



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0148005
(43) 공개일자 2024년10월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7125 (2006.01) A61P 13/12 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/7125 (2013.01)
A61P 13/12 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7032150(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년12월04일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2019-7019107
원출원일자(국제) 2017년12월04일
심사청구일자 2020년11월23일
(85) 번역문제출일자 2024년09월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/064432
(87) 국제공개번호 WO 2018/106568
국제공개일자 2018년06월14일
(30) 우선권주장
62/430,164 2016년12월05일 미국(US)

(71) 출원인
레굴루스 테라퓨틱스 인크
미국 92121 캘리포니아 샌디에고 캠퍼스 포인트
코트 4224 스위트 210
더 보드 오브 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 텍
사스 시스템
미국, 텍사스 78701, 오스틴, 210 웨스트 7 스트
리트
(72) 발명자
알러슨, 찰스 알.
미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 사이언스 센터
드라이브 10614
파텔, 비살 디.
미국 78701 텍사스주 오스틴 웨스트 7티에이치 스
트리트 210
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 김영

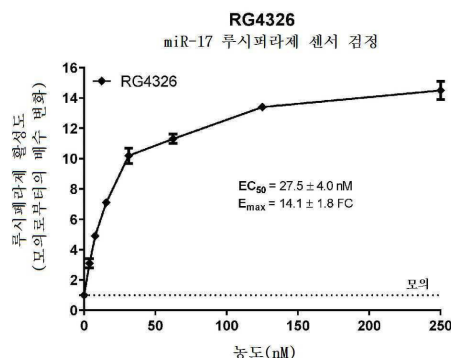
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 다낭성 신장 질환의 치료 방법

(57) 요약

miR-17에 표적화된 변형된 올리고뉴클레오타이드를 이용하여, 상염색체 우성 다낭성 신장 질환을 비롯한 다낭성 신장 질환의 치료 방법이 본 명세서에서 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12N 15/113 (2013.01)
C12N 2310/113 (2013.01)
C12N 2310/321 (2013.01)
C12N 2310/322 (2013.01)
C12N 2310/3231 (2013.01)
C12N 2310/343 (2013.01)
C12N 2310/346 (2013.01)
C12N 2310/3521 (2013.01)
C12N 2310/3533 (2013.01)

(72) 발명자

차우, 비. 넬슨

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 사이언스 센터
드라이브 10614

안드로사비치, 존 알.

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 사이언스 센터
드라이브 10614

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 다낭성 신장 질환을 치료하는데 있어서 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도이며,

상기 대상체는 다낭성 신장 질환을 지니는 것으로 진단되었고,

상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3'으로의 배향으로 하기 뉴클레오타이드 패턴을 갖는 9개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진 것인 용도:

$N_5G_8C_{14}A_6C_8U_6U_8N_5$

상기 패턴에서,

아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 뉴클레오타이드이고,

아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며,

아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오타이드는 S-구속된 에틸(S-cEt) 뉴클레오타이드이고,

모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이며,

각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2016년 12월 5일자로 출원된 미국 가출원 제62/430,164호의 우선권의 이익을 주장하며, 이 기초출원은 임의의 목적을 위하여 이의 전문이 참고로 본 명세서에 원용된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 명세서에서는 다낭성 신장 질환의 치료를 위한 조성물 및 방법이 제공된다.

[0005] 다낭성 신장 질환은 신장의 많은 체액-채워진 낭종의 축적을 특징으로 한다. 이들 낭종은 낭종 상피라 불리는 상피 세포의 단일층으로 라이닝된다. 시간 경과에 따라서, 낭종은 상승된 세포 증식 및 낭종 상피에 의한 체액의 활성적인 분비로 인해 크기가 증가한다. 확대된 낭종은 주위의 정상 조직을 압박하여, 결과적으로 신장 기능의 감소를 초래한다. 이 질환은 궁극적으로 말기 신장 질환으로 진행되어, 투석 또는 신장 이식을 필요로 하게 한다. 이 시기에, 낭종은 위축성 세관을 함유하는 섬유증의 영역으로 둘러싸일 수 있다.

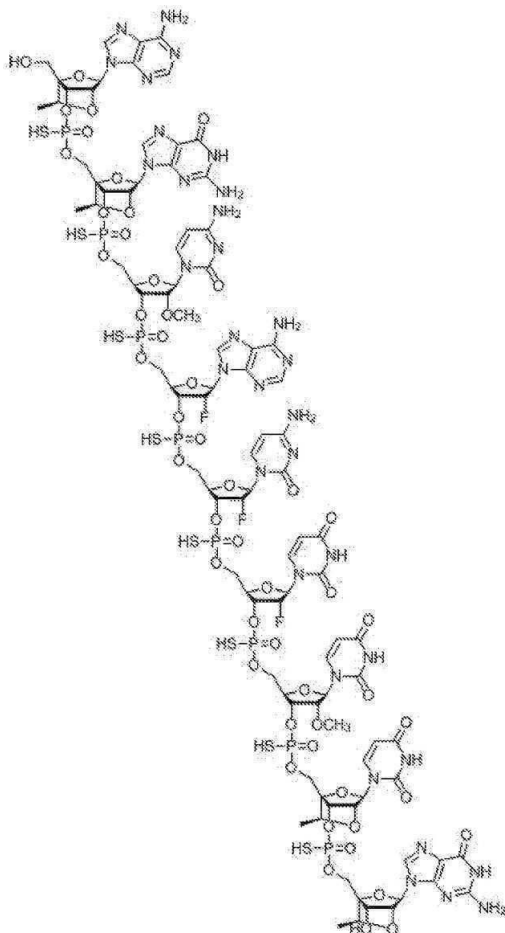
[0006] 많은 유전자 장애는 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease: PKD)을 초래할 수 있다. 각종 형태의 PKD는 유전 방식, 예를 들어, 상염색체 우성 또는 상염색체 열성 유전; 신장 외부의 표현형의 제시 및 장기의 연루; 예컨대, 출생, 소아 또는 성인에서의 말기 신장 질환의 개시의 연령; 및 질환과 연관된 기저 유전자 돌연변이에 의해 구별된다. 예를 들어, 문헌[Kurschat et al., 2014, Nature Reviews Nephrology, 10: 687-699] 참조.

발명의 내용

[0007] 실시형태 1. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서, 치료를 필요로 하는 대상체에게 9개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 화합물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3'으로의 배향으로 하기 뉴클레오타이드 패턴을 갖는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법:

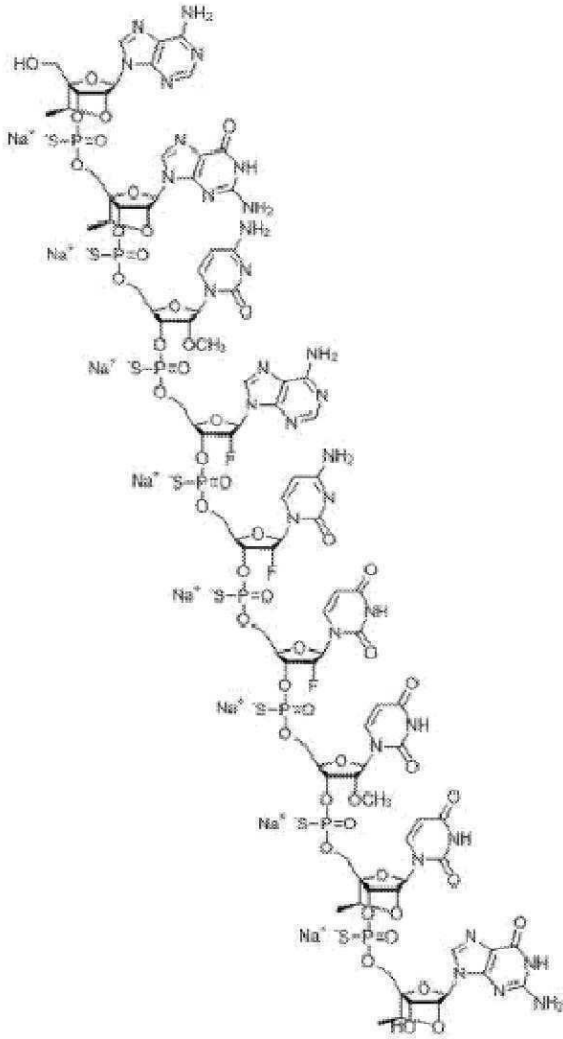
[0008] $N_5N_5N_8N_6N_6N_6N_8N_5N_5$

- [0009] 상기 패턴에서, 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고, 그리고 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이며; 그리고 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-CACUUU-3'을 포함하고, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.
- [0010] 실시형태 2. 실시형태 1의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 상기 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-GCACUUU-3'을 포함하고, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.
- [0011] 실시형태 3. 실시형태 1 또는 2의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 상기 핵염기 서열은 5'-AGCACUUUG-3'이고, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.
- [0012] 실시형태 4. 실시형태 1 내지 3 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 화합물은 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진다.
- [0013] 실시형태 5. 실시형태 1 내지 4 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 나트륨염이다.
- [0014] 실시형태 6. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서, 치료를 필요로 하는 대상체에게 하기 구조를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법:



- [0015]
- [0016] 실시형태 7. 실시형태 6의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 상기 구조의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.
- [0017] 실시형태 8. 실시형태 7의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 상기 구조의 나트륨염이다.
- [0018] 실시형태 9. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서, 치료를 필요로 하는 대상체에게 하기 구조를 갖는 변형된 올

리고뉴클레오타이드를 투여하는 단계를 포함하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법:



[0019]

[0020]

실시형태 10. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서, 치료를 필요로 하는 대상체에게 하기 a) 및 b)를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법:

[0021]

a) 9개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드; 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 화합물로서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3'으로의 배향으로 하기 뉴클레오타이드 패턴을 갖는, 상기 화합물:

[0022]



[0023]

(상기 패턴에서, 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 뉴클레오타이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오타이드는 S-cEt 뉴클레오타이드이고, 그리고 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이며; 그리고 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-CACUUU-3'을 포함하고, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택됨); 및

[0024]

b) 약제학적으로 허용 가능한 희석제.

[0025]

실시형태 11. 실시형태 10의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 상기 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-GCACUUU-3'을 포함하고, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.

[0026]

실시형태 12. 실시형태 10의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 5'-AGCACUUUG-3'이되, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.

[0027]

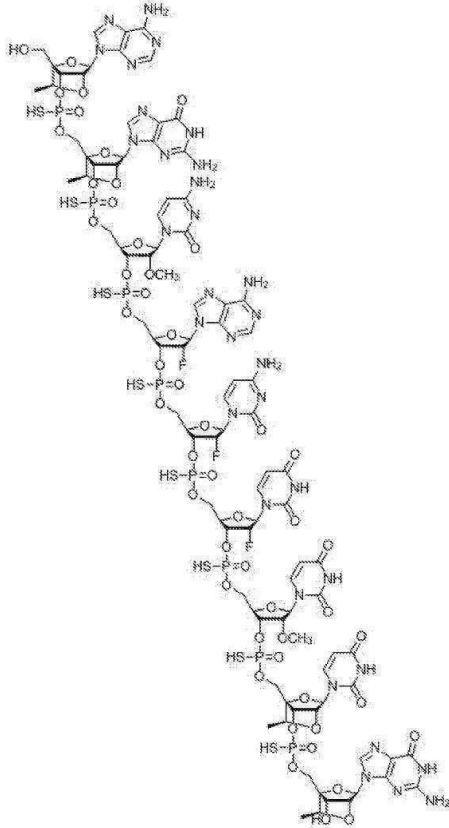
실시형태 13. 실시형태 10 내지 12 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 화합물은 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드

타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0028] 실시형태 14. 실시형태 10 내지 13 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 나트륨 염이다.

[0029] 실시형태 15. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서, 치료를 필요로 하는 대상체에게 하기 a) 및 b)를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법:

[0030] a) 하기 구조를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드:

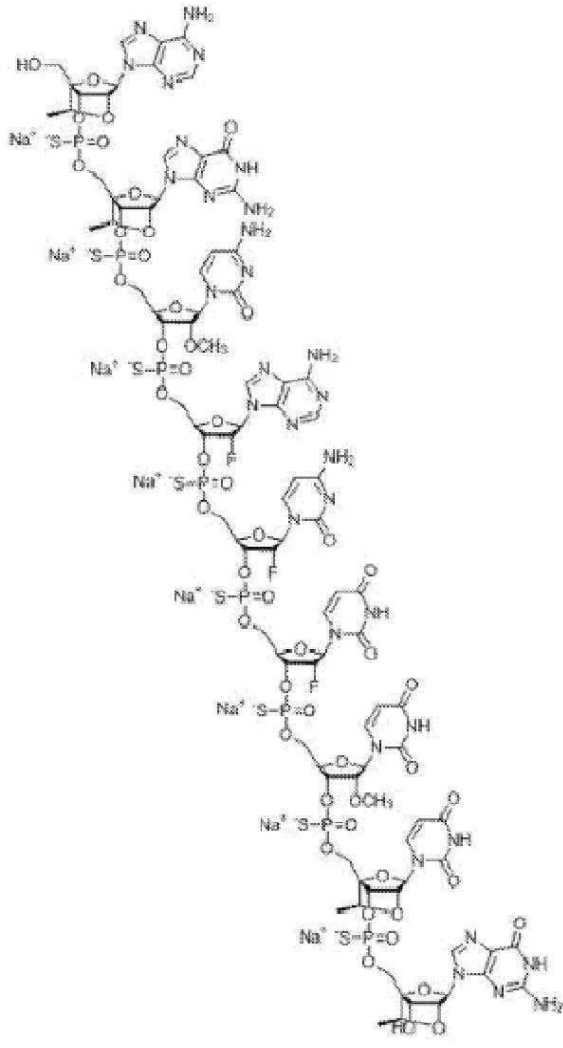


[0031]

[0032] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염; 및

[0033] b) 약제학적으로 허용 가능한 희석제.

[0034] 실시형태 16. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서, 치료를 필요로 하는 대상체에게 하기 a) 및 b)를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법:



[0041]

[0042]

[0043]

[0044]

[0045]

[0046]

[0047]

[0048]

[0049]

[0050]

[0051]

및 약제학적으로 허용 가능한 희석제.

실시형태 18. 실시형태 10 내지 17 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 약제학적으로 허용 가능한 희석제는 멸균 수용액이다.

실시형태 19. 실시형태 18의 방법에 있어서, 상기 멸균 수용액은 식염수 용액이다.

실시형태 20. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 다낭성 신장 질환을 지닌다.

실시형태 21. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 다낭성 신장 질환을 지니는 것으로 의심된다.

실시형태 22. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 상기 화합물, 변형된 올리고뉴클레오타이드, 또는 약제학적 조성물의 투여 전에 다낭성 신장 질환을 지니는 것으로 진단된다.

실시형태 23. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는, 상기 화합물, 변형된 올리고뉴클레오타이드, 또는 약제학적 조성물의 투여 전에, 상기 대상체의 신장, 소변 또는 혈액에서 miR-17의 증가된 수준을 갖는 것으로 결정된다.

실시형태 24. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 다낭성 신장 질환은 상염색체 열성 다낭성 신장 질환이다.

실시형태 25. 실시형태 1 내지 23 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 다낭성 신장 질환은 상염색체 우성 다낭성 신장 질환이다.

실시형태 26. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 *PKD1* 유전자의 돌연변이 또는 *PKD2* 유전자의 돌연변이로부터 선택된 돌연변이를 지닌다.

- [0052] 실시형태 27. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 증가된 총 신장 용적을 지닌다.
- [0053] 실시형태 28. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 고혈압을 지닌다.
- [0054] 실시형태 29. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 손상된 신장 기능을 지닌다.
- [0055] 실시형태 30. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 개선된 신장 기능을 필요로 한다.
- [0056] 실시형태 31. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 투여는,
- [0057] a) 상기 대상체에서 신장 기능을 개선시키고;
- [0058] b) 상기 대상체에서 신장 기능의 악화를 지연시키고;
- [0059] c) 상기 대상체에서 총 신장 용적을 저감시키고;
- [0060] d) 상기 대상체에서 총 신장 용적의 증가를 둔화시키고;
- [0061] e) 상기 대상체에서 낭종 성장을 저해시키고;
- [0062] f) 상기 대상체에서 낭종 성장의 증가를 둔화시키고;
- [0063] g) 상기 대상체에서 신장 통증을 저감시키고;
- [0064] h) 상기 대상체에서 신장 통증의 증가를 둔화시키고;
- [0065] i) 상기 대상체에서 신장 통증의 개시를 지연시키고;
- [0066] j) 상기 대상체에서 고혈압을 저감시키고;
- [0067] k) 상기 대상체에서 고혈압의 악화를 둔화시키고;
- [0068] l) 상기 대상체에서 고혈압의 개시를 지연시키고;
- [0069] m) 상기 대상체에서 신장의 섬유증을 저감시키고;
- [0070] n) 상기 대상체에서 신장의 섬유증의 악화를 둔화시키고;
- [0071] o) 상기 대상체에서 말기 신장 질환의 개시를 지연시키고;
- [0072] p) 상기 대상체에서 투석 시기를 지연시키고;
- [0073] q) 상기 대상체에서 신장 이식 시기를 지연시키고; 그리고/또는
- [0074] r) 상기 대상체의 기대 수명을 개선시킨다.
- [0075] 실시형태 32. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 투여는,
- [0076] a) 상기 대상체에서 단백뇨를 저감시키고;
- [0077] b) 상기 대상체에서 단백뇨의 악화를 둔화시키고;
- [0078] c) 상기 대상체에서 단백뇨의 개시를 지연시키고;
- [0079] d) 상기 대상체에서 혈뇨를 저감시키고;
- [0080] e) 상기 대상체에서 혈뇨의 악화를 저감시키고;
- [0081] f) 상기 대상체에서 혈뇨의 개시를 지연시키고;
- [0082] g) 상기 대상체에서 혈액 요소 질소 수준을 저감시키고;
- [0083] h) 상기 대상체에서 혈청 크레아티닌 수준을 저감시키고;
- [0084] i) 상기 대상체에서 크레아티닌 청소율을 개선시키고;
- [0085] j) 상기 대상체에서 알부민:크레아티닌 비를 저감시키고;
- [0086] k) 상기 대상체에서 사구체여과율을 개선시키고

- [0087] 1) 상기 대상체에서 사구체여과율의 감소율을 둔화시키고;
- [0088] m) 상기 대상체에서 소변 중 호중성 젤라티나제-연관 리포칼린(neutrophil gelatinase-associated lipocalin: NGAL)을 저감시키고; 그리고/또는
- [0089] n) 상기 대상체에서 신장 손상 분자-1(kidney injury molecule-1: KIM-1) 단백질을 저감시킨다.
- [0090] 실시형태 33. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서,
- [0091] a) 상기 대상체에서 총 신장 용적을 측정하는 단계;
- [0092] b) 상기 대상체에서 고혈압을 측정하는 단계;
- [0093] c) 상기 대상체에서 신장 통증을 측정하는 단계;
- [0094] d) 상기 대상체의 신장의 섬유증을 측정하는 단계;
- [0095] e) 상기 대상체에서 혈액 요소 질소 수준을 측정하는 단계;
- [0096] f) 상기 대상체에서 혈청 크레아티닌 수준을 측정하는 단계;
- [0097] g) 상기 대상체에서 크레아티닌 청소율을 측정하는 단계;
- [0098] h) 상기 대상체에서 단백뇨를 측정하는 단계;
- [0099] i) 상기 대상체에서 알부민:크레아티닌비를 측정하는 단계;
- [0100] j) 상기 대상체에서 사구체여과율을 측정하는 단계;
- [0101] k) 상기 대상체에서 호중성 젤라티나제-연관 리포칼린(NGAL) 단백질을 측정하는 단계; 및/또는
- [0102] l) 상기 대상체에서 소변 중 신장 손상 분자-1(KIM-1) 단백질을 측정하는 단계를 포함한다.
- [0103] 실시형태 34. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 투여는 상기 대상체에서 총 신장 용적을 저감시킨다.
- [0104] 실시형태 35. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 투여는 상기 대상체에서 총 신장 용적의 증가율을 둔화시킨다.
- [0105] 실시형태 36. 실시형태 27, 31, 33, 34 또는 35 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 총 신장 용적은 높이-조정된 총 신장 용적이다.
- [0106] 실시형태 37. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 투여는 상기 대상체에서 사구체여과율의 감소율을 둔화시킨다.
- [0107] 실시형태 38. 실시형태 32, 33 또는 37 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 사구체여과율은 추정된 사구체여과율이다.
- [0108] 실시형태 39. 실시형태 31의 방법에 있어서, 상기 낭종은 상기 대상체에서 하나 이상의 신장에 존재한다.
- [0109] 실시형태 40. 실시형태 31의 방법에 있어서, 상기 낭종은 상기 대상체의 간에 존재한다.
- [0110] 실시형태 41. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 적어도 하나의 추가의 요법을 투여하는 단계를 포함하되, 적어도 하나의 추가의 요법은 항고혈압제이다.
- [0111] 실시형태 42. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 안지오텐신 II 전환 효소(ACE) 저해제, 안지오텐신 II 수용체 차단제(ARB), 이노제, 칼슘 통로 차단제, 키나제 저해제, 아드레날린 수용체 길항제, 혈관확장제, 벤조다이아제핀, 레닌 저해제, 알도스테론 수용체 길항제, 엔도텔린 수용체 차단제, 라파마이신(mTOR) 저해제의 포유동물 표적, 호르몬 유사체, 바소프레신 수용체 2 길항제, 알도스테론 수용체 길항제, 투석, 및 신장 이식으로부터 선택된 적어도 하나의 추가의 요법을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0112] 실시형태 43. 실시형태 42의 방법에 있어서, 상기 안지오텐신 II 전환 효소(ACE) 저해제는 캅토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴, 벤나제프릴, 퀴나프릴, 포시노프릴 및 라미프릴로부터 선택된다.
- [0113] 실시형태 44. 실시형태 42의 방법에 있어서, 상기 안지오텐신 II 수용체 차단제(ARB)는 칸데사르탄, 이르베사르

탄, 올메사르탄, 로사르탄, 발사르탄, 텔미사르탄 및 에프로사르탄으로부터 선택된다.

[0114] 실시형태 45. 실시형태 42의 방법에 있어서, 상기 바소프레신 수용체 2 길항제는 톨바판(tolvaptan)이다.

[0115] 실시형태 46. 실시형태 42의 방법에 있어서, 상기 알도스테론 수용체 길항제는 스피로노락톤이다.

[0116] 실시형태 47. 실시형태 42의 방법에 있어서, 상기 키나제 저해제는 보수티닙(bosutinib) 및 KD019로부터 선택된다.

[0117] 실시형태 48. 실시형태 42의 방법에 있어서, 상기 mTOR 저해제는 에버롤리무스, 라파마이신 및 시롤리무스로부터 선택된다.

[0118] 실시형태 49. 실시형태 42의 방법에 있어서, 상기 호르몬 유사체는 소마토스타틴 및 부신피질자극 호르몬으로부터 선택된다.

[0119] 실시형태 50. 선행하는 실시형태 중 어느 하나의 방법에 있어서, 치료적 유효량의 상기 화합물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0120] 실시형태 51. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서,

[0121] a) 임상적, 조직병리적 및/또는 유전적 기준을 이용하여 다낭성 신장 질환으로 진단된 대상체를 선택하는 단계;

[0122] b) 9개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 화합물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3'으로의 배향으로 하기 뉴클레오타이드 패턴을 갖고:

[0123] $N_5N_5N_{M'}N_{F'}N_{F'}N_{M'}N_5N_5$

[0124] 상기 패턴에서, 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 뉴클레오타이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오타이드는 S-cEt 뉴클레오타이드이고, 그리고 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이며; 그리고 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-CACUUU-3'을 포함하고, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택되며;

[0125] 상기 대상체는, 상기 화합물의 투여 후에,

[0126] i) 총 신장 용적;

[0127] ii) 고혈압;

[0128] iii) 사구체여과율;

[0129] iv) 신장 통증

[0130] 으로부터 선택된 다낭성 신장 질환의 하나 이상의 마커의 개선을 경험하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법.

[0131] 실시형태 52. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서,

[0132] a) 임상적, 조직병리적 및/또는 유전적 기준을 이용하여 다낭성 신장 질환으로 진단된 대상체를 선택하는 단계로서; 상기 대상체는,

[0133] i) 증가된 신장 용적;

[0134] ii) 고혈압;

[0135] iii) 손상된 사구체여과율; 및/또는

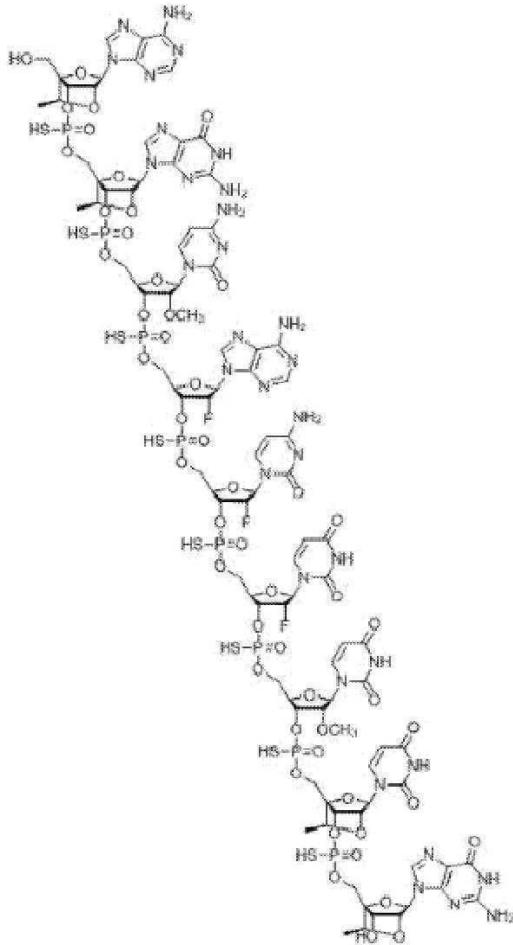
[0136] iv) 신장 통증

[0137] 을 지니는, 상기 대상체를 선택하는 단계;

[0138] b) 9개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 화합물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3'으로의 배향으로 하기 뉴클레오타이드 패턴을 갖고:

- [0139] $N_S N_S N_M N_F N_F N_M N_S N_S$
- [0140] 상기 패턴에서, 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고, 그리고 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이며; 그리고 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-CACUUU-3'을 포함하고, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택되며;
- [0141] c) 상기 대상체는, 상기 화합물의 투여 후에,
- [0142] i) 총 신장 용적;
- [0143] ii) 고혈압;
- [0144] iii) 사구체여과율;
- [0145] iv) 신장 통증
- [0146] 으로부터 선택된 다낭성 신장 질환의 하나 이상의 마커의 개선을 경험하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법.
- [0147] 실시형태 53. 실시형태 51 또는 52의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-GCACUUU-3'을 포함하되, 각각의 C는 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.
- [0148] 실시형태 54. 실시형태 51 또는 52의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 5'-AGCACUUUG-3'이되, 각각의 C는 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.
- [0149] 실시형태 55. 실시형태 51항 내지 54 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 화합물은 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진다.
- [0150] 실시형태 56. 실시형태 51 내지 55 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 나트륨염이다.
- [0151] 실시형태 57. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서,
- [0152] a) 임상적, 조직병리적 및/또는 유전적 기준을 이용하여 다낭성 신장 질환으로 진단된 대상체를 선택하는 단계;

[0153] b) 하기 구조:



[0154]

[0155] 를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되;

[0156] 상기 대상체는, 상기 화합물의 투여 후에,

[0157] i) 총 신장 용적;

[0158] ii) 고혈압;

[0159] iii) 사구체여과율; 및/또는

[0160] iv) 신장 통증

[0161] 으로부터 선택된 다낭성 신장 질환의 하나 이상의 마커의 개선을 경험하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법.

[0162] 실시형태 58. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서,

[0163] a) 임상적, 조직병리적 및/또는 유전적 기준을 이용하여 다낭성 신장 질환으로 진단된 대상체를 선택하는 단계로서; 상기 대상체는,

[0164] i) 증가된 신장 용적;

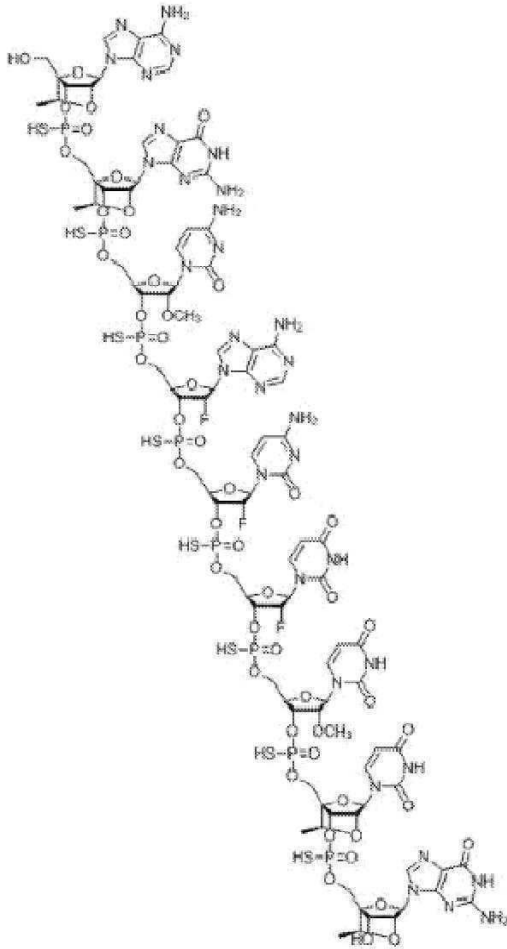
[0165] ii) 고혈압;

[0166] iii) 손상된 사구체여과율; 및/또는

[0167] iv) 신장 통증

[0168] 을 지니는, 상기 대상체를 선택하는 단계; 및

[0169] b) 하기 구조:



[0170]

[0171] 를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되;

[0172] 상기 대상체는, 상기 화합물의 투여 후에,

[0173] i) 총 신장 용적;

[0174] ii) 고혈압;

[0175] iii) 사구체여과율; 및/또는

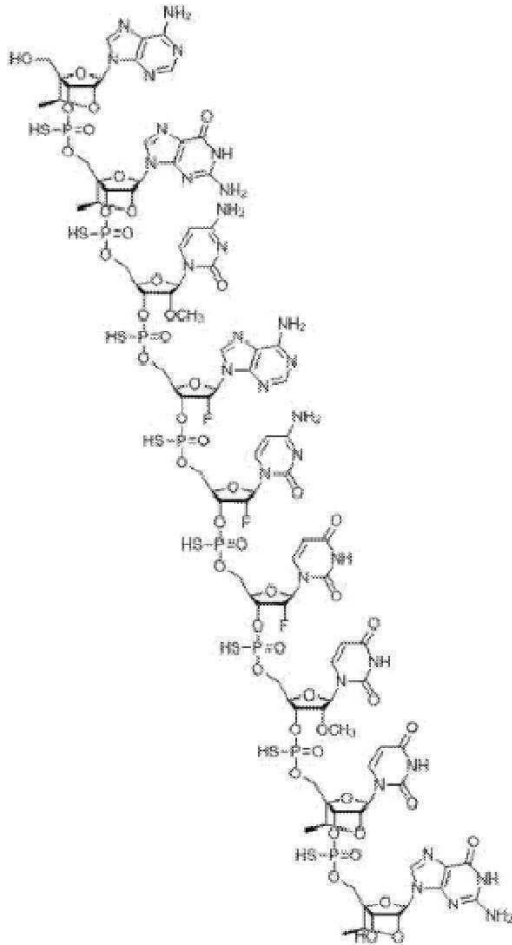
[0176] iv) 신장 통증

[0177] 으로부터 선택된 다낭성 신장 질환의 하나 이상의 마커의 개선을 경험하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법.

[0178] 실시형태 59. 다낭성 신장 질환을 지닌 대상체에서 시간 경과에 따른 신장 기능의 감소를 저감시키는 방법으로 서,

[0179] a) 임상적, 조직병리적 및/또는 유전적 기준을 이용하여 다낭성 신장 질환으로 진단된 대상체를 선택하는 단계;

[0180] b) 하기 구조:



[0181]

[0182] 를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되;

[0183] 상기 대상체는, 상기 화합물의 투여 후에,

[0184] i) 사구체여과율;

[0185] ii) 혈액 요소 질소 수준; 및/또는

[0186] iii) 혈청 크레아티닌 수준

[0187] 으로부터 선택된 신장 기능의 하나 이상의 마커의 개선을 경험하는, 신장 기능의 감소를 저감시키는 방법.

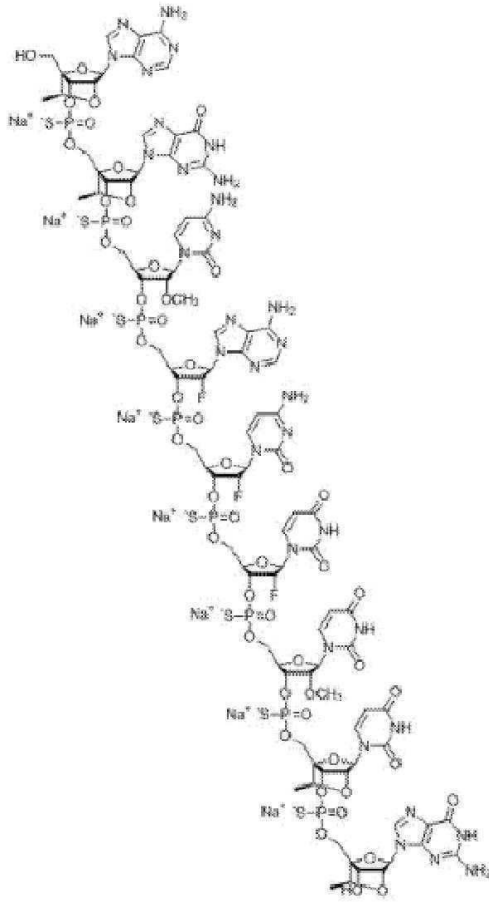
[0188] 실시형태 60. 실시형태 57, 58 또는 59 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 상기 구조의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0189] 실시형태 61. 실시형태 60의 방법에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 상기 구조의 나트륨염이다.

[0190] 실시형태 62. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서,

[0191] a) 임상적, 조직병리적 및/또는 유전적 기준을 이용하여 다낭성 신장 질환으로 진단된 대상체를 선택하는 단계;

[0192] b) 하기 구조를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되:



[0193]

[0194]

[0195]

[0196]

[0197]

[0198]

[0199]

[0200]

[0201]

[0202]

[0203]

[0204]

[0205]

[0206]

상기 대상체는, 상기 화합물의 투여 후에,

i) 총 신장 용적;

ii) 고혈압;

iii) 사구체여과율; 및/또는

iv) 신장 통증

으로부터 선택된 다낭성 신장 질환의 하나 이상의 마커의 개선을 경험하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법.

실시형태 63. 다낭성 신장 질환의 치료 방법으로서,

a) 임상적, 조직병리적 및/또는 유전적 기준을 이용하여 다낭성 신장 질환으로 진단된 대상체를 선택하는 단계로서; 상기 대상체는,

i) 증가된 신장 용적;

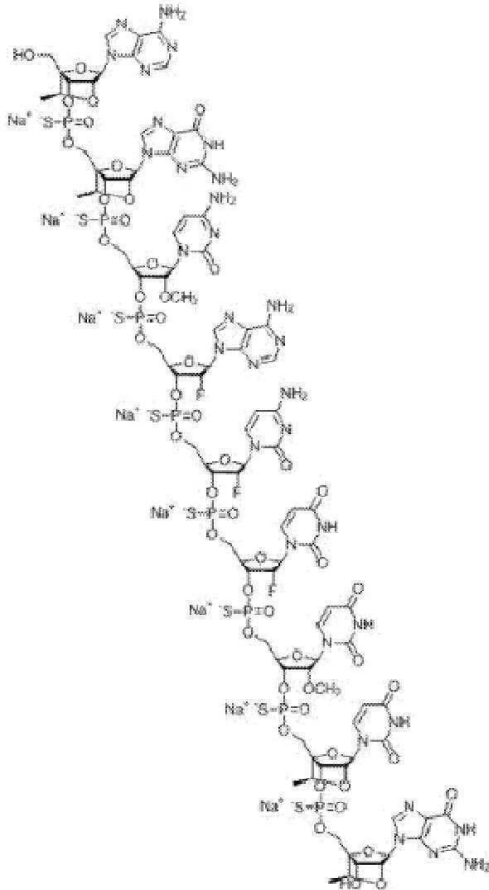
ii) 고혈압;

iii) 손상된 사구체여과율; 및/또는

iv) 신장 통증

을 지니는, 상기 대상체를 선택하는 단계; 및

[0207] b) 하기 구조:



[0208]

[0209] 를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되;

[0210] 상기 대상체는, 상기 화합물의 투여 후에,

[0211] i) 총 신장 용적;

[0212] ii) 고혈압;

[0213] iii) 사구체여과율; 및/또는

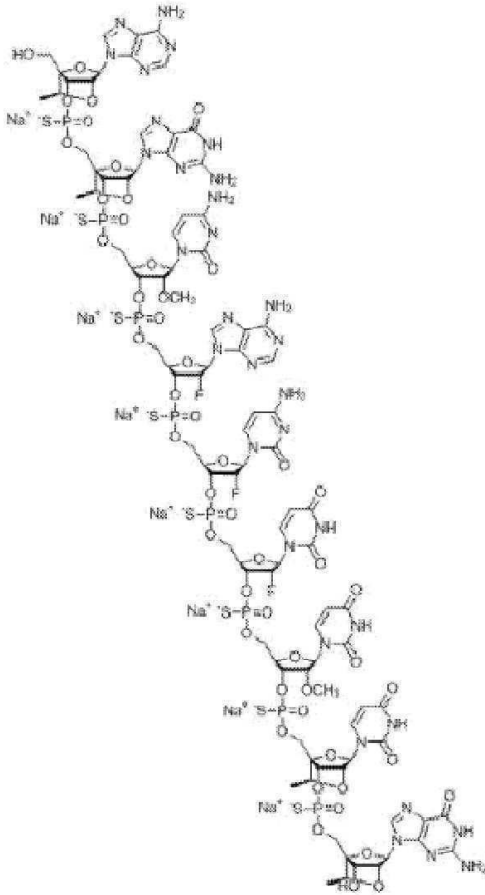
[0214] iv) 신장 통증

[0215] 으로부터 선택된 다낭성 신장 질환의 하나 이상의 마커의 개선을 경험하는, 다낭성 신장 질환의 치료 방법.

[0216] 실시형태 64. 시간 경과에 따른 신장 기능의 감소를 저감시키는 방법으로서,

[0217] a) 임상적, 조직병리적 및/또는 유전적 기준을 이용하여 다낭성 신장 질환으로 진단된 대상체를 선택하는 단계;

[0218] b) 하기 구조:



[0219]

[0220] 를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0221] 상기 대상체는, 상기 화합물의 투여 후에,

[0222] i) 사구체여과율;

[0223] ii) 혈액 요소 질소 수준; 및/또는

[0224] iii) 혈청 크레아티닌 수준

[0225] 으로부터 선택된 신장 질환의 하나 이상의 마커의 개선을 경험하는, 시간 경과에 따른 신장 기능의 감소를 저감시키는 방법.

[0226] 실시형태 65. 실시형태 51 내지 64 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 다낭성 신장 질환은 상염색체 우성 다낭성 신장 질환(autosomal dominant polycystic kidney disease: ADPKD)이다.

[0227] 실시형태 66. 실시형태 51 내지 64 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 다낭성 신장 질환은 상염색체 열성 다낭성 신장 질환(autosomal recessive polycystic kidney disease: ARPKD)이다.

[0228] 실시형태 67. 실시형태 1 내지 64 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 다낭성 신장 질환은 콩팥황폐증이다.

[0229] 실시형태 68. 실시형태 1 내지 64 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 주버트 증후군 및 관련 장애(Joubert syndrome and related disorder: JSRD), 맥켈 증후군(Meckel syndrome: MKS) 또는 바르데-비들 증후군(Bardet-Biedl syndrome: BBS)을 지닌다.

[0230] 실시형태 69. 실시형태 1 내지 68 중 어느 하나의 방법에 있어서, 상기 대상체는 인간 대상체이다.

[0231] 실시형태 70. 실시형태 1 내지 14, 18 내지 56 및 65 내지 69 중 어느 하나의 방법에 있어서, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이다.

[0232] 실시형태 71. 요법에서 사용하기 위한, 9개의 연결된 뉴클레오사이드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드

또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 화합물로서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3'으로의 배향으로 하기 뉴클레오타이드 패턴을 갖는, 화합물:

[0233]

$N_5N_5N_5N_5N_5N_5N_5N_5$

[0234]

상기 패턴에서, 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 뉴클레오타이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오타이드는 S-cEt 뉴클레오타이드이고, 그리고 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이며; 그리고

[0235]

상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-CACUUU-3'을 포함하되, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다.

[0236]

실시형태 72. 실시형태 71의 화합물에 있어서, 상기 요법은 다낭성 신장 질환의 치료이다.

[0237]

실시형태 73. 실시형태 72의 화합물에 있어서, 상기 다낭성 신장 질환은 상염색체 우성 다낭성 신장 질환(ADPKD)이다.

[0238]

실시형태 74. 실시형태 72의 화합물에 있어서, 상기 다낭성 신장 질환은 상염색체 열성 다낭성 신장 질환(ARPKD)이다.

[0239]

실시형태 75. 실시형태 72의 화합물에 있어서, 상기 다낭성 신장 질환은 콩팥황폐증(nephronophthisis: NPHP)이다.

도면의 간단한 설명

[0240]

도 1a 내지 도 1b. (a) miR-17 루시페라제 검정에서의 RG4326의 활성도. (b) miR-17 계열 구성원 루시페라제 검정에서의 RG4326의 활성도.

도 2. RG4326 또는 대조군 RG5124로 치료 후 IMCD3 세포의 PD 시그니처 점수.

도 3a 내지 도 3b. (a) 야생형 마우스의 신장 및 (b) RG4326-치료된 마우스의 신장에서의 miR-17 표적 관여를 도시한 miPSA.

도 4a 내지 도 4c. PKD의 *Pkd2*-KO 모델에서의 RG4326의 효능. (a) 신장 중량-대-체중비, (b) 혈액 요소 질소(blood urea nitrogen: BUN) 수준 및 (c) 낭종 지수에 대한 치료 효과.

도 5a 내지 도 5c. PKD의 *Pcy* 모델에서의 RG4326의 효능. (a) 신장 중량-대-체중비, (b) 혈액 요소 질소(BUN) 수준 및 (c) 낭종 지수에 대한 치료 효과.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0241]

달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어들은 본 발명이 속하는 당해 분야의 숙련자(이하 "당업자"라 약칭함)에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 특이적인 정의가 제공되지 않는 한, 본 명세서에서 기재된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 의학 및 제약 화학과 관련하여 이용된 명명법, 그리고 상기의 절차 및 기술은 당해 분야에서 공지되고 통상적으로 사용된다. 본 명세서에서 용어에 대하여 복수의 정의가 있는 경우에서, 이 부분의 것이 우세하다. 표준 기술은 화학 합성, 화학 분석, 약제학적 제조, 제형 및 전달, 및 대상체의 치료에 사용될 수 있다. 일부의 이러한 기술 및 절차는 예를 들어 문헌 ["Carbohydrate Modifications in Antisense Research" Edited by Sanghvi and Cook, American Chemical Society, Washington D.C., 1994; 및 "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, Pa., 18th edition, 1990]에서 찾을 수 있고: 이 문헌은 임의의 목적으로 참고로 본 명세서에 편입된다. 허용된 경우, 본 명세서에서 전체 개시내용 내내 언급되는 모든 특허, 특허 출원, 공개 출원 및 공보, 유전자은행(GENBANK) 서열, 웹사이트 및 다른 공개된 자료는, 달리 명시되지 않는 한, 그 전문이 참고로 편입된다. URL 또는 다른 그러한 식별자 또는 주소가 언급되는 경우, 이러한 식별자가 변화될 수 있고 인터넷 상의 특정한 정보가 변화될 수 있다는 것이 이해되지만, 동등 정보는 인터넷 검색에 의해 찾아질 수 있다. 그에 대한 참조는 이러한 정보의 이용가능성 및 공공 전파를 입증한다.

[0242]

본 조성물 및 방법이 개시되고 기재되기 전에, 본 명세서에서 사용된 전문용어는 특정한 실시형태만의 기재 목적용이고 제한되는 의도가 아니라는 것이 이해되어야 한다. 명세서 및 첨부된 청구항에서 사용된 바와 같이, 단수 형태의 표현은, 맥락이 명확히 달리 지시하지 않는 한, 복수의 지시대상을 포함하는 것에 유의해야 한다.

- [0243] 정의
- [0244] "다낭성 신장 질환" 또는 "PKD"는 신장에서 많은 체액-채워진 낭종의 축적을 특징으로 하는 낭종 신장 질환이다. 다수의 낭종은 적어도 하나의 신장에서 형성되어, 이화된 신장(들)의 확대 및 신장 기능의 점진적인 손실을 빈번하게 초래한다.
- [0245] "다낭성 신장 질환의 마커"는 다낭성 신장 질환의 중증도, 신장 기능, 및/또는 치료에 대한 다낭성 신장 질환을 가진 대상체의 반응을 평가하는데 사용되는 의학적 파라미터를 의미한다. 다낭성 신장 질환의 마커의 비제한적인 예는 총 신장 용적, 고혈압, 사구체여과율 및 신장 통증을 포함한다.
- [0246] "신장 기능의 마커"는 대상체에서 신장 기능을 평가하는데 사용되는 의학적 파라미터를 의미한다. 신장 기능의 마커의 비제한적인 예는 사구체여과율, 혈액 요소 질소 수준 및 혈청 크레아티닌 수준을 포함한다.
- [0247] "상염색체 우성 다낭성 신장 질환" 또는 "ADPKD"는 *PKD1* 및/또는 *PKD2* 유전자에서 하나 이상의 유전자 돌연변이에 의해 초래된 다낭성 신장 질환이다. ADPKD의 85%는 16번 염색체 상에 위치되는 *PKD1*의 돌연변이에 의해 초래되며, 나머지 ADPKD 사례의 대부분은 4번 염색체 상에 위치되는 *PKD2*의 돌연변이에 의해 초래된다.
- [0248] "상염색체 열성 다낭성 신장 질환" 또는 "ARPKD"는 6번 염색체 상에 위치되는 *PKHD1* 유전자의 하나 이상의 돌연변이에 의해 초래된 다낭성 신장 질환이다. ARPKD를 가진 신생아의 최대 50%는 자궁내 신장 질환의 합병증으로 사망하고, 생존한 이들의 약 3분의 1은 10년 이내 말기 신장 질환(ESRD)을 발병한다.
- [0249] "콩팥황폐증" 또는 "NPHP"는 피질수질 낭종, 관형 기저막 파괴 및 요세관간질질환 신장병을 특징으로 하는 상염색체 열성 낭종 신장 질환을 의미한다.
- [0250] "총 신장 용적" 또는 "TKV"는 총 신장 용적의 측정치이다. 총 신장 용적은 자기 공명 영상(MRI), 전산화단층촬영(CT) 스캔, 또는 초음파(US) 이미지 형성에 의해 결정될 수 있고 용적은, 예컨대, (초음파에 대해서) 타원체 용적 방정식과 같은 표준 방법론에 의해 또는 (CT/MRI에 대해서) 정량적 입체 또는 경계 추적에 의해 계산되었다.
- [0251] "높이 조정된 총 신장 용적" 또는 "HtTKV"는 단위 높이당 총 신장 용적의 척도이다. HtTKV 값 ≥ 600 ml/m를 가진 환자는 8년 이내 3기 만성 신장 질환을 발병할 것으로 예상된다.
- [0252] "신장 통증"은 병가(medical leave), 약리학적 치료(마약 또는 최후수단 진통제), 또는 침습성 개입이 필요한 임상적으로 상당한 신장 통증을 의미한다.
- [0253] "고혈압 악화"는 고혈압 치료의 개시 또는 이의 증가를 요구하는 혈압의 변화를 의미한다.
- [0254] "섬유증"은 장기 또는 조직에서 과잉의 섬유질 결합 조직의 형성 또는 발달을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 섬유증은 회복 또는 반응성 과정으로서 발생한다. 소정의 실시형태에 있어서, 섬유증은 부상 또는 손상에 반응하여 발생한다. 용어 "섬유증"은, 장기 또는 조직의 정상 구성요소로서 섬유질 조직의 형성과는 대조적으로, 회복 또는 반응성 과정으로서 장기 또는 조직에서 과잉의 섬유질 결합 조직의 형성 또는 발달로서 이해된다.
- [0255] "혈뇨"는 소변에서 적혈구의 존재를 의미한다.
- [0256] "단백뇨"는 소변에서 과잉의 알부민의 존재를 의미하고, 제한 없이, 정상 단백뇨, 고 정상 단백뇨, 미세단백뇨 및 현성단백뇨를 포함한다. 통상, 족세포(podocyte), 사구체 기저막 및 내피 세포로 구성되는, 사구체 여과 투과도 장벽은 혈청 단백질이 소변에 누출되는 것을 예방한다. 단백뇨는 사구체 여과 투과도 장벽의 손상을 반영할 수 있다. 단백뇨는 24-시간 소변 샘플, 밤새 소변 샘플 또는 단회-소변 샘플로부터 계산될 수 있다.
- [0257] "고 정상 단백뇨"는 (i) 24시간당 소변에 15 내지 30mg 미만의 알부민의 배출 및/또는 (ii) 남성에 있어서 1.25 내지 2.5 mg/mmol 미만(또는 10 내지 20 mg/g 미만) 또는 여성에 있어서 1.75 내지 3.5 mg/mmol 미만(또는 15 내지 30 mg/g 미만)의 알부민/크레아티닌 비를 특징으로 하는 상승된 단백뇨를 의미한다.
- [0258] "미세단백뇨"는 (i) 24시간당 소변에 30 내지 300mg의 알부민의 배출 및/또는 (ii) 남성에 있어서 2.5 내지 25 mg/mmol 미만(또는 20 내지 200 mg/g 미만) 또는 여성에 있어서 3.5 내지 35 mg/mmol 미만(또는 30 내지 300 mg/g 미만)의 알부민/크레아티닌 비를 특징으로 하는 상승된 단백뇨를 의미한다.
- [0259] "현성단백뇨"는 24시간당 소변에 300 mg 초과와 알부민의 배출 및/또는 (ii) 남성에 있어서 25 mg/mmol 초과(또는 200 mg/g 초과) 또는 여성에 있어서 35 mg/mmol 초과(또는 300 mg/g 초과)의 알부민/크레아티닌 비를 특징으로

로 하는 상승된 단백뇨를 의미한다.

- [0260] "알부민/크레아티닌 비"는 소변 크레아티닌(g/dl)당 소변 알부민(mg/dl)의 비를 의미하고 mg/g으로서 표현된다. 소정의 실시형태에 있어서, 알부민/크레아티닌 비는 단위 소변 샘플로부터 계산될 수 있고 24시간 기간 동안 알부민 배출의 추정치로서 사용될 수 있다.
- [0261] "사구체여과율" 또는 "GFR"은 신장을 통해서 여과된 체액의 유량을 의미하고, 대상체의 신장 기능의 지표로서 사용된다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체의 GFR은 추정된 사구체여과율을 계산함으로써 결정된다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체의 GFR은 인슐린 방법을 이용해서 대상체에서 직접 측정된다.
- [0262] "추정된 사구체 여과율" 또는 "eGFR"은 얼마나 양호하게 신장이 크레아티닌을 여과 중인지의 측정치이고, 개략적인 사구체여과율로 사용된다. GFR의 직접 측정이 복잡적이므로, eGFR이 임상 실시에서 빈번하게 사용된다. 정상 결과는 90 내지 120ml/분/1.73m²의 범위일 수 있다. 3개월 이상 동안 60ml/분/1.73m² 미만 수준은 만성 신장 질환의 지표일 수 있다. 15ml/분/1.73m² 미만 수준은 신부전의 지표일 수 있다.
- [0263] "단백뇨"는 소변에서 과잉의 혈청 단백질의 존재를 의미한다. 단백뇨는 24시간당 소변 속에 250mg 초과 단백질의 배출 및/또는 0.20mg/mg 이상의 소변 단백질 대 크레아티닌 비를 특징으로 할 수 있다. 단백뇨와 관련하여 상승된 혈청 단백질은, 제한 없이, 알부민을 포함한다.
- [0264] "혈액 요소 질소 수준" 또는 "BUN 수준"은 유레아의 형태로 혈액 내 질소의 양의 척도를 의미한다. 간은 단백질의 소화의 폐기물로서 요소 사이클에서 유레아를 생산하고, 유레아는 신장에 의해 혈액으로부터 제거된다. 정상 인간 성인 혈액은 100ml의 혈액당 7 내지 21mg의 요소 질소(7 내지 21 mg/dl)를 함유할 수 있다. 혈액 요소 질소의 측정치는 신장 건강의 지표로서 사용된다. 신장이 정상적으로 혈액으로부터 유레아를 제거할 수 없으면, 대상체의 BUN은 높아진다.
- [0265] "상승된"은 임상적으로 관련된 것으로 여겨지는 의학적 파라미터의 증가를 의미한다. 의료종사자는 증가가 임상적으로 유의한지의 여부를 결정할 수 있다.
- [0266] "말기 신장 질환(ESRD)"은 신장 기능의 완전한 또는 거의 완전한 부전을 의미한다.
- [0267] "삶의 질"은 대상체의 신체적, 정신적 및 사회적 기능이 질환 및/또는 질환의 치료에 의해 손상되는 정도를 의미한다. 삶의 질은 다낭성 신장 질환을 지니는 대상체에서 저감될 수 있다.
- [0268] "손상된 신장 기능"은 정상 신장 기능에 대해서 저감된 신장 기능을 의미한다.
- [0269] "의 악화를 둔화시킨다" 및 "악화를 둔화시킨다"는 의학적 병태가 진전된 상태를 향해 이동하는 비율을 저감시키는 것을 의미한다.
- [0270] "투석 시기를 지연시킨다"는 충분한 신장 기능을 유지시켜 이로써 투석 치료에 대한 필요성이 지연되는 것을 의미한다.
- [0271] "신장 이식 시기를 지연시킨다"는 충분한 신장 기능을 유지시켜 이로써 신장 이식에 대한 필요성이 지연되는 것을 의미한다.
- [0272] "기대 수명을 개선시킨다"는 대상체에서 질환의 하나 이상의 증상을 치료함으로써 대상체의 수명을 늘이는 것을 의미한다.
- [0273] "대상체"는 치료 또는 요법을 위하여 선택된 인간 또는 비-인간 동물을 의미한다.
- [0274] "필요로 하는 대상체"는 요법 또는 치료가 필요한 것으로서 확인되는 대상체를 의미한다.
- [0275] "맞는 것으로 의심되는 대상체"는 질환의 하나 이상의 임상 지표를 나타내는 대상체를 의미한다.
- [0276] "miR-17과 연관된 질환"은 하나 이상의 miR-17 계열 구성원의 활성도에 의해 조절되는 질환 또는 병태를 의미한다.
- [0277] "투여하는"은 대상체에 약제학적 제제 또는 조성물을 제공하는 것을 의미하고, 의료종사자 및 자기-투여에 의해 투여하는 것을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0278] "비경구 투여"는 주사 또는 주입을 통한 투여를 의미한다. 비경구 투여는 피하 투여, 정맥내 투여 및 근육내 투여를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

- [0279] "피하 투여"는 피부 바로 밑 투여를 의미한다.
- [0280] "정맥내 투여"는 정맥 내로의 투여를 의미한다.
- [0281] "수반하여 투여된"은 둘 모두의 약리적 효과가 환자에서 동시에 명백한 임의의 방식으로 2 이상 제제의 공동-투여를 지칭한다. 수반되는 투여는 양쪽 제제가 단일 약제학적 조성물로, 동일한 투약 형태로, 또는 투여의 동일한 경로에 의해 투여되는 것을 요구하지 않는다. 양쪽 제제의 효과는 동일한 시간에 자체를 나타낼 필요는 없다. 효과는 단지 일정한 기간 동안 중첩이 필요하고 동시간에 겹칠 필요 없다.
- [0282] "지속기간"은 활성 또는 이벤트가 계속되는 동안의 기간을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 치료의 지속기간은 약제학적 제제 또는 약제학적 조성물의 용량이 투여되는 동안의 기간이다.
- [0283] "요법"은 질환 치료 방법을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 요법은, 질환을 갖는 대상체에 하나 이상의 약제학적 제제의 투여를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0284] "치료한다"는 질환의 적어도 하나의 지표의 완화를 위하여 사용된 하나 이상의 구체적인 절차를 적용하는 것을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 구체적인 절차는 하나 이상의 약제학적 제제의 투여이다. 소정의 실시형태에 있어서, PKD의 치료는, 총 신장 용적 감소, 신장 기능 개선, 고혈압 감소, 및/또는 신장 통증 감소를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0285] "완화시키다"는 병태 또는 질환의 적어도 하나의 지표의 중증도를 줄이는 것을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 완화는 병태 또는 질환의 하나 이상의 지표의 진행에서 지연 또는 둔화를 포함한다. 지표의 중증도는 당업자에게 공지된 객관적 또는 주관적 측정에 의해 결정될 수 있다.
- [0286] "의 발생 위험에 처한"은 대상체가 병태 또는 질환 발생에 취약한 상태를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 병태 또는 질환의 발생 위험에 처한 대상체는 병태 또는 질환의 하나 이상의 증상을 나타내지만, 병태 또는 질환으로 진단되는 증상의 충분한 수를 나타내지 않는다. 소정의 실시형태에 있어서, 병태 또는 질환의 발생 위험에 처한 대상체는 병태 또는 질환의 하나 이상의 증상을 나타내지만, 병태 또는 질환으로 진단되도록 덜한 정도로 요구된다.
- [0287] "의 개시를 예방한다"는 질환 또는 병태의 발생 위험에 처한 대상체에서 병태 또는 질환의 발생을 예방하는 것을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 질환 또는 병태의 발생 위험에 처한 대상체는 질환 또는 병태를 이미 갖는 대상체에 의해 받았던 치료와 유사한 치료를 받는다.
- [0288] "의 개시를 지연시킨다"는 질환 또는 병태의 발생 위험에 처한 대상체에서 병태 또는 질환의 발생을 지연시키는 것을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 질환 또는 병태의 발생 위험에 처한 대상체는 질환 또는 병태를 이미 갖는 대상체에 의해 받았던 치료와 유사한 치료를 받는다.
- [0289] "용량"은 단일 투여에서 제공된 약제학적 제제의 지정된 양을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 용량은 2 이상의 볼러스, 정제 또는 주사로 투여될 수 있다. 예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, 피하 투여가 요망되는 경우, 목적하는 용량은 단일 주사에 의해 쉽게 수용되지 않는 용적을 요구한다. 상기 실시형태에 있어서, 2 이상 주사는 목적하는 용량을 달성하는데 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 용량은 개체내 주사 부위 반응을 최소화하기 위해 2 이상 주사로 투여될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 용량은 느린 주입으로서 투여된다.
- [0290] "투약량 단위"는 약제학적 제제가 제공되는 형태를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 투약량 단위는 동결건조된 올리고뉴클레오타이드를 함유하는 바이알이다. 소정의 실시형태에 있어서, 투약량 단위는 재구성된 올리고뉴클레오타이드를 수용하는 바이알이다.
- [0291] "치료적 유효량"은 동물에게 치료적 이점을 제공하는 약제학적 제제의 양을 지칭한다.
- [0292] "약제학적 조성물"은, 약제학적 제제를 포함하는, 개체에게 투여에 적합한 물질의 혼합물을 의미한다. 예를 들어, 약제학적 조성물은 멸균된 수성 용액을 포함할 수 있다.
- [0293] "약제학적 제제"는 대상체에게 투여된 경우 치료적 효과를 제공하는 물질을 의미한다.
- [0294] "활성 약제학적 성분"은 목적하는 효과를 제공하는 약제학적 조성물 내 물질을 의미한다.
- [0295] "약제학적으로 허용 가능한 염"은 본 명세서에서 제공된 화합물의 생리학적으로 그리고 약제학적으로 허용 가능한 염, 즉, 대상체에게 투여된 경우 바람직하지 않은 독물학적 효과를 갖지 않고 화합물의 목적하는 생물학적

활성을 보유하는 염을 의미한다. 본 명세서에서 제공된 화합물의 비제한적인 예시적인 약제학적으로 허용 가능한 염은 나트륨 및 칼륨염 형태를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "화합물", "올리고뉴클레오타이드" 및 "변형된 올리고뉴클레오타이드"는 달리 구체적으로 나타내지 않는 한 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함한다.

- [0296] "식염수 용액"은 수중 염화나트륨의 용액을 의미한다.
- [0297] "개선된 장기 기능"은 정상 한계를 향하여 장기 기능의 변화를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 장기 기능은 대상체의 혈액 또는 소변에서 발견된 분자를 측정함으로써 평가된다. 예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, 개선된 신장 기능은 혈액 요소 질소 수준의 감소, 단백질소변의 감소, 단백뇨의 감소 등에 의해 측정된다.
- [0298] "허용 가능한 안전성 프로파일"은 임상적으로 허용 가능한 한계 내에 있는 부작용의 패턴을 의미한다.
- [0299] "부작용"은 목적하는 효과 이외의 치료에 기인하는 생리적 반응을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 부작용은, 제한 없이, 주사 부위 반응, 간 기능 시험 비정상, 신장 기능 비정상, 간 독성, 신장 독성, 중추신경계 비정상 및 근병증을 포함한다. 이러한 부작용은 직접적으로 또는 간접적으로 검출될 수 있다. 예를 들어, 혈청에서 증가된 아미노기전달효소 수준은 간 독성 또는 간 기능 비정상을 표시할 수 있다. 예를 들어, 증가된 빌리루빈은 간 독성 또는 간 기능 비정상을 표시할 수 있다.
- [0300] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "혈액"은 전혈 및 혈액 분획, 예컨대, 혈청 및 혈장을 포괄한다.
- [0301] "항-miR"은 마이크로RNA에 상보적인 핵염기 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-miR은 변형된 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0302] "항-miR-17"은 하나 이상의 miR-17 계열 구성원에 상보적인 핵염기 서열을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-miR-17은 하나 이상의 miR-17 계열 구성원에 완전히 상보적이다(즉, 100% 상보적이다). 소정의 실시형태에 있어서, 항-miR-17은 하나 이상의 miR-17 계열 구성원에 상보적인 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%이다.
- [0303] "miR-17"은 핵염기 서열 5'-CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG-3'(서열번호 1)을 갖는 성숙한 miRNA를 의미한다.
- [0304] "miR-20a"는 핵염기 서열 5'-UAAAGUGCUUAGUGCAGGUAG-3'(서열번호 2)을 갖는 성숙한 miRNA를 의미한다.
- [0305] "miR-20b"는 핵염기 서열 5'-CAAAGUGCUUAGUGCAGGUAG -3'(서열번호 3)을 갖는 성숙한 miRNA를 의미한다.
- [0306] "miR-93"은 핵염기 서열 5'-CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG-3'(서열번호 4)을 갖는 성숙한 miRNA를 의미한다.
- [0307] "miR-106a"는 핵염기 서열 5'-AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG-3'(서열번호 5)을 갖는 성숙한 miRNA를 의미한다.
- [0308] "miR-106b"는 핵염기 서열 5'-UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU-3'(서열번호 6)을 갖는 성숙한 miRNA를 의미한다.
- [0309] "miR-17 시드(seed) 서열"은 miR-17 계열 구성원의 각각에 존재하는 핵염기 서열 5'-AAAGUG-3'을 의미한다.
- [0310] "miR-17 계열 구성원"은 miR-17, miR-20a, miR-20b, miR-93, miR-106a 및 miR-106b로부터 선택되고 miR-17 시드 서열을 포함하는 핵염기 서열을 갖는 성숙 miRNA를 의미한다.
- [0311] "miR-17 계열"은 miRNA의 이하의 군, 즉, miR-17, miR-20a, miR-20b, miR-93, miR-106a 및 miR-106b를 의미하며, 각각은 miR-17 시드 서열을 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.
- [0312] "표적 핵산"은 올리고머성 화합물이 하이브리드화하도록 설계되는 핵산을 의미한다.
- [0313] "표적화"는 표적 핵산에 하이브리드화될 핵염기 서열의 설계 및 선택의 과정을 의미한다.
- [0314] "에 표적화된"은 표적 핵산에 하이브리드화를 허용하는 핵염기 서열을 갖는 것을 의미한다.
- [0315] "조절"은 기능, 양 또는 활성도의 작은 변화를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 조절은 기능, 양 또는 활성도의 증가를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 조절은 기능, 양 또는 활성도의 감소를 의미한다.
- [0316] "발현"은 유전자의 암호화된 정보가 세포에서 존재하는 그리고 작동하는 구조로 전환되는 임의의 기능 및 단계를 의미한다.
- [0317] "핵염기 서열"은, 임의의 당, 연결 및/또는 핵염기 변형과는 독립적으로 그리고 5'에서 3' 배향으로 전형적으로 열거된, 올리고머성 화합물 또는 핵산에서 인접 핵염기의 순서를 의미한다.

- [0318] "인접 핵염기"는 핵산에서 서로에 바로 인접한 핵염기를 의미한다.
- [0319] "핵염기 상보성"은 수소 결합을 통해 비-공유결합으로 짝짓기하는 2 핵염기의 능력을 의미한다.
- [0320] "상보성"은 하나의 핵산이 또 다른 핵산 또는 올리고뉴클레오타이드에 하이브리드화할 수 있다는 것을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 상보성은 표적 핵산에 하이브리드화할 수 있는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다.
- [0321] "완전히 상보성"은 올리고뉴클레오타이드의 각각의 핵염기가 표적 핵산에 있어서 각각의 대응하는 위치에서 핵염기와 짝짓기할 수 있다는 것을 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 올리고뉴클레오타이드는 마이크로RNA에 완전히 상보성(또한 100% 상보성이라 지칭됨)이고, 즉, 올리고뉴클레오타이드의 각각의 핵염기는 마이크로RNA에 있어서 대응하는 위치에서 핵염기에 상보성이다. 변형된 올리고뉴클레오타이드는 마이크로RNA에 완전히 상보성일 수 있고, 마이크로RNA의 길이 미만인 연결된 뉴클레오사이드의 수를 가질 수 있다. 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드의 각각의 핵염기가 마이크로RNA에 있어서 대응하는 위치에서 핵염기에 상보성인, 16개의 연결된 뉴클레오사이드를 가진 올리고뉴클레오타이드는 마이크로RNA에 완전히 상보성이다. 소정의 실시형태에 있어서, 각각의 핵염기가 마이크로RNA 줄기-루프 서열의 영역 이내에 핵염기에 상보성을 갖는 올리고뉴클레오타이드는 마이크로RNA 줄기-루프 서열에 완전히 상보성이다.
- [0322] "상보성 퍼센트"는 표적 핵산의 동일-길이 부분에 상보성인 올리고뉴클레오타이드의 핵염기의 백분율을 의미한다. 퍼센트 상보성은 올리고뉴클레오타이드에 있어서 핵염기의 총 수로 표적 핵산에 있어서 대응하는 위치에서 핵염기에 상보성인 올리고뉴클레오타이드의 핵염기의 수를 나눔으로써 계산된다.
- [0323] "동일성 퍼센트"는 제1 핵산에서의 핵염기의 총 수로 나눈, 제2 핵산에 있어서 대응하는 위치에서 핵염기에 동일한 제1 핵산에 있어서 핵염기의 수를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 제1 핵산은 마이크로RNA이고 제2 핵산은 마이크로RNA이다. 소정의 실시형태에 있어서, 제1 핵산은 올리고뉴클레오타이드이고 제2 핵산은 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0324] "하이브리드화시키다"는 핵염기 상보성을 통해 발생하는 상보성 핵산의 어닐링을 의미한다.
- [0325] "미스매치"는 제2 핵산의 대응하는 위치에서 핵염기와 왓슨-크릭 짝짓기를 할 수 없는 제1 핵산의 핵염기를 의미한다.
- [0326] 핵염기 서열의 문맥에서 "동일한"은, 당, 연결 및/또는 핵염기 변형과는 독립적인 그리고 존재하는 임의의 피리미딘의 메틸 상태와는 독립적인, 동일한 핵염기 서열을 갖는 것을 의미한다.
- [0327] "마이크로RNA"는, 효소 다이스(Dicer)에 의해 전-마이크로RNA의 절단의 산물인, 18 내지 25개의 핵염기 길이의 내인성 비-암호화 RNA를 의미한다. 성숙한 마이크로RNA의 예는 miRBase(microrna.sanger.ac.uk/)로서 공지된 마이크로RNA 데이터베이스에서 발견된다. 소정의 실시형태에 있어서, 마이크로RNA는 "miR"로 약칭된다.
- [0328] "마이크로RNA-조절된 전사체"는 마이크로RNA에 의해 조절된 전사체를 의미한다.
- [0329] "시드 매치 서열"은 시드 서열에 상보성이고, 시드 서열과 동일한 길이인 핵염기 서열을 의미한다.
- [0330] "올리고머성 화합물"은 복수의 연결된 모노머성 소단위를 포함하는 화합물을 의미한다. 올리고머성 화합물은 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0331] "올리고뉴클레오타이드"는, 각각의 이들이 서로 독립적으로 변형 또는 미변형될 수 있는, 복수의 연결된 뉴클레오사이드를 포함하는 화합물을 의미한다.
- [0332] "천연형 뉴클레오사이드간 연결"은 뉴클레오사이드 사이에 3'에서 5' 포스포다이에스터 연결을 의미한다.
- [0333] "천연 당"은 DNA(2'-H) 또는 RNA(2'-OH)에서 발견되는 당을 의미한다.
- [0334] "뉴클레오사이드간 연결"은 인접한 뉴클레오사이드 사이의 공유 연결을 의미한다.
- [0335] "연결된 뉴클레오사이드"는 공유 연결에 의해 접합된 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0336] "핵염기"는 또 다른 핵염기와 비-공유결합으로 짝짓기할 수 있는 복소환식 모이어티를 의미한다.
- [0337] "뉴클레오사이드"는 당 모이어티에 연결된 핵염기를 의미한다.
- [0338] "뉴클레오타이드"는 뉴클레오사이드의 당 부분에 공유결합으로 연결된 포스포에이트기를 갖는 뉴클레오사이드를

의미한다.

- [0339] 다수의 연결된 뉴클레오사이드"로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물"은 특정된 수의 연결된 뉴클레오사이드를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 의미한다. 따라서, 화합물은 추가의 치환기 또는 접합체를 포함할 수 있다. 달리 나타내지 않는 한, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 상보적인 가닥에 혼성화되지 않고, 화합물은 변형된 올리고뉴클레오타이드의 것을 넘어서 임의의 추가의 뉴클레오사이드를 포함하지 않는다.
- [0340] "변형된 올리고뉴클레오타이드"는 천연형 말단, 당, 핵염기, 및/또는 뉴클레오사이드간 연결에 대해서 하나 이상의 변형을 갖는 단일-가닥 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 변형된 올리고뉴클레오타이드는 미변형된 뉴클레오사이드를 포함할 수 있다.
- [0341] "변형된 뉴클레오사이드"는 천연형 뉴클레오사이드로부터 임의의 변화를 갖는 뉴클레오사이드를 의미한다. 변형된 뉴클레오사이드는 변형된 당 및 미변형된 핵염기를 가질 수 있다. 변형된 뉴클레오사이드는 변형된 당 및 변형된 핵염기를 가질 수 있다. 변형된 뉴클레오사이드는 천연당 및 변형된 핵염기를 가질 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 뉴클레오사이드는 이환식 뉴클레오사이드이다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 뉴클레오사이드는 비-이환식 뉴클레오사이드이다.
- [0342] "변형된 뉴클레오사이드간 연결"은 천연형 뉴클레오사이드간 연결로부터의 임의의 변화를 의미한다.
- [0343] "포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 연결"은 비-브리징 원자 중 하나가 황 원자인 뉴클레오사이드 사이의 연결을 의미한다.
- [0344] "변형된 당 모이어티"는 천연당으로부터의 치환 및/또는 임의의 변화를 의미한다.
- [0345] "미변형된 핵염기"는 RNA 또는 DNA의 천연형 복소환식 염기를 의미한다: 퓨린 염기인 아데닌(A) 및 구아닌(G), 및 피리미딘 염기인 티민(T), 사이토신(C)(5-메틸사이토신 포함) 및 유라실(U).
- [0346] "5-메틸사이토신"은 5번 위치에 부착된 메틸기를 포함하는 사이토신을 의미한다.
- [0347] "비-메틸화 사이토신"은 5번 위치에 부착된 메틸기를 포함하지 않는 사이토신을 의미한다.
- [0348] "변형된 핵염기"는 미변형된 핵염기가 아닌 임의의 핵염기를 의미한다.
- [0349] "당 모이어티"는 천연형 퓨라노실 또는 변형된 당 모이어티를 의미한다.
- [0350] "변형된 당 모이어티"는 치환된 당 모이어티 또는 당 대응물을 의미한다.
- [0351] "2'-O-메틸 당" 또는 "2'-OMe 당"은 2'번 위치에 O-메틸 변형을 갖는 당을 의미한다.
- [0352] "2'-O-메톡시에틸 당" 또는 "2'-MOE 당"은 2'번 위치에 O-메톡시에틸 변형을 갖는 당을 의미한다.
- [0353] "2'-플루오로" 또는 "2'-F"는 2'번 위치의 플루오로 변형을 갖는 당을 의미한다.
- [0354] "이환식 당 모이어티"는, 이환식 구조를 초래하는, 제2 고리를 형성하기 위해 4 내지 7 원 고리의 2 원자를 연결하는 브리지를 포함하는 4 내지 7원 고리를 포함하는 (비제한적으로 퓨라노실을 포함하는) 변형된 당 모이어티를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, 4 내지 7원 고리는 당 고리이다. 소정의 실시형태에 있어서 4 내지 7원 고리는 퓨라노실이다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 브리지는 퓨라노실의 2'-탄소 및 4'-탄소를 연결한다. 비제한 예시적인 이환식 당 모이어티는 LNA, ENA, cEt, S-cEt 및 R-cEt를 포함한다.
- [0355] "잠금 핵산(LNA) 당 모이어티"는 4' 퓨라노스 고리 원자와 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에 (CH₂)-O 브리지를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다.
- [0356] "ENA 당 모이어티"는 4' 퓨라노스 고리 원자와 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에 (CH₂)₂-O 브리지를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다.
- [0357] "구속된 에틸(cEt) 당 모이어티"는 4' 퓨라노스 고리 원자와 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에 CH(CH₃)-O 브리지를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다. 소정의 실시형태에 있어서, CH(CH₃)-O 브리지는 S 배향에서 구속된다. 소정의 실시형태에 있어서, CH(CH₃)-O는 R 배향에서 구속된다.
- [0358] "S-cEt 당 모이어티"는 4' 퓨라노스 고리 원자와 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에 S-구속된 CH(CH₃)-O 브리지를

포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다.

- [0359] "R-cEt 당 모이어티"는 4' 퓨라노스 고리 원자와 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에 R-구속된 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 브리지를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다.
- [0360] "2'-O-메틸 뉴클레오사이드"는 2'-O-메틸 당 변형을 갖는 2'-변형된 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0361] "2'-O-메톡시에틸 뉴클레오사이드"는 2'-O-메톡시에틸 당 변형을 갖는 2'-변형된 뉴클레오사이드를 의미한다. 2'-O-메톡시에틸 뉴클레오사이드는 변형된 또는 미변형된 핵염기를 포함할 수 있다.
- [0362] "2'-플루오로 뉴클레오사이드"는 2'-플루오로 당 변형을 갖는 2'-변형된 뉴클레오사이드를 의미한다. 2'-플루오로 뉴클레오사이드는 변형된 또는 미변형된 핵염기를 포함할 수 있다.
- [0363] "이환식 뉴클레오사이드"는 이환식 당 모이어티를 갖는 2'-변형된 뉴클레오사이드를 의미한다. 이환식 뉴클레오사이드는 변형된 또는 미변형된 핵염기를 가질 수 있다.
- [0364] "cEt 뉴클레오사이드"는 cEt 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오사이드를 의미한다. cEt 뉴클레오사이드는 변형된 또는 미변형된 핵염기를 포함할 수 있다.
- [0365] "S-cEt 뉴클레오사이드"는 S-cEt 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0366] "R-cEt 뉴클레오사이드"는 R-cEt 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0367] " β -D-데옥시리보뉴클레오사이드"는 천연형 DNA 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0368] " β -D-리보뉴클레오사이드"는 천연형 RNA 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0369] "LNA 뉴클레오사이드"는 LNA 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0370] "ENA 뉴클레오사이드"는 ENA 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0371] 개요
- [0372] 다낭성 신장 질환(PKD)은 체액-채워진 낭종이 신장에서 발달하여, 신장 기능부전, 및 종종 말기 신장 질환으로 이어지는 신장 질환의 선천적 형태이다. 소정의 PKD는 또한 신장 확장을 특징으로 한다. 낭종의 과도한 증식은 PKD의 홀마크 병리적 특징이다. PKD의 관리에서, 치료를 위한 주요 목표는 고혈압 및 감염과 같은 증상을 관리하고, 신장 기능을 유지시키고 말기 신장 질환(ESRD)의 개시를 예방하기 위한 것이고, 이는 이어서 PKD를 가진 대상체의 기대 수명을 개선시킨다.
- [0373] 마이크로RNA의 miR-17~92 클러스터의 miR-17 계열 구성원은 PKD의 마우스 모델에서 상향조절된다. PKD의 마우스 모델에서 miR-17~92 클러스터의 유전적 결실은 신장 낭종 성장을 저감시키고, 신장 기능을 개선시키고, 생존을 연장시킨다(Patel et al, *PNAS*, 2013; 110(26): 10765-10770). 연구 툴(research tool) 화합물을 가진 miR-17의 저해는 PKD의 실험 모델에서 신장 중량-대-체중비를 저감시키고 신장 기능을 개선시키는 것을 나타내었다. 또한, miR-17 저해는 또한 인간 공여체의 낭종으로부터 유래된 1차 배양액의 증식 및 낭종 성장을 억제하였다.
- [0374] PKD를 지니는 대상체에 투여하기 위하여 충분히 효능이 있고, 안전하며 편리한 하나 이상의 miR-17 계열 구성원의 저해제를 확인하기 위하여, miR-17 시드 서열과 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 대략 200개의 변형된 올리고뉴클레오타이드는 다양한 길이 및 화학 조성물을 갖도록 설계되었다. 화합물의 길이는 9 내지 20개의 연결된 뉴클레오사이드의 범위이며, 화합물은 화학적 변형의 개수, 유형 및 배치가 변화하였다. 약리학, 약동학 거동 및 안전성이 화합물의 화학 구조에 기초하여 단순히 예측될 수 없으므로, 화합물은, 바람직하지 않은 특성을 가진 화합물을 제거하도록 설계된 일련의 검정에서, 역가, 효능, 약동학 거동, 안전성 및 대사 안정성을 포함하는 특징에 대해서 시험관내 및 생체내 둘 다에서 평가되었다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 거의 200개의 화합물의 각각은 우선 더 복잡한 생체내 검정(예컨대, 약동학 프로파일, 효능, 독성)에서 추가로 시험하기 위하여 적합한 더 적은 세트의 화합물을 확인하기 위하여, 수개의 시험관내 검정(예컨대, 역가, 독성, 대사 안정성)에서 시험되었다. 이 선별 과정은 PKD의 치료를 위한 후보 약제학적 제제를 확인하였다.
- [0375] 본 발명의 소정의 화합물
- [0376] 본 명세서에서는, 9개의 연결된 뉴클레오사이드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드; 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 화합물이 제공되며, 여기서 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3'으로의 배향으로 하기 뉴클레오사이드 패턴을 갖는다:

[0377]

$N_S N_S N_M N_F N_F N_M N_S N_S$

[0378]

여기서 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고; 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-CACUUU-3'을 포함하며, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신 또는 5-메틸사이토신 중 한쪽이다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 5'-AGCACUUUG-3'이되, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신 또는 5-메틸사이토신 중 한쪽이다. 소정의 실시형태에 있어서, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 각각의 연결은 독립적으로 포스포다이에스터 연결 및 포스포로티오에이트 연결로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이다.

[0379]

본 명세서에서는 구조 $A_S G_S C_M A_F C_F U_M U_S G_S$ 의 구조의 화합물; 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되되, 여기서 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신 또는 5-메틸 사이토신 중 한쪽이다. 소정의 실시형태에 있어서, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 각각의 연결은 독립적으로 포스포다이에스터 연결 및 포스포로티오에이트 연결로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이다.

[0380]

본 명세서에서는 구조 $A_S G_S C_M A_F C_F U_M U_S G_S$ 의 화합물; 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되되, 여기서 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 각각의 연결은 독립적으로 포스포다이에스터 연결 및 포스포로티오에이트 연결로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이다.

[0381]

본 명세서에서는 9개의 연결된 뉴클레오사이드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드; 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 화합물이 제공되되, 여기서 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3'으로의 방향으로 하기 뉴클레오사이드 패턴을 갖는다:

[0382]

$N_S N_S N_M N_F N_F N_M N_S N_S$

[0383]

여기서 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고, 그리고 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이며; 그리고 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 핵염기 서열 5'-CACUUU-3'을 포함하되, 여기서 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신 또는 5-메틸사이토신 중 한쪽이다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 5'-AGCACUUUG-3'이되, 여기서 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신 또는 5-메틸사이토신 중 한쪽이다. 소정의 실시형태에 있어서, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이다.

[0384]

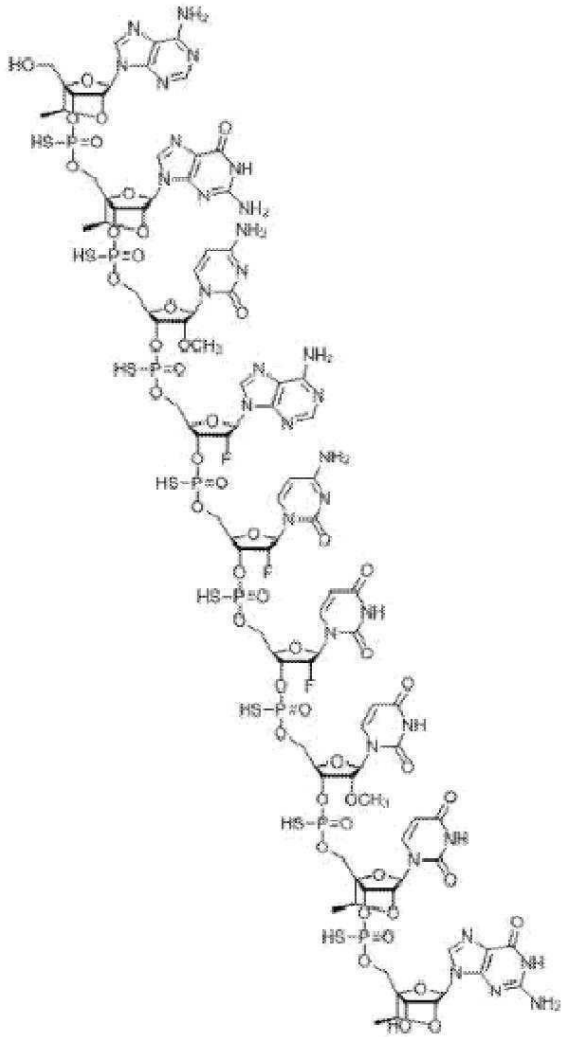
구조 $A_S G_S C_M A_F C_F U_M U_S G_S$ 의 화합물; 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 본 명세서에서 제공되되, 여기서 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신 또는 5-메틸 사이토신 중 한쪽이고, 그리고 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 소정의 실시형태에 있어서, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이다.

[0385]

본 명세서에서는 구조 $A_S G_S C_M A_F C_F U_M U_S G_S$ 의 화합물; 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되되, 여기서 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이며, 그리고 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이다.

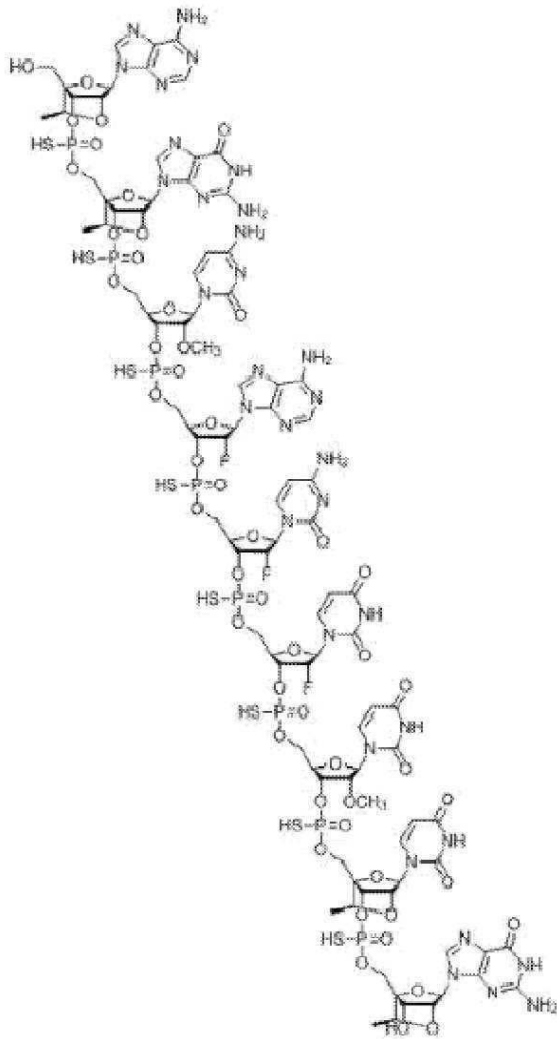
[0386]

본 명세서에서는 RG4326이라 지칭되는 변형된 올리고뉴클레오타이드가 제공되되, 여기서 변형된 올리고뉴클레오타이드의 구조는



[0387]

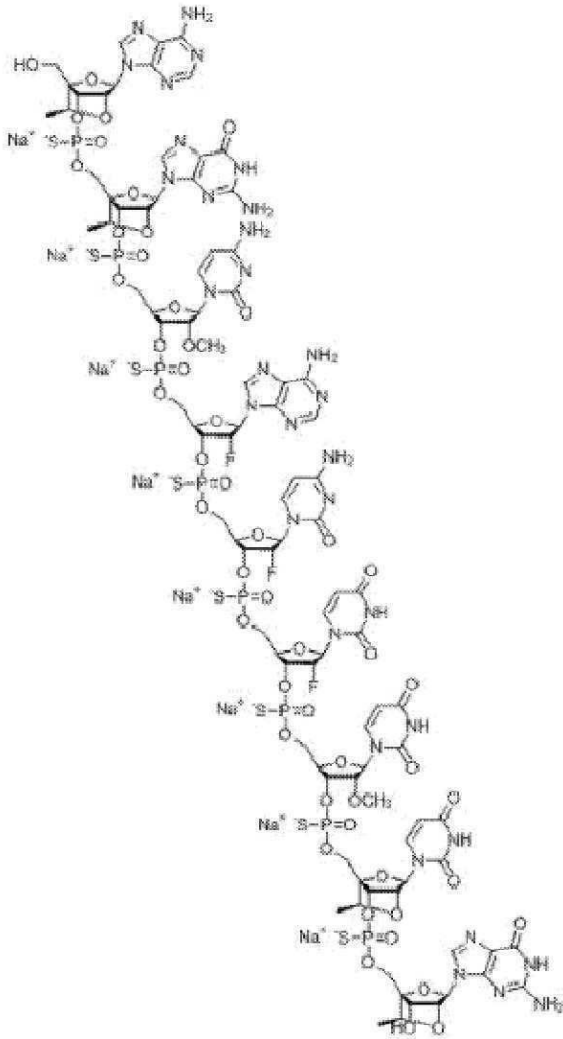
이다. 본 명세서에서는 또한 변형된 올리고뉴클레오타이드 RG4326의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다. 따라서, 몇몇 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 갖거나 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:



[0388]

염은 하기 구조를 갖는다:

. RG4326의 비제한적인 예시적인 약제학적으로 허용 가능한



[0389]

[0390]

몇몇 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 약제학적으로 허용 가능한 염은 분자당 포스포로티오에이트 및/또는 포스포다이에스터 연결이 있는 소수의 양이온성 반대이온(예컨대, Na^+)을 포함한다(즉, 몇몇 포스포로티오에이트 및/또는 포스포다이에스터 연결은 양성자화된다). 몇몇 실시형태에 있어서, RG4326의 약제학적으로 허용 가능한 염은 RG4326의 분자당 8개 미만의 양이온성 반대이온(예컨대, Na^+)을 포함한다. 즉, 몇몇 실시형태에 있어서, RG4326의 약제학적으로 허용 가능한 염은, 평균 RG4326의 분자당 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개의 양이온성 반대이온을 포함할 수 있으며, 나머지 포스포로티오에이트기는 양성자화된다.

[0391]

본 발명의 소정의 용도

[0392]

본 명세서에서는 세포 내 miR-17 계열의 하나 이상의 구성원의 활성도를 저해하기 위한 방법이 제공되되, 해당 방법은 세포를 miR-17 시드 서열에 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공된 화합물과 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0393]

본 명세서에서는 대상체에서 miR-17 계열의 하나 이상의 구성원의 활성도를 저해하기 위한 방법이 제공되되, 해당 방법은 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 miR-17 계열의 하나 이상의 구성원과 연관된 질환을 지닌다.

[0394]

본 명세서에서는 다낭성 신장 질환(PKD)의 치료 방법이 제공되되, 해당 방법은 치료를 필요로 하는 대상체에게 miR-17 시드 서열과 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 다낭성 신장 질환을 지닌다. 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환은 상염색체 우성 다낭성 신장 질환(ADPKD), 상염색체 열성 다낭성 신장 질환(ARPKD) 및 콩팥황폐증(NPHP)으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환은 상염색체 우성 다낭성 신장 질환(ADPKD) 및 상염색체 열성 다낭성 신장 질환(ARPKD)으로부터 선택된다.

- [0395] 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 비-신장 지표, 또한 다낭성 신장 질환을 특징으로 하는 장애를 지닌다. 이러한 장애는, 예를 들어, 주버트 증후군 및 관련 장애(JSRD), 맥켈 증후군(MKS) 또는 바르데-비들 증후군(BBS)을 포함한다. 따라서, 본 명세서에서는 다낭성 신장 질환(PKD)의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 miR-17 시드 서열에 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하며, 대상체는 주버트 증후군 및 관련 장애(JSRD), 맥켈 증후군(MKS) 또는 바르데-비들 증후군(BBS)을 지닌다. 본 명세서에서는 다낭성 신장 질환(PKD)의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 miR-17 시드 서열에 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 대상체는 주버트 증후군 및 관련 장애(JSRD), 맥켈 증후군(MKS) 또는 바르데-비들 증후군(BBS)을 갖는 것으로 의심된다.
- [0396] 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환은 상염색체 우성 다낭성 신장 질환(ADPKD)이다. ADPKD는 *PKD1* 또는 *PKD2* 유전자에서 돌연변이를 초래한다. ADPKD는, 낭종 형성 및 신장 확대가 60세 환자의 50%에서 신장 부전 및 궁극적으로 말기 신장 질환을 초래하는 진행성 질환이다. ADPKD 환자는 장기간 투석 및/또는 신장 이식을 필요로 할 수 있다. ADPKD는 신장 부전의 가장 빈번한 유전적 원인이다. 낭종의 과도한 증식은 ADPKD의 홀마크 병리적 특징이다. PKD의 관리에서, 치료를 위한 주요 목표는 신장 기능을 유지하는 것 그리고 말기 신장 질환(ESRD)의 개시를 예방하는 것이고, 이는 이어서 PKD를 가진 대상체의 기대 수명을 개선시킨다. 총 신장 용적은 일반적으로 ADPKD 환자에서 지속적으로 증가하며, 이 증가는 신장 기능의 감소와 상관이 있다. 본 명세서에서는 ADPKD의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 miR-17 시드 서열과 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 ADPKD를 지니거나 이를 지니는 것으로 의심되는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0397] 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환은 상염색체 열성 다낭성 신장 질환(ARPKD)이다. ARPKD는 *PKHD1* 유전자의 돌연변이에 의해 초래되고, 소아에서 만성 신장 질환의 원인이다. ARPKD의 전형적인 신장 표현형은 확대된 신장이지만; 그러나, ARPKD는 다른 장기, 특히 간에 대한 현저한 효과를 지닌다. ARPKD 환자는 말기 신장 질환으로 진행하고 15세의 어린이에게 신장 이식을 필요로 한다. 본 명세서에서는 ARPKD의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 miR-17 시드 서열과 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 ARPKD를 지니거나 이를 지니는 것으로 의심되는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0398] 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환은 콩팥황폐증(NPHP)이다. 콩팥황폐증은 소아에서 ESRD의 빈번한 원인인 상염색체 열성 낭종 신장 질환이다. NPHP는 정상 또는 저감된 크기의 신장, 피질수질 접합부에 집중된 낭종 및 요세관간질 섬유증을 특징으로 한다. 수개의 NPHP 유전자 중 하나, 예를 들어, *NPHP1*에서의 돌연변이는, NPHP 환자에서 확인되었다. 본 명세서에서는 NPHP의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 miR-17 시드 서열과 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 NPHP를 지니거나 이를 지니는 것으로 의심되는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0399] 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환을 지니는 대상체는 주버트 증후군 및 관련 장애(JSRD)를 지닌다. JSRD는 뇌, 신장 및 골격 이상을 비롯한 광범위한 홀마크 특징을 포함한다. JSRD를 가진 소정의 대상체는, JSRD의 홀마크 특징에 부가해서 다낭성 신장 질환을 지닌다. 따라서, 본 명세서에서는 JSRD를 지니는 대상체에서 다낭성 신장 질환의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 miR-17 시드 서열과 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 JSRD를 지니는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 JSRD를 지니는 것으로 의심된다.
- [0400] 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환을 지니는 대상체는 맥켈 증후군(MKS)을 지닌다. MKS는, 중추신경계, 골격계, 간, 신장 및 심장을 비롯하여 신체의 많은 부분에서 심각한 증상 및 증후군을 가진 장애이다. MKS의 공통 특징은 신장, 및 신장 확대에서 많은 체액-채워진 낭종의 존재이다. 따라서, 본 명세서에서는 MKS의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 miR-17 시드 서열과 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 MKS를 지니는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 MKS를 지니는 것으로 의심된다.
- [0401] 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환을 지니는 대상체는 바르데-비들 증후군(BBS)을 지닌다. BBS는 눈, 심장, 신장, 간 및 소화계를 비롯하여 신체의 많은 부분에 걸리는 장애이다. BBS의 홀마크 특징은 신장 낭종의 존재이다. 따라서, 본 명세서에서는 BBS를 지니는 대상체에서 다낭성 신장 질환의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 miR-17 시드 서열과 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에서 제공되는 화합물을 BBS를 지니는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 BBS를 지니는 것으로 의심된다.
- [0402] 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물의 투여 전에 PKD를 지니는 것으로 진단되었다. PKD의 진단은, 제한 없이 대상체의 가족력, 임상 특징(제한 없이, 고혈압, 단백뇨,

혈뇨, 및 손상된 GFR 포함), 신장 조영 연구(제한 없이, MRI, 초음파 및 CT 스캔 포함) 및/또는 조직학적 분석을 포함하는 파라미터의 평가를 통해서 달성될 수 있다.

- [0403] 소정의 실시형태에 있어서, PKD의 진단은 *PKD1* 또는 *PKD2* 유전자 중 하나 이상에서 돌연변이에 대한 선별을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, ARPKD의 진단은 *PKHP1* 유전자의 돌연변이에 대한 선별을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, NPHP의 진단은 *NPHP1*, *NPHP2*, *NPHP3*, *NPHP4*, *NPHP5*, *NPHP6*, *NPHP7*, *NPHP8* 또는 *NPHP9* 유전자 중 하나 이상에서의 돌연변이에 대한 선별을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, JSRD의 진단은 *NPHP1*, *NPHP6*, *AHI1*, *MKS3*, 또는 *RPGRIP1L* 유전자에서의 돌연변이에 대한 선별을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, MKS의 진단은 *NPHP6*, *MKS3*, *RPGRIP1L*, *NPHP3*, *CC2D2A*, *BBS2*, *BBS4*, *BBS6* 또는 *MKS1* 유전자에서의 돌연변이에 대한 선별을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, BBS의 진단은 *BBS2*, *BBS4*, *BBS6*, *MKS1*, *BBS1*, *BBS3*, *BBS5*, *BBS7*, *BBS8*, *BBS9*, *BBS10*, *BBS11* 또는 *BBS12* 유전자에서의 돌연변이에 대한 선별을 포함한다.
- [0404] 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 증가된 총 신장 용적을 지닌다. 소정의 실시형태에 있어서, 총 신장 용적은 높이-조정된 총 신장 용적(HtTKV)이다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 고혈압을 지닌다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 손상된 신장 기능을 지닌다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 개선된 신장 기능을 필요로 한다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 손상된 신장 기능을 지니는 것으로 확인된다.
- [0405] 소정의 실시형태에 있어서, 하나 이상의 miR-17 계열 구성원의 수준은 PKD를 지니는 대상체의 신장에서 증가된다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여 전에, 대상체는 신장에서 하나 이상의 miR-17 계열 구성원의 증가된 수준을 갖는 것으로 결정된다. miR-17 계열 구성원의 수준은 신장 생검 재료로부터 측정될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여 전에, 대상체는 대상체의 소변 또는 혈액에서 하나 이상의 miR-17 계열 구성원의 증가된 수준을 갖는 것으로 결정된다.
- [0406] 본 명세서에서 제공되는 실시형태의 임의의 것에 있어서, 대상체는, 대상체에서 다낭성 신장 질환을 진단하기 위하여, 예를 들어, 다낭성 신장 질환의 원인을 결정하기 위하여, 대상체에서 다낭성 신장 질환의 정도를 평가하기 위하여, 그리고/또는 치료에 대한 대상체의 반응을 결정하기 위하여 소정의 시험을 받을 수 있다. 이러한 시험은 다낭성 신장 질환의 마커를 평가할 수 있다. 사구체여과율 및 혈액 요소 질소 수준과 같은 이들 시험 중 어떤 것은 또한 신장 기능의 지표이다. 다낭성 질환의 마커는, 제한 없이, 대상체에서의 총 신장 용적의 측정; 대상체에서의 고혈압의 측정; 대상체에서의 신장 통증의 평가; 대상체에서의 섬유증의 측정; 대상체에서의 혈액 요소 질소 수준의 측정; 대상체에서의 혈청 크레아티닌 수준의 측정; 대상체에서의 크레아티닌 청소율의 측정; 대상체에서의 단백뇨의 측정; 대상체에서의 알부민:크레아티닌 비의 측정; 대상체에서의 사구체여과율의 측정; 대상체에서의 혈뇨의 측정; 대상체의 소변에서의 NGAL 단백질의 측정; 및/또는 대상체의 소변에서의 KIM-1 단백질의 측정을 포함한다. 본 명세서에서 달리 나타내지 않는 한, 혈액 요소 질소 수준, 혈청 크레아티닌 수준, 크레아티닌 청소율, 단백뇨, 알부민:크레아티닌비, 사구체여과율 및 혈뇨는 대상체의 혈액(예컨대 전혈 또는 혈청)에서의 측정치를 지칭한다.
- [0407] 다낭성 신장 질환의 마커는 실험실 시험에 의해 결정된다. 개별 마커에 대한 기준 범위는 실험실마다 다를 수 있다. 그 변동은, 예를 들어, 사용된 특정 검정법의 차이에 연유할 수 있다. 따라서, 각각 정상 상한치(ULN)와 정상 하한치(LLN)로도 공지된, 모집단 내 마커의 정상 분포의 상한치와 하한치는 실험실마다 다를 수 있다. 임의의 특정 마커에 대해서, 의료종사자는, 정상 분포 밖의 어떤 수준이 임상적으로 관련되는지 그리고/또는 질환을 나타내는지를 결정할 수 있다. 예를 들어, 의료종사자는 다낭성 신장 질환을 지니는 대상체에서 신장기능의 감소율을 나타낼 수 있는 사구체여과율을 결정할 수 있다.
- [0408] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 화합물의 투여는 하나 이상의 임상적으로 유리한 성과를 초래한다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 신장 기능을 개선시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 신장 기능의 감소율을 둔화시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 총 신장 용적을 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 총 신장 용적의 증가율을 둔화시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 높이-조정된 총 신장 용적(HtTKV)을 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 HtTKV의 증가율을 둔화시킨다.
- [0409] 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 낭종 성장을 저해시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 낭종 성장의 증가율을 둔화시킨다. 몇몇 실시형태에 있어서, 낭종은 대상체의 신장에 존재한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 낭종은 신장 이외의 장기, 예컨대, 간에 존재한다.
- [0410] 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 신장 통증을 완화시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대

상체에서 신장 통증의 증가를 둔화시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 신장 통증의 개시를 지연시킨다.

- [0411] 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 고혈압을 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 고혈압의 악화를 둔화시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 고혈압의 개시를 지연시킨다.
- [0412] 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 신장의 섬유증을 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체의 신장에서의 섬유증의 악화를 둔화시킨다.
- [0413] 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 말기 신장 질환의 개시를 지연시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 투석 시기를 지연시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 신장 이식 시기를 지연시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 기대 수명을 개선시킨다.
- [0414] 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 단백뇨를 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 단백뇨의 악화를 둔화시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 단백뇨의 개시를 지연시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 혈뇨를 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 혈뇨의 악화를 둔화시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 혈뇨의 개시를 지연시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 혈액 요소 질소 수준을 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 혈청 크레아티닌 수준을 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 크레아티닌 청소율을 개선시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 알부민:크레아티닌 비를 저감시킨다.
- [0415] 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 사구체여과율을 개선시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체에서 사구체여과율의 감소율을 둔화시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 사구체여과율은 추정된 사구체여과율(eGFR)이다. 소정의 실시형태에 있어서, 사구체여과율은 측정된 사구체여과율(mGFR)이다.
- [0416] 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체의 소변에서 호중성 젤라티나제-연관 리포칼린(NGAL) 단백질을 저감시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체의 소변에서 신장 손상 분자-1(KIM-1) 단백질을 저감시킨다.
- [0417] 본 명세서에서 제공되는, 실시형태의 임의의 것에 있어서, 대상체는 대상체의 질환의 정도를 평가하기 위하여 소정의 시험을 받을 수 있다. 이러한 시험은, 제한 없이, 대상체에서의 총 신장 용적의 측정; 대상체에서의 고혈압의 측정; 대상체에서의 신장 통증의 측정; 대상체의 신장에서의 섬유증의 측정; 대상체에서의 혈액 요소 질소 수준의 측정; 대상체에서의 혈청 크레아티닌 수준의 측정; 대상체의 혈액에서의 크레아티닌 청소율의 측정; 대상체에서의 단백뇨의 측정; 대상체에서의 알부민:크레아티닌 비의 측정; 대상체에서의 사구체여과율의 측정 (여기서 사구체여과율이 추정 또는 측정됨); 대상체의 소변에서의 호중성 젤라티나제-연관 리포칼린(NGAL) 단백질의 측정; 및/또는 대상체의 소변에서의 신장 손상 분자-1(KIM-1) 단백질의 측정을 포함한다.
- [0418] 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환을 지니는 대상체는 저감된 삶의 질을 경험한다. 예를 들어, 다낭성 신장 질환을 지니는 대상체는 경험 신장 통증일 수 있으며, 이는 대상체의 삶의 질을 저감시킬 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 투여는 대상체의 삶의 질을 개선시킨다.
- [0419] 본 명세서에서 제공되는 실시형태의 임의의 것에 있어서, 대상체는 인간 대상체이다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 대상체는 성인이다. 소정의 실시형태에 있어서, 성인은 적어도 21세이다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 대상체는 소아 대상체이고, 즉, 대상체는 21세 미만이다. 소아 모집단은 관리 기관에 의해 규정될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 대상체는 청소년이다. 소정의 실시형태에 있어서, 청소년은 적어도 12세 내지 21세 미만이다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 대상체는 소아이다. 소정의 실시형태에 있어서, 소아는 적어도 2세 내지 12세 미만이다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 대상체는 유아이다. 소정의 실시형태에 있어서, 유아는 적어도 1개월 내지 2세 미만이다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 신생아이다. 소정의 실시형태에 있어서, 신생아는 1개월령 미만이다.
- [0420] 본 명세서에서 제공되는 화합물의 임의의 것은 요법에서 사용하기 위한 것일 수 있다. 본 명세서에서 제공되는 화합물의 임의의 것은 다낭성 신장 질환의 치료에서 사용하기 위한 것일 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환은 상염색체 우성 다낭성 신장 질환이다. 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환은 상염색체 열성 다낭성 신장 질환이다. 소정의 실시형태에 있어서, 다낭성 신장 질환은 콩팥황폐증이다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체는 주버트 증후군 및 관련 장애(JSRD), 맥켈 증후군(MKS) 또는 바르테-비들 증후군(BBS)을 갖는다.
- [0421] 본 명세서에서 제공되는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 임의의 것은 요법에서 사용하기 위한 것일 수 있다. 본

명세서에서 제공되는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 임의의 것은 다낭성 신장 질환의 치료에서 사용하기 위한 것일 수 있다.

- [0422] 본 명세서에서 제공되는 화합물의 임의의 것은 약제의 제조에서 사용하기 위한 것일 수 있다. 본 명세서에서 제공되는 화합물의 임의의 것은 다낭성 신장 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0423] 본 명세서에서 제공되는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 임의의 것은 약제의 제조에 사용하기 위한 것일 수 있다. 본 명세서에서 제공되는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 임의의 것은 다낭성 신장 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0424] 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물 중 임의의 것은 다낭성 신장 질환의 치료에 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0425] 소정의 추가의 요법
- [0426] 본 명세서에서 열거된 다낭성 신장 질환 또는 임의의 병태에 대한 치료는 하나 초과와 요법을 포함할 수 있다. 이와 같이, 소정의 실시형태에 있어서, miR-17에 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 본 명세서에 제공 화합물을 투여하는 것에 부가해서 적어도 하나의 요법을 투여하는 것을 포함하는, 다낭성 신장 질환을 갖는 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체 치료 방법이 본 명세서에서 제공된다.
- [0427] 소정의 실시형태에 있어서, 적어도 하나의 추가의 요법은 약제학적 제제를 포함한다.
- [0428] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 항고혈압제이다. 항고혈압제는 대상체의 혈압을 제어하는데 사용된다.
- [0429] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 바소프레신 수용체 2 길항제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 바소프레신 수용체 2 길항제는 톨바탄이다.
- [0430] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 안지오텐신 II 수용체 차단제(ARB)를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 안지오텐신 II 수용체 차단제는 칸데사르탄, 이르베사르탄, 올메사르탄, 로사르탄, 발사르탄, 텔미사르탄 또는 에프로사르탄이다.
- [0431] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 안지오텐신 II 전환 효소(ACE) 저해제를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, ACE 저해제는 캅토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴, 벤나제프릴, 퀴나프릴, 포시노프릴 또는 라미프릴이다.
- [0432] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 이뇨제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 칼슘 통로 차단제이다.
- [0433] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 키나제 저해제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 키나제 저해제는 보수티닙 또는 KD019이다.
- [0434] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 아드레날린 수용체 길항제이다.
- [0435] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 알도스테론 수용체 길항제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 알도스테론 수용체 길항제는 스피로노락톤이다. 소정의 실시형태에 있어서, 스피로노락톤은 1일 10 내지 35mg의 범위의 용량으로 투여된다. 소정의 실시형태에 있어서, 스피로노락톤은 1일 25mg의 용량으로 투여된다.
- [0436] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 라파마이신(mTOR) 저해제의 포유동물 표적이다. 소정의 실시형태에 있어서, mTOR 저해제는 에버롤리무스, 라파마이신 또는 시롤리무스이다.
- [0437] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 호르몬 유사체이다. 소정의 실시형태에 있어서, 호르몬 유사체는 소마토스타틴 또는 부신피질자극 호르몬이다.
- [0438] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 항염증제 제제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항염증제 제제는 miR-21에 상보적인 변형된 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0439] 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 요법은 투석이다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 요법은 신장 이식이다.
- [0440] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 항염증제를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항염증제는 스테로이드계 항염증제. 소정의 실시형태에 있어서, 스테로이드계 항염증제는 코르티코스테로이드이다. 소정의 실시형태에 있어서, 코르티코스테로이드는 프레드니손이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항염증제는 비스테로이드계 항

염증 약물이다. 소정의 실시형태에 있어서, 비스테로이드계 항염증제는 이부프로펜, COX-I 저해제, 또는 COX-2 저해제이다.

[0441] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 섬유형성 신호에 대한 하나 이상의 반응을 차단하는 약제학적 제제이다.

[0442] 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 요법은, 항원 및 애주번트의 다량체 제시를 조합하는 백신 제형을 포함하는, 저-용량 사이클로포스파마이드, 티모스티몰린, 비타민 및 영양 보충물(예컨대, 비타민 A, C, E, 베타-카로텐, 아연, 셀레늄, 글루타티온, 조효소 Q-10 및 에키네시아를 포함하는, 항산화제), 및 백신, 예를 들면, 면역자극 복합체(ISCOM)를 포함하는, 신체 면역계를 증강시키는 약제학적 제제일 수 있다.

[0443] 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 요법은 본 발명의 1종 이상의 약제학적 조성물의 부작용을 치료 또는 향상시키도록 선택된다. 이러한 부작용은, 제한 없이, 주사 부위 반응, 간 기능 시험 비정상, 신장 기능 비정상, 간 독성, 신장 독성, 중추신경계 비정상 및 근병증을 포함한다. 예를 들어, 혈청에서 증가된 아미노기전달효소 수준은 간 독성 또는 간 기능 비정상을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 증가된 빌리루빈은 간 독성 또는 간 기능 비정상을 나타낼 수 있다.

[0444] 소정의 마이크로RNA 핵염기 서열

[0445] miR-17 계열은 miR-17, miR-20a, miR-20b, miR-93, miR-106a 및 miR-106b를 포함한다. miR-17 계열의 각각의 구성원은, 서열번호 1의 2 내지 7번 위치에 있는 핵염기 서열인, 핵염기 서열 5'-AAAGUG-3', 또는 miR-17 시드 서열을 포함하는 핵염기 서열을 갖는다. 부가적으로, miR-17 계열의 각 구성원은 시드 영역 외부에서 일부 핵염기 서열 동일성을 공유한다. 따라서, miR-17 시드 서열에 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오타이드는, miR-17 이외에도, miR-17 계열의 다른 마이크로RNA를 표적화할 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 miR-17 계열의 2개 이상의 마이크로RNA를 표적화한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 miR-17 계열의 3개 이상의 마이크로RNA를 표적화한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 miR-17 계열의 4개 이상의 마이크로RNA를 표적화한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 miR-17 계열의 5개 이상의 마이크로RNA를 표적화한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 miR-17 계열의 6개의 마이크로RNA를 표적화한다. 예를 들어, 핵염기 서열 5'-AGCACUUUG-3'을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 miR-17 계열의 모든 구성원을 표적화한다.

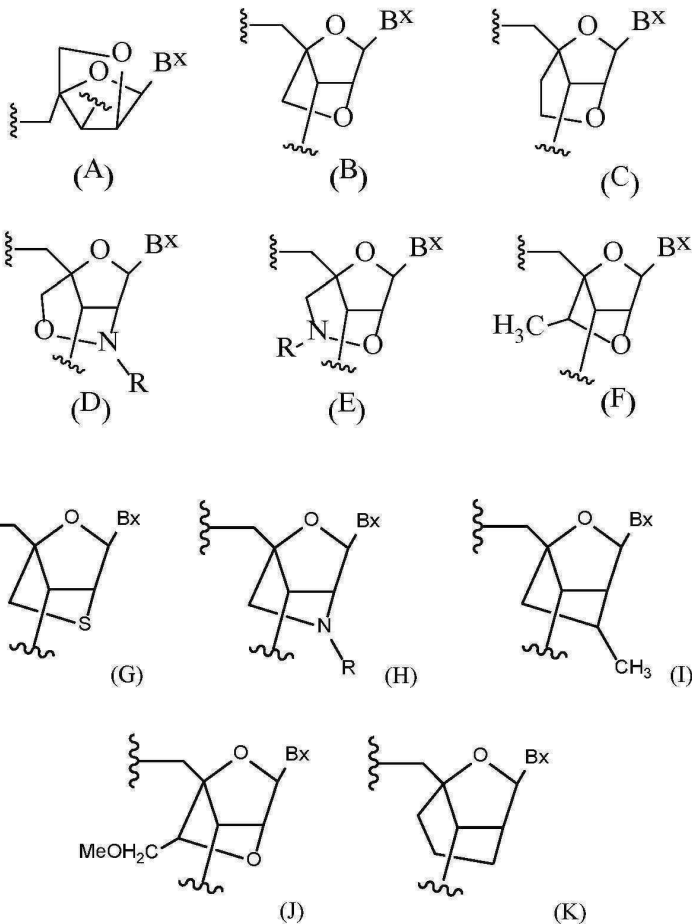
[0446] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-CACUUU-3'을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-GCACUUUG-3'을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-AGCACUUU-3'을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 5'-AGCACUUUG-3'이다.

[0447] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-CACTTT-3'을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-CACUTT-3'을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-CACUUT-3'을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-CACTUT-3'을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-CACUTT-3'을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기 서열 5'-CACTTU-3'을 포함한다.

[0448] 소정의 실시형태에 있어서, 각각의 사이토신은 독립적으로 비-메틸화 사이토신 및 5-메틸사이토신으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 적어도 하나의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이다. 소정의 실시형태에 있어서, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신이다. 소정의 실시형태에 있어서, 적어도 하나의 사이토신은 5-메틸 사이토신이다. 소정의 실시형태에 있어서, 각각의 사이토신은 5-메틸 사이토신이다.

[0449] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 연결된 뉴클레오사이드의 수는 이의 표적 마이크로RNA의 길이 미만이다. 표적 마이크로RNA의 길이 미만인 다수의 연결된 뉴클레오사이드를 가진 변형된 올리고뉴클레오타이드(여기서 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각 핵염기는 표적 마이크로RNA의 대응하는 위치에서 핵염기와 상보적임)는, 표적 마이크로RNA 서열의 영역에 완전 상보적인(또한 100% 상보적이라고도 지칭됨) 핵염기 서열을 가진 변형된 올리고뉴클레오타이드인 것으로 간주된다. 예를 들어, 9개의 연결된 뉴클레오사이드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오타이드(여기서 각 핵염기는 miR-17의 대응하는 위치에 상보적임)는 miR-17에 대해서 완전히 상보적이다.

- [0450] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 표적 마이크로RNA의 핵염기 서열에 관하여 하나의 미스매치를 가진 핵염기 서열을 갖는다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 표적 마이크로RNA의 핵염기 서열에 관하여 2개의 미스매치를 가진 핵염기 서열을 갖는다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 표적 마이크로RNA의 핵염기 서열에 관하여 2개 이하의 미스매치를 가진 핵염기 서열을 갖는다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 미스매치된 핵염기는 인접하고 있다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 미스매치된 핵염기는 인접하고 있지 않다.
- [0451] 본 출원에 수반되는 서열 목록이 실제로 필요한 경우 "RNA" 또는 "DNA" 중 어느 하나로써 각 핵염기 서열을 동정하지만, 이들 서열은 본 명세서에 특정된 화학적 변형의 조합으로 변형될 수 있다. 당업자라면, 서열 목록에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드를 기술하기 위하여 "RNA" 또는 "DNA"로서의 이러한 지칭이 다소 임의적이라는 것을 용이하게 이해할 것이다. 예를 들어, 2'-O-메톡시에틸 당 모이어티 및 티민 염기를 포함하는 뉴클레오타이드를 포함하는 본 명세서에서 제공되는 변형된 올리고뉴클레오타이드는, 뉴클레오타이드가 변형되고 천연 DNA 뉴클레오타이드가 아니더라도, 서열 목록에서 DNA 잔기로서 기재될 수 있다.
- [0452] 따라서, 서열 목록에 제공된 핵산 서열은, 변형된 핵염기를 가진 이러한 핵산을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아닌, 천연 또는 변형된 RNA 및/또는 DNA의 임의의 조합을 함유하는 핵산을 포괄하도록 의도된다. 추가의 예로서 그리고 제한 없이, 서열 목록에서 핵염기 서열 "ATCGATCG"를 가진 변형된 올리고뉴클레오타이드는, RNA 염기, 예컨대, 서열 "AUCGAUCG"를 가진 것 및 몇몇 DNA 염기 및 몇몇 RNA 염기, 예컨대 "AUCGATCG"를 가진 것과 다른 변형된 염기, 예컨대, "AT^{me}CGAUCG"(여기서 ^{me}C는 5-메틸사이토신을 나타냄)를 가진 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 이러한 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아닌, 변형되었는지 변형되지 않았든지간에, 이러한 핵염기 서열을 가진 임의의 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0453] *소정의 변형*
- [0454] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공된 올리고뉴클레오타이드는 핵염기, 당, 및/또는 뉴클레오타이드간 연결에 하나 이상의 변형을 포함할 수 있으며, 그와 같이 변형된 올리고뉴클레오타이드이다. 변형된 핵염기, 당, 및/또는 뉴클레오타이드간 연결은 뉴클레아제의 존재 하에 바람직한 특성, 예컨대, 증대된 세포 흡수, 다른 올리고뉴클레오타이드 또는 핵산 표적에 대한 증대된 친화성, 및 증가된 안정성 때문에 미변형된 형태에 대해서 선택될 수 있다.
- [0455] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0456] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 뉴클레오타이드는 당-변형된 뉴클레오타이드이다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 당-변형된 뉴클레오타이드는 천연 또는 변형된 복소환식 염기 모이어티를 더 포함할 수 있고/있거나 천연 또는 변형된 뉴클레오타이드간 연결을 더 포함할 수 있고/있거나 당 변형으로부터 독립적인 추가 변형을 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 당 변형된 뉴클레오타이드는 2'-변형된 뉴클레오타이드이고, 여기서 당 고리는 천연 리보스 또는 2'-데옥시-리보스로부터 2' 탄소에서 변형된다.
- [0457] 소정의 실시형태에 있어서, 2'-변형된 뉴클레오타이드는 이환식 당 모이어티를 갖는다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 이환식 당 모이어티는 알파 입체배치의 D 당이다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 이환식 당 모이어티는 베타 입체배치의 D 당이다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 이환식 당 모이어티는 알파 입체배치의 L 당이다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 이환식 당 모이어티는 베타 입체배치의 L 당이다.
- [0458] 이러한 이환식 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오타이드는 이환식 뉴클레오타이드 또는 BNA로서 지칭된다. 소정의 실시형태에 있어서, 이환식 뉴클레오타이드는, 이하에 나타난 바와 같은 (A) α-L-메틸렌옥시(4'-CH₂-O-2') BNA; (B) β-D-메틸렌옥시(4'-CH₂-O-2') BNA; (C) 에틸렌옥시(4'-(CH₂)₂-O-2') BNA; (D) 아미노옥시(4'-CH₂-O-N(R)-2') BNA; (E) 옥시아미노(4'-CH₂-N(R)-O-2') BNA; (F) 메틸(메틸렌옥시)(4'-CH(CH₃)-O-2') BNA(또한 구속된 에틸 또는 cEt로도 지칭됨); (G) 메틸렌-티오(4'-CH₂-S-2') BNA; (H) 메틸렌-아미노(4'-CH₂-N(R)-2') BNA; (I) 메틸 탄소환식(4'-CH₂-CH(CH₃)-2') BNA; (J) c-MOE(4'-CH(CH₂-OMe)-O-2') BNA 및 (K) 프로필렌 탄소환식(4'-(CH₂)₃-2') BNA를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.



[0459]

[0460]

여기서 Bx는 핵염기 모이어티이고, R은 독립적으로 H, 보호기 또는 C₁-C₁₂ 알킬이다.

[0461]

소정의 실시형태에 있어서, 2'-변형된 뉴클레오사이드는 F, OCF₃, O-CH₃(또한 "2'-OMe"로도 지칭됨), OCH₂CH₂OCH₃(또한 "2'-O-메톡시에틸" 또는 "2'-MOE"로도 지칭됨), 2'-O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(CH₃)₂, -O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ 및 O-CH₂-C(=O)-N(H)CH₃로부터 선택된 2'-치환기를 포함한다.

[0462]

소정의 실시형태에 있어서, 2'-변형된 뉴클레오사이드는 F, O-CH₃ 및 OCH₂CH₂OCH₃로부터 선택된 2'-치환기를 포함한다.

[0463]

소정의 실시형태에 있어서, 당-변형된 뉴클레오사이드는 4'-티오 변형된 뉴클레오사이드이다. 소정의 실시형태에 있어서, 당-변형된 뉴클레오사이드는 4'-티오-2'-변형된 뉴클레오사이드이다. 4'-티오 변형된 뉴클레오사이드는 4'-O가 4'-S로 대체된 β-D-리보뉴클레오사이드를 갖는다. 4'-티오-2'-변형된 뉴클레오사이드는 2'-치환기로 대체된 2'-OH를 갖는 4'-티오 변형된 뉴클레오사이드이다. 적합한 2'-치환기는 2'-OCH₃, 2'-O-(CH₂)₂OCH₃ 및 2'-F를 포함한다.

[0464]

소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 뉴클레오사이드간 변형을 포함한다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오사이드간 연결은 변형된 뉴클레오사이드간 연결이다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 뉴클레오사이드간 연결은 인 원자를 포함한다.

[0465]

소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오사이드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 연결이다.

[0466]

소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 변형된 핵염기를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 핵염기는 5-하이드록시메틸 사이토신, 7-테아자구아닌 및 7-테아자아데닌으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 핵염기는 7-테아자-아데닌, 7-테아자구아노신, 2-아미노피리딘 및 2-피리돈으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 핵염기는, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로핀일유

라실 및 5-프로핀일사이토신을 포함하는, 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린 으로부터 선택된다.

[0467] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 핵염기는 다환식 복소환을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 핵 염기는 삼환식 복소환을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 핵염기는 페녹사진 유도체를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 페녹사진은 G-클램프로써 당염기에 공지된 핵염기를 형성하도록 추가로 변형될 수 있다.

[0468] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 얻어진 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 활성도, 세포 분포 또는 세포 흡수를 증대시키는 하나 이상의 모이어티에 접합된다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 모이어티는 콜레스테롤 모이어티이다. 소정의 실시형태에 있어서, 모이어티는 지질 모이어티이다. 접합용의 추가의 모이어티는 탄수화물, 펩타이드, 항체 또는 항체 단편, 인지질, 바이오틴, 펜아진, 폴레이트, 펜안트리딘, 안트라퀴논, 아크리딘, 플루오레신, 로다민, 쿠마린 및 염료를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 탄수화물 모이어티는 N-아세틸-D-갈락토사민(GalNac)이다. 소정의 실시형태에 있어서, 접합체 기는 올리고뉴클레오타이드 에 직접 부착된다. 소정의 실시형태에 있어서, 접합체 기는 아미노, 아자이드, 하이드록실, 카복실산, 티올, 불 포화(예컨대, 이중 또는 삼중 결합), 8-아미노-3,6-다이옥사옥탄산(ADO), 석신이미드 4-(N-말레이미도메틸) 사 이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC), 6-아미노헥산산(AHEX 또는 AHA), 치환된 C1-C10 알킬, 치환된 또는 비치환된 C2-C10 알켄일, 및 치환된 또는 비치환된 C2-C10 알킨일로부터 선택되는 연결 모이어티에 의해 변형된 올리고뉴 클레오타이드에 부착된다. 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 치환기는 하이드록실, 아미노, 알콕시, 아자이드, 카복시, 벤질, 페닐, 나이트로, 티올, 티오알콕시, 할로젠, 알킬, 아릴, 알켄일 및 알킨일로부터 선택된다.

[0469] 소정의 이러한 실시형태에 있어서, 화합물은, 예를 들어, 특성, 예를 들어, 뉴클레아제 안정성을 증대시키기 위 하여 변형된 올리고뉴클레오타이드의 한쪽 또는 양쪽 말단에 부착되는 하나 이상의 안정화기를 갖는 변형된 올 리고뉴클레오타이드를 포함한다. 안정화기에 캡 구조가 포함된다. 이들 말단 변형은 엑소뉴클레아제 분해로부터 변형된 올리고뉴클레오타이드를 보호하고, 세포 내에 전달 및/또는 국제화를 도울 수 있다. 캡은 5'-말단(5'-캡)에서, 또는 3'-말단(3'-캡)에서 존재할 수 있거나, 또는 양쪽 말단 상에 존재할 수 있다. 캡 구 조는, 예를 들어, 역전된 테옥시 무염기성 캡을 포함한다.

[0470] 소정의 약제학적 조성물

[0471] 본 명세서에서는 본 명세서에서 제공된 화합물 또는 변형된 올리고뉴클레오타이드, 및 약제학적으로 허용 가능 한 희석제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적으로 허용 가능한 희석 제는 수용액이다. 소정의 실시형태에 있어서, 수용액은 식염수 용액이다. 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 약제학적으로 허용 가능한 희석제는 멸균 희석제인 것으로 이해된다. 적합한 투여 경로는 제한 없이 정맥내 및 피하 투여를 포함한다.

[0472] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 투약량 단위의 형태로 투여된다. 예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, 투약량 단위는 정제, 캡슐 또는 볼루스 주사의 형태이다.

[0473] 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 제제는 적합한 희석제에서 제조되고, 제조 동안 산 또는 염기로 pH 7.0 내 지 9.0으로 조정되고, 이어서 멸균 조건 하에 동결건조된 변형된 올리고뉴클레오타이드이다. 동결건조된 변형된 올리고뉴클레오타이드는 후속하여 적합한 희석제, 예컨대, 수용액, 예컨대, 물 또는 생리학적으로 상용성인 완 충액, 예컨대, 식염수 용액, 탱크 용액, 또는 링거 용액으로 재구성된다. 재구성된 제품은 피하 주사액으로서 또는 정맥내 주입액으로서 투여된다. 동결건조된 의약품은 (황산암모늄-처리된) 2mL 유형 I, 깨끗한 유리 바이 알에 포장될 수 있고, 브로모부틸 고무 마개로 막고, 알루미늄 오버실(overseal)로 밀봉될 수 있다.

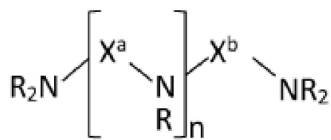
[0474] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 그의 기술-확립된 용법 수준에서 약제학 적 조성물에서 종래 발견되는 다른 보조물 성분을 추가로 함유할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 조성물은 추가의, 양립가능한, 약제학적-활성 물질, 예컨대, 항소양제, 수렴제, 국부 마취제 또는 항염증제를 함유할 수 있다.

[0475] 몇몇 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 본 발명의 조성물의 다양한 투약 형태를 물리적으로 제형화하는데 유용한 추가의 물질, 예컨대, 염료, 풍미제, 보존제, 산화방지제, 불투명제, 증점제 및 안정제를 함유할 수 있으며; 이러한 추가의 물질은, 또한 부형제, 예컨대, 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라 틴, 락토스, 아밀라제, 스테아르산마그네슘, 셀크, 규산, 점선 파라핀, 하이드록시메틸셀룰로스 및 폴리비닐피 롤리돈을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 각종 실시형태에 있어서, 이러한 물질은, 첨가된 경우, 본

발명의 조성물의 성분의 생물학적 활성도를 지나치게 방해하지 않아야 한다. 제형은 멸균될 수 있고, 요망하는 경우, 보조제, 예컨대, 윤활제, 보존제, 안정제, 습윤제, 유화제, 삼투압에 영향을 미치는 염, 완충액, 착색제, 풍미제 및/또는 방향족 물질 그리고 제형의 올리고뉴클레오타이드(들)와 유해하게 상호작용하지 않는 동종의 것과 혼합될 수 있다. 주사용의 소정의 약제학적 조성물은 유성 또는 수성 비히클 내 현탁액, 용액 또는 에멀션이고, 제형제, 예컨대, 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 주사용 약제학적 조성물에서 사용하기에 적합한 소정의 용매는, 친유성 용매 및 지방 오일, 예컨대, 참깨 오일, 합성 지방산 에스터, 예컨대, 에틸 올레에이트 또는 트라이글리세라이드 및 리포솜을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대, 나트륨 카복시메틸 셀룰로스, 솔비톨 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 선택적으로, 이러한 현탁액은 또한 고농축 용액의 제조를 허용하기 위해 약제학적 제제의 용해도를 증가시키는 제제 또는 적합한 안정제를 함유할 수 있다.

[0476] 지질 모이어티는 다양한 방법으로 핵산 요법에서 사용되어 왔다. 하나의 방법에서, 핵산은 양이온성 지질 및 중성 지질의 혼합물로 제조된 사전형성된 리포솜 또는 리포플렉스 속에 도입된다. 또 다른 방법에서, 모노- 또는 폴리-양이온성 지질을 가진 DNA 복합체는 중성 지질의 존재 없이 형성된다. 소정의 실시형태에 있어서, 지질 모이어티는 특정한 세포 또는 조직에 약제학적 제제의 분포를 증가시키도록 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 지질 모이어티는 지방 조직에 약제학적 제제의 분포를 증가시키도록 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 지질 모이어티는 근육 조직에 약제학적 제제의 분포를 증가시키도록 선택된다.

[0477] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 핵산으로 복합체화된 지질 모이어티 또는 폴리아민 화합물을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 이러한 제제는 식 (Z)로 정의된 구조를 각각 개별적으로 갖는 1종 이상의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함한다:



[0478]

[0479] 여기서 각각의 X^a 및 X^b 는, 각각의 경우에, 독립적으로 C_{1-6} 알킬렌이고; n은 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이며; 각각의 R은 독립적으로 H이되, 제제에서 식 (Z)의 화합물의 분자의 적어도 약 80%에서 R 모이어티의 적어도 n + 2는 H가 아니고; m은 1, 2, 3 또는 4이며; Y는 O, NR^2 또는 S이고; R^1 은 알킬, 알켄일 또는 알킨일이며; 이들의 각각은 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환되고; R^2 는 H, 알킬, 알켄일 또는 알킨일이며; 이들의 각각은 선택적으로 치환되고, 이들의 각각은 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환되며; 단, n = 0이면, R 모이어티의 적어도 n + 3은 H가 아니다. 이러한 제제는, 지질 제제의 개시내용에 대하여 그 전문이 참고로 본 명세서에서 편입되는, PCT 공개 WO/2008/042973에 기재된다. 소정의 추가의 제제는 문헌[Akinc et al, *Nature Biotechnology* **26**, 561 - 569 (01 May 2008)]에 기재되어 있으며, 이 문헌은 지질 제제의 개시내용에 대하여 그 전문이 참고로 본 명세서에서 편입된다.

[0480] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 혼합, 용해, 과립화, 당의정-제조, 분말화, 에멀션화, 캡슐화, 포획화 또는 타정 공정을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아닌 공지된 기술을 이용하여 제조된다.

[0481] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 고형물(예컨대, 분말, 정제 및/또는 캡슐)이다. 이러한 실시형태 중 일부에서, 하나 이상의 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 고체 약제학적 조성물은, 전분, 당, 희석제, 과립화제, 윤활제, 결합제 및 봉해제를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아닌, 당해 분야에서 공지된 성분을 이용하여 제조된다.

[0482] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 데포 제제로서 제형화된다. 일부의 이러한 데포 제제는 비-데포 제제보다 전형적으로 더 오래 작용한다. 소정의 실시형태에 있어서, 이러한 제제는 이식으로 (예를 들어 피하로 또는 근육내로) 또는 근육내 주사로 투여된다. 소정의 실시형태에 있어서, 데포 제제는 적합한 폴리머 또는 소수성 물질(예컨대, 허용 가능한 오일에서 에멀션) 또는 이온교환수지를 이용하여, 또는 난용성 유도체로서, 예를 들어, 난용성 염으로서 제조된다.

[0483] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 전달 시스템을 포함한다. 전달 시스템의 예는, 리포솜 및 에멀션을 포함한다. 특정 전달 시스템은 소수성 화합물을 포함하는 것을 포함하지만, 이들로

제한되는 것은 아닌 소정의 약제학적 조성물을 제조하는데 유용하다. 소정의 실시형태에 있어서, 소정의 유기 용매, 예컨대, 다이메틸설폭사이드가 사용된다.

[0484] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 특정 조직 또는 세포 유형에 본 발명의 하나 이상의 약제학적 체제를 전달하도록 설계된 하나 이상의 조직-특이적 전달 분자를 포함한다. 예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 조직-특이적 항체로 코팅된 리포솜을 포함한다.

[0485] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 지속-방출 시스템을 포함한다. 이러한 지속-방출 시스템의 비-제한적인 예는 고체 소수성 폴리머의 반침투성 기질이다. 소정의 실시형태에 있어서, 지속-방출 시스템은, 그의 화학 성질에 따라서, 일정 시간, 일, 주 또는 개월의 기간에 걸쳐서 약제학적 체제를 방출할 수 있다.

[0486] 주사용의 소정의 약제학적 조성물은 단위 투약 형태로, 예컨대, 앰플로 또는 다회 용량 용기로 제공된다.

[0487] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 약제학적 조성물은 치료적 유효량으로 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 치료적 유효량은 치료 중인 대상체의 생존을 연장시키는데 또는 질환의 증상을 예방, 완화 또는 향상시키는데 충분하다.

[0488] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 하나 이상의 변형된 올리고뉴클레오타이드는 전구약물로서 제형화된다. 소정의 실시형태에 있어서, 생체내 투여 시, 전구약물은 올리고뉴클레오타이드의 생물학적으로, 약제학적으로 또는 치료적으로 더욱 활성인 형태로 화학적으로 전환된다. 소정의 실시형태에 있어서, 전구약물은 이들이 대응하는 활성 형태보다 투여하기 더 쉽기 때문에 유용하다. 예를 들어, 소정 경우에, 전구약물은 대응하는 활성 형태보다 (예컨대, 경구 투여를 통해) 더욱 생체이용 가능할 수 있다. 소정 경우에, 전구약물은 대응하는 활성 형태에 비해서 개선된 용해도를 가질 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 전구약물은 대응하는 활성 형태보다 덜 수용성이다. 소정 경우에, 이러한 전구약물은 세포막을 가로질러 우월한 전달을 보유하고, 여기에서 수용성은 이동도에 해롭다. 소정의 실시형태에 있어서, 전구약물은 에스터이다. 일부의 이러한 실시형태에 있어서, 에스터는 투여시 카복실산으로 대사작용으로 가수분해된다. 소정 경우에, 카복실산 함유 화합물은 대응하는 활성 형태이다. 소정의 실시형태에 있어서, 전구약물은 산 기에 결합된 짧은 펩타이드(폴리아미노산)를 포함한다. 이러한 실시형태 중 일부에서, 펩타이드는 대응하는 활성 형태를 형성하기 위해 투여 시 절단된다.

[0489] 소정의 실시형태에 있어서, 전구약물은 활성 화합물이 생체내 투여 시 재생될 수 있도록 약제학적으로 활성 화합물 변형에 의해 생산된다. 전구약물은 약물의 수송 특징 또는 대사 안정성을 변경하도록, 부작용 또는 독성을 마스킹하도록, 약물의 풍미를 개선하도록 또는 약물의 다른 특징 또는 특성을 변경하도록 설계될 수 있다. 생체내 약동학적 과정 및 약물 대사의 지식 덕분에, 당업자는, 일단 약제학적 활성 화합물이 공지되면, 화합물의 전구약물을 설계할 수 있다(예컨대, 문헌[Nogrady (1985) Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, New York, 페이지 388-392] 참조).

[0490] 추가의 투여 경로는, 경구, 직장, 경점막, 장, 장관, 국소, 좌약, 흡입을 통해, 척추강내, 심장내, 심실내, 복강내, 비강내, 안구내, 중양내, 근육내 및 척수내 투여를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 척추강내 체제는 전신 노출보다 오히려 국부 노출을 달성하기 위해 투여된다. 예를 들어, 약제학적 조성물은 목적하는 효과의 영역에서(예컨대, 신장에) 직접 주사될 수 있다.

[0491] 소정의 키트

[0492] 본 발명은 또한 키트를 제공한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 키트는 본 명세서에 개시된 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 1종 이상의 화합물을 포함한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 키트는 대상체에게 화합물의 투여를 위하여 사용될 수 있다.

[0493] 소정의 실시형태에 있어서, 키트는 투여를 위하여 준비된 약제학적 조성물을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 바이알 내에 존재한다. 복수개, 예컨대, 10개의 바이알이 예를 들어 분배팩에 존재할 수 있다. 몇몇 실시형태에 있어서, 바이알은 주사기로 접근 가능하게 되도록 제조된다. 키트는 또한 화합물을 이용하기 위한 지침서를 포함할 수 있다.

[0494] 몇몇 실시형태에 있어서, 키트는 바이알에서보다 오히려 미리 충전된 주사기(예컨대, 예를 들어, 바늘 보호덮개를 가진 27 게이지, ½ 인치 바늘을 가진 단일-용량 주사기)에 존재할 수 있다. 복수개, 예컨대 10개의 미리 충전된 주사기가, 예를 들어, 분배팩에 존재할 수 있다. 키트는 또한 본 명세서에 개시된 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 투여하기 위한 지침서를 포함할 수 있다.

- [0495] 몇몇 실시형태에 있어서, 키트는 동결건조된 약물 제품으로서 본 명세서에서 제공되는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 약제학적으로 허용 가능한 희석제를 포함한다. 대상체에 투여하기 위한 제제에서, 동결건조된 약물 제품은 약제학적으로 허용 가능한 희석제에서 재구성된다.
- [0496] 몇몇 실시형태에 있어서, 본 명세서에 개시된 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물 이외에, 키트는 다음 중 하나 이상을 더 포함할 수 있다: 주사기, 알코올솜, 탈지면 및/또는 거즈 패드.
- [0497] **소정의 실험 모델**
- [0498] 소정의 실시형태에 있어서, 본 발명은 실험 모델에서 본 발명의 변형된 올리고뉴클레오타이드를 이용 및/또는 시험하는 방법을 제공한다. 당업자는 본 발명의 약제학적 제제를 평가하기 위한 이러한 실험 모델에 대하여 프로토콜을 선택 및 변형할 수 있다.
- [0499] 일반적으로, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 배양된 세포에서 먼저 시험된다. 적합한 세포 유형은 변형된 올리고뉴클레오타이드의 전달이 생체내에서 요망되는 세포 유형에 관련되는 것을 포함한다. 예를 들어, 본 명세서에서 기재된 방법의 연구에 적합한 세포 유형은 1차 또는 배양된 세포를 포함한다.
- [0500] 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드가 하나 이상의 miR-17 계열 구성원의 활성도를 간섭하는 정도가 배양된 세포에서 평가된다. 소정의 실시형태에 있어서, 마이크로RNA 활성도의 저해는 예상된 또는 입증된 마이크로RNA-조절된 전사체 중 하나 이상의 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. 마이크로RNA 활성도의 저해는 miR-17 계열 구성원-조절된 전사체, 및/또는 miR-17 계열 구성원-조절된 전사체(즉, miR-17 계열 구성원-조절된 전사체가 억제해제됨)에 의해 암호화된 단백질에서 증가를 초래할 수 있다. 또한, 소정의 실시형태에 있어서, 소정의 표현형 성과가 측정될 수 있다.
- [0501] 몇 개의 동물 모델은 인간 질환의 모델에서 하나 이상의 miR-17 계열 구성원의 연구를 위하여 당업자가 입수 가능하다. 다낭성 신장 질환의 모델은, *Pkd1* 및/또는 *Pkd2*에서 돌연변이 및/또는 결실을 가진 모델; 및 다른 유전자에서 돌연변이를 포함하는 모델을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. *Pkd1* 및/또는 *Pkd2*에서 돌연변이 및/또는 결실을 포함하는 PKD의 비제한 예시적인 모델은 저차형태 모델, 예컨대 *Pkd1*에서 미스센스 돌연변이를 포함하는 모델 및 *Pkd2*의 감소된 또는 불안정한 발현을 가진 모델; 유도성 조건적 녹아웃 모델; 및 조건적 녹아웃 모델을 포함한다. *Pkd1* 및 *Pkd2* 이외의 유전자에서 돌연변이를 포함하는 비제한 예시적인 PKD 모델은 *Pkhd1*, *Nek8*, *Kif3a* 및/또는 *Nphp3*에서 돌연변이를 가진 모델을 포함한다. PKD 모델은, 예컨대, 문헌 [Shibazaki *et al.*, *Human Mol. Genet.*, 2008; 17(11): 1505-1516; Happe and Peters, *Nat Rev Nephrol*, 2014; 10(10): 587-601; 및 Patel *et al.*, PNAS, 2013; 110(26): 10765-10770]에서 검토되어 있다.
- [0502] **소정 정량화 검정**
- [0503] 소정의 실시형태에 있어서, 마이크로RNA 수준은 시험관내 또는 생체내 세포 또는 조직에서 정량화된다. 소정의 실시형태에 있어서, 마이크로RNA 수준의 변화는 마이크로어레이 분석에 의해 측정된다. 소정의 실시형태에 있어서, 마이크로RNA 수준의 변화는 몇 개의 상업적으로 입수 가능한 PCR 검정 중 하나, 예컨대, TaqMan® 마이크로RNA 검정(Applied Biosystems)에 의해 측정된다.
- [0504] 항-miR 또는 마이크로RNA 모방체를 이용한 마이크로RNA 활성의 조절은 mRNA의 마이크로어레이 프로파일링에 의해 평가될 수 있다. 항-miR 또는 마이크로RNA 모방체에 의해 조절되는(증가 또는 감소되는) mRNA의 서열은 마이크로RNA의 표적이 아닌 mRNA의 조절과 마이크로RNA의 표적인 mRNA의 조절을 비교하기 위해, 마이크로RNA 시드 서열에 대하여 검색된다. 이와 같이 해서, 항-miR과 이의 표적 마이크로RNA, 또는 마이크로RNA 모방체와 이의 표적의 상호작용이 평가될 수 있다. 항-miR의 경우에, 발현 수준이 증가되는 mRNA는 항-miR이 상보적인 마이크로RNA에 대한 시드 매칭을 포함하는 mRNA 서열을 위하여 선별된다.
- [0505] 항-miR 화합물을 이용한 마이크로RNA 활성의 조절은, 메신저 RNA 자체의 수준, 또는 그로부터 전사된 단백질을 측정함으로써, 마이크로RNA의 메신저 RNA 표적의 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. 마이크로RNA의 안티센스 저해는 일반적으로 마이크로RNA의 메신저 RNA 표적의 단백질 및/또는 메신저 RNA의 수준의 증가를 초래하며, 즉, 항-miR 치료는 하나 이상의 표적 메신저 RNA의 억제해제를 초래한다.
- [0506] **실시예**
- [0507] 하기 실시예는 본 발명의 몇몇 실시형태를 더욱 완전히 예시하기 위하여 제공된다. 그러나, 이들은 본 발명의 넓은 범위를 제한하는 것으로 결코 해석되지 않아야 한다. 당업자는 본 발명의 정신으로부터 이탈하는 일 없이

각종 화합물을 설계하기 위하여 이 발견의 근원적인 원리를 쉽게 채택할 것이다.

[0508] 실시예 1: PKD에서 miR-17의 역할

[0509] 마이크로RNA의 miR-17~92 클러스터의 miR-17 계열 구성원은 PKD의 마우스 모델에서 상향 조절된다. PKD의 마우스 모델에서 miR-17~92 클러스터의 유전자 결실은 신장 낭종 성장을 저감시키고, 신장 기능을 개선시키며, 생존을 연장시킨다(Patel *et al*, *PNAS*, 2013; 110(26): 10765-10770). miR-17~92 클러스터는 각각 별개의 서열을 갖는 6개의 상이한 마이크로RNA, 즉, miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-19-b-1 및 miR-92a-1을 함유한다.

[0510] miR-17~92 클러스터는 두 마이크로RNA인 miR-17 및 miR-20a를 포함하는데, 이들은 마이크로RNA의 miR-17 계열의 구성원이다. 이 계열의 각 구성원은 시드 서열 동일성, 및 시드 영역 밖의 다양한 정도의 서열 동일성을 공유한다. miR-17 계열의 다른 구성원은 miR-20b, miR-93, miR-106a 및 miR-106b이다. miR-20b 및 miR-106a는 인간 X 염색체 상의 miR-106a~363 클러스터에 상주하고, miR-93 및 miR-106b는 인간 염색체 7의 miR-106b~25 클러스터 내에 상주한다. miR-17 계열 구성원의 서열은 표 1에 나타낸다.

표 1

마이크로 RNA 의 miR-17 계열		
마이크로 RNA	서열 (5' 에서 3' 으로) 볼드체의 시드 영역	서열번호
miR-17	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	1
miR-20a	UAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG	2
miR-20b	CAAAGUGCUCUAGUGCAGGUAG	3
miR-93	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	4
miR-106a	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	5
miR-106b	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	6

[0511]

[0512] 연구 툴 항-miR-17 화합물을 이용하는 이전의 연구는 PKD의 두 상이한 모델인 *Pkd2*-KO 모델(또한 *Pkhd1*/cre; *Pkd2*^{F/F} 모델로도 알려짐) 및 *Pcy* 모델에서 PKD에서의 miR-17의 역할을 확인하였다. miR-17에 상보적인 이 연구 툴 변형된 올리고뉴클레오타이드는 PKD의 마우스 모델에서 시험되었다. 항-miR-17 화합물은 DNA, 2'-MOE 및 S-cEt 당 모이어티를 지니고 길이가 19개의 연결된 뉴클레오사이드인 완전 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드였다(5'-CTGCACTGTAAGCACTTTG-3'; 서열번호 7). 이 화합물은 miR-17 계열의 다른 구성원에 관하여 미스매치를 지녔지만, 시험관내 검정에서의 시험은 miR-17 계열의 모든 구성원에 하이브리드화되고 이를 저해하는 것으로 드러났다.

[0513] *Pkd2*-KO 마우스는 다낭성 신장 질환을 자발적으로 발달시켰다. 마우스는 20 mg/kg의 툴 항-miR-17 화합물 또는 대조군 올리고뉴클레오타이드, 또는 PBS로 치료하였다. 그 결과는 *Pkd2*-KO 마우스의 항-miR-17 치료가 1차 치료 종말점인 신장 중량-대-체중비를 대조군 치료에 대해서 17%만큼 저감시킨 것을 입증하였다(p = 0.017). 항-miR-17 치료는 또한 *Pkd2*-KO 마우스에서 BUN 및 신장 손상 mRNA 바이오마커인, *Kim1* 및 *Ngal*의 발현을 유의하게 저감시켰다. 마지막으로, 항-miR-17 치료는 *Pkd2*-KO 마우스에서 저감된 혈청 크레아티닌 수준 및 저감된 낭종 지수 쪽으로 향하는 경향을 초래하였다. 이들 성과는 항-miR-대조군에서는 관찰되지 않았는데, 이는 이들이 특이적으로 miR-17 저해로 인한 것임을 나타낸다.

[0514] *Nphp3*에서 돌연변이를 보유하는 *Pcy* 마우스는 다낭성 신장 질환을 자발적으로 발달시키며, *Pkd2*-KO 마우스에서 관찰된 것보다 더 느린 질환의 진행을 보였다. 마우스는 50 mg/kg의 툴 항-miR-17 화합물, 또는 PBS로 총 26주 동안 주 1회 치료하였다. 항-miR-17로 치료된 *Pcy* 마우스에서 신장 중량 대 체중의 평균비는 PBS 단독으로 투여된 *Pcy* 마우스에서의 신장 중량 대 체중의 평균비보다 19% 낮았다(p = 0.0003). 항-miR-17로 치료된 *Pcy* 마우스는 PBS 단독으로 투여된 *Pcy* 마우스에 비해서 낭종 지수의 평균 28% 저감을 나타내었다(p = 0.008).

[0515] 이들 데이터는, PKD의 두 상이한 실험 모델에서, miR-17이 PKD의 치료에 대해서 검증된 표적임을 입증하였다.

[0516] 실시예 2: 화합물 설계 및 선별

[0517] 이 연구 툴 화합물이 PKD의 모델에서 효능을 나타내는 동안, 화합물은 생체내 연구에서 다소 전염증성인 것으로 관찰되었다. 또한, 이 연구 툴 화합물은 PKD의 치료에 대해서 약제학적 제제로서의 개발을 위하여 상당히 효능이 있지 않았다. 따라서, 선별은, PKD를 지니는 대상체에 대한 투여를 위하여 안전하고, 투여하기 편리하며, 상당히 효능이 있는 하나 이상의 miR-17 계열 구성원의 저해제를 확인하기 위하여 수행되었다. 추가의 기준은, 표적 장기에 전달되는 항-miR-17 화합물의 비율을 증대시키기 위하여 상당히 높은 신장-대-간 전달비였다.

[0518] miR-17 시드 서열에 대해서 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 대략 200개의 변형된 올리고뉴클레오타이드가, 다양한 길이 및 화학 조성을 갖도록 설계되었다. 화합물의 길이는 9 내지 20개의 연결된 뉴클레오타이드의 범위였고, 화합물은 화학 변형의 수, 유형 및 배치에 있어서 변화시켰다. 역가 및 안전성이 화합물의 핵염기 화학 구조에 기초하여 예측될 수 없으므로, 화합물은, 바람직하지 않은 특성을 가진 화합물을 제거하도록 설계된 일련의 검정에서, 역가, 효능, 약동학 거동, 점도, 안전성 및 대사 안정성을 포함하는 특징에 대해서 시험관내 및 생체내 둘 다에서 평가되었다. 소정의 검정에서, 툴 항-miR-17 화합물은, 라이브러리의 화합물이 비교되는 벤치마크로서 사용되었다. 이하에 기재된 바와 같이, 거의 200개의 화합물의 각각은, 더욱 복잡한 생체내 검정(예컨대, 약동학 프로파일, 효능, 독성)에서 추가로 시험하기 위하여 적합한 더 적은 세트의 화합물을 확인하기 위하여, 수개의 시험관내 검정(예컨대, 역가, 독성, 대사 안정성)에서 먼저 시험되었다. 선별 과정은 역가, 약동학 프로파일(예컨대, 신장으로의 전달), 및 안전성 특징에 대한 강조와 함께 모든 검정으로부터 집계된 데이터에 기초하여 후보 약제학적 제제를 확인하기 위하여 설계되었다.

[0519] 시험관내 및 생체내 역가 및 효능

[0520] 시험관내 역가는 루시페라제 리포터 검정을 이용해서 평가되었다. 루시페라제 유전자의 3'-UTR에서 탠덤으로 2개의 완전히 상보적인 miR-17 결합 부위를 가진 miR-17에 대한 루시페라제 리포터 플라스미드. 최대 저해가 툴 항-miR-17 화합물의 것보다 더 큰 경우에 더 긴 길이의 화합물이 선택되었다. 더 짧은 화합물, 예컨대, 9-량체는 전형적으로 더 긴 화합물에 대해서 사용된 동일한 검정 조건에서 최대로 활성이 아니므로, 더 짧은 화합물이 적절한 대조군 화합물에 대해서 최대 저해에 기초하여 선택되었다. 이와 같이 해서, 길이 및 화학 조성 둘 다에서 다양한 화합물이 추가의 시험에 포함되었다.

[0521] 생체내 역가는 마이크로RNA 폴리솜 이동 검정(miPSA)을 이용해서 평가되었다. 이 검정은 화합물이 정상 및 PKD 마우스 내 신장에서 miR-17 표적에 직접 연결되는 정도를 결정하는데 사용되었다. miPSA는 활성 miRNA가 번역 활성 고분자량(HMW) 폴리솜에서 이들의 mRNA 표적에 결합된다는 원리에 의존하는 반면, 저해된 miRNA는 저 MW(LMW) 폴리솜에 상주한다. 항-miR에 의한 치료는 HMW 폴리솜에서 LMW 폴리솜으로 마이크로RNA의 이동을 유발한다. 따라서, miPSA는 상보성 항-miR에 의한 마이크로RNA 표적 관여의 직접 측정을 제공한다(Androsavich et al., *Nucleic Acids Research*, 2015, 44: e13).

[0522] 다수의 선별 기준을 통과한 선택된 화합물은 PKD의 실험 모델, 예컨대, *Pkd2*-KO 마우스 모델 및 *Pcy* 마우스 모델에서 효능에 대한 평가되었다. 마우스는 항-miR-17 화합물로 치료되었고, 신장 중량 대 체중의 비, 혈액 요소 질소 수준, 혈청 크레아티닌 수준, 및 신장 낭종 지수를 비롯한 임상적으로 관련된 종말점이 평가되었다.

[0523] 약동학 특성

[0524] 대사 안정성은 마우스 간 용해물에서 각각의 항-miR-17 화합물을 항온처리함으로써 평가되었다. 24시간 후에, 남아 있는 온전한 화합물의 퍼센트가 계산된다. 24시간 항온처리 후 안정적이지 않은 화합물은 잠재적으로 생체내에서 안정적이지 않다.

[0525] 선택 화합물의 약동학 특성 및 조직 분포는 야생형 C57BL6 마우스 및 JCK 마우스(PKD의 실험 모델)에서 평가되었다. 화합물은 0.3, 3, 또는 30 mg/kg의 용량으로 야생형 마우스에, 또는 3, 30, 또는 100 mg/kg의 용량으로 JCK 마우스에 투여되었다. 7일 후에, 마우스를 희생시켰다. 신장 및 간 조직을 수집하였다. 항-miR-17 화합물의 농도는 간 및 신장에서 측정되었다. 간에 비해서 신장에서 더 높은 수준으로 축적되는(즉, 더 높은 신장-대 간 비를 갖는) 화합물이 바람직하였다.

[0526] 다수의 선별 기준을 통과한 선택된 화합물에 대한 전체 약동학 프로파일이 C57BL6 마우스에서 얻어졌다. 하나의 연구에서, 마우스에게는 30 mg/kg으로 항-miR-17 화합물의 단일 피하 주사로 투여한다. 다른 연구에서는, 마우스에게 2개월 기간에 걸쳐서 39 mg/kg으로 항-miR-17 화합물의 3회 피하 주사로 투여한다. 각 연구에서, 간 및 신장 샘플은 주사 후에 1시간, 4시간, 8시간, 1일, 4일, 7일, 14일, 28일 및 56일에 수집한다.

- [0527] 독성
- [0528] 시험관내 검정에서, 독성에 대한 잠재성은 생화학 형광 결합 검정(FBA) 및 간 또는 신장 슬라이스 검정을 이용하여 평가하였다. FBA는 각 화합물로 형광 염료를 항온처리하고, 형광을 즉시 측정함으로써 수행된다. 고도로 형광성인 화합물은 생체내에서 독성을 생성하는 잠재성을 지닌다. 간 또는 신장 슬라이스 검정은 래트로부터 단리된 코어 간 샘플로부터 조직의 슬라이스를 항온처리함으로써 수행된다. 24-시간 항온처리 후에, RNA는 조직 슬라이스로부터 추출되고, 18개의 전염증성 유전자의 발현 수준이 측정된다. 전염증성 유전자 발현의 유도는 생체내 전염증성 효과에 대한 잠재성을 나타낸다.
- [0529] 추가의 생체내 독성 평가는 300 mg/kg의 항-miR-17 화합물의 단일 피하 주사로 정상 마우스(Sv129 마우스)에 투여함으로써 수행하였다. 4일 후에, 마우스를 희생시키고, 혈액을 혈청 화학 분석을 위하여 수집하고, 간 및 비장을 칭량하였으며, RNA는 신장 및 간 조직으로부터 단리시켰다. 테트라트라이코캡타이드 반복체를 가진 인터페론-유도된 단백질(IFIT)인 전염증성 유전자의 발현 수준을 측정하였다. IFIT 발현의 유도가 잠재적으로 독성을 나타내므로, IFIT 발현을 유도하지 않는 화합물이 바람직하다.
- [0530] 선별 과정 전체를 통해서, 소정의 항-miR-17 화합물은 다수의 검정에서 잘 수행되었다. 하나의 화합물이 매 검정마다 상부 수행하였던 반면에, 다수의 선별 단계 후에, 소정의 화합물은 높은 역가 및 비교적 높은 신장-대-간 비와 같은 특히 바람직한 특징을 나타내었다. 시험관내 검정에서 시험된 거의 200종의 화합물로부터, 대략 20종이 생체내에서 추가의 시험을 위한 기준을 충족시켰다. 이들 20종의 화합물은 궁극적으로 5가지 화합물로, 최종적으로 하나의 화합물인 RG4326으로 좁아졌으며, 이는 최상의 전체 프로파일을 가졌고, 후보 약제학적 체제로서 선택되었다. 이 화합물의 확인 후에, 추가의 연구는 역가, 약동학 프로파일 및 효능을 평가하기 위하여 수행되었다.
- [0531] RG4326은 이하의 서열 및 화학 변형 패턴을 갖는다: $AsG_sC_mAfC_FU_mU_sG_s$, 여기서 아래첨자 "M"이 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-O-메틸 뉴클레오사이드이고, 아래첨자 "F"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 2'-플루오로 뉴클레오사이드이며, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드이고, 각각의 사이토신은 비-메틸화 사이토신 및 모든 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 이하의 실시예에서 예시된 바와 같이, 이 화합물은 생체내 miR-17의 강력한 표적 관여, PKD의 마우스 모델에서의 효능 및 신장에서의 분포를 바람직하게 하는 약동학 프로파일을 나타내었다. 또한, RG4326의 점도는 대략 150 mg/ml의 농도(20°C에서 수중)에서 6 cP인 것으로 결정되었고, 따라서 용액 중 RG4326이 피하 주사에 의한 투여에 적합하다.
- [0532] **실시예 3: 추가의 짧은 항-miR-17 화합물**
- [0533] 추가의 9-뉴클레오타이드 화합물(RG4047)(여기서 각 뉴클레오사이드는 S-cEt 뉴클레오사이드임)은, RG4326에 대한 활성도, 안전성 및 약동학 프로파일을 비교하기 위하여, 선택된 검정에서 시험되었다.
- [0534] 이용된 하나의 검정은 루시페라제 검정이었다. 위에서 언급된 바와 같이, 짧은(예컨대, 9개의 뉴클레오타이드) 항-miR-17 화합물은, (이들이 생체내 연구에서 이점을 가질 수 있지만), 시험관내 형질감염 검정에서 반드시 잘 수행되지 않는다. 따라서, 루시페라제 검정 형질감염 조건은 짧은 항-miR-17 화합물에 최적화되었으므로, 화합물의 저해 활성도가 측정될 수 있었다.
- [0535] RG5124는 대조군 화합물로서 사용되었다. RG5124는 길이가 9개의 연결된 뉴클레오사이드이고, RG4326과 동일한 당 변형 패턴을 갖지만, miR-17에 상보적이지 않은 핵염기 서열을 갖는다.
- [0536] miR-17에 대한 루시페라제 리포터 플라스미드는 루시페라제 유전자의 3'-UTR에서 완전 상보적인 miR-17 결합 부위를 함유하였다. HeLa 세포는 마이크로RNA 모방체 및 이의 동족체 루시페라제 리포터로 형질감염되고 나서, 0.001, 3, 10, 30, 100 및 300nM의 용량으로 항-miR-17로 형질감염되었다. 24시간 형질감염 기간의 말기에, 루시페라제 활성도가 측정되었다. 표 2에 나타난 바와 같이, RG4047은, RG4326과 같이 강력하지 않지만, 용량 의존 방식으로 miR-17 활성도를 저해하였다. SD는 표준 편차를 나타낸다.

표 2

루시페라제 리포터 검정

			항-miR-17의 각 농도(nM)에서의 루시페라제 배수 억제해제					
			300 nM	100 nM	30 nM	10 nM	3 nM	0.001 nM
RG4326	A ₃ G ₃ C ₃ A ₃ C ₃ U ₃ U ₃ G ₃	평균	11.7	13.9	14.1	10.4	5.3	1
		SD	3.6	6.5	6.9	4.9	1.8	0.2
RG5124	A ₃ C ₃ A ₃ U ₃ U ₃ G ₃ C ₃ A ₃ C ₃	평균	1	0.7	1	2.6	1.2	1
		SD	0.3	0.4	0.4	2.8	0.4	0.2
RG4047	A ₃ G ₃ C ₃ A ₃ C ₃ U ₃ U ₃ G ₃	평균	7.5	8.2	3.5	2.2	1.6	1
		SD	3	3	3	3	3	60

[0537]

[0538]

RG4047은 역가 생체내, 안전성, 그리고 신장 및 간에 대한 분포에 대해서 평가되었다. 더 큰 라이브러리 선별과 함께, 시험관내 역가는 생체내 거동을 예측하지 못했다. 신장 및 간 둘 다에서 약간의 전염증성 신호를 생성한 RG4047은 야생형 마우스 및 PKD 마우스 둘 다에서 생체내에서 RG4326보다 miR-17의 덜 강력한 저해제였고, 훨씬 더 낮은 신장-대-간 비를 가졌다. 이들 연구는 RG4047의 활성도 및 특성이 RG4326에 대해서 개선되지 않았던 것을 드러내었다.

[0539]

실시예 4: 추가의 시험관내 검정에서의 RG4326 활성도

[0540]

추가의 시험관내 검정은 RG4326의 역가를 더 조사하기 위하여 수행하였다. 루시페라제 리포터 검정은 miR-17 계열 구성원 miR-17, miR-20a, miR-93 및 miR-106b를 저해하는 RG4326의 능력을 시험하기 위하여 사용되었다. miR-20a, miR-93 및 miR-106b의 각각에 대한 루시페라제 리포터 플라스미드가 루시페라제 유전자의 3'-UTR에서 완전 상보적인 마이크로RNA 결합 부위로 작제되었다. HeLa 세포를 마이크로RNA 모방체 및 이의 동족체인 루시페라제 리포터로 형질감염시키고 나서 100 nm의 용량으로 항-miR-17로 형질감염시켰다. 표 3에 나타난 바와 같이, miR-17, miR-20a, miR-93 및 miR-106b의 각각은 RG4326에 의해 저해되었으며, 이것은, 항-miR-17 화합물이 miR-17 계열의 다수의 구성원을 저해하는 것을 입증한다. RG4326이 시험되지 않은 다른 miR-17 계열 구성원인 miR-20b 및 miR-106b에 대해서 100% 상보적이므로, 이들 마이크로RNA 또한 저해할 것으로 예상된다. 표 3에서의 데이터는 또한 도 1a에 도시되어 있다.

표 3

시험관내 miR-17 계열의 저해

	평균 루시페라제 배수 억제	SD
miR-17	13.1	1.6
miR-20	21.7	2.8
miR-93	10.9	0.9
miR-106	17.7	5.5

[0541]

[0542]

내인성 표적의 miR-17 조절을 저해하는 RG4326의 능력을 시험하기 위하여, miR-17 표적 유전자 억제해제는 정상 및 PKD 마우스 신장으로부터 수개의 신장 세포 유형에서 시험관내에서 평가되었다. 마우스 신장 수집 관 세포(IMCD3)를 0.3nM, 1.2nM, 4.7nM, 18.8nM, 75nM 및 300nM의 RG4326 또는 대조군 올리고뉴클레오타이드, RG5124로 치료하였다. 추가의 대조군은 미치료 세포 및 모의-형질감염된 세포(형질감염 시약만으로 처리된 세포)를 포함하였다. 24-시간 형질감염 기간 후에, 세포를 수집하고 RNA를 추출하였다. miR-17로 표적화된 18개의 유전자의 mRNA 수준이 측정되었고, 모의-형질감염에 비해서 Log2 배수-변화(Log2FC)로서 나타난, 약동학적 시그니처 점수(PD Signature Score)를 내기 위하여 평균내었다. 표 4에 나타난 바와 같이, 대조군 치료가 아닌 RG4326은, 용량-의존적 방식으로 miR-17 표적을 억제해제시켰다. 데이터는 또한 도 2b에 도시되어 있다.

표 4

IMCD3 세포에서의 miR-17 PD 시그니처 점수

		항-miR-17 화합물의 농도(nM)					
		0.3	1.2	4.7	18.8	75	300
RG4326	평균 Log2FC	-0.075	-0.067	0.027	0.272	0.369	0.373
	SD	0.020	0.017	0.014	0.037	0.006	0.002
RG5124	평균 Log2FC	-0.083	-0.103	-0.097	-0.108	-0.124	-0.065
	SD	0.033	0.013	0.026	0.041	0.039	0.037

[0543]

[0544]

miR-17 표적을 억제해제시키는 RG4326의 능력은 또한 정상 마우스와 PKD 마우스 둘 다의 신장에서부터 유래된 추가의 신장 세포 유형에서 평가되었다. 세포는 30nM의 RG4326 또는 대조군 올리고뉴클레오타이드 RG5124로 치료되었다. 24-시간 형질감염 기간 후에, 세포를 수집하고 RNA를 추출하였다. miR-17에 의해 표적화된 18개 유전자의 mRNA 수준을 측정하고, 모의-형질감염에 대한 Log2 배수-변화(Log2FC)로서 표현된, 약동학적 시그니처 점수(PD Signature Score)를 제공하기 위하여 평균내었다. 표 5에 나타난 바와 같이, 대조군 올리고뉴클레오타이드가 아닌 RG4326은, 수개의 상이한 건강한 신장-유래 세포 유형과 병든 신장-유래 세포 유형에서 miR-17 표적을 억제해제시켰다. "P < 0.05"는 일원 ANOVA(one-way ANOVA)에 의해 계산된 바와 같이 0.05 미만의 p-값을 나타낸다. "NS"는 통계학적으로 유의하지 않은 변화를 나타낸다.

표 5

신장 세포 유형에서의 miR-17 표적의 억제해제

마우스 신장 세포 유형	세포주 명명	마우스 신장 기원	RG4326	RG5124
			PD-시그니처 점수(Log2FC@30nM)	PD-시그니처 점수(Log2FC@30nM)
집합관	DBA-WT	정상	0.40 +0.09; p<0.05	0.10 +0.05; ns
집합관	DBA-PKD	PKD	0.52 +0.06; p<0.05	-0.07 +0.02; ns
집합관	IMCD3	정상	0.57 +0.06; p<0.05	-0.03 +0.05; ns
집합관	MI	정상	0.18 +0.18; p<0.05	-0.08 +0.02; ns
원위 세뇨관	MDCT	정상	0.10+0.01; p<0.05	0.03 +0.01; ns
근위 세뇨관	LTL-WT	정상	0.35 +0.02; p<0.05	-0.04 +0.02; ns
근위 세뇨관	LTL-PKD	PKD	0.39+0.01; p<0.05	-0.03 +0.04; ns

[0545]

[0546] 실시예 5: RG4326의 생체내 역가

[0547]

마이크로RNA 폴리솜 이동 검정(miPSA)은 정상 및 PKD 마우스 내 신장에서 miR-17에 직접 연결되는 화합물을 확인하는데 사용되었다. miPSA는 활성 miRNA가 번역 활성 고분자량(HMW) 폴리솜에서 이들의 mRNA 표적에 결합된다는 원리에 의존하는 반면, 저해된 miRNA는 저MW(LMW) 폴리솜에 상주한다. 항-miR에 의한 치료는 HMW 폴리솜에서 LMW 폴리솜으로 마이크로RNA의 이동을 유발한다. 따라서, miPSA는 상보성 항-miR에 의한 마이크로RNA 표적 관여의 직접 측정을 제공한다(Androsavich et al., *Nucleic Acids Research*, 2015, 44: e13).

[0548]

이 실험을 위하여, 선택된 PKD 모델은 인간 콩팥황폐증 유형 9를 초래하는 동일 유전자와 연관된 서서히 진행 중인 신장 낭종 질환의 마우스 모델인 JCK 모델이었다. 이 마우스에서의 신장 낭종은 네프론의 다수의 영역에서 전개되었다.

[0549]

C57BL6 마우스는 RG4326 또는 툴 항-miR-17(실시예 1에 기재됨)의 0.3, 3, 및 30mg/kg의 단일의 피하 용량으로 치료되었다. JCK 마우스는 RG4326 또는 툴 항-miR-17의 3, 30 및 100 mg/kg의 단일의 피하 용량으로 치료되었다. PBS 치료는 추가의 대조군으로서 사용되었다. 치료 후 7일째에, 마우스를 희생시키고, 신장 조직을 miPSA를 위하여 단리시켰다. 표 6에 나타난, 계산된 변위 점수(calculated displacement score)는 정상 신장 및 PKD 신장 둘 다에서의 RG4326에 의한 강력한 표적 관여를 입증하였다. RG4326으로 치료 후의 변위 점수는 툴 항-miR-17 화합물로 치료 후의 변위 점수보다 컸다. 야생형 마우스 및 JCK 마우스에 대한 데이터는 또한 각각 도 3a 및 도 3b에 도시되어 있다.

표 6

생체내 RG4326에 의한 표적 관여

		정상 마우스				JCK 마우스		
		항-miR 용량				항-miR 용량		
		0.3 mg/kg	3 mg/kg	30 mg/kg		3 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg
RG4326	평균	2.29	2.91	3.19	평균	1.63	2.58	2.73
	SD	0.52	0.97	0.81	SD	0.04	0.32	0.53
틀 항-miR-17	평균	1.51	2.05	2.77	평균	0.97	1.67	2.08
	SD	0.51	0.79	0.55	SD	0.21	0.27	0.46
PBS	평균	0.03			평균	0.00		
	SD	0.52			SD	0.28		

[0550]

[0551] 실시예 6: PKD의 실험 모델에서 RG4326의 생체내 효능

[0552] PKD의 두 실험 모델은 효능을 평가하는데 사용되었다. *Pkd2*-KO 마우스는 다낭성 신장 질환을 자발적으로 발병시키고, ADPKD의 모델로서 사용되었다. 문헌[Patel *et al*, *PNAS*, 2013; 110(26): 10765-10770] 참조. *Nphp3*에 돌연변이를 보유하는 *Pcy* 마우스는 다낭성 신장 질환을 자발적으로 발병시키고, *Pkd2*-KO 마우스에서 관찰된 것보다 질환을 더 느리게 진행시킨다. *Pcy* 모델은 콩팥황폐증의 모델로서 사용된다. 문헌[Happe and Peters, *Nat. Rev. Nephrol.*, 2014; 10: 587-601] 참조.

[0553] *Pkd2*-KO 모델

[0554] RG4326은 ADPKD의 *Pkd2*-KO 마우스 모델에서 시험되었다. 이 모델은 또한 *PKD2*-KO 모델이라 지칭된다. 야생형 마우스는 대조군 마우스로서 사용되었다. miR-17과 관련이 없는 miRNA에 대해서 상보적인 올리고뉴클레오타이드는 특이성에 대해서 치료 대조군으로서 사용되었다(RG5124).

[0555] 10, 11, 12 및 19일령의 각각에서, 마우스의 성별-일치된 한배새끼에게는 20 mg/kg의 용량으로 RG4326(n = 12), 20 mg/kg의 용량으로 RG5124(n = 12), 20 mg/kg의 용량으로 틀 항-miR-17(n = 12), 또는 PBS(n = 12)의 피하 주사로 투여하였다. 28일령에 마우스를 희생시키고, 신장 중량, 체중, 낭종 지수, 혈청 크레아티닌 수준 및 혈액 요소 질소(BUN) 수준을 측정하였다. BUN 수준은 신장 기능의 마커이다. 더 높은 BUN 수준은 더 나쁜 신장 기능과 상관이 있으므로, BUN 수준의 저감은 저감된 신장 상처 및 손상 및 개선된 기능의 지표이다. 통계학적 유의성은 던넛(Dunnett)의 다수 상관을 이용하는 일원 ANOVA에 의해 계산하였다.

[0556] 낭종 지수는 총 신장 면적에 대한 낭종 면적의 조직학적 측정치이다. 이 분석을 위하여, 하나의 신장은 냉 PBS 및 4%(wt/vol) 파라폼알데하이드로 관류시키고, 이어서 수확하였다. 신장을 2시간 동안 4% 파라폼알데하이드로 고정시키고, 이어서, 절편화를 위하여 파라핀으로 포매시켰다. 신장의 시상 단면을 헤마톡실린 및 에오신(H&E)으로 염색하였다. 모든 화상 처리 단계는 자동화되었고, 자유롭게 이용 가능한 오픈 소스 소프트웨어(화상처리 툴의 EB Image Bioconductor package2 및 ImageMagick3 슈트로부터의 함수를 이용하는 R1 스크립트(R1 script))에서 행해졌다. Aperio SVS 포맷의 신장 H&E 화상은 TIFF 화상으로 전환되었고, 제1 프레임은 화상 분석을 위하여 유지되었다. 우선, 총 신장 단면적은 화상 분할을 이용해서 계산하였다. 화상 분할은 신장 낭종을 포함하는 모든 내부 구조를 찾는 데 마찬가지로 사용되었다. 3개 화소의 평균 반경 미만의 모든 물체를 제거하기 위하여 필터를 적용하였다. 낭종 지수는 총 신장 면적으로 나눈 낭종과 연관된 화상 면적이다. 낭종 지수는 각 개별적인 동물에 대해서 종방향 및 횡방향 신장 단면에 대해서 각기 계산되었다. 개별적인 동물의 조합된 낭종 지수는 각 치료군에 대해서 비교하였다.

[0557] 결과는 표 7에 나타낸다. RG4326으로 치료된 *Pkd2*-KO 마우스에서의 평균 신장 중량 대 체중의 비(KW/BW 비)는 PBS가 투여된 *Pkd2*-KO 마우스의 평균 KW/BW 비보다 29% 더 낮았다(p = 0.0099). RG4326으로 치료된 *Pkd2*-KO 마우스는 PBS로 투여된 *Pkd2*-KO 마우스에 비해서 낭종 지수의 평균 12% 저감을 나타내었지만, 이 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다. 평균 BUN 수준은 PBS로 처리된 *Pkd2*-KO 마우스에서 13%만큼 저감되었지만, 이 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다. RG4326으로 치료된 *Pkd2*-KO 마우스에서의 평균 혈청 크레아티닌 수준은 PBS가 투여된 *Pkd2*-KO 마우스에서보다 18% 더 낮았지만, 이 결과는 통계학적으로 유의하지 않았다. 이들 상과는 대조군 올리고뉴클레오타이드에서는 관찰되지 않았으며, 이는 miR-17 저해로 인해 특이적인 것을 나타낸다. 이전의 연

구는 톨 항-miR-17 화합물에 의한 치료 후에 *Pkd2*-KO에서의 KW/BW 비, BUN 및 낭종 지수의 저감을 입증하였지만, 이 연구에서 통계학적으로 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 대조군 올리고뉴클레오타이드, RG5124에 의한 치료는, 신장 중량 대 체중비, 낭종 지수, 또는 BUN을 저감시키지 않았다. KW/BW 비, BUN 및 낭종 지수는 또한 각각 도 4a, 도 4b 및 도 4c에 도시되어 있다.

표 7

PKD의 *Pkd2*-KO 모델에서의 RG4326의 효능

		KW/BW mg/g 비	BUN mg/dl	낭종 지수	혈청 크레아티닌 mg/dl
RG4326	평균	40.98	72.92	50.3	0.26
	SD	5.973	15.1	10.21	0.05
RG5124	평균	55.35	86.67	56.67	0.31
	SD	11.73	20.18	6.679	0.08
PBS	평균	57.72	83.58	56.86	0.31
	SD	18.47	23.96	7.928	0.14

[0558]

[0559]

이들 결과는, RG4326 치료가, 체중에 대한 신장 용적인, PKD의 치료와 관련된 생물학적 종점에 대해서 *Pkd2*-KO 마우스의 양성 성과를 초래하는 것을 입증하고 있다. 이 특정 종점에 관하여, RG4326은 톨 항-miR-17 화합물보다 더 더 효과적이었다. RG4326 치료는 *Pkd2*-KO 마우스에서 저감된 BUN 및 저감된 낭종 지수를 향한 경향을 초래하였다.

[0560]

Pcy 모델

[0561]

RG4326은 *Pcy* 마우스 모델에서 시험하였다. 야생형 마우스는 대조군으로서 사용되었다. 4주령으로부터, *Pcy* 마우스는 25 mg/kg의 용량으로 RG4326, 25 mg/kg의 용량으로 톨 항-miR-17, 25 mg/kg의 용량으로 대조군 올리고뉴클레오타이드 RG5124, 또는 PBS로 피하 주사를 통해서 주당 1회 치료하였다. 각 치료군은 15마리의 수컷 마우스를 포함하였다. 3개 치료가 55, 56 및 57일령에 투여되었고, 그 후 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14주령에 주마다 투여되었다. 또한 다낭성 신장 질환으로 몇몇 환자에 처방된 바소프레신 V2-수용체 길항제(VRA)인 톨바탄이 시험되었다. 마우스를 15주령에 희생시켰다. 체중을 기록하였다. 한쪽 신장을 추출하여 칭량하고, 다른 쪽은 *Pkhd1/cre;Pkd2^{F/F}*에서 연구에 대해서 기재된 바와 같은 낭종 지수를 계산하기 위하여 조직학적 분석을 위하여 처리하였다. 혈액 요소 질소(BUN) 수준 및 혈청 크레아티닌 수준을 측정하였다. 통계학적 유의성은 던넬트의 다수 상관을 이용하는 일원 ANOVA에 의해 계산하였다.

[0562]

결과는 표 8에 나타난다. PBS-치료된 마우스에서의 평균 KW/BW 비와 상대적으로, 치료된 *Pcy* 마우스의 평균 KW/BW 비는 25 mg/kg RG4326으로 치료된 군에서 19% 더 낮았다($p = 0.0055$). 또한, 낭종 지수는 PBS 투여된 *Pcy* 마우스와 비교해서 RG4326로 치료된 *Pcy* 마우스에서 34%만큼 저감되었다($p = 0.016$). RG4326에 의한 치료는, PBS-치료된 *Pcy* 마우스에서의 BUN에 비해서 *Pcy* 마우스에서의 BUN을 16%만큼 저감되었다($p = 0.0070$). 대조군 올리고뉴클레오타이드 또는 톨 항-miR-17 화합물에 의한 치료는 KW/BW 비, BUN 또는 낭종 지수에서 통계학적으로 유의한 저감을 초래하지 않았다. 톨바탄은 이 연구에서 효과적이지 않았다. 표 8에서의 데이터는 또한 도 5에 도시되어 있다.

표 8

Pcy 모델에서의 RG4326 의 효능

		KW/BW 비	BUN	낭종 지수
RG4326	평균	18.1	19.7	0.16
	SD	2.0	2.8	0.06
RG5124	평균	21.4	21.2	0.23
	SD	3.4	2.3	0.08
톨랍탄	평균	20.1	24.4	0.26
	SD	4.5	3.4	0.09
PBS	평균	22.5	23.4	0.24
	SD	3.9	3.8	0.07

[0563]

[0564]

이들 데이터는, PKD의 추가의 모델에서, RG4326에 의한 치료가 신장 중량, BUN 및 낭종 지수의 저감을 초래하는 것을 입증한다.

[0565]

실시예 7: RG4326 약동학 평가

[0566]

신체 내 올리고뉴클레오타이드 분포를 구동하는 특성인 혈청 단백질 결합에 대한 저감된 용량으로 인해, 짧은 올리고뉴클레오타이드는 이것을 약물로서 사용하는데 적합하게 하는 약동학적 특성을 갖는 것으로 반드시 예상되지 않는다. RG4326을 마우스, 원숭이 또는 인간 간 균질액에 항온처리하였다. RG4326 및 대사산물의 동일성 및 농도는 24-시간 항온처리 후에 결정하였다. RG4326 및 대사산물은 액체-액체 추출(LLE) 및/또는 고상 추출(SPE)을 이용해서 추출하고, 이어서 비행시간 질량 분광계가 결합된 이온-착집기-역상 고성능 액체 크로마토그래피(IP-RP-HPLC-TOF)를 사용해서 동일성 및 농도에 대해서 분석하였다. 표 9에 나타난 바와 같이, RG4326은, 이의 짧은 길이에도 불구하고, 24-시간 항온처리 후에 95%를 초과하는 모 화합물 RG4326이 온전하게 남아 있는 것과 함께, 특히 바람직한 약동학 프로파일을 갖는 것으로 판명되었다.

표 9

마우스, 원숭이 및 인간 간 용해물의 시험관내 대사 안정성
탈채 간 용해물 (% 분석물)

화합물	서열	마우스	원숭이	인간
RG4326	5' -AsG ₅ C ₄ A ₅ C ₅ U ₅ U ₅ G ₅ -3'	99.1	95.9	98.7
대사산물 1	5' -AsG ₅ C ₄ A ₅ C ₅ -3'	0.3	1.8	0.6
대사산물 2	5' -AsG ₅ C ₄ A ₅ -3'	0.6	2.3	0.7

[0567]

[0568]

약동학 거동은 야생형 마우스에 대해서 RG4326 또는 톨 항-miR-17 화합물의 단일 피하 30 mg/kg 용량을 투여함으로써 평가하였다. 1시간, 4시간, 8시간, 1일, 7일, 14일, 28일 및 56일에, 단일 주사 후에, 마우스를 희생시키고, 신장 및 간 조직 내 항-miR 화합물의 평균 농도는 위에서 기재된 바와 같이 측정하였다(ug/g). 곡선하면적(AUC)은 식 $ug \cdot h/g$ (여기서 ug는 조직 내 올리고뉴클레오타이드의 양이고, h는 조직 수집 시점(시간 단위)이며, g는 조직의 중량임)를 사용해서 신장 및 간 조직에 대해서 계산하였다. 신장 AUC 대 간 AUC의 비가 결정되었다. 신장 조직은 또한 이 연구에서 각 화합물에 대한 표적 관여를 결정하기 위하여, miPSA에 대해서 처리하였다. PSA AUC는 $Log2FC \cdot h$ (여기서 Log2FC는 변위값이고, h는 조직 수집 시점(시간 단위)임)를 이용해서 계산하였다. 7일째에 신장 내 역가는 식 $Log2FC + g/ug$ (여기서 Log2FC는 miPSA에 의해 결정된 바와 같은 변위값이고, g는 신장 조직의 중량이며, ug는 7일째에 신장 조직 내 항-miR의 양임)을 이용해서 계산하였다.

[0569]

표 10에 나타난 바와 같이, RG4326에 대한 신장 AUC 대 간 AUC의 비는 톨 항-miR-17 화합물에 대한 것보다 더 크다. 놀랍게도, 신장 AUC가 톨 항-miR-17 화합물에 대한 것보다 RG4326에 대해서 더 낮지만, miPSA에 의해 결정된 바와 같은 역가는 실질적으로 더 크다. 따라서, RG4326은, PKD에 대한 1차 표적 조직인 신장에서 더 낮은

농도에서 더 큰 역가를 나타낸다.

표 10

RG4326의 약동학 프로파일

30 mg/kg에서의 단일 용량 후 생체내 프로파일		틀 항-miR-17	RG4326
약동학	신장 AUC (ug*h/g; 1 시간 내지 56 일)	20711	5347
	간 AUC (ug*h/g; 1 시간 내지 56 일)	20275	1206
	K _{AUC} /L _{AUC} 비	1.0	4.4
miR-17 저해	miPSA 신장 AUC (Log2FC*h; 8 시간 내지 7 일)	296	463
역가	신장 D7 (Log2FC*g/ug)	0.047	0.351

[0570]

[0571]

RG4326의 약동학 거동은 야생형 (C57B16) 마우스 및 PKD (JCK) 마우스에서 더욱 특성규명되었다. 각각 5마리 마우스의 군에는 연속 3일의 각각에 3회 10 mg/kg 피하 주사를 공급하였다. 세 번째 및 마지막 주사 후 1일, 4일, 7일, 14일 및 21일에, 마우스를 희생시키고 혈장, 신장 및 간 샘플을 수집하였다. RG4326의 측정을 위하여, 액체-액체 추출(LLE) 및/또는 고상 추출(SPE)을 이용해서 RG4326을 추출하고, 이어서 비행시간 질량 분광계와 결합된 이온-착집기-역상 고성능 액체 크로마토그래피(IP-RP-HPLC-TOF)를 사용해서 동일성 및 농도에 대해서 분석하였다.

[0572]

데이터는 표 11에 요약되어 있다. RG4326은 혈장 및 조직 둘 다에서 안정적인 것으로 관찰되었고, 모 화합물의 90% 초과가 21일 후에 잔류하고 있다. 항-miR은 주사 시간 내에 신속하게 조직에 그리고 주로 신장에 분포된다. 반감기는 야생형 마우스의 간 및 신장에서 대략 8일이고, JCK 마우스의 간에서 대략 6일이며, JCK 마우스의 신장에서 대략 8일이다. 야생형 마우스에서, 신장 AUC 대 간 AUC의 비는 17이었다. PKD 마우스에서, 신장 AUC 대 간 AUC의 비는 13이었다. 이들 데이터는 RG4326의 약동학 프로파일이 정상 및 PKD 마우스에서 견줄만한 것임을 입증한다.

표 11

정상 및 PKD 마우스에서의 RG4326의 약동학 프로파일

마우스 모델	정상		PKD	
마우스 품종	C57BL6		JCK	
조직 기질	간	신장	간	신장
%모체	>90%	>90%	>90%	>90%
C _{24h}	1.6 ug/g	61.4 ug/g	5.9 ug/g	66.5 ug/g
T _{1/2}	대략 8 일	대략 8 일	대략 6 일	대략 8 일
AUC _{0-21 일}	17 ug*일/g	282 ug*일/g	37ug*일/g	497ug*일/g
K/L 비(AUC)	17		13	
K/L 비(C _{24h})	38		11	

[0573]

[0574]

실시예 8: RG4326 안정성 평가

[0575]

신장 및 간에서 독성에 대한 잠재성은 시험관내, 탈체 및 생체내 검정에서 평가되었다.

[0576]

독성에 대한 잠재성은 생화학 형광 결합 검정(FBA)을 이용해서 평가되었다. FBA는 각 화합물로 형광 염료를 항온처리하고 즉시 형광을 측정함으로써 수행된다. 결과는 대조군-처리 샘플에 대한 배수 변화(선형 FC)로서 표현된다. 고도로 형광성인 화합물은 생체내 독성을 생성하는 잠재성을 지닌다.

[0577]

탈체 검정은 간 또는 신장 조직 슬라이스로 수행되었다. 간 또는 신장 슬라이스 검정은 래트로부터 단리된 코어 간 또는 신장 샘플의 슬라이스를 항온처리함으로써 수행된다. 24-시간 항온처리 후에, RNA는 조직 슬라이스로부

터 추출되고, IFIT를 비롯하여 18개의 전염증성 유전자의 발현 수준이 측정된다. PBS 치료에 대한 배수 변화의 log2 변형(Log2-FC)이 수행되었다. 전염증성 유전자 발현의 유도는 생체내에서 전염증성 효과에 대해서 잠재성을 나타낸다.

[0578] 생체내 검정은 정상, Sv129 마우스에서 수행되었다. RG4326의 300 mg/kg의 단일의 피하 용량이 투여되었다. 치료 대조군으로서 PBS가 포함되었고, 전염증성으로서 공지된 하나(양성 대조군)와 전염증성이 아닌 하나(음성 대조군)인 2개의 항-miR은 miR-17과 관련되지 않았다. 4일 후에, 마우스를 희생시켰다. 신장 및 간 조직은 RNA 추출을 위하여 분리시켰다. 전염증성 반응 동안 유도되는 것으로 알려진 유전자의 수준인 IFIT가 측정되었고 마우스 GAPDH에 대해서 정규화시켰다. PBS 처리에 대한 배수 변화의 log2 변형(Log2-FC)이 수행되었다.

[0579] [표 11]

RG4326의 안전성 프로파일

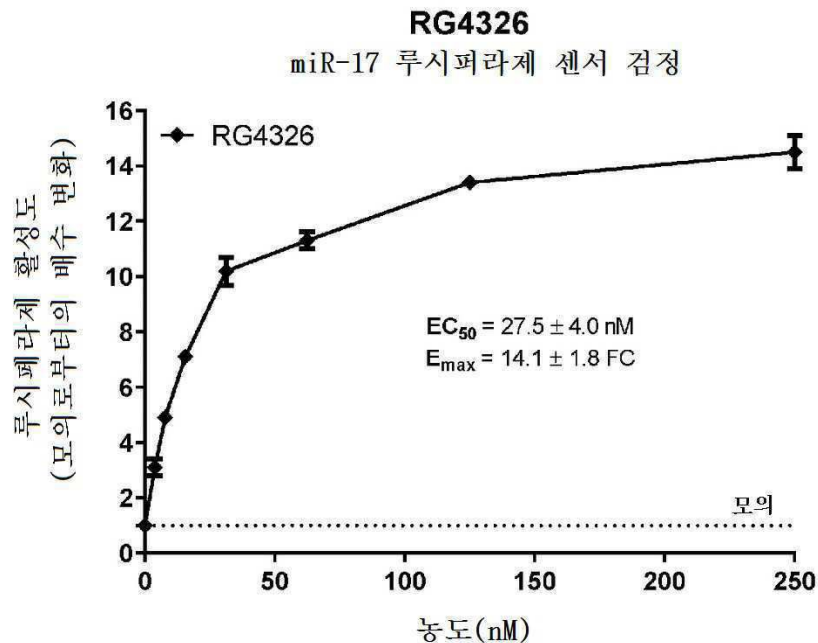
	양성 대조군	음성 대조군	RG4326
생화학 형광 결합 검정 상대 형광 단위 (선형 FC)	136.4 ± 14.9	46.3 ± 14.7	24.9 ± 3.1
탈채 신장 슬라이스 검정 염증전 시그니처 점수 (Log2-FC)	1.35 ± 0.35	0.39 ± 0.07	-0.30 ± 0.22
탈채 간 슬라이스 검정 IFIT3 발현 (Log2-FC)	7.57 ± 0.62	0.54 ± 0.60	1.11 ± 0.32
생체내 급성 검정 신장 IFIT 발현(Log2-FC) 간 IFIT 발현(Log2-FC)	1.29 ± 0.58 2.24 ± 0.84	0.28 ± 0.31 0.62 ± 0.54	0.34 (n=1) 0.21 ± 0.08

[0580]

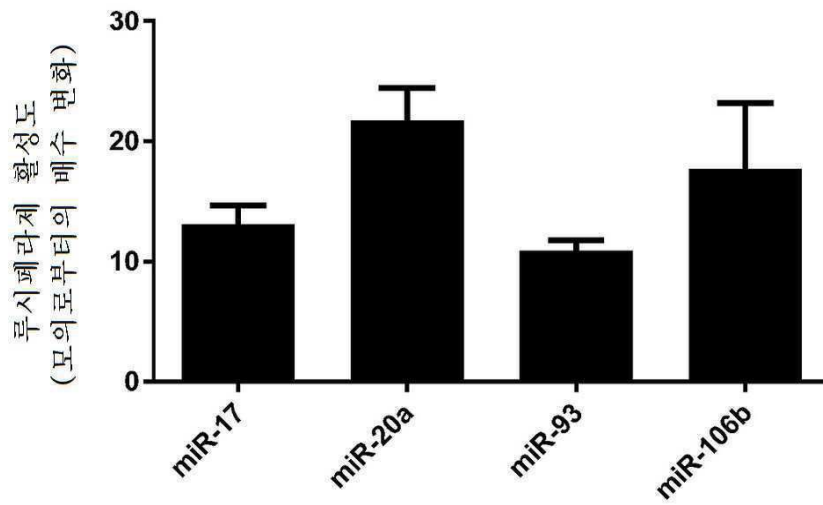
[0581] 이들 데이터는 RG4326가 다수의 검정에 기초하여 바람직한 안정성 프로파일 및 전염증 경향의 낮은 위험을 나타낸 것을 입증하였다.

도면

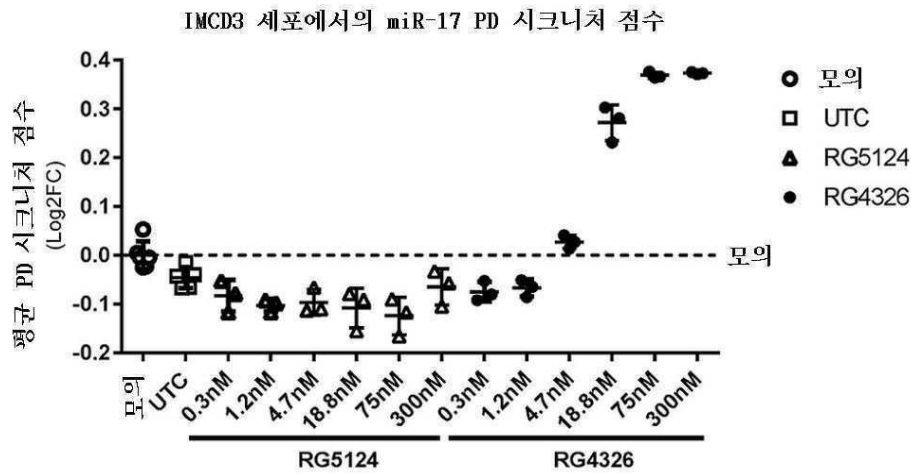
도면 1a



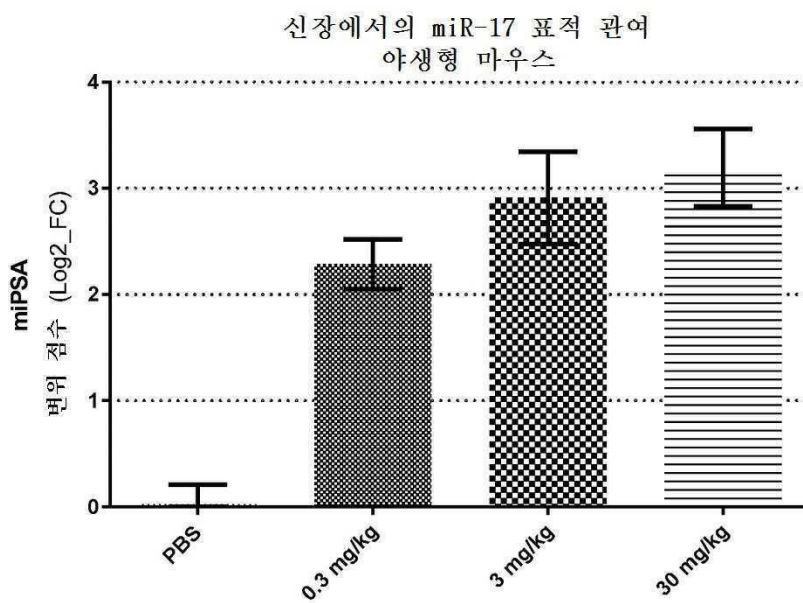
도면1b



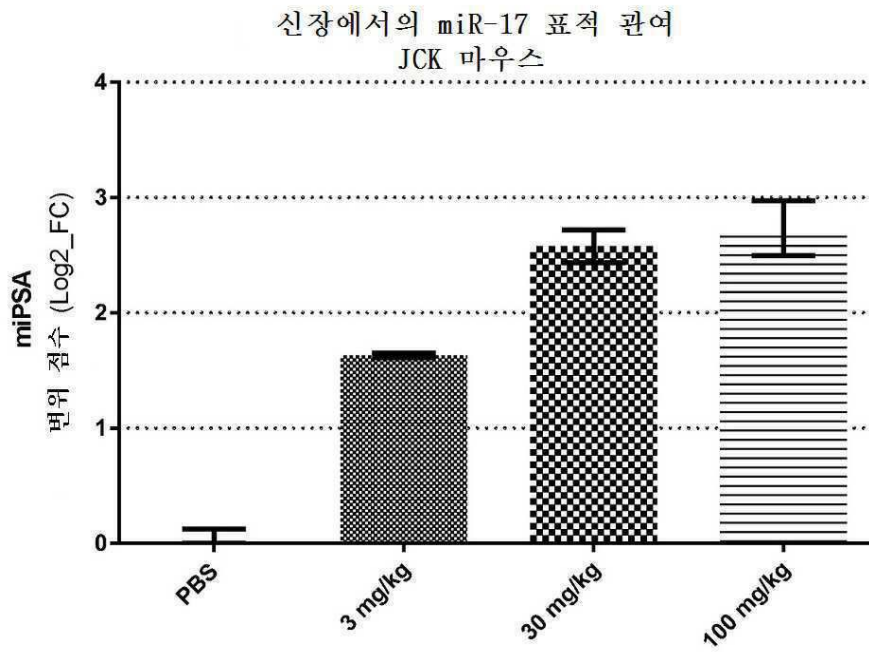
도면2



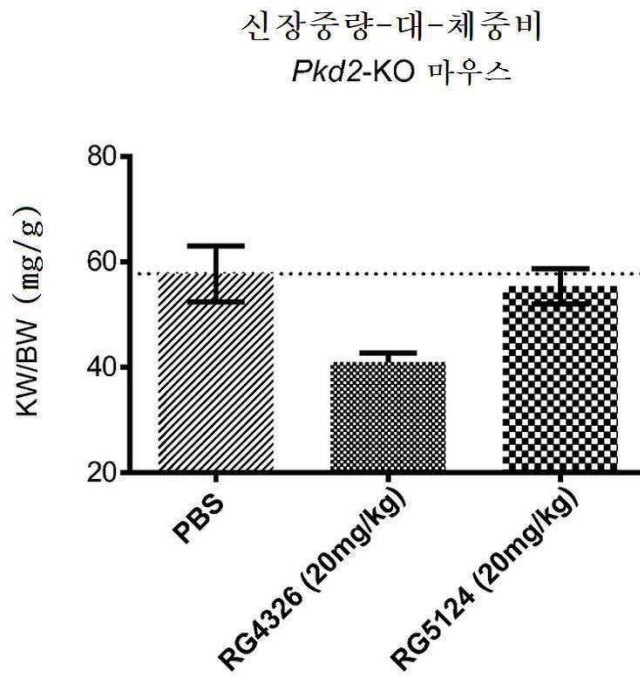
도면3a



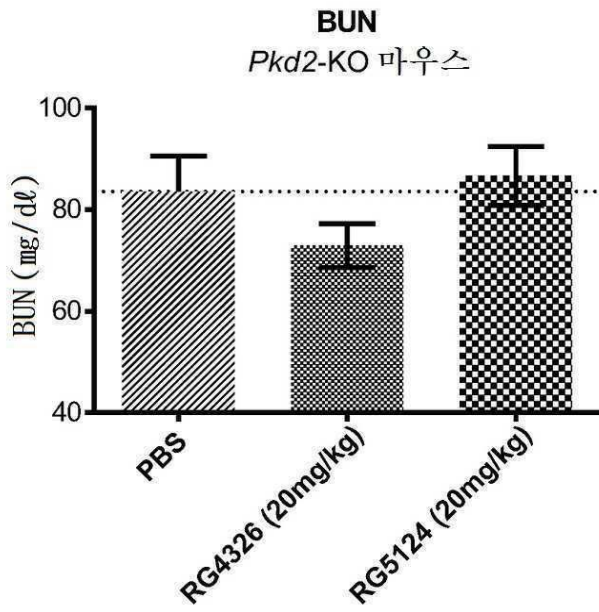
도면3b



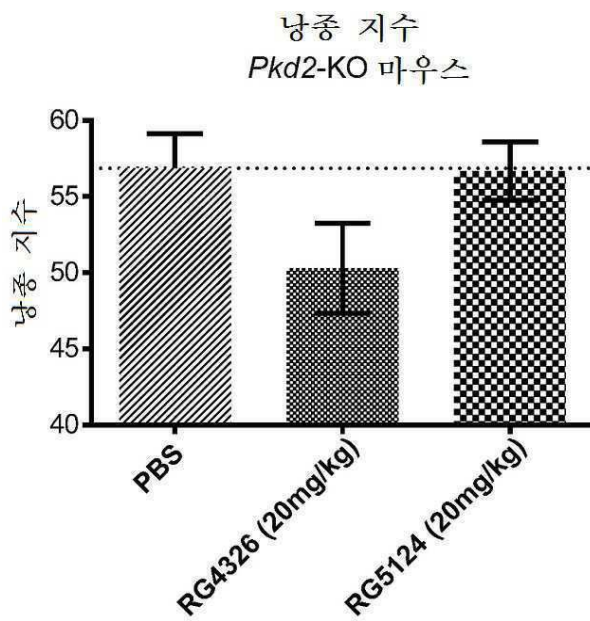
도면4a



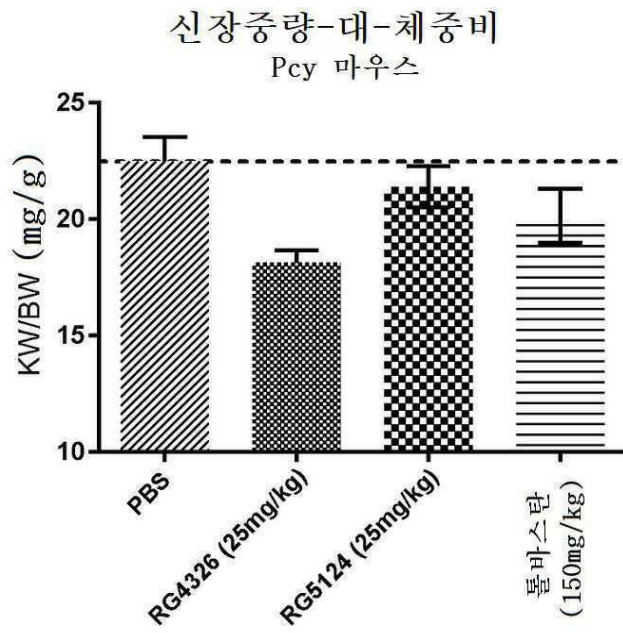
도면4b



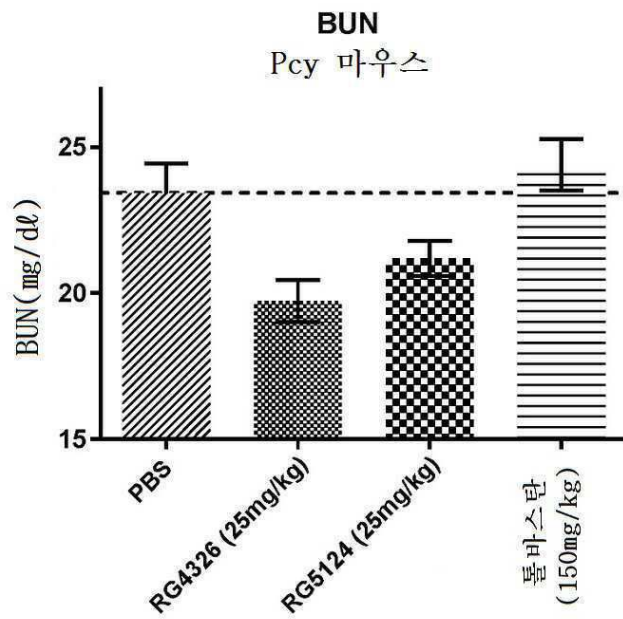
도면4c



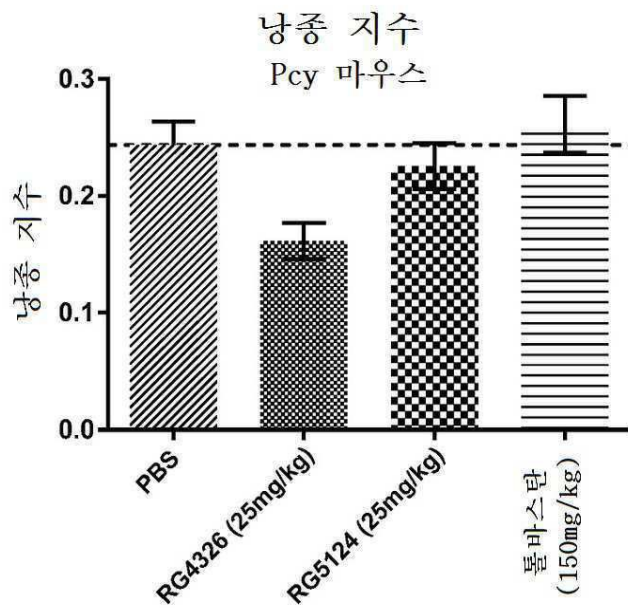
도면5a



도면5b



도면5c



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> REGULUS THERAPEUTICS INC.

BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM

<120> METHODS FOR TREATMENT OF POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE

<130> WO2018/106568

<150> PCT/US2017/064432

<151> 2017-12-04

<140> US 62/430,164

<141> 2016-12-05

<160> 7

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

caaagugcuu acagugcagg uag

23

<210> 2

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

uaaagugcuu auagugcagg uag 23

<210> 3

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

caaagugcuc auagugcagg uag 23

<210> 4

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

caaagugcug uucgugcagg uag 23

<210> 5

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

aaaagugcuu acagugcagg uag 23

<210> 6

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

uaaagugcug acagugcaga u 21

<210> 7

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified oligonucleotide

<400> 7

ctgcactgta agcactttg

19