

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-513740
(P2025-513740A)

(43)公表日 令和7年4月30日(2025.4.30)

(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 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/712 (2006.01)	A 6 1 K 31/712	Z N A
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全55頁)			
(21)出願番号	特願2024-557542(P2024-557542)	(71)出願人	506136483
(86)(22)出願日	令和5年3月29日(2023.3.29)		バイオマリン ファーマシューティカル
(85)翻訳文提出日	令和6年11月5日(2024.11.5)		インコーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2023/065098		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4
(87)国際公開番号	WO2023/192904		9 4 9 ノバト デジタル ドライブ 1
(87)国際公開日	令和5年10月5日(2023.10.5)		0 5
(31)優先権主張番号	63/362,189	(74)代理人	100107456
(32)優先日	令和4年3月30日(2022.3.30)		弁理士 池田 成人
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100162352
(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	100123995
	最終頁に続く		弁理士 酒巻 順一郎
		(74)代理人	100123995
			弁理士 野田 雅一
		(72)発明者	フローリッチ, スティーブン マイケル
			アメリカ合衆国, カリフォルニア州,
			ノバト, デジタル ドライブ 1 0 5 ,
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ジストロフィンエクソンスキッピングオリゴヌクレオチド

(57)【要約】

ヒトジストロフィンpre-mRNAのエクソン51のスキッピングを誘導するアンチセンスオリゴヌクレオチド(AON)、及びその薬学的に許容される誘導体が本明細書で提供される。AONを含有する医薬組成物、ならびにデュシェンヌ型筋ジストロフィー対象を処置するためのAON及び組成物の使用方法も提供される。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

少なくとも 1 つの修飾を含有する A O N 番号 1 ～ 9 3 のいずれか 1 つの配列を含むか、またはそれからなる、A O N。

【請求項 2】

全てのヌクレオチドが、RNA である、請求項 1 に記載の A O N。

【請求項 3】

前記修飾が、前記 A O N 中の全てのヌクレオチドの糖部分の化学修飾である、請求項 1 または請求項 2 に記載の A O N。

【請求項 4】

前記 A O N 中の全てのヌクレオチドの前記糖部分の前記化学修飾が、2' - M O E である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 5】

前記糖部分の前記化学修飾が、1、2、3、または 4 つの L N A であり、残余ヌクレオチドが、2' - M O E である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 6】

前記 A O N の 2 つの 5' 末端ヌクレオチド位置及び前記 A O N の 2 つの 3' 末端ヌクレオチド位置の前記糖部分の前記化学修飾が全て、L N A であり、残余ヌクレオチドが、2' - M O E である、請求項 1 ～ 3 及び 5 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 7】

前記 A O N 中の全てのヌクレオチドの前記糖部分の前記化学修飾が、2' - O M e である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 8】

前記糖部分の前記化学修飾が、1、2、3 または 4 つの L N A であり、残余ヌクレオチドが、2' - O M e である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 9】

前記 A O N の 2 つの 5' 末端ヌクレオチド位置及び前記 A O N の 2 つの 3' 末端ヌクレオチド位置の前記糖部分の前記化学修飾が全て、L N A であり、残余ヌクレオチドが、2' - O M e である、請求項 1 ～ 3 及び 8 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 10】

前記 A O N 中の 1 つ以上のヌクレオチドの前記糖部分の前記化学修飾が、モルホリン (P M O、P P M O、P M O - X)、ペプチド誘導体 (P N A)、ホウ素クラスター修飾 P N A、ピロリジンベースのオキシペプチド核酸 (P O P N A)、グリコールもしくはグリセロールベースの核酸 (G N A)、トレオースベースの核酸 (T N A)、非環式トレオニールベースの核酸 (a T N A)、カチオン性モルホリノベースのオリゴマー (P M O P l u s)、統合された塩基及び主鎖を有するオリゴヌクレオチド (O N I B)、ピロリジンアミドオリゴヌクレオチド (P O M)、またはそれらの誘導体である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 11】

前記修飾は、前記 A O N 中の 1、2、3、4、または全てのヌクレオチドの塩基部分の化学修飾である、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 12】

全てのシトシン塩基が、5 - メチルシトシンで置換されている、請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 13】

全てのチミン塩基が、ウラシルで置換されている、請求項 1 ～ 12 のいずれか 1 項に記載の A O N。

【請求項 14】

主鎖が、完全なホスホロチオアート主鎖結合である、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の A O N。

10

20

30

40

50

【請求項 15】

前記 AON が、前記 AON の 5' 末端、前記 AON の 3' 末端、または前記 AON の 5' 末端と 3' 末端の両方に、ヒドロキシアлкоキシ基を含む、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載の AON。

【請求項 16】

前記ヒドロキシアлкоキシ基が、エチレングリコールモノマー、エチレングリコールオリゴマー、またはエチレングリコールポリマー（ポリエチレングリコール（PEG）としても既知）を含むか、またはそれらからなる、請求項 15 に記載の AON。

【請求項 17】

前記ヒドロキシアлкоキシ基が、TEG または HEG である、請求項 15 または請求項 16 に記載の AON。

10

【請求項 18】

AON 番号 33、34、35、36、37、38、または 39 の配列を含むか、またはそれらからなる、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の AON。

【請求項 19】

AON 番号 33、38、または 39 の配列を含むか、またはそれらからなる、請求項 1～18 のいずれか 1 項に記載の AON。

【請求項 20】

前記 AON の 5' 末端から 1 つまたは 2 つのヌクレオチドが削除されているか、または、前記 AON の 3' 末端から 1 つまたは 2 つのヌクレオチドが削除されているか、または、前記 AON の 5' 末端から 1 つのヌクレオチドが削除されており且つ前記 AON の 3' 末端から 1 つのヌクレオチドが削除されている、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の AON。

20

【請求項 21】

16～30 ヌクレオチド長である、請求項 20 に記載の AON。

【請求項 22】

16、17、18、19、または 20 ヌクレオチド長である、請求項 20 または請求項 21 に記載の AON。

【請求項 23】

18 ヌクレオチド長である、請求項 1～22 のいずれか 1 項に記載の AON。

30

【請求項 24】

完全に 2'-MOE RNA 修飾されており、全てのシトシンが、5-メチルシトシンで置換されており、主鎖が、完全なホスホロチオアート主鎖である、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の AON。

【請求項 25】

全てのシトシンが、5-メチルシトシンで置換されており、前記 AON の 2 つの 5' 末端ヌクレオチドが、LNA であり、前記 AON の 2 つの 3' 末端ヌクレオチドが、LNA であり、残余ヌクレオチドが、2'-MOE RNA 修飾されており、主鎖が、完全なホスホロチオアート主鎖である、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の AON。

【請求項 26】

完全に 2'-OMe RNA 修飾されており、全てのシトシンが、5-メチルシトシンに置換されており、主鎖が、完全なホスホロチオアート主鎖である、請求項 1～3 及び 7～9 のいずれか 1 項に記載の AON。

40

【請求項 27】

全てのシトシンが、5-メチルシトシンで置換されており、前記 AON の 2 つの 5' 末端ヌクレオチドが、LNA であり、前記 AON の 2 つの 3' 末端ヌクレオチドが、LNA であり、残余ヌクレオチドが、2'-OMe RNA 修飾されており、主鎖が、完全なホスホロチオアート主鎖である、請求項 1～3 及び 7～9 のいずれか 1 項に記載の AON。

【請求項 28】

請求項 1～27 のいずれか 1 項に記載の AON 及び薬学的に許容される担体を含む、医

50

薬組成物。

【請求項 29】

DMDに罹患している対象を処置する方法であって、請求項1～27のいずれか1項に記載のAONまたは請求項28に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 30】

対象のDMDの発症を遅延させる方法であって、請求項1～27のいずれか1項に記載のAONまたは請求項28に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 31】

ヒトジストロフィンpre-mRNAのエクソン51のスキッピングを誘導する方法であって、ヒトジストロフィンpre-mRNAを、請求項1～27のいずれか1項に記載のAONまたは請求項28に記載の医薬組成物と接触させることを含む、前記方法。

【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30日に出願された米国仮特許出願第63／362，189号の優先権の利益を主張する。上記出願の開示は、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

配列表

本出願は、配列表を含有しており、これは、2023年3月23日に作成され、サイズが85，189バイトの「035104WO__SL.xml」という名称のXMLファイルとして本明細書と共に提出されており、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0003】

分野

ジストロフィンエクソンスキッピング及びデュシェンヌ型筋ジストロフィーの処置のための組成物及び方法に使用されるアンチセンスオリゴヌクレオチドが本明細書で提供される。

【背景技術】

【0004】

アンチセンスオリゴヌクレオチド(AON)は、がん、炎症状態、心血管疾患ならびに神経変性及び神経筋障害を含む、多くの疾患及び状態に対して(前)臨床開発がなされている。それらの作用機序は、様々な標的、例えば、核もしくは細胞質内の標的RNAのRNaseH媒介分解、核内のスプライス調節(エクソンの包含もしくはスキッピング)、または細胞質内のリボソームサブユニット結合の立体障害による翻訳阻害、を目的とする。スプライス調節またはスプライススイッチングAONは、ヒトβグロビンpre-mRNAの異常なスプライシングを修正するために最初に記載されていた(Dominski and Kole PNAS, 1993, 90(18):8673-8677)。これは、現在、様々な遺伝性障害について研究されている。

【0005】

神経筋障害であるデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)及びベッカー型筋ジストロフィー(BMD)の処置において、AONは広く研究されている。デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)及びベッカー型筋ジストロフィー(BMD)は、最も多い小児型の筋ジストロフィーである。DMDは、12歳までに車椅子補助が不可欠となる重症で致死的な神経筋障害であり、患者は、多くの場合、呼吸不全または心不全により30歳前に死亡する。それは、2.24Mbのジストロフィン遺伝子における1つ以上のエクソンのリーディングフレームシフトによる欠失(約67%)もしくは重複(約7%)、または点変異(約25%)によって引き起こされ、それにより、機能性ジストロフィンが欠如する

10

20

30

40

50

。BMDは、また、ジストロフィン遺伝子の変異により引き起こされるが、これらは、オープンリーディングフレームを維持し、半機能的なジストロフィンタンパク質を生成し、通常、表現型をより軽度、寿命を長くする。

【0006】

現在までに、4つのAON（エテプリルセン、ゴロディルセン、カシメルセン、及びビルトラルセン）が、DMDの処置について承認されている。しかし、これらの薬剤は、有効性が限られており、それぞれ、DMD患者のごく一部の処置について承認されている。

【0007】

従って、DMDを処置するための組成物及び方法に使用されるエクソンスキッピングAONに継続的なニーズがある。

【発明の概要】

【0008】

DMDを処置するための組成物及び方法に使用されるAONが本明細書で提供される。本明細書で提供されるAONは、ヒトジストロフィンpre-mRNAのエクソン51の一部と逆相補的である。一実施形態では、本明細書で提供されるAONは、本明細書で定義される少なくとも1つの修飾を含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、ホスホロチオアート主鎖を有する2'-O-メトキシエチル（「2'-MOE」）RNAオリゴヌクレオチドである。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、ホスホロチオアート主鎖を有する2'-O-メチル（「2'-OMe」）RNAオリゴヌクレオチドである。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、ホスホロチオアート主鎖を有する2'-MOE RNAオリゴヌクレオチドであり、全てのシトシンが5-メチルシトシンで置換されており、全てのウラシルが、チミンに置換されている。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、ホスホロチオアート主鎖を有する2'-OMe RNAオリゴヌクレオチドであり、全てのシトシンが、5-メチルシトシンで置換されており、全てのウラシルが、チミンで置換されている。

【0009】

本明細書で提供されるAONまたは組成物を投与することにより、DMDを処置する方法も本明細書で提供される。本明細書で提供されるAONまたは組成物を投与することにより、DMDの発症を遅延させる方法も本明細書で提供される。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】本明細書で提供されるAONのエクソン51スキッピングを示す。

【図2】本明細書で提供されるAONのジストロフィン発現の免疫蛍光分析を示す。

【図3】A～Bは、本明細書で提供されるAONのhDMDdel52/mdxマウスの大腿四頭筋及び心臓におけるin vivoエクソンスキッピング（A）及びジストロフィンレベル（B）を示す。

【発明を実施するための形態】

【0011】

I. 定義

本明細書に記載される開示の理解を促すために、いくつかの用語を以下に定義する。

【0012】

別途記載のない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、当業者が一般的に理解している意味と同じ意味を有する。全ての特許、出願、公開された出願、及び他の出版物は、全体が参照により組み込まれる。本明細書の用語に複数の定義がある場合、特に明記しない限り、本節における定義が優先される。

【0013】

文脈による明確な別段の定めがない限り、単数形「a」、「an」、及び「the」には複数の指示対象が含まれる。

【0014】

本明細書で使用される場合、「対象」とは、患者などのヒトを含む哺乳動物などの動物

10

20

30

40

50

である。

【0015】

本明細書で使用される場合、生物学的活性とは、化合物の *in vivo* 活性、または化合物、組成物、または他の混合物の *in vivo* 投与時に生じる生理学的応答を指す。従って、生物学的活性は、そのような化合物、組成物、及び混合物の治療効果及び薬物動態学的挙動を包含する。生物学的活性は、そのような活性を試験するために設計された *in vitro* 系で観察することができる。

【0016】

本明細書で使用される場合、化合物の薬学的に許容される誘導体は、それらの塩、エステル、エノールエーテル、エノールエステル、アセタール、ケタール、オルトエステル、ヘミアセタール、ヘミケタール、酸、塩基、包接化合物、溶媒和物、または水和物を含むが、これらに限定されない。そのような誘導体は、そのような誘導体化のための既知の方法を使用して、当業者らにより容易に調製され得る。生成された化合物は、実質的な毒性作用なしに動物またはヒトに投与され得、薬学的に活性であるか、またはプロドラッグである。薬学的に許容される塩は、アミン塩（例えば、限定されないが、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、アンモニア、ジエタノールアミン及び他のヒドロキシアルキルアミン、エチレンジアミン、N-メチルグルカミン、プロカイン、N-ベンジルフェネチルアミン、1-パラ-クロロベンジル-2-ピロリジン-1'-イルメチルベンズイミダゾール、ジエチルアミン及び他のアルキルアミン、ピペラジン及びトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン）；アルカリ金属塩（例えば、限定されないが、リチウム、カリウム、及びナトリウム）；アルカリ土類金属塩（例えば、限定されないが、バリウム、カルシウム、及びマグネシウム）；遷移金属塩（例えば、限定されないが、亜鉛）；ならびに、無機塩（例えば、限定されないが、リン酸水素ナトリウム及びリン酸二ナトリウム）（これは、鉱酸塩（例えば、限定されないが、塩酸塩及び硫酸塩）も含むが、これらに限定されない）；ならびに有機酸塩（例えば、限定されないが、酢酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、酪酸塩、吉草酸塩、メシル酸塩、及びフマル酸塩）を含むが、これらに限定されない。薬学的に許容されるエステルは、酸性基（限定されないが、カルボン酸、リン酸、ホスフィン酸、スルホン酸、スルフィン酸、及びボロン酸を含む）のアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アラルキル、及びシクロアルキルエステルを含む。薬学的に許容されるエノールエーテルは、式 $C=C(OR)$ （式中、Rは、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アラルキル、及びシクロアルキルである）の誘導体を含むが、これらに限定されない。薬学的に許容されるエノールエステルは、式 $C=C(OC(O)R)$ （式中、Rは、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アラルキル、及びシクロアルキルである）の誘導体を含むが、これらに限定されない。薬学的に許容される溶媒和物及び水和物は、化合物と、1個以上の溶媒もしくは水分子、または1個～約100個、もしくは1個～約10個、もしくは1個～約2個、3個、もしくは4個の溶媒もしくは水分子との複合体である。

【0017】

本明細書で使用される場合、処置は、疾患または障害の症状の1つ以上が、改善または他の点で有益に変化している任意の方法を意味する。処置は、本明細書の組成物の任意の医薬用途（例えば、DMDの処置への使用）も包含する。

【0018】

本明細書で使用される場合、特定の化合物または医薬組成物の投与による特定の障害の症状の改善は、永続的または一時的、持続的または一過性であるかに関わらず、化合物または医薬組成物の投与に起因または関連し得るあらゆる軽減を指す。

【0019】

本明細書で使用される場合、別途指示のない限り、「管理する」、「管理すること」、及び「管理」という用語は、既に疾患もしくは障害に罹患している対象の特定の疾患もしくは障害の再発を予防すること、及び／または、疾患または障害に罹患している対象が寛

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

[illegible]

3) $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ 、及び $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。最大2個のヘテロ原子が連続することがあり、例えば、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 及び $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ である。同様に、「ヘテロアルキレン」という用語は、それ自体または別の置換基の一部として、ヘテロアルキルから誘導される二価ラジカルを意味するが、例示として、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、及び $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ が挙げられるが、これらに限定されない。アルキレン及びヘテロアルキレン結合基の場合、結合基の向きは、結合基の式が記述される方向により暗示されることはない。例えば、式 $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'-$ は、 $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'-$ と $-\text{R}'\text{C}(\text{O})_2-$ の両方を表す。

10

【0027】

「シクロアルキル」及び「ヘテロシクロアルキル」という用語は、単独で、または他の用語と組み合わせて、別途記載のない限り、それぞれ、「アルキル」及び「ヘテロアルキル」の環式バージョン（二環式、三環式、及び架橋二環式基を含む）を表す。追加で、ヘテロシクロアルキルについては、ヘテロ原子は、ヘテロ環が分子の残りへの付加される位置を占め得る。シクロアルキルの例としては、シクロペンチル、シクロヘキシル、1-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、シクロヘプチル、ノルボルナニル、ビシクロ[2.2.2]オクタニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロシクロアルキルの例としては、1-(1,2,5,6-テトラヒドロピリジル)、1-ピペリジニル、2-ピペリジニル、3-ピペリジニル、4-モルホリニル、3-モルホリニル、テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロフラン-3-イル、テトラヒドロチエン-2-イル、テトラヒドロチエン-3-イル、1-ピペラジニル、2-ピペラジニル、1-または2-アザビシクロ[2.2.2]オクタニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0028】

「ハロ」という用語は、それ自体で、または別の置換基の一部として、別途記載のない限り、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素原子を意味する。追加で、「ハロアルキル」等の用語は、モノハロアルキル及びポリハロアルキルを包含することを意味する。例えば、「ハロ(C_1-C_4)アルキル」という用語は、トリフルオロメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、4-クロロブチル、3-ブロモプロピル、及び同種のを包含するがこれらに限定されないことを意味する。

30

【0029】

「アリール」という用語は、別段明記されない限り、単環、または一緒に縮合されるかもしくは共有結合で連結される多環（一実施形態において1~3の環）であり得る、多価不飽和の芳香族炭化水素置換基を意味する。「ヘテロアリール」という用語は、N、O、及びSから選択される1~4のヘテロ原子を環（複数可）中に含有するアリール基を指し、窒素及び硫黄原子は任意選択で酸化され、窒素原子（複数可）は任意選択で四級化される。ヘテロアリール基は、炭素またはヘテロ原子を介して分子の残りへ付加され得る。アリール基及びヘテロアリール基の非限定例としては、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチル、4-ピフェニル、1-ピロリル、2-ピロリル、3-ピロリル、3-ピラゾリル、2-イミダゾリル、4-イミダゾリル、ピラジニル、2-オキサゾリル、4-オキサゾリル、5-オキサゾリル、3-イソキサゾリル、4-イソキサゾリル、5-イソキサゾリル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、5-チアゾリル、2-フリル、3-フリル、2-チエニル、3-チエニル、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、2-ピリミジル、4-ピリミジル、5-ベンゾチアゾリル、プリニル、2-ベンズイミダゾリル、5-インドリル、1-イソキノリル、5-イソキノリル、2-キノキサリニル、5-キノキサリニル、3-キノリル、及び6-キノリルが挙げられる。アリール環系及びヘテロアリール環系についての置換基部分は、本明細書において記載される許容される置換基部分の群から選択され得る。「ヘテロアリーリウム」という用語は、1つ以上のヘテロ原子上で正に荷

40

50

電したヘテロアリール基を指す。

【0030】

「オキシ」という用語は、本明細書において使用される時、炭素原子へ二重結合される酸素原子を意味する。

【0031】

上記の用語（例えば、「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「アリール」、及び「ヘテロアリール」）のそれぞれは、示されたラジカルの置換と非置換形の両方を含むことを意味する。各タイプのラジカルに対する置換基部分の非限定例が以下に提供される。

【0032】

一実施形態では、アルキル、ヘテロアルキル、アルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル、及びヘテロシクロアルケニル基の置換基部分は、そのようなラジカル中のゼロから水素原子数までの範囲の数の、重水素、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、ハロ、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R''$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(OR')$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(OR')$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-NRSO_2NR'R''$ 、 $-CN$ 、及び $-N_3$ から選択される。一実施形態では、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル、及びヘテロシクロアルケニル基の置換基部分は、置換及び非置換アルキル、置換及び非置換アルケニル、ならびに置換及び非置換アルキニルも含む。一実施形態の R' 、 R'' 、 R''' 、及び R'''' はそれぞれ、独立して、水素、置換または非置換ヘテロアルキル、置換または非置換シクロアルキル、置換または非置換ヘテロシクロアルキル、置換または非置換アリール（例えば、1～3個のハロゲンで置換されているアリール）、置換または非置換のアルキル、アルコキシまたはチオアルコキシ基、またはアリールアルキル基である。本明細書において提供される化合物が1を超えるR基を含む場合に、例えばR基の各々は独立して選択され、 R' 基、 R'' 基、 R''' 基、及び R'''' 基のうちの2つ以上が存在する場合に、各々のこれらの基も同様である。 R' 及び R'' が同じ窒素原子へ付加される場合に、それらは窒素原子と組み合わせられて、4員環、5員環、6員環、または7員環を形成し得る。例えば、 $-NR'R''$ は、1-ピロリジニル及び4-モルホリニルを包含するがこれらに限定されないことを意味する。置換基部分の上記の考察から、当業者は、「アルキル」という用語が、水素基以外の基へ結合された炭素原子を含む基（ハロアルキル（例えば、 $-CF_3$ 及び $-CH_2CF_3$ ）及びアシル（例えば、 $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ 、及び同種のもの）等）を包含することを意味すると理解するだろう。

【0033】

アリール基及びヘテロアリール基についての置換基部分は、一実施形態において、重水素、ハロ、置換及び非置換のアルキル、置換及び非置換のアルケニル、ならびに置換及び非置換のアルキニル、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(OR')$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C_2(OR')$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(OR')$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 及び $-NO_2$ 、 $-R'$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、フルオロ(C_1-C_4)アルコキシ、ならびにフルオロ(C_1-C_4)アルキルから、0から芳香族環系上の水素の総数の範囲の数で、選択され； R' 、 R'' 、 R''' 、及び R'''' は、一実施形態において、水素、置換または非置換のアルキル、置換または非置換のヘテロアルキル、置換または非置換のシクロアルキル、置換または非置換のヘテロシクロアルキル、置換または非置換のアリール、及び置換または非置換のヘテロアリールから独立して選択される。本明細書において提供される化合物が1を超えるR基を含む場合に、例えばR基の各々は独立して選択され、 R' 基、 R'' 基、 R''' 基、及び R'''' 基のうちの2つ以上が存在する場合に、各々のこれらの基も同様である。

【0034】

アリールまたはヘテロアリール環の隣接原子上の置換基部分のうちの2つは、任意に、式 $-Q' - C(O) - (CRR')_q - Q'' -$ の環を形成し、 Q' 及び Q'' は、独立して、 $-NR-$ 、 $-O-$ 、 $-CRR'-$ 、または単結合であり、 q は、0～3の整数である。あるいは、アリールまたはヘテロアリール環の隣接原子上の置換基部分のうちの2つは、任意に、式 $A - (CH_2)_r - B -$ の置換基で置換され得、 A 及び B は、独立して、 $-CRR'-$ 、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、または単結合であり、 r は、1～4の整数である。そのように形成された新しい環の単結合のうちの1つは、任意に、二重結合で置換され得る。あるいは、アリールまたはヘテロアリール環の隣接原子上の置換基部分のうちの2つは、式 $-(CRR')_s - X' - (CRR'')_d -$ の置換基で任意に置換され得、 s 及び d は、独立して、0～3の整数であり、 X' は、 $-O-$ 、 $-NR'-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、または $-S(O)_2NR'-$ である。一実施形態では、置換基部分 R 、 R' 、 R'' 、及び R''' は、独立して、水素、置換または非置換アルキル、置換または非置換シクロアルキル、置換または非置換ヘテロシクロアルキル、置換または非置換アリール、及び置換または非置換ヘテロアリールから選択される。

10

【0035】

本明細書で使用される場合、「ヘテロ原子」または「環ヘテロ原子」という用語は、酸素(O)、窒素(N)、硫黄(S)、リン(P)、及びケイ素(Si)を含むことを意味する。

20

【0036】

本明細書で使用される場合、プロドラッグは、*in vivo* 投与時に、代謝されるか、または他の点で、1つ以上のステップもしくはプロセスにより生理学的条件下で化学変化を受けるか、または他の点で、生物学的、薬学的、もしくは治療的に活性な形態の化合物に変換される化合物である。追加で、プロドラッグは、*ex vivo* 環境において、化学的方法または生化学的方法によって、生物学的、薬学的、または治療的に活性のある形態の化合物へ変換され得る。例えば、好適な酵素または化学試薬と共に経皮パッチリザーバー中に置かれた場合に、プロドラッグは、本発明の化合物へ変換され得る。

【0037】

本明細書において提供される特定の化合物は、非溶媒和形態、そして溶媒和形態（水和形態を包含する）で存在し得る。概して、溶媒和形態は、非溶媒和形態に同等であり、本開示の範囲内に網羅される。本明細書において提供される特定の化合物は、複数の結晶性形態または非晶質形態で存在し得る。概して、全ての物理的形態は、本明細書において企図される使用のために同等であり、本開示の範囲内であることが意図される。

30

【0038】

本明細書において提供される特定の化合物は、不斉炭素原子（光学中心）または二重結合を保持し、ラセミ体、ジアステレオマー、互変異性体、幾何異性体、及び個々の異性体は、本開示の範囲内に網羅される。本明細書において提供される化合物は、不安定すぎて合成及び／または単離することができないことが当技術分野において公知のものを含まない。

40

【0039】

本明細書において提供される化合物は、かかる化合物を構成する原子のうちの1つ以上で、非天然の比率の原子同位体も含有し得る。例えば、化合物は、放射性同位体（例えばトリチウム(3H)、ヨウ素125(^{125}I)、または炭素14(^{14}C)等)により放射性標識され得る。本明細書で提供される化合物の全ての同位体変化は、放射性であるか否かに関わらず、本開示の範囲内に包含される。

【0040】

II. 組成物及び方法に使用されるアンチセンスオリゴヌクレオチド

一実施形態では、ヒトジストロフィン *pre-mRNA* のエクソン51の一部に逆相補的なAONが本明細書で提供される。一実施形態では、本明細書で提供されるAONは、

50

表 1 に示される配列のうちの 1 つを有するか、またはそれを含有する。

【表 1 - 1】

AON 番号(配列番号)	塩基(5'→3')
1	AAAGAAGAAAAAGAAAAA
2	GAAAAAAGAAGAAAAAGA
3	AAAAGGAAAAAAGAAGAA
4	TTGCAAAAAGGAAAAAAG
5	GGTTTTTGCAAAAAGGAA
6	TTTTGGGTTTTTGCAAAA
7	AAATATTTTGGGTTTTTG
8	AGCTAAAATATTTTGGGT
9	GTAGGAGCTAAAATATTT
10	TCTGAGTAGGAGCTAAAA
11	AACAGTCTGAGTAGGAGC
12	AGAGTAACAGTCTGAGTA
13	TCACCAGAGTAACAGTCT
14	TTGTGTCACCAGAGTAAC
15	ACAGGTTGTGTCACCAGA
16	TAACCACAGGTTGTGTCA
17	CTTAGTAACCACAGGTTG
18	GTTTCCTTAGTAACCACA
19	TGGCAGTTTCCTTAGTAA
20	GGAGATGGCAGTTTCCTT
21	AGTTTGGAGATGGCAGTT
22	TTTCTAGTTTGGAGATGG
23	TGGCATTCTAGTTTGGA
24	GAAGATGGCATTCTAGT
25	TCAAGGAAGATGGCATT
26	CAACATCAAGGAAGATGG
27	ACCTCCAACATCAAGGAA
28	CAGGTACCTCCAACATCA
29	CAGAGCAGGTACCTCCAA
30	TCTGCCAGAGCAGGTACC
31	TGAAATCTGCCAGAGCAG
32	CCGGTTGAAATCTGCCAG
33	CAAGCCCGGTTGAAATCT
34	CTGTCCAAGCCCGGTTGA
35	AAGTTCTGTCCAAGCCCG
36	TCGGTAAGTTCTGTCCAA

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

AON 番号(配列番号)	塩基(5'→3')
37	GCCAGTCGGTAAGTTCTG
38	AGAAAGCCAGTCGGTAAG
39	AGCAGAGAAAGCCAGTCG
40	GATCAAGCAGAGAAAGCC
41	AACTTGATCAAGCAGAGA
42	TTTATAACTTGATCAAGC
43	GTGATTTTATAACTTGAT
44	CCTCTGTGATTTTATAAC
45	ATCACCTCTGTGATTTT
46	CCACCATCACCTCTGTG
47	GTCACCCACCATCACCTT
48	TCAAGGTCACCCACCATC
49	TATCCTCAAGGTCACCCA
50	GTTGATATCCTCAAGGTC
51	ATCTCGTTGATATCCTCA
52	TGATCATCTCGTTGATAT
53	CTTGATGATCATCTCGTT
54	TTCTGCTTGATGATCATC
55	ATACCTTCTGCTTGATGA
56	TTCTCATACCTTCTGCTT
57	ATTTTTTCTCATACCTTC
58	TTATCATTTTTTCTCATA
59	AACTTTTATCATTTTTTC
60	CTGCCAACTTTTATCATT
61	AACTTCTGCCAACTTTTA
62	AGAAAAACTTCTGCCAAC
63	TTTAAAGAAAAACTTCTG
64	TTCATTTTAAAGAAAAAC
65	CCCGGTTGAAATCTGCCA
66	GCCCGGTTGAAATCTGCC
67	AGCCCGGTTGAAATCTGC
68	AAGCCCGGTTGAAATCTG
69	CCAAGCCCGGTTGAAATC
70	TCCAAGCCCGGTTGAAAT
71	GTCCAAGCCCGGTTGAAA

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

AON 番号(配列番号)	塩基(5'→3')
72	TGTCCAAGCCCGGTTGAA
73	TCTGTCCAAGCCCGGTTG
74	TTCTGTCCAAGCCCGGTT
75	GTTCTGTCCAAGCCCGGT
76	AGTTCTGTCCAAGCCCGG
77	TAAGTTCTGTCCAAGCCC
78	GTAAGTTCTGTCCAAGCC
79	GGTAAGTTCTGTCCAAGC
80	CGGTAAGTTCTGTCCAAG
81	GTCGGTAAGTTCTGTCCA
82	AGTCGGTAAGTTCTGTCC
83	CAGTCGGTAAGTTCTGTC
84	CCAGTCGGTAAGTTCTGT
85	AGCCAGTCGGTAAGTTCT
86	AAGCCAGTCGGTAAGTTC
87	AAAGCCAGTCGGTAAGTT
88	GAAAGCCAGTCGGTAAGT
89	GAGAAAGCCAGTCGGTAA
90	AGAGAAAGCCAGTCGGTA
91	CAGAGAAAGCCAGTCGGT
92	GCAGAGAAAGCCAGTCGG
93	AAGCAGAGAAAGCCAGTC

10

20

【0041】

別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、全てのヌクレオチドがRNAである、本明細書で提供される配列のうちの1つを有するか、またはそれを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、全てのヌクレオチドがDNAである、本明細書で提供される配列のうちの1つを有するか、またはそれを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、ヌクレオチドがRNAとDNAの混合物である、本明細書で提供される配列のうちの1つを有するか、またはそれを含有する。

30

【0042】

当業者らには周知のとおり、天然オリゴヌクレオチドは、通常、ホスホジエステル主鎖で結合している、糖部分及び塩基部分を含有するヌクレオチドを含有する。一実施形態では、本明細書で提供されるAONは、修飾を含有する。修飾は、AON内の1つ以上のヌクレオチドの糖部分もしくは塩基部分のいずれかの化学修飾であるか、またはホスホジエステル主鎖の化学修飾である。各修飾は、独立して選択され得る。従って、本明細書で提供されるAONは、2つ以上の異なる修飾を有し得る。

40

【0043】

一実施形態では、修飾は、AON内の1つ以上のヌクレオチドの糖部分の化学修飾である。別の実施形態では、修飾は、AON内の1、2、3、4、または全てのヌクレオチドの糖部分の化学修飾である。

【0044】

一実施形態では、本明細書で提供されるAONで使用される修飾糖部分は、以下である：
 2'-O-修飾RNA（例えば、2'-O-アルキルまたは2'-O-（置換）アルキル、例えば、2'-O-メチル、2'-O-（2-シアノエチル）、2'-O-（2-メトキ

50

シ) エチル (2'-MOE)、2'-O-(2-チオメチル) エチル、2'-O-ブチリル、2'-O-プロパルギル、2'-O-アセタールエステル (例えば、Biscans et al. Bioorg. Med. Chem. 2015, 23, 5360)、2'-O-アリル、2'-O-(2S-メトキシプロピル)、2'-O-(N-(アミノエチル) カルバモイル) メチル (2'-AECM)、2'-O-(2-カルボキシエチル) 及びカルバモイル誘導体 (Yamada et al. Org. Biomol. Chem. 2014, 12, 6457)、2'-O-(2-アミノ) プロピル、2'-O-(2-(ジメチルアミノ) プロピル)、2'-O-(2-アミノ) エチル、2'-O-(2-(ジメチルアミノ) エチル)、2'-O-(ハロアルコキシ) メチル (Arai K. et al. Bioorg. Med. Chem. 2011, 21, 6285)、例えば、2'-O-(2-クロロエトキシ) メチル (MCEM)、2'-O-(2,2-ジクロロエトキシ) メチル (DCEM); 2'-O-アルコキシカルボニル、例えば、2'-O-[2-(メトキシカルボニル) エチル] (MOCE)、2'-O-[2-(N-メチルカルバモイル) エチル] (MCE)、2'-O-[2-(N,N-ジメチルカルバモイル) エチル] (DCME)、2'-O-[2-(メチルチオ) エチル] (2'-MTE)、2'-(ω-O-セリノール); 2'-ハロ、例えば、2'-F、FANA (2'-Fアラビノシル核酸); 2',4'-ジフルオロ-2'-デオキシ; カルバ糖及びアザ糖修飾体; 3'-O-置換 (例えば、3'-O-メチル、3'-O-ブチリル、3'-O-プロパルギル); 4'-置換 (例えば、4'-アミノメチル-2'-O-メチルまたは4'-アミノメチル-2'-フルオロ; 5'-置換 (例えば、5'-メチルまたはCNA) (Ostergaard et al. ACS Chem. Biol. 2014, 22, 6227); ならびにそれらの誘導体。

10

20

【0045】

一実施形態では、2'置換RNAは、2'-F、2'-O-メチル、または2'-O-(2-メトキシエチル) (すなわち、2'-MOE) である。別の実施形態では、2'置換RNAは、2'-MOEである。別の実施形態では、2'置換RNAは、2'-OMeである。

【0046】

一実施形態では、本明細書で提供されるAONで使用する修飾糖部分は、標的鎖への結合親和性を高め、ならびに／または該第1及び／もしくは第2のオリゴヌクレオチドのその標的との得られる二重鎖の融解温度を高め、ならびに／または免疫刺激効果を減少させ、ならびに／または生体安定性を高め、ならびに／または生体内分布及び／もしくは組織内分布を改善し、ならびに／または細胞内取り込み及び輸送を改善する修飾である。

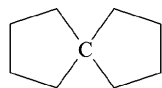
30

【0047】

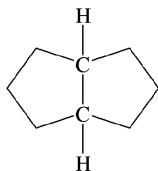
一実施形態では、本明細書で提供されるAONで使用する修飾糖部分は、二環式核酸 (BNA) モノマーである。一実施形態では、BNAは、ペントース環を立体配座的に制限するように化学的改変されているペントース由来部分である。本明細書で提供されるAONで使用するBNAの非限定例は、第1の環 (例えば、ペントース環) がさらなる環状部分とスピランを形成し、両方の環が1つの原子のみを共有するBNA、第1の環 (例えば、ペントース環) がさらなる環状部分と縮合して、両方の環が2つの隣接原子を共有するBNA、及び第1のサイクル (例えば、ペントース環) が2つの隣接しない原子で第1の環状部分に結合している部分を介して架橋化合物を形成するBNAである。そのような隣接原子は、橋頭原子と呼ばれる。架橋型化合物は、複数の環を含み、そのそれぞれは、少なくとも3つの原子で重なり合う。そうではなく、2つの環を含み、それらの環が2つの原子のみで重なっている化合物は、縮合化合物である。いくつかの架橋型化合物において、2つのブリッジヘッド原子間の最も小さな結合は、架橋部分、または橋部分と称される。他の架橋化合物では、1つのサイクルがヌクレオチドのペントースサイクルなどの特性サイクルである場合、その特性サイクルを構成しない部分は、架橋部分と呼ばれる。従って、架橋二環式化合物の命名法は、内容次第ということになる。

40

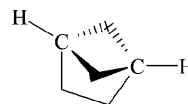
【化 1】



スピラン化合物



縮合化合物



架橋化合物

【0048】

10

二環式化合物は、追加の環を含み得る。二環式化合物は、少なくとも2つの環を含有し、該2つの環は、スピラン、縮合系、もしくは架橋系、またはそれらの組み合わせを構成する。一実施形態では、二環式化合物は、縮合及び架橋化合物である。いくつかの実施形態では、BNAは、架橋核酸モノマーである。

【0049】

一実施形態では、AON中のBNAの各出現が、独立して、立体構造的に制限されたヌクレオチド (CRN) モノマー、ロックされた核酸 (LNA) モノマー、キシローLNAモノマー、 α -LNAモノマー、 α -L-LNAモノマー、 β -D-LNAモノマー、2'-アミノ-LNAモノマー、2'-(アルキルアミノ)-LNAモノマー、2'-(アシルアミノ)-LNAモノマー、2'-N-置換-2'-アミノ-LNAモノマー、2'-チ 20
 オ-LNAモノマー、(2'-O, 4'-C) 制限エチル (cEt) BNAモノマー、(2'-O, 4'-C) 制限メトキシエチル (cMOE) BNAモノマー、2', 4'-BNANC (NH) モノマー、2', 4'-BNANC (N-Me) モノマー、2', 4'-BNANC (N-Bn) モノマー、エチレン架橋核酸 (ENA) モノマー、カルバLNA (cLNA) モノマー、3, 4-ジヒドロ-2H-ピラン核酸 (DpNA) モノマー、2'-C- 30
 架橋二環式ヌクレオチド (CBBN) モノマー、複素環架橋BNAモノマー、アミド架橋BNAモノマー、尿素架橋BNAモノマー、スルホンアミド架橋BNAモノマー、二環式炭素環式ヌクレオチドモノマー、TriNAモノマー、 α -L-TriNAモノマー、二環式DNA (bcdNA) モノマー、F-bcdNAモノマー、三環式DNA (tcDNA) モノマー、F-tcDNAモノマー、オキセタンヌクレオチドモノマー、ロックされ 40
 たPMOモノマー (2'-アミノ-LNA由来)、及びそれらの誘導体からなる群より選択されるAONが提供される。一実施形態では、該オリゴヌクレオチドにおいて、複数の異なる足場BNA修飾を使用することができる。いくつかの実施形態では、BNAの各出現は、独立して、立体配座拘束ヌクレオチド (CRN) モノマー、ロックされた核酸 (LNA) モノマー、キシローLNAモノマー、 α -L-LNAモノマー、 β -D-LNAモノマー、2'-アミノ-LNAモノマー、2'-(アルキルアミノ)-LNAモノマー、2'- 40
 (アシルアミノ)-LNAモノマー、2'-N-置換-2'-アミノ-LNAモノマー、(2'-O, 4'-C) 拘束エチル (cEt) LNAモノマー、(2'-O, 4'-C) 拘束メトキシエチル (cMOE) BNAモノマー、2', 4'-BNANC (NH) モノマー、2', 4'-BNANC (N-Me) モノマー、エチレン架橋核酸 (ENA) モノマー、 40
 2'-C-架橋二環式ヌクレオチド (CBBN) モノマー、及びその誘導体からなる群より選択される。

【0050】

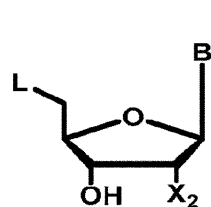
一実施形態では、BNAの各出現は、ロックされた核酸 (LNA) モノマーである。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、LNA及び2'-MOEモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、LNA及び2'-MeOモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、1~4つのLNAモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、1~3つのLNAモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、1または2つのLNAモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは 50

、1、2、3、または4つのLNAモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、1つのLNAモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、2つのLNAモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、3つのLNAモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、4つのLNAモノマーを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、AONの2つの5'末端ヌクレオチド位置に2つのLNAモノマーを含有し、AONの2つの3'末端ヌクレオチド位置に2つのLNAモノマーを含有する。

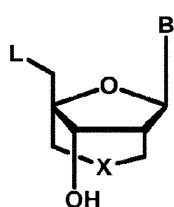
【0051】

これらのBNAの構造例は、以下に示される。式中、Bは、ヌクレオチド塩基（例えば、A、G、T、C、5-メチルシトシンなど）であり、Xは、変数であり、O、S、またはNRを表し、Rは、Hまたはアルキルであり、X₂は、ヒドロキシル部分または本明細書で定義される別の2'-置換であり、Lは、本明細書で記載の主鎖結合である。当業者らに知られているように、文献におけるそのような修飾の命名は、多くの場合、恣意的であり、統一した慣例に従わない。本出願では、以下に提供される名称は、以下に提供される構造を指すことが意図される。比較のために、従来のRNAモノマーの環状スカフォールドが最初に示されている。以下に示される構造において、モノマーは、典型的に、3'-末端モノマーとして描かれている。キラリティーが示されていない場合、各エナンチオマーが個別に言及される。環状部分に含まれるヘテロ原子は、他のヘテロ原子（例えば、N、O、またはS）で置換することができる。

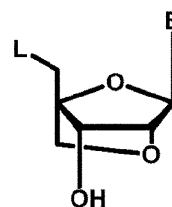
【化2-1】



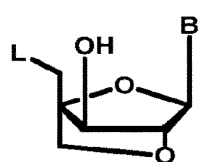
RNA



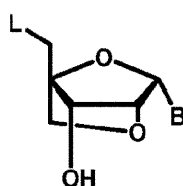
CRN



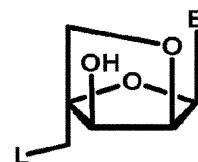
LNA



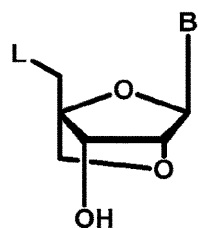
キシロ-LNA



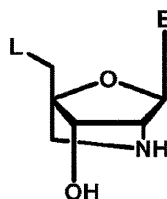
α-LNA



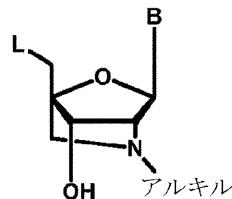
α-L-LNA



β-D-LNA



2'-アミノ-LNA



2'-(アルキルアミノ)-LNA

LNA

10

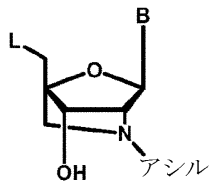
20

30

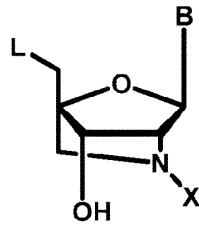
40

50

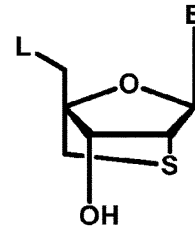
【化 2 - 2】



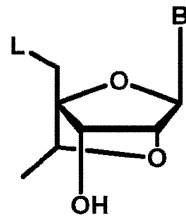
2'-(アシルアミノ)-LNA



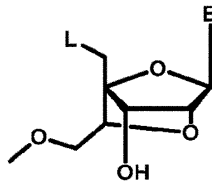
2'-N-置換-2'-アミノ-LNA



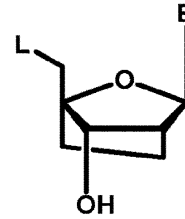
2'-チオ-LNA



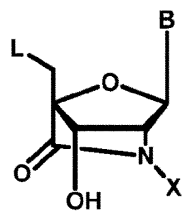
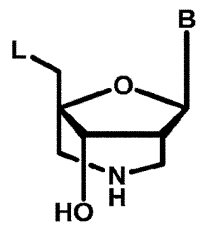
cEt BNA



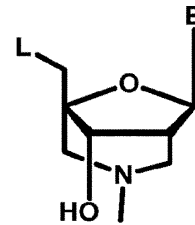
cMOE BNA



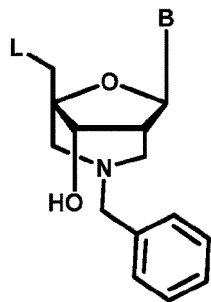
cLNA

アミド架橋 LNA
(Me)

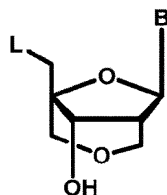
2',4'-BNANC(N-H)



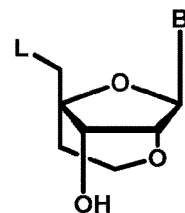
2',4'-BNANC(N-Me)



2',4'-BNANC(N-Bn)



オキソ-CBBN



ENA

10

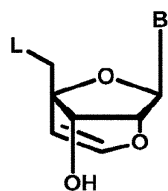
20

30

40

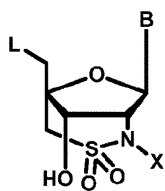
50

【化 2 - 3】

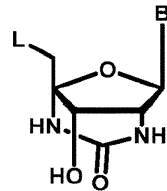


DpNA

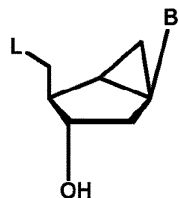
BNA



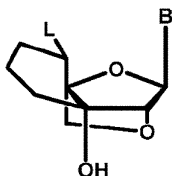
スルホンアミド架橋 BNA



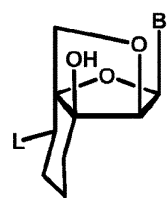
尿素架橋



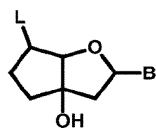
二環式炭素環ヌクレオチド



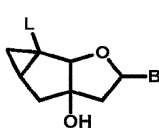
TriNA



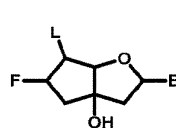
α-L-TriNA



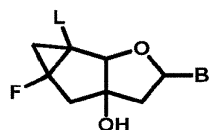
bcDNA



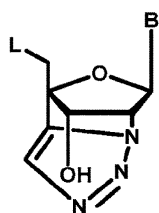
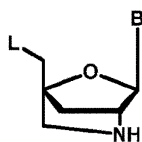
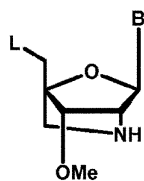
tcDNA



F-bcDNA



F-tcDNA

複素環架橋 BNA (トリアゾール部分の
変化が存在し得る)

2'-アミノ-LNA由来のロックされたPMO（本明細書では、主鎖は、3'-OではなくNを介して伸びる）

【0052】

別の実施形態では、本発明で使用されるBNAは、以下を含む：cEt（2'-O，4'-C拘束エチル）LNA（doi：10.1021/ja710342q）、cMOE（2'-O，4'-C拘束メトキシエチル）LNA（Seth et al., J. Org. Chem. 2010, 75, 1569-1581）、2',4'-BNANC（N-H）、2',4'-BNANC（N-Me）、エチレン架橋核酸（ENA）（doi：10.1093/nass/1.1.241）、carba LNA（cLNA）（doi：10.1021/jo100170g）、DpNA（Osawa et al., J. Org. Chem., 2015, 80(21), pp 10474-10481）、2'-C-架

10

20

30

40

50

橋二環式ヌクレオチド (CBBN、例えば、WO2014/145356 (Miragen Therapeutics) のような)、複素環架橋LNA (例えば、WO2014/126229 (Mitsuoka Y et al.) のような)、アミド架橋LNA (例えば、Yamamoto et al. Org. Biomol. Chem. 2015, 13, 3757 のような)、尿素架橋LNA (例えば、Nishida et al. Chem. Commun. 2010, 46, 5283 のような)、スルホンアミド架橋LNA (例えば、WO2014/112463 (Obika S et al.) のような)、二環式炭素環ヌクレオチド (例えば、WO2015/142910 (Ionis Pharmaceuticals) のような)、TrINA (Hanesian et al., J. Org. Chem., 2013, 78 (18), pp 9064-9075 のような)、 α -L-TrINA、ビシクロDNA (bcdNA) (Bolli et al., Chem Biol. 1996 Mar; 3 (3): 197-206)、F-bcdNA (DOI: 10.1021/jo402690j)、トリシクロDNA (tcdNA) (Murray et al., Nucl. Acids Res., 2012, Vol. 40, No. 13 6135-6143)、F-tcdNA (doi: 10.1021/acs.joc.5b00184)、またはオキセタンヌクレオチドモノマー (Nucleic Acids Res. 2004, 32, 5791-5799)。他の実施形態では、本明細書で使用するBNAは、WO2011/097641 (ISIS/Ionis Pharmaceuticals) 及びWO2016/017422 (Osaka University) に開示されているものを含む。

10

20

30

40

50

【0053】

別の実施形態では、本明細書で提供されるAON中の1つ以上のヌクレオチドの糖部分の化学修飾は、糖の別の化学部分との置換を含む。これらの実施形態では、糖部分は、例えば、モルホリン (PMO、PPMO、PMO-X)、ペプチド誘導体 (PNA)、ホウ素クラスター修飾PNA、ピロリジンベースのオキシペプチド核酸 (POPNA)、グリコールまたはグリセロールベースの核酸 (GNA)、トレオースベースの核酸 (TNA)、非環式トレオニールベースの核酸 (aTNA)、カチオン性モルホリノベースのオリゴマー (PMOPlus)、統合された塩基及び主鎖を有するオリゴヌクレオチド (ONIB); ピロリジンアミドオリゴヌクレオチド (POM)、ならびにそれらの誘導体で置換されている。

【0054】

一実施形態では、修飾は、AON内の1つ以上のヌクレオチドの塩基部分の化学修飾である。別の実施形態では、修飾は、AON内の1、2、3、4、または全てのヌクレオチドの塩基部分の化学修飾である。

【0055】

一実施形態では、本明細書で提供されるAONは、少なくとも1つの修飾塩基部分を含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、全ての塩基部分が修飾されている。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、少なくとも1つのチミン塩基がウラシルである、本明細書で提供される配列のうちの1つを有するか、またはそれを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、全てのチミン塩基がウラシルである、本明細書で提供される配列のうちの1つを有するか、またはそれを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、少なくとも1つのシトシン塩基が5-メチルシトシンである、本明細書で提供される配列のうちの1つを有するか、またはそれを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、全てのシトシン塩基が5-メチルシトシンである、本明細書で提供される配列のうちの1つを有するか、またはそれを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、全てのチミン塩基がウラシルであり且つ全てのシトシン塩基が5-メチルシトシンである、本明細書で提供される配列のうちの1つを有するか、またはそれを含有する。

【0056】

一実施形態では、修飾は、AONの主鎖の化学修飾である。別の実施形態では、修飾は

、AONの主鎖の化学修飾であり、AON内の1、2、3、4、または全てのホスホジエステル結合が修飾されている。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、少なくとも1つのホスホロチオアート主鎖の結合を有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、完全なホスホロチオアート主鎖の結合を有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、ホスホロチオアート主鎖の結合とリン酸主鎖の結合の混合物を有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、少なくとも1つのホスホロジアミデート主鎖の結合を有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、完全なホスホロジアミデート主鎖の結合を有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、ホスホロジアミデートの主鎖の結合とリン酸主鎖の結合の混合物を有する。

10

【0057】

別の実施形態では、本明細書で提供されるAONの主鎖は、キラル的に純粋なホスホロチオアート、ホスホロジチオアート(PS2)、ホスホノアセタート(PACE)、ホスホノアセトアミド(PACA)、チオホスホノアセタート、チオホスホノアセトアミド、ホスホロチオアートプロドラッグ、H-ホスホナート、メチルホスホナート、メチルホスホノチオアート、メチルリン酸、メチルホスホロチオアート、エチルリン酸、エチルホスホロチオアート、ボラノリン酸、ボラノホスホロチオアート、メチルボラノリン酸、メチルボラノホスホロチオアート、メチルボラノホスホナート、メチルボラノホスホノチオアート、及びそれらの誘導体である。別の修飾としては、ホスホラミダイト、ホスホラミダート、N3'→P5'ホスホラミダート、ホスホジアミダート、ホスホロチオジアミダート、スルファマート、ジメチレンスルホキシド、スルホナート、トリアゾール、オキサリル、カルバマート、メチレンイミノ(MMI)、3'-S-ホスホロチオラート及びチオアセトアミド核酸(TANA)、ならびにそれらの誘導体が挙げられる。

20

【0058】

一実施形態では、本明細書で提供されるAONは、ヒドロキシアлкоキシ基を含有する。本明細書で提供されるAONで使用されるヒドロキシアлкоキシ基は、エチレングリコールモノマー、エチレングリコールオリゴマー、またはエチレングリコールポリマー(ポリエチレングリコール(PEG)としても既知)を含むか、またはそれらからなる。

【0059】

別の実施形態では、本明細書で提供されるAONで使用されるヒドロキシアлкоキシ基、または少なくとも1つのヒドロキシアлкоキシ基、または全てのヒドロキシアлкоキシ基は、エチレングリコールモノマー、エチレングリコールオリゴマー、またはエチレングリコールポリマー(ポリエチレングリコール(PEG)としても既知)を含むか、またはそれらからなる。一実施形態では、AONとヒドロキシアлкоキシ基の間の結合は、共有結合である。

30

【0060】

PEG化、すなわち、エチレングリコールモノマーまたは鎖を含む(化学的に活性化された)ヒドロキシアлкоキシ基の結合は、当業者には周知である。PEG化は、核酸の5'末端モノマー及び/または3'末端モノマーの-OH基で行うことができる。これは、直接またはスペーサー(例えば、アミノアルキルヒドロキシアлкоキシ基)を介して、例えば、当業者によって知られているクリックケミストリーによって行うことができる。

40

【0061】

また、修飾されたPEG化の使用も包含され、当該(ポリ)エチレングリコールは、化学修飾されており、及び/またはそれに結合した部分を含有している。このようにして、該ヒドロキシアлкоキシ基は、当該技術分野で既知の追加の特性を獲得する。例えば、該ヒドロキシアлкоキシ基は、切断可能または蛍光性になり得る。修飾されたPEG化の一例としては、結合が分解可能(切断可能)な結合である切断可能PEG化が挙げられるが、これらに限定されない。例としては、例えば、pH、光、温度、還元または酸化環境、求核剤、合成試薬、酵素、プロテアーゼ、カテプシン、クリックリリース反応または(他の)外部刺激に反応する結合が挙げられる。

50

【0062】

一実施形態において、ヒドロキシアлкоキシ基は、修飾されていないエチレングリコールモノマー、エチレングリコールオリゴマーまたはエチレングリコールポリマーである。別の実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、修飾エチレングリコールモノマー、エチレングリコールオリゴマー、またはエチレングリコールポリマー（例えば、修飾PEG）である。

【0063】

一実施形態では、本明細書で提供されるAONで使用するヒドロキシアлкоキシ基は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のエチレングリコールモノマーを含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、1～20、1～16、1～12、1～8、1～6、2～16、2～12、2～8、2～6、3～12、3～8、または3～6つのエチレングリコールモノマーを含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12のエチレングリコールモノマーを含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、3、4、5または6つのエチレングリコールモノマーを含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、3または6つのエチレングリコールモノマーを含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、3つのエチレングリコールモノマーを含むか、またはそれらからなる。

10

20

【0064】

一実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール（TEG）、テトラエチレングリコール、ペンタエチレングリコール、またはヘキサエチレングリコール（HEG）基である。いくつかの実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、TEGまたはHEGである。いくつかの実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、TEGである。いくつかの実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、HEGである。

【0065】

本明細書で提供されるAONでは、ヒドロキシアлкоキシ基は、当業者らに周知の方法を使用してAONに結合させ得る。例えば、AONの5'末端及び／または3'末端のOHは、ホスホラミダイト、クロロホルマート、クロラミダート（chloramidate）またはチオホスホラミダイトとして誘導体化され得る。その後、これを、標準的なカップリング条件下で、ヒドロキシアлкоキシ基（例えば、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール（TEG）、テトラエチレングリコール、ペンタエチレングリコール、またはヘキサエチレングリコール（HEG））と反応させて、ヒドロキシアлкоキシル化AONを得る。あるいは、ヒドロキシアлкоキシ基（例えば、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール（TEG）、テトラエチレングリコール、ペンタエチレングリコール、またはヘキサエチレングリコール（HEG））のOHは、ホスホラミダイト、クロロホルマート、クロラミダート、またはチオホスホラミダイトとして誘導体化され、次に、これを、標準的なカップリング条件下でAONの5'末端及び／または3'末端のOHと反応させて、ヒドロキシアлкоキシル化AONを得る。

30

40

【0066】

一実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、リン酸リンカー（PO）を介してAONに結合している。別の実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、TEG基であり、ヒドロキシアлкоキシル化AONは、TEG-PO-AON（すなわち、HO(CH₂CH₂O)₃-P(O)(OH)-AON）であり、TEG-POは、AONの5'-OHに結合している。別の実施形態において、ヒドロキシアлкоキシ基は、TEG基であり、ヒドロキシアлкоキシル化AONは、TEG-PO-AONであり、TEG-POは、AONの3'-OHに結合している。別の実施形態において、2つのTEG基がAONに結合しており、一方は3'-OHに、他方は5'-OHに結合しており、ヒドロキシアлкоキシル

50

化AONは、(TEG-PO)₂-AONである。

【0067】

別の実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、ホスホロチオアートリンカー(PS)を介してAONに結合している。別の実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、TEG基であり、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、TEG-PS-AON(すなわち、HO(CH₂CH₂O)₃-P(S)(OH)-AON)であり、TEG-PSは、AONの5'-OHに結合している。別の実施形態において、ヒドロキシアлкоキシ基は、TEG基であり、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、TEG-PS-AONであり、TEG-PSは、AONの3'-OHに結合している。別の実施形態において、2つのTEG基がAONに結合しており、一方は3'-OHに、他方は5'-OHに結合しており、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、(TEG-PS)₂-AONである。 10

【0068】

別の実施形態では、2つのTEG基がAONに結合しており、一方は3'-OHに、他方は5'-OHに結合しており、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、TEG-PO-AON-PS-TEGであり；TEG-POが5'にあり且つTEG-PSが3'にあるか；または、TEG-POが3'にあり且つTEG-PSが5'にある。

【0069】

別の実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、HEG基であり、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、HEG-PO-AON(すなわち、HO(CH₂CH₂O)₆-P(O)(OH)-AON)であり、HEG-POは、AONの5'-OHに結合している。別の実施形態において、ヒドロキシアлкоキシ基は、HEG基であり、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、HEG-PO-AONであり、HEG-POは、AONの3'-OHに結合している。別の実施形態において、2つのHEG基がAONに結合しており、一方は3'-OHに、他方は5'-OHに結合しており、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、(HEG-PO)₂-AONである。 20

【0070】

別の実施形態では、ヒドロキシアлкоキシ基は、HEG基であり、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、HEG-PS-AON(すなわち、HO(CH₂CH₂O)₆-P(S)(OH)-AON)であり、HEG-PSは、AONの5'-OHに結合している。別の実施形態において、ヒドロキシアлкоキシ基は、HEG基であり、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、HEG-PS-AONであり、HEG-PSは、AONの3'-OHに結合している。別の実施形態において、2つのHEG基がAONに結合しており、一方は3'-OHに、他方は5'-OHに結合しており、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、(HEG-PS)₂-AONである。 30

【0071】

別の実施形態では、2つのHEG基がAONに結合しており、一方は3'-OHに、他方は5'-OHに結合しており、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、HEG-PO-AON-PS-HEGであり；HEG-POが5'にあり且つHEG-PSが3'にあるか；または、HEG-POが3'にあり且つHEG-PSが5'にある。別の実施形態では、1つのTEG基及び1つのHEG基がAONに結合しており、一方は3'-OHに、他方は5'-OHに結合しており、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、TEG-PO-AON-PS-HEGであり；TEG-POが5'にあり且つHEG-PSが3'にあるか、または、TEG-POが3'にあり且つHEG-PSは5'にある。別の実施形態では、1つのTEG基及び1つのHEG基がAONに結合しており、一方は3'-OHに、他方は5'-OHに結合しており、ヒドロキシアлкоキシ化AONは、HEG-PO-AON-PS-TEGであり；HEG-POが5'にあり且つTEG-PSが3'にあるか、または、HEG-POが3'にあり且つTEG-PSは5'にある。 40

【0072】

別の実施形態では、本明細書で提供されるAONは、AON番号33、34、35、36、37、38、または39の配列を有するか、またはそれを含む。別の実施形態で 50

は、本明細書で提供される AON は、AON 番号 33、34、35、36、37、38 または 39 の配列を有するか、またはそれを含有し、全てのチミン塩基が、ウラシルで置換されている。別の実施形態では、本明細書で提供される AON は、AON 番号 33、38、または 39 の配列を有するか、またはそれを含有する。別の実施形態では、本明細書で提供される AON は、AON 番号 33、38 または 39 の配列を有するか、またはそれを含有し、全てのチミン塩基が、ウラシルに置換されている。

【0073】

一実施形態では、本明細書で提供される AON は、本明細書で提供される配列のうちの 1 つを有し、AON の 5' 末端から 1 つもしくは 2 つのヌクレオチドが削除されているか、または AON の 3' 末端から 1 つもしくは 2 つのヌクレオチドが削除されているか、または AON の 5' 末端から 1 つのヌクレオチドが削除されており且つ AON の 3' 末端から 1 つのヌクレオチドが削除されている。従って、本実施形態では、本明細書で提供される AON は、16 量体または 17 量体である。

【0074】

別の実施形態では、本明細書で提供される AON は、本明細書で提供される配列の 1 つを含有するか、または上記のように 16 マーまたは 17 マーを含有し、16~30 ヌクレオチド長である。そのような実施形態では、当業者は、ヒトジストロフィンエクソン 51 の周知の配列に基づいて、ヒトジストロフィンエクソン 51 の一部と最大 90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 逆相補的である、長さが 18 ヌクレオチドより長く 30 ヌクレオチドまでの AON を得るために、どのヌクレオチドが、どのような順序で、本明細書で提供される配列の 5' 末端及び／または 3' 末端に付加するかを容易に決定することが可能であろう。そのようなより長い AON は、本開示の範囲内である。別の実施形態では、本明細書で提供される AON は、16~25 ヌクレオチド長である。別の実施形態では、本明細書で提供される AON は、16~20 ヌクレオチド長である。別の実施形態では、本明細書で提供される AON は、16、17、18、19、または 20 ヌクレオチド長である。別の実施形態では、本明細書で提供される AON は、18 ヌクレオチド長である。

【0075】

別の実施形態では、本明細書で提供される配列の 1 つを有し且つ完全に 2'-MOE RNA 修飾されている AON が本明細書で提供され、全てのシトシンが、5-メチルシトシンに置換され、主鎖が、完全にホスホロチオアート主鎖である。

【0076】

別の実施形態では、本明細書で提供される配列の 1 つを有し且つ完全に 2'-OMe RNA 修飾されている AON が本明細書で提供され、全てのシトシンが、5-メチルシトシンに置換され、主鎖が、完全にホスホロチオアート主鎖である。

【0077】

別の実施形態では、本明細書で提供される配列の 1 つを有する AON が本明細書で提供され、全てのシトシンが、5-メチルシトシンで置換され、AON の 2 つの 5' 末端ヌクレオチドが、LNA であり、AON の 2 つの 3' 末端ヌクレオチドが、LNA であり、残余ヌクレオチドが、2'-MOE RNA 修飾されており、主鎖が、完全なホスホロチオアート主鎖である。

【0078】

別の実施形態では、本明細書で提供される配列の 1 つを有する AON が本明細書で提供され、全てのシトシンが、5-メチルシトシンで置換され、AON の 2 つの 5' 末端ヌクレオチドが、LNA であり、AON の 2 つの 3' 末端ヌクレオチドが、LNA であり、残余ヌクレオチドが、2'-OMe RNA 修飾されており、主鎖が、完全なホスホロチオアート主鎖である。

【0079】

本明細書で提供される AON は、標準的な固相オリゴヌクレオチド合成手法を使用して合成され得る。例えば、AON は、標準的なホスホラミダイトプロトコルにより、OP-

10

20

30

40

50

10 合成装置 (GE / AKTA Oligopilot) または MerMade 12 合成装置 (BioAutomation) のいずれかを使用して合成され得る。AON は、2 段階の配列 (例えば、DEA、次に、濃 NH₄OH 処理) において切断及び脱保護され、陰イオン交換クロマトグラフィーで精製され、サイズ排除クロマトグラフィーで脱塩され、凍結乾燥され得る。

【0080】

III. 医薬組成物

本明細書で提供される医薬組成物は、治療的有効量の本明細書で提供される 1 つ以上の AON と、薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤とを含有する。

【0081】

AON は、好適な医薬製剤 (例えば、液剤、懸濁剤、散剤、点眼または非経口投与用の滅菌溶液または懸濁液、及び経皮パッチ調製物) に製剤化することができる。通常、本明細書に記載の AON は、当該技術分野で周知の技術及び手順を使用して、医薬組成物に製剤化される (例えば、以下を参照のこと: *Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Seventh Edition 1999*)。

【0082】

組成物では、有効濃度の 1 つ以上の化合物または薬学的に許容される塩が、好適な薬学的担体またはビヒクルと混合されている。特定の実施形態では、組成物中の AON の濃度は、投与時に、本明細書に開示の疾患または障害の症状及び／または進行のうちの 1 つ以上を処置、予防、または改善する量を送達するのに有効である。

【0083】

通常、組成物は、単回投薬用に製剤化される。組成物を製剤化するために、処置された状態が軽減または改善されるように、化合物の重量分率が、有効濃度で選択されたビヒクルに溶解、懸濁、分散、または他の方法で混合される。本明細書で提供される AON の投与に適した薬学的担体またはビヒクルは、特定の投与様式に適していることが当業者らに既知である任意のそのような担体を含む。

【0084】

さらに、AON は、組成物中の唯一の薬学的に活性な成分として製剤化され得るかも、または他の活性成分と組み合わせて製剤化され得る。組織標的化リポソームを含むリポソーム懸濁液は、また、薬学的に許容される担体として適していることがある。これらは、当業者らに既知の方法に従って調製され得る。例えば、リポソーム製剤は、当該技術分野で知られているように調製され得る。簡単に言えば、多重小胞 (MLV) などのリポソームが、フラスコ内で卵ホスファチジルコリン及び脳ホスファチジルセリン (モル比 7 : 3) を乾燥させることにより形成され得る。二価カチオンを含まないリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中の本明細書で提供される化合物の溶液を添加し、脂質膜が分散するまで、フラスコを振盪する。得られた小胞を洗浄してカプセル化されていない化合物を除去し、遠心分離でペレット化し、その後、PBS に再懸濁する。

【0085】

活性化合物は、処置される対象に望ましくない副作用がなく、治療上有効な効果を発揮するのに十分な量で、薬学的に許容される担体中に含まれる。治療上有効な濃度は、本明細書に記載の *in vitro* 及び *in vivo* 系で AON を試験することにより経験的に決定され、次に、ヒトへの投薬量を推定され得る。いくつかの実施形態では、AON は、薬物の治療上有効な濃度を得る方法で投与される。いくつかの実施形態では、コンパニオン診断 (例えば、*Olsen D and Jorgensen J T, Front. Oncol., 2014 May 16, 4:105, doi:10.3389/fonc.2014.00105*) は、特定の対象または対象集団における活性化合物の治療濃度及び安全性プロファイルを決定するために使用される。

【0086】

医薬組成物中の AON の濃度は、活性化合物の吸収、組織分布、化合物の不活性化及び

10

20

30

40

50

排泄速度、化合物の物理化学的特性、投薬スケジュール、及び投与量、ならびに当業者らに既知の他の要因により決まるであろう。例えば、送達される量は、本明細書に開示される疾患または障害の症状のうちの1つ以上を改善するのに十分である。

【0087】

特定の実施形態では、治療上有効な投薬量は、有効成分が約0.1 ng/mLから約50~100 µg/mLの血清中濃度を生じなければならない。一実施形態では、医薬組成物は、1日当たり体重1キログラム当たり約0.001 mg~約2000 mgの化合物の投薬量を提供する。医薬単位剤形は、投与単位形態当たり約1 mg~約1000 mg、特定の実施形態では、約10~約500 mgの必須有効成分または必須成分の組み合わせを得るように調製される。

10

【0088】

AONは、一度に投与されても、間隔をあけて数回の低用量に分けてもよい。正確な投与量及び処置期間は、処置される疾患次第であり、既知の試験プロトコルを使用して、またはin vivoもしくはin vitroの試験データから外挿することにより、経験的に決定され得ることが理解されている。また、濃度及び投薬量の値が、病態の重症度が緩和されるのに伴って変化し得ることに留意されたい。さらに、特定のいずれの対象に対しても、特定の投薬レジメンが、個々のニーズ及び組成物の投与者または投与監督者の専門的判断に応じて、経時的に調製されなければならないこと、ならびに本明細書に記載された濃度範囲は、例示のみであり、特許請求された組成物の範囲または実践を制限することを意図していないことを理解すべきである。

20

【0089】

従って、本明細書に記載のAONの1つ以上またはその薬学的に許容される塩の有効濃度または有効量を、全身投与、局所投与、または局所性投与に適した医薬担体またはビヒクルと混合して医薬組成物を形成する。AONは、疾患または障害の1つ以上の症状を改善するか、またはそれを処置するか、その進行を遅らせるか、またはそれを予防するために有効な量で含まれている。組成物中の活性化合物の濃度は、活性化合物の吸収、組織分布、不活性化、排泄率、投与スケジュール、投与量、特定の製剤、及び当業者らに既知の他の要因により決まるであろう。

【0090】

組成物は、限定されない、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内、髄腔内、皮膚、経皮、または頬内を含む好適な経路で投与されることが意図される。

30

【0091】

非経口適用、皮内適用、または皮下適用に使用される液剤または懸濁剤は、以下の成分のいずれかを含み得る：滅菌希釈剤（例えば、注射用水、生理食塩水、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、ジメチルアセトアミド、または他の合成溶媒）；抗菌剤（例えば、ベンジルアルコール及びメチルパラベン）；抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸及び亜硫酸水素ナトリウム）；キレート剤（例えば、エチレンジアミン四酢酸（EDTA））；緩衝剤（例えば、酢酸塩、クエン酸塩、及びリン酸塩）；ならびに等張性を調整するための薬剤（例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース）。非経口製剤は、ガラス、プラスチック、または他の適切な材料で作られたアンプル、ペン、使い捨て注射器、または単回投与用もしくは複数回投与用のバイアルに封入することができる。

40

【0092】

AONが不十分な溶解度を示す場合、AONを溶解させる方法が使用され得る。そのような方法は、当業者らに既知であり、共溶媒（例えば、ジメチルスルホキシド（DMSO））を使用すること、界面活性剤（例えば、TWEEN（登録商標））を使用すること、または重炭酸ナトリウム水溶液への溶解を含むが、これらに限定されない。

【0093】

AON（複数可）を混合または添加すると、得られる混合物は、溶液、懸濁液、乳濁液などであってよい。得られる混合物の形態は、意図される投与様式及び選択されたキャリ

50

アまたはビヒクルにおけるAONの溶解度を含む、いくつかの要因により決まる。有効濃度は、処置される疾患、障害、または状態の症状を改善するのに十分であり、経験的に決定され得る。

【0094】

単位剤形（例えば、散剤、顆粒剤、滅菌非経口服液剤、または懸濁剤と、適切な量のAONまたはその薬学的に許容される塩を含有する油水乳剤）で、ヒト及び動物に投与するための医薬組成物が提供される。薬学的に治療活性のあるAON及びその塩は、単位剤形または複数剤形で製剤化され、投与される。本明細書で使用される単位投与形態は、当該技術分野で知られているように、ヒト及び動物対象に適し且つ個別に包装される物理的に個別の単位を指す。各単位用量には、必要な薬学的担体、ビヒクル、または希釈剤と共に、所望の治療効果を生じさせるのに十分な所定量の治療的に活性な化合物を含有する。単位投与形態の例としては、アンプル及び注射器、個別に包装された錠剤またはカプセルを含む。単回投与形態は、その一部分ずつまたは複数で投与され得る。反復投与形態は、分割された単回投与形態で投与されることになる単一容器で包装された、複数の同一の単回投与形態である。反復投与形態の例としては、バイアル、錠剤もしくはカプセル剤のボトルまたはポイントもしくはガロンのボトルが挙げられる。従って、反復投与形態は、包装時には分割されていない複数の単回用量のものである。

10

【0095】

徐放性製剤を調製することもできる。徐放性調製剤の適切な例としては、本明細書で提供される化合物を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、このマトリックスは、成形品（例えば、フィルムまたはマイクロカプセル）の形態をとる。徐放性マトリックスの例としては、イオントフォレシスパッチ、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリレート）またはポリ（ビニルアルコール））、ポリ乳酸、L-グルタミン酸とエチル-L-グルタミン酸のコポリマー、非分解性エチレン-ビニルアセタート、分解性乳酸-グリコール酸コポリマー（例えば、LUPRON DEPOT（商標）（乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸ロイプロリドからなる注射用ミクロスフェア）、及びポリ-D-（-）-3-ヒドロキシ酪酸が挙げられる。エチレン-酢酸ビニルや乳酸-グリコール酸などのポリマーは、100日以上分子を放出可能であるが、特定のヒドロゲルは、より短い期間でタンパク質を放出する。カプセル化された化合物が体内に長期間留まると、37℃で湿気に曝露の結果として変性または凝集することがあり、生物学的活性の喪失及び構造が変化する可能性がもたらされる。関与する作用機序に応じて、安定化のための合理的な方策を考案することができる。例えば、凝集のメカニズムがチオージスルフィド相互交換による分子間S-S結合形成であると分かった場合、スルフヒドリル残基を修飾すること、酸性溶液から凍結乾燥すること、水分含有量を制御すること、適切な添加剤を使用すること、及び特定のポリマーマトリックス組成物を開発することによって、安定化を実現することができる。

20

30

【0096】

0.005%~100%の範囲の有効成分を含有し、残余が非毒性担体で構成される剤形または組成物は、調製され得る。そのような組成物としては、液剤、懸濁剤、散剤、及び持続放出製剤（限定されないが、インプラント及びマイクロカプセル化送達系）、ならびに生分解性、生体適合性ポリマー（例えば、コラーゲン、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、ポリオルトエステル、ポリ乳酸など）が挙げられるが、これらに限定されない。これらの組成物の調製方法は、当業者らには既知である。企図される組成物は、約0.001%~100%の活性成分、特定の実施形態では、約0.1~85%または約75~95%を含有してもよい。

40

【0097】

活性AONまたは薬学的に許容される塩は、徐放性製剤またはコーティングなど、化合物が身体から急速に排出されるのを防ぐ担体を用いて調製され得る。

【0098】

組成物は、所望の特性の組み合わせを得るために他の活性AONを含んでもよい。本明

50

細書で記載されるように、本明細書で提供される A O N またはその薬学的に許容される塩は、また、上記で言及される疾患または病状（例えば、酸化ストレスに関連する疾患）のうちの 1 つ以上を処置する上で価値があることが一般技術で知られている別の薬理作用のある物質と共に治療目的または予防目的のために有利に投与され得る。そのような併用療法が、本明細書で提供される組成物及び処置方法のさらなる態様を構成することを理解すべきである。

【0099】

A. 注射剤、液剤、及び乳剤

一般に、皮下注射、筋肉内注射、または静脈内注射を特徴とする非経口投与も本発明で企図される。注射剤は、従来の形態で、液剤もしくは懸濁液、注射前の溶解もしくは液体中の懸濁に適した固体形態、または乳剤のいずれかとして、調製することができる。いくつかの実施形態では、懸濁液は、マイクロ粒子またはナノ粒子の懸濁液である。いくつかの実施形態では、乳濁液は、微小粒子またはナノ粒子の乳濁液である。好適な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロールまたはエタノールである。加えて、所望により、投与される医薬組成物はまた、少量の非毒性補助物質、例えば、湿潤剤または乳化剤、pH 緩衝剤、安定剤、溶解度向上剤、及び、例えば、酢酸ナトリウム、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミン、及びシクロデキストリンなどの他の薬剤を含有してもよい。一定レベルの投薬量が維持されるように、徐放性または持続放出系を移植することも本明細書で企図される。簡単に言えば、本明細書で提供される A O N は、固体内部マトリックス（例えば、ポリメチルメタクリレート、ポリブチルメタクリレート、可塑化または非可塑化ポリ塩化ビニル、可塑化ナイロン、可塑化ポリエチレンテレフタレート、天然ゴム、ポリイソブレン、ポリイソブチレン、ポリブタジエン、ポリエチレン、エチレン-酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポリジメチルシロキサン、シリコーンカーボネートコポリマー、親水性ポリマー（例えば、アクリル酸エステル及びメタクリル酸エステルのヒドロゲル）、コラーゲン、架橋ポリビニルアルコール、及び架橋部分加水分解ポリ酢酸ビニル中に分散しており、この固体内部マトリックスは、体液に不溶性である外側のポリマー膜（例えば、ポリエチレン、ポリプロピレン、エチレン/プロピレンコポリマー、エチレン/エチルアクリレートコポリマー、エチレン/酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポリジメチルシロキサン、ネオプレンゴム、塩素化ポリエチレン、ポリ塩化ビニル、酢酸ビニルとの塩化ビニルコポリマー、塩化ビニリデン、エチレン及びプロピレン、イオノマーポリエチレンテレフタレート、ブチルゴム、エピクロロヒドリンゴム、エチレン/ビニルアルコールコポリマー、エチレン/酢酸ビニル/ビニルアルコールターポリマー、及びエチレン/ビニルオキシエタノールコポリマー）に囲まれている。A O N は、放出速度制御段階で外側のポリマー膜を通して拡散する。そのような非経口組成物に含有される活性 A O N の割合は、その特定の性質、ならびに化合物の活性及び対象のニーズに大きく依存する。

【0100】

組成物の非経口投与は、静脈内、皮下、及び筋肉内投与を含む。非経口投与用の調製物は、注射用の滅菌溶液、使用直前に溶液と混合するために用意された滅菌乾燥可溶性製品（例えば、凍結乾燥粉末）（例えば、皮下錠剤）、注射用の滅菌懸濁剤、使用直前にビヒクルと混合するために用意された滅菌乾燥不溶性製品、及び滅菌乳剤を含む。溶液は、水性または非水性のいずれかであってよい。

【0101】

静脈内投与される場合、好適な担体には、生理食塩水またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）、ならびに増粘剤及び可溶化剤、例えばグルコース、ポリエチレングリコール、及びポリプロピレングリコール、及びこれらの混合物などを含有する溶液が含まれる。

【0102】

非経口調製物で使用される薬学的に許容される担体には、水性ビヒクル、非水性ビヒクル、抗微生物剤、等張剤、緩衝液、抗酸化剤、局部麻酔薬、懸濁化剤及び分散剤、乳化剤、金属イオン封鎖剤またはキレート剤、ならびに他の薬学的に許容される物質が含まれる

。

【0103】

水性ビヒクルの例としては、塩化ナトリウム注射液、リンガー注射液、等張性デキストロース注射液、滅菌水注射液、デキストロース、及び乳酸加リンガー注射液が挙げられる。非水性非経口ビヒクルとしては、植物由来の不揮発性油、綿実油、コーン油、ゴマ油、及びピーナッツ油が挙げられる。静菌濃度または静真菌濃度の抗微生物剤は、フェノールまたはクレゾール、水銀剤、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチル及びプロピル p ヒドロキシ安息香酸エステル、チメロサル、塩化ベンザルコニウム、及び塩化ベンゼトニウムを含む、反復投与容器に包装される非経口調製物に加える必要がある。等張剤は、塩化ナトリウム及びデキストロースを含む。緩衝液は、リン酸塩及びクエン酸塩を含む。抗酸化剤は、重硫酸ナトリウムを含む。局部麻酔薬は、塩酸プロカインを含む。懸濁化剤及び分散剤は、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、及びポリビニルピロリドンを含む。乳化剤は、ポリソルベート 80 (T W E E N (登録商標) 80) を含む。金属イオンの金属イオン封鎖剤またはキレート剤は、E D T A を含む。薬学的担体は、また、水混和性ビヒクル用のエチルアルコール、ポリエチレングリコール、及びプロピレングリコールと、p H 調整用の水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸、または乳酸とを含む。

10

【0104】

薬学的に活性な A O N の濃度は、注射により所望の薬理効果を生じる有効量が得られるように調整される。正確な用量は、当該技術分野で既知の対象または動物の年齢、体重、及び状態により決まる。

20

【0105】

単回用量非経口調製物は、アンプル、バイアル、または針付き注射器で包装される。非経口投与用の全ての調製物は、当該技術分野で既知であり、実践されているように、滅菌されていなければならない。

【0106】

実例として、活性 A O N を含有する滅菌水溶液の静脈内または動脈内注入は、効果的な投与様式である。別の実施形態は、所望の薬理効果を生じさせるために必要に応じて注射される活性 A O N を含有する滅菌水性または油性溶液または懸濁液である。

【0107】

注射剤を局所投与及び全身投与用に設計した。通常、治療有効投薬量は、処置される組織（複数可）に対して少なくとも約 0.1 % w / w、多くとも約 90 % w / w 以上の（例えば、1 % w / w を超える）濃度の活性 A O N を含有するように製剤化される。活性 A O N は、一度に投与されても、間隔をあけて数回の低用量に分けてもよい。正確な投約量及び処置期間は、処置される組織次第であり、既知の試験プロトコルを使用して、または *i n v i v o* もしくは *i n v i t r o* の試験データから外挿することにより、経験的に決定され得ることが理解されている。また、濃度及び投薬量の値が、処置される個体の年齢により変化し得ることに留意されたい。さらに、特定のいずれの対象に対しても、特定の投薬レジメンが、個々のニーズ及び製剤の投与者または投与監督者の専門的判断に応じて、経時的に調製されなければならないこと、ならびに本明細書に記載された濃度範囲は、例示のみであり、特許請求された製剤の範囲または実践を制限することを意図していないことを理解すべきである。

30

40

【0108】

A O N は、微粉化または他の適切な形態で懸濁されても、より溶解性の高い活性生成物を生成するか、またはプロドラッグを生成するために誘導体化され得る。得られる混合物の形態は、意図される投与様式及び選択された担体またはビヒクルにおける化合物の溶解度を含む、多数の要因より決まる。有効濃度は、状態の症状を改善するのに十分であり、経験的に決定され得る。

【0109】

B. 凍結乾燥粉末

50

溶液、乳剤、及び他の混合物として投与するために再構成することができる凍結乾燥粉末も本明細書で提供される。それらは、また、再構成され、固体またはゲルとして製剤化され得る。

【0110】

滅菌凍結乾燥粉末は、本明細書で提供されるAONまたはその薬学的に許容される塩を適切な溶媒に溶解させることにより調製される。溶媒は、粉末または粉末から調製された再構成溶液の安定性または他の薬理学的成分を改善する賦形剤を含有してもよい。使用され得る賦形剤としては、デキストロース、ソルビトール、フルクトース、コーンシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、ショ糖、または他の好適な薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。溶媒はまた、クエン酸塩、リン酸ナトリウムもしくはリン酸カリウムなどの緩衝液、または当業者らに知られているような他の緩衝液、一実施形態では、pHがほぼ中性の緩衝液を含有してもよい。その後の溶液の滅菌濾過、それに続く当業者らに既知の標準条件下での凍結乾燥により、所望の配合物が得られる。通常、得られた溶液は、凍結乾燥のためにバイアルに分配されるであろう。各バイアルは、化合物の単回投薬量（限定されないが、10～1000mgまたは100～500mgを含む）または複数投薬量を含有するであろう。凍結乾燥粉末を、適切な条件下（例えば、約4℃～室温）で保存することができる。

10

【0111】

この凍結乾燥粉末と注射用水との溶液調製により、非経口投与用の製剤が得られる。再構成のために、滅菌水または他の適切な担体1mLあたりに、約1～50mg、約5～35mg、または約9～30mgの凍結乾燥粉末を添加した。正確な量は、選択された化合物により決まる。そのような量は、経験的に決定することができる。

20

【0112】

C. 局所投与

局所混合物は、局所及び全身投与について記載したとおりに調製される。得られる混合物は、溶液、懸濁液、乳濁液などであってよく、クリーム剤、ゲル剤、軟膏剤、乳剤、液剤、エリキシル剤、ローション剤、懸濁剤、チンキ剤、ペースト剤、フォーム剤、エアロゾル剤、洗浄剤、スプレー剤、坐薬、包帯、皮膚パッチ、または局所投与に適した他の製剤として製剤化される。

30

【0113】

化合物は、局所適用または局所性適用（例えば、皮膚及び粘膜への局所性適用）のために、例えば、眼内で、ゲル剤、クリーム剤、及びローション剤の形態で、ならびに眼への適用のために、または大槽内もしくは脊髄内適用のために製剤化され得る。経皮送達用、また、眼または粘膜への投与用、あるいは吸入療法用の局所投与が企図される。活性化化合物単独のまたは他の薬学的に許容される賦形剤と組み合わせた鼻腔用溶液を投与することもできる。

【0114】

これらの溶液、特に、眼科用途に意図された溶液は、適切な塩を含む0.01%～10%の等張溶液（pH約5～7）として製剤化され得る。

40

【0115】

D. 持続放出組成物

本明細書で提供されるAONは、制御放出手段または当業者らに周知の送達デバイスで投与することができる。例としては、以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：米国特許第3,845,770号；同第3,916,899号；同第3,536,809号；同第3,598,123号；ならびに米国特許第4,008,719号、同第5,674,533号、同第5,059,595号、同第5,591,767号、同第5,120,548号、同第5,073,543号、同第5,639,476号、同第5,354,556号、同第5,639,480号、同第5,733,566号、同第5,739,108号、同第5,891,474号、同第5,922,356号、同第5,972,891号、同第5,980,945号、同第5,993,855号、同第6,

50

045, 830号、同第6, 087, 324号、同第6, 113, 943号、同第6, 197, 350号、同第6, 248, 363号、同第6, 264, 970号、同第6, 267, 981号、同第6, 376, 461号、同第6, 419, 961号、同第6, 589, 548号、同第6, 613, 358号、同第6, 699, 500号、及び同第6, 740, 634号（これらのそれぞれは、参照により本明細書に組み込まれる）。例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、他のポリマーマトリックス、ゲル、透過性膜、浸透圧系、多層コーティング、微粒子、リポソーム、ミクロスフェア、またはそれらの組み合わせを使用して、1つ以上の有効成分を徐放性または制御放出を提供する、そのような剤形は、様々な割合で所望の放出プロファイルを得るために使用することができる。本明細書に記載のものを含む当業者らに既知の好適な制御放出製剤は、本明細書に提供される活性成分と共に使用するために容易に選択することができる。

10

【0116】

全ての制御放出医薬製品は、それらの非制御の対照物が実現したものを超える薬物療法の改善という共通の目的を有する。一実施形態では、治療における最適に設計された制御放出調製物の使用は、最小限の時間で病態を治癒させるまたは制御するために用いられる最低限の薬剤物質によって特徴付けられる。ある特定の実施形態において、制御放出製剤の利点としては、薬物活性の延長、投薬頻度の低減、及び対象服薬遵守の改善が挙げられる。加えて、制御放出製剤を使用して、作用開始の時間または薬物の血中濃度などの他の特性に影響を及ぼすことができ、それ故に、副（例えば、逆）作用の発生に影響を及ぼし得る。

20

【0117】

多くの制御放出製剤は、所望の治療効果を素早くもたらす量の薬物（活性成分）を最初に放出し、長期間にわたってこのレベルの治療または予防効果を維持するために、他の量の薬物を徐々に且つ継続的に放出するように設計されている。体内の薬物レベルを一定に保つために、薬物は、代謝されて体外に排出される薬物の量を補う速度で、剤形から放出されなければならない。AONの制御放出は、限定されないが、pH、温度、酵素、水、または他の生理学的条件または化合物を含む様々な条件により刺激することができる。

【0118】

特定の実施形態では、AONは、静脈内注入、埋め込み型浸透圧ポンプ、経皮パッチ、リポソーム、または他の投与様式を使用して投与され得る。一実施形態では、ポンプが使用され得る（以下を参照のこと：Sef-ton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)）。別の実施形態では、高分子材料が使用され得る。さらに別の実施形態では、制御放出系は、治療標的の近くに配置することができ、すなわち、それにより、全身用量のほんの一部のみが必要とされる（例えば、以下を参照：Goodson, Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115-138 (1984)）。

30

【0119】

他の制御放出系は、Langer (Science 249:1527-1533 (1990)) の概説で記載されている。AONは、固体内部マトリックス（例えば、ポリメチルメタクリレート、ポリブチルメタクリレート、可塑化または非可塑化ポリ塩化ビニル、可塑化ナイロン、可塑化ポリエチレンテレフタレート、天然ゴム、ポリイソブレン、ポリイソブチレン、ポリブタジエン、ポリエチレン、エチレン-酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポリジメチルシロキサン、シリコーンカーボネートコポリマー、親水性ポリマー（例えば、アクリル酸エステル及びメタクリル酸エステルのヒドロゲル）、コラーゲン、架橋ポリビニルアルコール、及び架橋部分加水分解ポリ酢酸ビニル中に分散している可能性があり、この固体内部マトリックスは、体液に不溶性である外側のポリマー膜（例えば、ポリエチレン、ポリプロピレン、エチレン/プロピレンコポリマー、エチレン/エチルアクリレートコポリマー、エチレン/酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポ

40

50

リジメチルシロキサン、ネオプレンゴム、塩素化ポリエチレン、ポリ塩化ビニル、酢酸ビニルとの塩化ビニルコポリマー、塩化ビニリデン、エチレン及びプロピレン、イオノマーポリエチレンテレフタレート、ブチルゴム、エピクロロヒドリンゴム、エチレン／ビニルアルコールコポリマー、エチレン／酢酸ビニル／ビニルアルコールターポリマー、及びエチレン／ビニルオキシエタノールコポリマー）に囲まれている。次に、AONは、放出速度制御ステップで外側のポリマー膜を通して拡散する。そのような非経口組成物に含有される有効成分の割合は、その特定の性質、及び対象のニーズに大きく依存する。

【0120】

E. 標的化製剤

本明細書で提供されるAONまたはその薬学的に許容される塩は、また、処置されるべき対象の特定の組織、受容体、または身体の他の領域が標的とされるように製剤化され得る。これは、リポソーム送達系、再密封赤血球送達系、及び抗体ベースの送達系を含む。そのような標的化法の多くは、当業者らには周知である。本組成物に使用される、そのような標的化方法の全ては、本明細書では企図される。標的化方法の非限定例については、例えば、以下を参照のこと：米国特許第6,316,652号、同第6,274,552号、同第6,271,359号、同第6,253,872号、同第6,139,865号、同第6,131,570号、同第6,120,751号、同第6,071,495号、同第6,060,082号、同第6,048,736号、同第6,039,975号、同第6,004,534号、同第5,985,307号、同第5,972,366号、同第5,900,252号、同第5,840,674号、同第5,759,542号、及び同第5,709,874号。

10

20

【0121】

一実施形態では、抗体ベースの送達系は、例えば、以下に記載の抗体薬物コンジュゲート（「ADC」）である：Hamilton G S, Biologicals, 2015 September, 43 (5): 318-32; Kim E G and Kim K M, Biomol. Ther. (Seoul), 2015 November, 23 (6): 493-509; 及び Peters C and Brown S, Biosci. Rep., 2015 Jun. 12, 35 (4) pii: e00225 (これらはそれぞれは参照により本明細書に組み込まれる)。

【0122】

一実施形態では、腫瘍標的化リポソームなどの組織標的化リポソームを含むリポソーム懸濁液も、薬学的に許容される担体として好適である場合がある。これらは、当業者らに既知の方法に従って調製され得る。例えば、リポソーム製剤は、米国特許第4,522,811号に記載されているように調製され得る。簡単に言えば、多重小胞（MLV）などのリポソームが、フラスコ内で卵ホスファチジルコリン及び脳ホスファチジルセリン（モル比7:3）を乾燥させることにより形成され得る。二価カチオンを含まないリン酸緩衝生理食塩水（PBS）中の本明細書で提供されるAONの溶液を添加し、脂質膜が分散するまで、フラスコを振盪する。得られた小胞を洗浄してカプセル化されていない化合物を除去し、遠心分離でペレット化し、その後、PBSに再懸濁する。

30

【0123】

F. 製造品

AONまたは薬学的に許容される塩は、包装材料、本明細書で提供されるAON、またはその薬学的に許容される塩（本明細書で開示される疾患または障害の1つ以上の症状または進行の処置、予防、または改善のために使用される）と、化合物またはその薬学的に許容される塩が、本明細書で開示される疾患または障害の1つ以上の症状または進行の処置、予防、または改善のために使用されることを示すラベルとを含有する製造品として包装することができる。

40

【0124】

本明細書で提供される製造品は、梱包材を含有する。医薬製品を包装する際に使用される包装材料は、当業者らには周知である。例えば、米国特許第5,323,907号、同

50

第5, 052, 558号、及び同第5, 033, 252号を参照されたい。医薬品包装材料の例としては、ブリストパック、ボトル、チューブ、吸入器、ポンプ、バッグ、バイアル、容器、注射器、ペン、ボトル、ならびに選択された製剤及び意図された投与様式及び処置に適した任意の包装材料が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で提供されるAON及び組成物の幅広い製剤が企図される。

【0125】

特定の実施形態では、開業医が使用した場合に、対象への適切な量のAONの投与を簡素化し得るキットも本明細書で提供される。特定の実施形態では、本明細書で提供されるキットは、本明細書で提供されるAONまたはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、もしくはプロドラッグの容器及び剤形を含む。

10

【0126】

特定の実施形態では、キットは、本明細書で記載の1つ以上の他の治療薬（複数可）を含む容器内に、本明細書に提供されるAONまたはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、もしくはプロドラッグの剤形を含む容器を含む。

【0127】

本明細書で提供されるキットは、さらに、AONを投与するために使用されるデバイスを含み得る。そのようなデバイスの例としては、注射器、無針注射器、点滴バッグ、パッチ、及び吸入器が挙げられるが、これらに限定される。

【0128】

本明細書で提供されるキットは、さらに、1つ以上の有効成分を投与するために使用することができる薬学的に許容されるビヒクルを含み得る。例えば、活性成分が非経口投与に溶液調製される必要がある固体形態で提供される場合、キットは、非経口投与に適した微粒子を含まない滅菌溶液を形成するように活性成分がその中で溶解し得る適切なビヒクルの密閉容器を含むことができる。薬学的に許容されるビヒクルの例としては、水性ビヒクル（例えば、限定されないが、注射用水（USP）、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、デキストロース注射液、デキストロース及び塩化ナトリウム注射液、ならびに乳酸リンゲル注射液）；水混和性ビヒクル（例えば、限定されないが、エチルアルコール、ポリエチレングリコール、及びポリプロピレングリコール）；ならびに非水性ビヒクル（例えば、限定されないが、コーン油、綿実油、ピーナッツ油、ゴマ油、エチルオレアート、イソプロピルミリスタート、及び安息香酸ベンジル）が挙げられるが、これらに限定

20

30

【0129】

IV. 投与

本明細書で提供されるAON及び医薬組成物は、以下に記載される、特定の治療的有效量または予防的有效量、特定の時間間隔、特定の剤形、及び特定の投薬量投与方法で投与され得る。

【0130】

特定の実施形態では、AONの治療的有效量または予防的有效量は、1日当たり約0.005～約1, 000mg、1日当たり約0.01～約500mg、1日当たり約0.01～約250mg、1日当たり約0.01～約100mg、1日当たり約0.1～約100mg、1日当たり約0.5～約100mg、1日当たり約1～約100mg、1日当たり約0.01～約50mg、1日当たり約0.1～約50mg、1日当たり約0.5～約50mg、1日当たり約1～約50mg、1日当たり約0.02～約25mg、1日当たり約0.05～約10mg、1日当たり約0.05～約5mg、1日当たり約0.1～約5mg、または1日当たり約0.5～約5mgである。

40

【0131】

特定の実施形態では、治療的有效量または予防的有效量は、1日当たり約0.1、約0.2、約0.5、約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約15、約20、約25、約30、約40、約45、約50、約60、約70、約80、約90、約100、または約150mgである。

50

【0132】

一実施形態では、本明細書で記載の条件に対して、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体の推奨される1日用量の範囲は、1日当たり約0.5mg～約50mgの範囲内にあり、一実施形態では、1日1回の単回投与として、または1日を通して分割投与で投与される。いくつかの実施形態では、投薬量は、1日当たり約1mg～約50mgの範囲である。他の実施形態では、投薬量は、約0.5～約5mg/日の範囲に及ぶ。1日当たりの特定の用量には、0.1、0.2、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50mg/日が含まれる。

10

【0133】

特定の実施形態では、推奨される開始投薬量は、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、または50mg/日であってよい。別の実施形態では、推奨される開始投薬量は、0.5、1、2、3、4、または5mg/日であってよい。用量は、15、20、25、30、35、40、45、及び50mg/日まで増量され得る。特定の実施形態では、AONは、約25mg/日の量で投与することができる。特定の実施形態では、AONは、約10mg/日の量で投与することができる。特定の実施形態では、AONは、約5mg/日の量で投与することができる。特定の実施形態では、AONは、約4mg/日の量で投与することができる。特定の実施形態では、AONは、約3mg/日の量で投与することができる。

20

【0134】

特定の実施形態では、治療的または予防的有効量は、約0.001～約100mg/kg/日、約0.01～約50mg/kg/日、約0.01～約25mg/kg/日、約0.01～約10mg/kg/日、約0.01～約9mg/kg/日、0.01～約8mg/kg/日、約0.01～約7mg/kg/日、約0.01～約6mg/kg/日、約0.01～約5mg/kg/日、約0.01～約4mg/kg/日、約0.01～約3mg/kg/日、約0.01～約2mg/kg/日、約0.01～約1mg/kg/日、または約0.01～約0.05mg/kg/日である。

【0135】

投与用量は、mg/kg/日以外の単位でも表すことができる。例えば、非経口投与の用量は、mg/m²/日として表すことができる。当業者であれば、対象の身長もしくは体重のいずれか、またはその両方を得るために、投与量をmg/kg/日からmg/m²/日に変換する方法を容易に理解できるであろう（以下を参照のこと：www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm）。例えば、体重65kgのヒトの場合、1mg/kg/日の用量は、およそ38mg/m²/日と等しい。

30

【0136】

特定の実施形態では、投与されるAONの量は、約0.001～約500μM、約0.002～約200μM、約0.005～約100μM、約0.01～約50μM、約1～約50μM、約0.02～約25μM、約0.05～約20μM、約0.1～約20μM、約0.5～約20μM、または約1～約20μMの範囲の、定常状態での化合物の血漿中濃度を提供するのに十分である。

40

【0137】

他の実施形態では、投与されるAONの量は、約5～約100nM、約5～約50nM、約10～約100nM、約10～約50nM、または約50～約100nMの範囲の、定常状態での化合物の血漿中濃度を提供するのに十分である。

【0138】

本明細書で使用される場合、「定常状態での血漿濃度」という用語は、本明細書で提供される化合物またはその誘導体の投与期間後に到達する濃度である。定常状態に達すると

50

、化合物の血漿濃度の時間依存曲線に小さなピーク及びトラフがある。

【0139】

特定の実施形態では、投与されるAONの量は、約0.001～約50 μ M、約0.002～約200 μ M、約0.005～約100 μ M、約0.01～約50 μ M、約1～約50 μ M、約0.02～約25 μ M、約0.05～約20 μ M、約0.1～約20 μ M、約0.5～約20 μ M、または約1～約20 μ Mの範囲の、化合物の最大血漿中濃度（ピーク濃度）を提供するのに十分である。

【0140】

特定の実施形態では、投与されるAONの量は、約0.001～約500 μ M、約0.002～約200 μ M、約0.005～約100 μ M、約0.01～約50 μ M、約1～約50 μ M、約0.01～約25 μ M、約0.01～約20 μ M、約0.02～約20 μ M、約0.02～約20 μ M、または約0.01～約20 μ Mの範囲の、化合物の最小血漿中濃度（トラフ濃度）を提供するのに十分である。

10

【0141】

特定の実施形態では、投与されるAONの量は、約100～約100,000 $\text{ng} \times \text{hr} / \text{mL}$ 、約1,000～約50,000 $\text{ng} \times \text{hr} / \text{mL}$ 、約5,000～約25,000 $\text{ng} \times \text{hr} / \text{mL}$ 、または約5,000～約10,000 $\text{ng} \times \text{hr} / \text{mL}$ の範囲の、化合物の曲線下面積（AUC）を提供するのに十分である。

【0142】

本明細書で提供される方法は、対象の年齢に関係なく患者を処置することを包含するが、いくつかの疾患または障害は、特定の年齢層でより一般的である。

20

【0143】

処置されるべき疾患及び対象の状態に応じて、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、非経口（例えば、筋肉内、腹腔内、静脈内、CIV、大槽内注射もしくは注入、皮下注射、またはインプラント）、あるいは局所（例えば、経皮または局所）の投与経路で投与され得る。本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、各投与経路に適した、薬学的に許容される賦形剤、担体、補助剤、及びビヒクルと共に、好適な投薬単位で、単独または併用で製剤され得る。

【0144】

別の実施形態では、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、非経口投与される。さらに別の実施形態では、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、静脈内投与される。

30

【0145】

本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、単回投与（例えば、単回ボーラス注射）として、または長い期間をかけて（例えば、長い期間をかけた連続注入または長い期間をかけた分割ボーラス投与）送達することができる。AONは、必要に応じて、例えば、対象が疾患の安定もしくは退行を経験するまで、または対象が疾患憎悪もしくは許容できない毒性を経験するまで、繰り返し投与することができる。

【0146】

本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、1日1回（QD）投与するか、または1日複数回（例えば、1日2回（BID）、1日3回（TID）、及び1日4回（QID））に分割することができる。さらに、投与は、連続的（すなわち、連日または毎日）、間欠的（例えば、周期的（すなわち、数日、数週間、または数ヶ月間の薬物なしの休息を含む））であり得る。本明細書で使用される場合、「毎日」という用語は、本明細書で提供される化合物などの治療化合物またはその誘導体が、例えば、一定期間、毎日1回以上投与されることを意味することが意図される。「継続的」という用語は、本明細書で提供される化合物またはその誘導体などの治療化合物が、少なくとも10日間～52週間の間断のない期間にわたって毎日投与されることを意味することが意図される。本明細書で使用される「間欠的」または「間欠的に」という用語は、定期的または不規則の間隔で、停止及び開始することを意味することが意図される。例えば、本明細書で提供されるAON

40

50

N またはその誘導体の間欠投与は、週に 1～6 日間の投与、周期的な投与（例えば、連続した 2～8 週間、1 日 1 回、次に、最大 1 週間投与しない休薬期間）、または 1 日置き
の投与である。本明細書で使用される「サイクリング」という用語は、本明細書で提供され
る化合物またはその誘導体などの治療化合物が、毎日または連続的に（休止期間あり）投
与されることを意味することが意図される。いくつかのそのような実施形態では、投与は
、2～6 日間に 1 日 1 回であり、その後、5～7 日間の投与なしの休止期間がある。

【0147】

いくつかの実施形態では、投与の頻度は、約 1 日用量から約 1 月用量までの範囲である
。特定の実施形態では、投与は、1 日 1 回、1 日 2 回、1 日 3 回、1 日 4 回、1 日おきに
1 回、週 2 回、毎週 1 回、2 週間に 1 回、3 週間に 1 回、または 4 週間に 1 回である。一
実施形態では、本明細書で提供される化合物またはその誘導体は、1 日 1 回投与される。
別の実施形態では、本明細書で提供される AON またはその誘導体は、1 日 2 回投与され
る。さらに別の実施形態では、本明細書で提供される AON またはその誘導体は、1 日 3
回投与される。さらに別の実施形態では、本明細書で提供される AON またはその誘導体
は、1 日 4 回投与される。

【0148】

特定の実施形態では、本明細書で提供される AON またはその誘導体は、1 日 1 回、1
日～6 ヶ月、1 週間～3 ヶ月、1 週間～4 週間、1 週間～3 週間、または 1 週間～2 週間
投与される。特定の実施形態では、本明細書で提供される AON またはその誘導体は、1
日 1 回、1 週間、2 週間、3 週間、または 4 週間投与される。一実施形態では、本明細書
で提供される AON またはその誘導体は、1 日 1 回、4 日間投与される。一実施形態では
、本明細書で提供される AON またはその誘導体は、1 日 1 回、5 日間投与される。一実
施形態では、本明細書で提供される AON またはその誘導体は、1 日 1 回、6 日間投与さ
れる。一実施形態では、本明細書で提供される AON またはその誘導体は、1 日 1 回、1
週間投与される。別の実施形態では、本明細書で提供される AON またはその誘導体は、
1 日 1 回、2 週間投与される。さらに別の実施形態では、本明細書で提供される AON ま
たはその誘導体は、1 日 1 回、3 週間投与される。さらに別の実施形態では、本明細書で
提供される AON またはその誘導体は、1 日 1 回、4 週間投与される。

【0149】

V. 処置方法

別の実施形態では、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）対象を処置する方法が
提供される。一実施形態では、方法は、本明細書で提供される AON または組成物を対象
に投与するステップを含む。別の実施形態では、本明細書で提供される AON または組成
物を投与することにより、DMD の発症を遅延させる方法が提供される。別の実施形態で
は、方法は、DMD の 1 つ以上の症状（複数可）を緩和する。

【0150】

本明細書で提供される AON を使用した個体の DMD の 1 つ以上の症状（複数可）の緩
和は、以下のいずれかのアッセイにより評価され得る：歩行不能までの時間の延長、筋力
の改善、重量物を持ち上げる能力の改善、床から立ち上がるのにかかる時間の改善、9 メ
ートル歩行時間の改善、4 段の階段昇降にかかる時間の改善、脚機能グレードの改善、肺
機能の改善、心臓機能の改善、生活の質の改善。これらの各アッセイは、当業者に既知で
ある。これらの各アッセイでは、アッセイで測定されたパラメーターの検出可能な改善ま
たは延長が見出され次第、それは、好ましくは、本明細書で提供される AON を使用して
、個体における DMD の 1 つ以上の症状が緩和されていることを意味するであろう。一実
施形態では、検出可能な改善または延長は、Neuromuscular Disorders 2006 ; 16 : 591 - 602 に記載されているように、統計的に有意な改善
または延長である。あるいは、DMD の 1 つ以上の症状（複数可）の緩和は、筋線維の機
能、完全性、及び／または生存の改善を測定することにより評価され得る。別の実施形態
では、DMD 患者の 1 つ以上の症状（複数可）が緩和され、及び／または DMD 患者由来
の 1 つ以上の筋細胞の 1 つ以上の特性（複数可）が改善される。そのような症状または特

徴は、細胞、組織レベル、または患者自身で評価され得る。

【0151】

患者由来の筋細胞の1つ以上の特徴の緩和は、患者由来の筋原細胞または筋細胞に対する以下の試験のいずれかによって評価され得る：筋細胞によるカルシウム取り込みの減少、コラーゲン合成の減少、モルホロジーの変化、脂質生合成の変化、酸化ストレスの低下、及び／または筋線維の機能、完全性、及び／または生存の改善。これらのパラメーターは、通常、筋生検の断面の免疫蛍光法及び／または組織化学的分析を使用して評価される。

【0152】

筋線維の機能、完全性及び／または生存の改善は、次の試験のうちの少なくとも1つを使用して評価され得る：血中のクレアチンキナーゼの検出可能な減少、ジストロフィーであると疑われる筋肉の生検断面における筋線維の壊死の検出可能な減少、及び／またはジストロフィーであると疑われる筋肉の生検断面における筋線維の直径の均一性の検出可能な増加。これらの各アッセイは、当業者に既知である。

【0153】

Hodgettts et al. (2006)に記載されているように、クレアチンキナーゼは、血液中に検出され得る。クレアチンキナーゼの検出可能な減少は、処置前の同じDMD患者のクレアチンキナーゼ濃度と比較した、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上の減少を意味し得る。

【0154】

筋線維の壊死の検出可能な減少は、好ましくは、筋生検で評価され、より好ましくは、Hodgettts et al. (2006)に記載されているように、生検断面を使用して評価される。壊死の検出可能な減少は、生検断面を使用して壊死が確認されている領域の5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上の減少であってよい。処置前の同じDMD患者で評価される壊死と比較して、減少を測定する。

【0155】

筋線維の直径の均一性の検出可能な増加は、好ましくは、筋生検断面で評価され、より好ましくは、Hodgettts et al. (上掲)に記載されているように評価される。増加は、処置前の同じDMD患者の筋線維の直径の均一性と比較して測定される。

【0156】

一実施形態では、本明細書で提供されるAONは、該個体に機能的または半機能的ジストロフィンタンパク質を提供し、該個体における異常なジストロフィンタンパク質の産生を少なくとも部分的に減少させることができる。

【0157】

一実施形態では、機能的または半機能的ジストロフィンタンパク質を個体に提供することは、機能的または半機能的ジストロフィンタンパク質の産生の増加を意味する。機能的もしくは半機能的ジストロフィンmRNA、または機能的もしくは半機能的ジストロフィンタンパク質の産生の増加は、機能的もしくは半機能的mRNA、または機能的もしくは半機能的ジストロフィンタンパク質の初期量と比較した、少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、120%、140%、160%、180%、200%またはそれ以上の検出可能な増加を意味する(RT-デジタルドロップレットPCR(mRNA)(Verheul et al., PLoS ONE 2016, 11(9): e0162467)または免疫蛍光法(Beekman et al., PLoS ONE 2014; 9(9): e107494)、ウエスタンブロット、またはキャピラリーウエスタンイムノアッセイ(Beekman et al., PLoS ONE 2018; 13(4): e0195850)分析(タンパク質)で検出可能)。別の実施形態では、該初期量は、本発明の化合物を使用して、細胞、器官、組織、及び／または個体におけるジストロフィンpre-mRNAのエクソンスキッピングの誘導を開始した時の、機能的もしくは半機能的mRNA、または機能的もしくは

10

20

30

40

50

は半機能的ジストロフィンタンパク質の量である。

【0158】

異常なジストロフィンmRNAまたは異常なジストロフィンタンパク質の産生を減少させることは、異常なジストロフィンmRNAまたは異常なジストロフィンタンパク質の初期量の90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、5%またはそれ以下を意味し、依然として、RTデジタルドロップレットPCR(mRNA)もしくは免疫蛍光、ウェスタンブロット、またはキャピラリーウェスタンイムノアッセイ(Wes)分析(タンパク質)により検出可能である。一実施形態では、該初期量は、本発明のAONを使用して、細胞、器官、組織、及び／または個体におけるジストロフィンpre-mRNAのエクソスキッピングを誘導し始めた時点における異常ジストロフィンmRNAまたは異常ジストロフィンタンパク質の量である。異常なジストロフィンmRNAまたはタンパク質は、本明細書では、(野生型の機能性ジストロフィンタンパク質と比較して)機能性が低いまたは機能性のないジストロフィンmRNAまたはタンパク質とも呼ばれる。非機能性ジストロフィンタンパク質は、アクチン及び／またはDGCタンパク質複合体のメンバーに結合できないジストロフィンタンパク質である。非機能的なジストロフィンタンパク質またはジストロフィンmRNAは、通常、タンパク質のインタクトC末端を有するジストロフィンタンパク質を有さないか、またはそれをコードしない。機能的または半機能的なジストロフィンmRNAまたはタンパク質の検出は、異常なジストロフィンmRNAまたはタンパク質に関して行われ得る。

10

【0159】

DMD患者に機能的または半機能的なジストロフィンタンパク質が提供されると、DMDの原因の少なくとも一部が除去される。従って、次に、DMDの症状が少なくとも部分的に緩和されること、または、症状が悪化する速度が減少して、衰弱の減速がもたらされること、が予想されるであろう。スキッピングの頻度の増加により、DMD個体の筋肉細胞で生成される機能的または半機能的なジストロフィンタンパク質のレベルも増加する。

20

【0160】

VI. 第2の活性薬との併用療法

本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、DMDの処置及び／または予防に有用な他の治療薬と組み合わせるか、または組み合わせて使用することもできる。

30

【0161】

一実施形態では、DMDを処置、予防、または管理する方法が本明細書に提供され、方法は、1つ以上の第2の活性薬と組み合わせて、本明細書に提供されるAONまたはその誘導体を対象に投与することを含む。

【0162】

本明細書で使用される場合、「併用」という用語は、複数の療法(例えば、1つ以上の予防薬及び／または治療薬)の使用を含む。しかし、「組み合わせて」という用語の使用は、疾患または障害のある対象に療法(例えば、予防薬及び／または治療薬)が投与される順序を制限しない。第1の療法(例えば、本明細書で提供されるAONなどの予防薬または治療薬)は、対象への第2の療法(例えば、予防薬または治療薬)の投与の前に(例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間前に)、それと同時に、またはその後(例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間後に)投与することができる。3剤併用療法も、本明細書で企図される。

40

【0163】

本明細書で提供されるAONまたはその誘導体と、1つ以上の第2の活性薬の対象への投与は、同じまたは異なる投与経路により同時または逐次的に行うことができる。特定の

50

活性薬剤に使用される特定の投与経路の適合性は、活性薬剤自体（例えば、それが血流に入る前に分解することなく経口投与することができるかどうか）及び処置される疾患または障害で決まるであろう。

【0164】

本明細書で提供されるAONまたはその誘導体の投与経路は、第2の治療法の投与経路とは無関係である。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、静脈内投与される。従って、これらの実施形態によれば、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、静脈内投与され、第2の療法は、経口、非経口、腹腔内、静脈内、動脈内、経皮、舌下、筋肉内、直腸内、経頬内、鼻腔内、リポソーム内、吸入、膣内、眼内、カテーテルまたはステントによる局所送達、皮下、脂肪内、関節内、髄腔内、または徐放性剤形で投与することができる。一実施形態では、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体と、第2の療法は、同じ投与様式（例えば、IV）で投与される。別の実施形態では、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体は、1つの投与様式（例えば、IV）で投与されるが、第2の薬剤は、別の投与様式（例えば、経口）で投与される。

10

【0165】

一実施形態では、第2の活性薬は、約1～約1000mg、約5～約500mg、約10～約350mg、または約50～約200mgの量で、静脈内または皮下に1日1回または1日2回投与される。第2の活性薬の具体的な量は、使用される特定薬剤、処置または管理される疾患のタイプ、疾患の重症度及び段階、ならびに本明細書で提供されるAONまたはその誘導体の量と、対象に同時に投与される任意の追加の活性薬により決まる。

20

【0166】

本明細書で提供される方法及び組成物において、本明細書で提供されるAONまたはその誘導体と共に、1つ以上の第2の有効成分または薬剤を使用することができる。第2の活性薬は、大きな分子（例えば、タンパク質）または小分子（例えば、合成無機分子、有機金属分子、または有機分子）であり得る。

【0167】

高分子活性薬の例としては、造血成長因子、サイトカイン、AON、ならびにモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体が挙げられるが、これらに限定されない。代表的な高分子活性薬は、生物学的分子（例えば、天然または合成または組み換えタンパク質）である。本明細書で使用される具体例としては、エテプリルセン、カシメルセン、ゴロディルセン、ビルトラルセン、及びSRP-5051（Sarepta Therapeutics）が挙げられる。

30

【0168】

小分子の例としては、コルチコステロイド（例えば、デフラザコート）が挙げられる。

【0169】

本明細書で提供されるAONと組み合わせ得る他の療法としては、遺伝子療法（例えば、SRP-9001、GALGT2、またはGNT0004（Sarepta Therapeutics））、遺伝子編集（例えば、CRISPR/CAS9（Sarepta Therapeutics））、及び細胞療法（例えば、CAP-1002（Capricor Therapeutics/Nippon Shinyaku Co. Ltd.））が挙げられる。

40

【実施例】

【0170】

下記の実施例は、本明細書で提供されるある特定の実施形態を例証することを意図したものであり、本開示の範囲を限定するものではない。

【0171】

実施例1

モデル系は、エクソン52が欠失したKM571ヒト不死化筋芽細胞株であった。以前にhTERT及びCDK4を使用して、KM571細胞を不死化させた（PMID: 22040608）。1日目に、1.4マイクロモルの個々のAON（2'-MOE（2'-O 50

ーメトキシエチルRNA)、5-メチルシトシン、チミン(ウラシルなし)、及びホスホ
ロチオアート主鎖)の存在下で、ウェル毎に138,000個の細胞をヌクレオフェクト
シ(Lonza、設定DS-150、SF溶液)、次に、骨格筋増殖培地(PromoCell
[カタログ番号:C-23060]、最終容量12.5%のHI-FBS及び10
0単位/mLのPen/Strep)で10倍希釈し、96ウェル組織培養プレートに移
した。4日目に、TaqMan Gene Expression Cells-to-
CT(Thermo Fisher Scientific、最終溶解容量55マイクロ
リットル)を使用して、細胞を採取し、10マイクロリットルのRNAを、逆転写し、次
に、得られたcDNA(4マイクロリットル)をqPCR(スキップフォワードプライマ
ー5'-AAAGCAGCCTGACCTAGCT-3'(配列番号94)、スキッププロ
ー5'-ACCACTATTGGAGCCTTTGAAAGA-3'(配列番号95)、
及びスキップリバースプライマー5'-CTTGTA CTTCATCCCACTGATT
CTGA-3'(配列番号96))で評価した。スキップされたアンプリコン(IDT、
エクソン53にスプライスされたエクソン50)の二本鎖DNAフラグメントを使用して
、アッセイを検証し、未知の試料のコピー数を定量した(KM571-スキップコピー
50-53として報告)。表の空白セルは、未決定のバックグラウンドレベルであった。
KM571細胞の場合、DMDメッセージは、処置なしで、ナンセンス媒介崩壊を受けて
いた。これらの細胞におけるエクソン51のスキッピングの成功により、リーディングフ
レームが復元され、mRNAの半減期が延長され、より完全な翻訳が可能になった。

【0172】

結果

結果は、表2に示される。

20

30

40

50

【表 2 - 1】

KM571-スキップコピー e50-53		
AON 番号	平均	標準偏差
1		
2		
4		
5	28.8	7.8
9		
10	422.8	31.0
11	242.2	72.9
12	27.1	12.6
13	261.8	19.6
14	253.9	21.5
15	585.0	41.4
16	131.7	16.4
17	2.3	0.5
18	1069.7	20.3
19	170.3	25.8
20	942.3	112.8
21	599.9	220.7
22	661.6	93.1
23	839.7	136.1
24	866.7	187.6
25	1757.4	281.4
26	98.5	17.1
27	322.6	63.3
28	5.4	0.8
29	0.4	0.6
30	1.8	0.9
31		
32		
33	6.7	2.7
34	4.7	2.1
35	7.8	1.3
36	1246.8	131.2
37	41.5	15.0

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

	KM571-スキップコピー e50-53	
38	13.0	6.5
39	1.8	1.0
40	10.5	1.8
51	0.8	0.8
52	20.0	6.4
55	0.9	0.9
56	21.7	5.1
57	3.1	1.9
58	1.1	0.5

10

【 0 1 7 3】

実施例 2

DMD 患者（d e l 4 8 - 5 0）の筋管培養における A O N の i n v i t r o スクリーニング

20

一連の重複 A O N を、DMD 患者（d e l 4 8 - 5 0）の筋管培養において 8 0 0 n M でスクリーニングした。以下の表 3 に示されるように、A O N 番号 7 9 の塩基配列ならびに 5 - メチルシトシンによる 2 ' - O M e ホスホロチオアート修飾ならびに 5 ' 及び 3 ' L N A を有する A O N 番号 7 9 A は、L N A 含有量及び位置について最適化されて、1 つまたは 2 つの 5 ' 末端グアニン - L N A 、1 つの 3 ' 末端シトシン - L N A 、及び / または 1 つもしくは 2 つの追加の内部グアニン - L N A が実装される。

【 0 1 7 4】

【表 3】

表 3. A O N における L N A 含有量及び位置の最適化。

30

AON 番号	化学組成
79A	+140L-G、+123L-C
79B	+140L-G、+139L-G、+124L-G、+123L-C
79C	+140L-G、+139L-G、+135L-G、+123L-C
79D	+140L-G、+139L-G、+130L-G、+123L-C
79E	+140L-G、+139L-G、+135L-G、+130L-G、+123L-C
79F	+140L-G、+139L-G、+135L-G、+130L-G、+124L-G、+123L-C
79G	5' TEG、+140L-G、+139L-G、+135L-G、+123L-C
80A	+139L-G、+122L-C
80B	+139L-G、+135L-G、+122L-C

40

【 0 1 7 5】

これらの A O N を 8 0 0 n M で比較試験すると、エクソン 5 1 スキッピング効率が最も高い 3 つの A O N （A O N 番号 7 9 B 、A O N 番号 7 9 C 、及び A O N 番号 7 9 F ）が特定された（図 1）。L N A プロファイルがわずかに異なるこれらの A O N のうち、A O N 番号 7 9 C が最も効率的であった（7. 3 %）。その後の i n v i t r o 比較スクリーニングアッセイでは、A O N 番号 7 9 C が、ドリサペルセンよりも 1 0 倍効果的であることが判明した。

50

【0176】

実施例 3

筋線維膜におけるジストロフィン発現の免疫蛍光分析

大腿四頭筋の凍結切片 (8 μ m) を、Superfrost Ultra Plus 顕微鏡スライド (Fisher Scientific) に載せ、一次抗体ウサギポリクローナル抗ジストロフィン (Ab15277、Abcam、希釈 1/200) と共に 2 時間インキュベートした。スライドを PBS で 5 分間 2 回すすぎ洗いし、その後、1/250 の希釈の二次抗体ヤギ抗ウサギ Alexa Fluor 488 (ThermoFisher) で 1 時間インキュベートした。25 $\times$ 対物レンズとレーザー強度 6% を使用して、スライドの画像化を Zeiss LSM 710 共焦点顕微鏡で同日に実施した。VEH (ビヒクル) 群または AON 群毎に 3 匹の異なるマウスの画像が図 2 に示される。上段パネル：非ジストロフィー hDMD マウスの対照切片 (陽性 = ジストロフィン一次抗体 Ab15277、陰性 = ウサギ IgG アイソタイプ一次抗体 Ab27478)。

10

【0177】

実施例 4

18 mg/kg の AON 番号 79C または AON 番号 79G を 13 週間尾静脈注射した後に、hDMD del52/mdx マウスを分析した。hDMD del52/mdx マウスの研究で試験された用量では、AON 番号 79C 及び AON 番号 79G は、同様に忍容性が良好にみえた。生存率、体重、または生存ルーチンの臨床化学または血液学には影響がなかった。一般的に、腎臓、肝臓、脾臓、リンパ節、骨格筋、及び心臓では組織病理学的変化はみられないか、あるいはごくわずかしかなかった。肝臓では、AON 番号 79G を投与された 11 匹のマウスのうち 6 匹で、肝細胞の単一細胞壊死が観察されたが、重症度は、ほとんどの場合最小限であった。さらに、AON 番号 79C を投与されたマウス 10 匹中 1 匹では、最小限の肝細胞単細胞壊死が観察されたが、性別を問わずいずれのビヒクル対照マウスでも、観察されなかった。心臓では、心筋線維症/線維増殖症は、対照群よりも処置群で、わずかに高い発生率及び/または重症度が観察された。これらの組織病理学的変化と AON 処置との関係は、不明であったが、除外することができなかった。心臓における他の組織病理学的所見は、対照群及び処置群で同様の発生率/重症度で観察され、それ故、AON 処置と関連する可能性が低いと考えられた。骨格筋では、この DMD マウスモデルの骨格筋の予想される形態学的外観の一部として、線維壊死、筋萎縮、好塩基球増加/再生、炎症、石灰化、及び脂肪変化が観察された (以下の表 4 を参照)。AON のそれぞれ (AON 番号 79C または AON 番号 79G) で処置した後、ビヒクル処置マウスと比較して、筋線維萎縮、壊死、及び炎症の発生率及び/または重症度が減少した。これは、ジストロフィン発現の回復に関し得る。

20

30

【0178】

40

50

【表 4】

表 4. 骨格筋における関連組織学的所見の発生率

AON	ビヒクル	AON 番号 79C	AON 番号 79G
男性/女性の数	6/4	6/4	7/4
筋線維の萎縮			
軽微	-	2/1	1/2
軽度	-/2	3/3	4/2
中等度	4/1	-	2/-
高度	2/1	-	-
筋繊維の石灰化			
軽微	5/3	4/1	2/2
軽度	1/1	1/2	5/2
脂肪の変化			
軽微	-/1	-/2	1/3
筋線維の壊死			
軽微	2/2	2/-	4/1
軽度	3/-	-	-
中等度	-/1	-	-
高度	-/1	-	-
好塩基球増加症/再生			
軽微	3/3	-/1	1/-
中等度	-/1	-	-
炎症			
軽微	6/2	-	-/1
中等度	-/1	-	-

10

20

30

ー：群内のマウスでは所見は観察されなかった。

【0179】

実施例 5

18 mg / kg の AON 番号 79C または 2' - OMe 糖修飾の代わりに 2' - MOE 糖修飾と 5' - TEG 基とを有する等量 AON を 13 週間の尾静脈注射した後に、hDMD del 52 / mdx マウスを分析した。マウスを、最後の投与から 14 日後に死亡させた。研究中のマウスは全て生き残った。エクソンスキッピング及びジストロフィンのレベルは、両群の大腿四頭筋及び心臓で同様であった。結果は、図 3 の A ~ B に示される。

40

【0180】

実施例 6

実施例 1 に記載のアッセイを使用して、ジストロフィン pre-mRNA エクソン 51 スキッピングについて、本明細書で提供される AON を試験した。表 5 及び 6 に報告されているデータは、UBC ハウスキーピング遺伝子に対する追加の qPCR アッセイを使用して、 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法を適用することにより、AON 番号 79C に対する倍数変化として表されている。簡単に言うと、1 ~ 4 の効力結果に基づいて、平均効力を相対的な倍で計算した。

デルタ c t : スキップ c t - ハウスキーピング遺伝子 c t

ダブルデルタ c t : デルタ c t - 処置なしの平均デルタ c t

50

倍数：2[^]（ダブルデルタ c t）

効力：A O N 番号 7 9 C の倍数值に対する倍数值

【0 1 8 1】

結果

ジストロフィン p r e - m R N A エクソン 5 1 スキッピングの誘導において本明細書に提供される A O N の平均効力が以下の表に示される。表 5 では、試験された A O N は、完全にホスホロチオアート主鎖であり、全てのシトシンは、5 - メチルシトシンで置換されており、全てのヌクレオシドは、2 ' - M O E R N A ヌクレオシドである。表 6 では、試験された A O N は、完全にホスホロチオアート主鎖であり、全てのシトシンは、5 - メチルシトシンで置換されており、ヌクレオチド 1、2、1 7、及び 1 8 は、L N A であり、ヌクレオチド 3 ~ 1 6 は、2 ' - M O E R N A ヌクレオシドである。

10

20

30

40

50

【0 1 8 2】

【表 5】

表 5.

AON 番号(配列番号)	平均効力
32	0.0125
65	0.0175
66	0.0525
67	0.05
68	0.0375
33	0.0825
69	0.15
70	0.2025
71	0.0275
72	0.035
34	0.0675
73	0.0675
74	0.275
75	0.15
76	0.21
35	0.09
77	0.1825
78	0.325
79	0.9975
80	0.9425
36	1.1425
81	1.1075
82	0.73
83	0.655
84	0.6575
37	0.21
85	0.2675
86	0.2475
87	0.1225
88	0.2675
38	0.22
89	0.09
90	0.1
91	0.0825
92	0.105
39	0.1075
93	0.1125

10

20

30

40

50

【表 6】

表 6.

AON 番号(配列番号)	平均効力
32	0
65	0
66	0
67	0.004115
68	0.070159667
33	0.067908333
69	0.114186333
70	0.469509667
71	0.001819333
72	0.006990667
34	0.00922725
73	0.0024875
74	0.050026
75	0.02369
76	0.011342
35	0.002846
77	0.02729325
78	0.267537
79	0.64751925
80	3.04239475
36	2.17471725
81	0.4560635
82	0.99434725
83	0.66341225
84	0.250514
37	0.0202465
85	0.24768775
86	0.3961975
87	0.402364
88	1.476362
38	1.3001025
89	0.1209145
90	0.0232785
91	0.026413
92	0.0027955
39	0.015113
93	0.005231

10

20

30

40

【0183】

本開示は、個々の態様の単一の説明として意図される実施例に開示された実施形態により範囲に限定されるものではなく、あらゆる同等物は、本開示の範囲内である。本明細書に示され且つ記載されるものに加えて様々な修正は、当業者らにとって前述の説明から明らかであろう。そのような修正は、添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれるものとする。

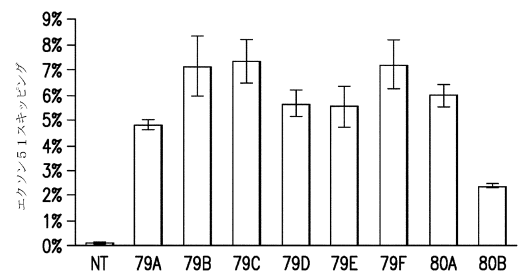
【0184】

特許、特許出願、及び刊行物などの様々な参考文献が本明細書で引用されており、これらの開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

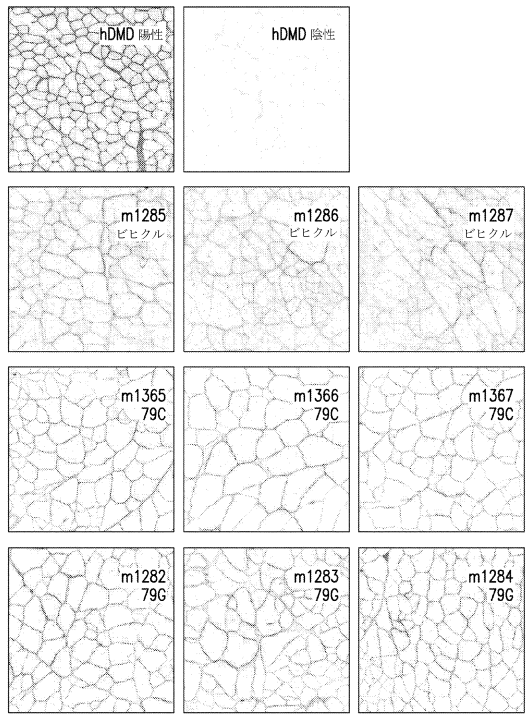
50

【図面】

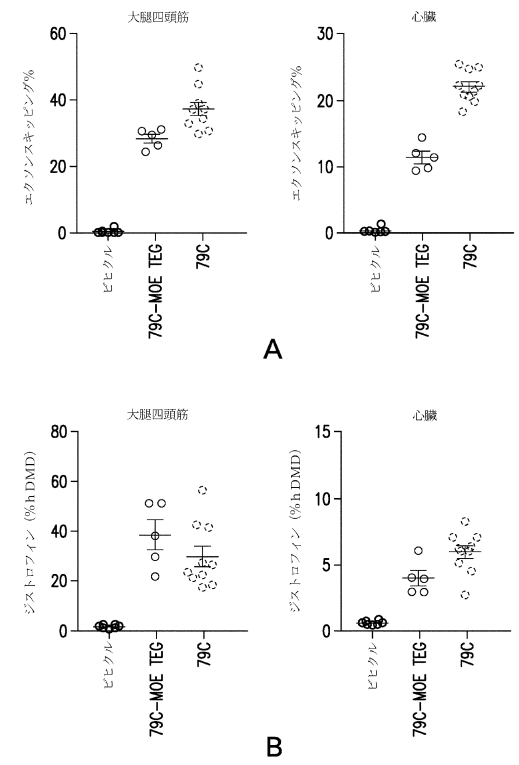
【図 1】



【図 2】



【図 3】



10

20

30

40

50

【配列表】

2025513740000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/065098

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/113
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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2019/054113 A1 (KAYE EDWARD M [US]) 21 February 2019 (2019-02-21) paragraph [0011] paragraph [0057] - paragraph [0062] paragraph [0222] -----	1-31
A	V. ARECHAVALA-GOMEZA ET AL: "Comparative Analysis of Antisense Oligonucleotide Sequences for Targeted Skipping of Exon 51 During Dystrophin Pre-mRNA Splicing in Human Muscle", HUMAN GENE THERAPY, vol. 18, no. 9, 1 September 2007 (2007-09-01), pages 798-810, XP055038387, ISSN: 1043-0342, DOI: 10.1089/hum.2006.061 the whole document ----- -/--	1-31

☒ 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

24 June 2023

Date of mailing of the international search report

28/08/2023

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

Franz, Cerstin

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/065098

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CA 3 191 505 A1 (UNIV WESTLAKE [CN]) 10 March 2022 (2022-03-10) claims 1-9 -----	1-31
X	WO 2019/241385 A2 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 19 December 2019 (2019-12-19) claims 1-83; sequence 60 -----	1-31
X	WO 2017/072590 A1 (CRISPR THERAPEUTICS AG [CH]) 4 May 2017 (2017-05-04) paragraph [0028] - paragraph [0041]; sequence 145451 paragraph [0094] paragraph [0281] - paragraph [0294] column 601; figure 3a -----	1-31
X	WO 2016/161380 A1 (EDITAS MEDICINE INC [US]) 6 October 2016 (2016-10-06) claims 1-54; sequence 617212 -----	1-31
X	EP 2 151 497 A2 (UNIV ROMA [IT]) 10 February 2010 (2010-02-10) claims 1-13 -----	1-31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/065098

Box No. I 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:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/065098**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).

10

20

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 fees, 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.:
1-31 (partially)

30

40

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/US2023/065098

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-31 (partially)

An AON comprising or consisting of the sequence of AON#1 which contains at least one modification; products comprising such and methods employing such.

2-93. claims: 1-31 (partially)

Each AON comprising or consisting of any of the sequences of AONs#2-93 which contains at least one modification; products comprising such and methods employing such.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/065098

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2019054113 A1	21-02-2019	BR 112018006445 A2	11-12-2018
		CN 108738310 A	02-11-2018
		EA 201890811 A1	28-09-2018
		EP 3355892 A1	08-08-2018
		EP 3653216 A1	20-05-2020
		HK 1258823 A1	22-11-2019
		IL 258211 A	31-05-2018
		JP 2018529715 A	11-10-2018
		US 2019054113 A1	21-02-2019
		US 2021008095 A1	14-01-2021
		WO 2017059131 A1	06-04-2017
CA 3191505 A1	10-03-2022	CA 3191505 A1	10-03-2022
		CN 112063621 A	11-12-2020
		CN 115011598 A	06-09-2022
		EP 4209590 A1	12-07-2023
		WO 2022047876 A1	10-03-2022
WO 2019241385 A2	19-12-2019	JP 2021526796 A	11-10-2021
		US 2022251551 A1	11-08-2022
		WO 2019241385 A2	19-12-2019
WO 2017072590 A1	04-05-2017	AU 2016344609 A1	12-04-2018
		AU 2022215178 A1	10-11-2022
		CA 3000931 A1	04-05-2017
		CN 108513546 A	07-09-2018
		EP 3368063 A1	05-09-2018
		JP 2019507579 A	22-03-2019
		JP 2021126130 A	02-09-2021
		JP 2023037643 A	15-03-2023
		US 2019374655 A1	12-12-2019
		US 2023181766 A1	15-06-2023
		WO 2017072590 A1	04-05-2017
WO 2016161380 A1	06-10-2016	AU 2016244033 A1	19-10-2017
		CA 2981508 A1	06-10-2016
		EP 3277816 A1	07-02-2018
		EP 3748004 A1	09-12-2020
		HK 1244838 A1	17-08-2018
		US 2019048337 A1	14-02-2019
		WO 2016161380 A1	06-10-2016
EP 2151497 A2	10-02-2010	AT 449170 T	15-12-2009
		AU 2003231928 A1	11-11-2003
		CY 1109746 T1	10-09-2014
		DK 1501931 T3	29-03-2010
		EP 1501931 A2	02-02-2005
		EP 2151497 A2	10-02-2010
		ES 2336909 T3	19-04-2010
		IT RM20020253 A1	10-11-2003
		PT 1501931 E	23-02-2010
		SI 1501931 T1	31-03-2010
		WO 03095647 A2	20-11-2003

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
ケアオブ バイオマリン ファーマシューティカル インコーポレイテッド

(72)発明者 ウォロジネク, ジョシュ

アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ノバト, デジタル ドライブ 105, ケアオブ バイ
オマリン ファーマシューティカル インコーポレイテッド

(72)発明者 マガット, ジェンナ - マリー

アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ノバト, デジタル ドライブ 105, ケアオブ バイ
オマリン ファーマシューティカル インコーポレイテッド

(72)発明者 ヴァン デウテコム, ジュディス クリスティーナ テオドラ

アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ノバト, デジタル ドライブ 105, ケアオブ バイ
オマリン ファーマシューティカル インコーポレイテッド

(72)発明者 デ ビッサー, ピーター クリスチャン

アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ノバト, デジタル ドライブ 105, ケアオブ バイ
オマリン ファーマシューティカル インコーポレイテッド

(72)発明者 ダットソン, ニコール アン

アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ノバト, デジタル ドライブ 105, ケアオブ バイ
オマリン ファーマシューティカル インコーポレイテッド

F ターム (参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 MA17 MA66 NA14 ZA94