together, form a targeting sequence complementary to an exon annealing site in the dystrophin pre-mRNA; T' is a moiety selected from the moieties displayed in claim 1; wherein R100 is RRRRRG-, wherein R is arginine and G is glycine, R200 is hydrogen, and R1 is C1 -C6 alkyl.

2. claims: 8, 23(completely); 1-6, 13-18, 25-52(partially)

An antisense oligomer conjugate of Formula (I) displayed in claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein n is 1-40; each Nu is a nucleobase, which, taken together, form a targeting sequence complementary to an exon annealing site in the dystrophin pre-mRNA; T' is a moiety selected from the moieties displayed in claim 1; wherein R100 is RRRRG-, wherein R is arginine and G is glycine, R200 is hydrogen, and R1 is C1 -C6 alkyl.

3. claims: 9, 22(completely); 1-6, 13-18, 25-52(partially)

An antisense oligomer conjugate of Formula (I) displayed in claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein n is 1-40; each Nu is a nucleobase, which, taken together, form a targeting sequence complementary to an exon annealing site in the dystrophin pre-mRNA; T' is a moiety selected from the moieties displayed in claim 1; wherein R100 is RRRG-, wherein R is arginine and G is glycine, R200 is hydrogen, and R1 is C1 -C6 alkyl.

4. claims: 10, 21(completely); 1-6, 13-18, 25-52(partially)

An antisense oligomer conjugate of Formula (I) displayed in claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein n is 1-40; each Nu is a nucleobase, which, taken together, form a targeting sequence complementary to an exon annealing site in the dystrophin pre-mRNA; T' is a moiety selected from the moieties displayed in claim 1; wherein R100 is RRG-, wherein R is arginine and G is glycine, R200 is hydrogen, and R1 is C1 -C6 alkyl.

5. claims: 11, 20(completely); 1-6, 13-18, 25-52(partially)

An antisense oligomer conjugate of Formula (I) displayed in claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2023 /064513

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

wherein n is 1-40; each Nu is a nucleobase, which, taken together, form a targeting sequence complementary to an exon annealing site in the dystrophin pre-mRNA; T' is a moiety selected from the moieties displayed in claim 1; wherein R100 is RG-, wherein R is arginine and G is glycine, R200 is hydrogen, and R1 is C1 -C6 alkyl.

6. claims: 12, 19(completely); 1-6, 13-18, 25-52(partially)

An antisense oligomer conjugate of Formula (I) displayed in claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein n is 1-40; each Nu is a nucleobase, which, taken together, form a targeting sequence complementary to an exon annealing site in the dystrophin pre-mRNA; T' is a moiety selected from the moieties displayed in claim 1; wherein R100 is G-, wherein G is glycine, R200 is hydrogen, and R1 is C1 -C6 alkyl.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/064513

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019067975 A1	04-04-2019	EP 3687547 A1 JP 2020536060 A US 2020248178 A1 WO 2019067975 A1	05-08-2020 10-12-2020 06-08-2020 04-04-2019
WO 2020123574 A1	18-06-2020	AR 117320 A1 AU 2019397461 A1 BR 112021011018 A2 CA 3122281 A1 CL 2021001523 A1 CN 113412330 A CO 2021008891 A2 EA 202191601 A1 EP 3894558 A1 IL 283646 A JP 2022511055 A KR 20210104759 A SG 11202104960P A TW 202035695 A US 2020190516 A1 US 2022017901 A1 WO 2020123574 A1	28-07-2021 29-07-2021 31-08-2021 18-06-2020 21-01-2022 17-09-2021 29-10-2021 19-01-2022 20-10-2021 29-07-2021 28-01-2022 25-08-2021 29-06-2021 01-10-2020 18-06-2020 20-01-2022 18-06-2020
WO 2017062835 A2	13-04-2017	BR 112018007066 A2 CN 108699555 A EA 201890908 A1 EP 3359668 A2 EP 3858993 A1 IL 258069 A IL 290160 A JP 2018530560 A JP 2022017594 A MA 45819 A US 2019177723 A1 WO 2017062835 A2	23-10-2018 23-10-2018 31-10-2018 15-08-2018 04-08-2021 31-05-2018 01-03-2022 18-10-2018 25-01-2022 15-08-2018 13-06-2019 13-04-2017
WO 2014153240 A2	25-09-2014	AU 2014236160 A1 AU 2020203473 A1 AU 2022252769 A1 BR 112015023038 A2 CA 2903872 A1 CN 105392884 A CN 110066793 A DK 2970964 T3 EA 201591694 A1 EP 2970964 A2 EP 3495485 A2 EP 3760720 A1 ES 2714290 T3 HK 1218138 A1 HR P20190382 T1 HU E042218 T2 IL 272415 A JP 2016521119 A JP 2020039362 A JP 2022031948 A KR 20150133752 A KR 20210006516 A	01-10-2015 18-06-2020 10-11-2022 14-11-2017 25-09-2014 09-03-2016 30-07-2019 01-04-2019 30-06-2016 20-01-2016 12-06-2019 06-01-2021 28-05-2019 03-02-2017 19-04-2019 28-06-2019 31-03-2020 21-07-2016 19-03-2020 22-02-2022 30-11-2015 18-01-2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/064513

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		KR 20220061280 A	12-05-2022
		KR 20230074606 A	30-05-2023
		LT 2970964 T	25-04-2019
		MX 366274 B	04-07-2019
		NZ 631132 A	30-06-2017
		PL 2970964 T3	28-06-2019
		PT 2970964 T	14-03-2019
		SI 2970964 T1	31-05-2019
		TR 201903009 T4	21-03-2019
		US 2014315977 A1	23-10-2014
		US 2016040162 A1	11-02-2016
		US 2018002689 A1	04-01-2018
		US 2020040336 A1	06-02-2020
		US 2022364093 A1	17-11-2022
		WO 2014153240 A2	25-09-2014
WO 2012150960 A1	08-11-2012	AU 2011367230 A1	05-12-2013
		AU 2017206179 A1	03-08-2017
		AU 2019204913 A1	25-07-2019
		AU 2021202224 A1	06-05-2021
		AU 2023203112 A1	08-06-2023
		CA 2834128 A1	08-11-2012
		CA 3092114 A1	08-11-2012
		CN 103619356 A	05-03-2014
		CN 107693797 A	16-02-2018
		EP 2704749 A1	12-03-2014
		IL 273838 A	31-05-2020
		JP 6478632 B2	06-03-2019
		JP 6884250 B2	09-06-2021
		JP 2014515762 A	03-07-2014
		JP 2016185991 A	27-10-2016
		JP 2018135396 A	30-08-2018
		JP 2020111607 A	27-07-2020
		JP 2021113232 A	05-08-2021
		KR 20140028058 A	07-03-2014
		KR 20190084351 A	16-07-2019
		KR 20210032545 A	24-03-2021
		WO 2012150960 A1	08-11-2012
WO 2014144978 A2	18-09-2014	AU 2014233456 A1	08-10-2015
		AU 2019203505 A1	06-06-2019
		AU 2020260492 A1	26-11-2020
		BR 112015022998 A2	14-11-2017
		CA 2906812 A1	18-09-2014
		CN 105307723 A	03-02-2016
		CN 113633787 A	12-11-2021
		EA 201591792 A1	29-02-2016
		EP 2968991 A2	20-01-2016
		EP 3662912 A1	10-06-2020
		HK 1220154 A1	28-04-2017
		IL 269845 A	28-11-2019
		IL 278912 A	31-01-2021
		JP 2016516066 A	02-06-2016
		JP 2019108349 A	04-07-2019
		KR 20150133768 A	30-11-2015
		KR 20200139271 A	11-12-2020
		NZ 631289 A	25-08-2017
		NZ 732507 A	31-08-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/064513

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2014315862 A1	23-10-2014
		US 2014329762 A1	06-11-2014
		US 2017283799 A1	05-10-2017
		US 2018105811 A1	19-04-2018
		US 2019359982 A1	28-11-2019
		US 2020040337 A1	06-02-2020
		US 2022033820 A1	03-02-2022
		US 2022403385 A1	22-12-2022
		WO 2014144978 A2	18-09-2014

WO 2022140535	A1	30-06-2022	NONE

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,
ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,C
O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I
R,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW
,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL
,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ハンソン, ガンナー ジェイ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ファースト ストリート 215

(72)発明者 ジョウ, ミン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ファースト ストリート 215

Fターム (参考) 4C076 BB11 BB13 BB14 BB15 BB16 BB21 CC09 DD60 EE59

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA55 MA66 NA14 ZA94