

## COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA TRATAR Y PREVENIR LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

### Referencia cruzada con solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de las solicitudes provisionales estadounidenses n.º 62/779,916, presentada el 14 de diciembre de 2018, 62/807,603, presentada el 19 de febrero de 2019, y 62/840,879 presentada el 30 de abril de 2019, cuyos contenidos se incorporan mediante referencia en su totalidad.

### Campo

La presente solicitud se refiere, en términos generales, a pautas posológicas para el uso clínico de oligonucleótidos antisentido o sales de estos, que reducen la expresión de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, adultos con esclerosis lateral amiotrófica (ELA) quienes tienen una mutación confirmada del gen SOD1 humano. Dichos métodos son útiles para tratar, prevenir o aliviar la ELA al inhibir la expresión del SOD1.

### Antecedentes

La enzima SOD1 soluble (también conocida como superóxido dismutasa Cu/Zn) es una de las superóxido dismutasas que proporcionan defensa contra el daño oxidativo de las biomoléculas al catalizar la dismutación del superóxido en peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Fridovich, *Annu. Rev. Biochem.*, 64:97-112 (1995)). El anión del superóxido (O<sup>2-</sup>) es un subproducto celular potencialmente dañino producido principalmente por errores de fosforilación oxidativa en la mitocondria (Turrens, *J. Physiol.*, 552:335-344 (2003))

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA, también conocida como enfermedad de Lou Gehrig) es una enfermedad neurodegenerativa, progresiva y devastadora que afecta a unos 30.000 norteamericanos en cualquier momento dado. Las mutaciones en el gen SOD1 se asocian con una forma predominantemente heredada de ELA, un trastorno caracterizado por una degeneración selectiva de las neuronas motoras superiores e inferiores (Rowland, *N. Engl. J. Med.*, 2001, 344:1688-1700 (2001)). Existe un vínculo genético fuerte entre la ELA familiar y las mutaciones de sentido erróneo en el gen SOD1 (Rosen, *Nature*, 362:59-62 (1993)).

Se cree que la toxicidad del SOD1 mutante surge de un mal plegamiento inicial (ganancia de función) que reduce la protección nuclear de la enzima activa (pérdida de función en los núcleos), un proceso que puede estar implicado en la patogénesis de la ELA (Sau, *Hum. Mol. Genet.*, 16:1604-1618 (2007)). La degeneración progresiva de las neuronas motoras en la ELA finalmente lleva a su muerte. Cuando las neuronas motoras mueren, el cerebro pierde la capacidad de iniciar y controlar el movimiento muscular. Con la acción muscular voluntaria afectada de forma progresiva, los pacientes en las últimas etapas de la enfermedad pueden quedar totalmente paralizados.

En la actualidad, existe una falta de opciones aceptables para el tratamiento de dichas enfermedades neurodegenerativas. Por lo tanto, un objetivo de la presente es proporcionar métodos para el tratamiento de dichas enfermedades.

### Compendio

La presente descripción se refiere, en parte, a pautas posológicas de oligonucleótidos antisentido que reducen la expresión de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) y el uso de dichos oligonucleótidos antisentido o sales de estos para inhibir la expresión del SOD1 y para tratar, prevenir o aliviar la ELA en un sujeto humano con una mutación en el gen SOD1.

En un primer aspecto, la descripción presenta un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano (por ejemplo, mediante administración intratecal) una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg o 100 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En un segundo aspecto, la descripción presenta un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano (por ejemplo, mediante administración intratecal) una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 60 mg o 60 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En un tercer aspecto, la descripción presenta un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano (por ejemplo, mediante administración intratecal) una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 40 mg o 40 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En un cuarto aspecto, la descripción presenta un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano (por ejemplo, mediante administración intratecal) una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 20 mg o 20 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido

antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En un quinto aspecto, la descripción proporciona un método para reducir la síntesis de proteínas de SOD1 humanos o los niveles de ARNm SOD1 humanos en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg o 100 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En un sexto aspecto, la descripción proporciona un método para reducir la síntesis de proteínas de SOD1 humanos o los niveles de SOD1 humanos en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 60 mg o 60 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de

internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En un séptimo aspecto, la descripción proporciona un método para reducir la síntesis de proteínas de SOD1 humanos o los niveles de SOD1 humanos en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 40 mg o 40 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En un octavo aspecto, la descripción proporciona un método para reducir la síntesis de proteínas de SOD1 humanos o los niveles de SOD1 humanos en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 20 mg o 20 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En algunas modalidades de los aspectos anteriores, la mutación en el gen SOD1 es A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88deltaTAD, A89T, V97M, S105deltaSL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R, o G147R. En una modalidad, la mutación en el gen SOD1 es A4V. En otra modalidad, la mutación en el gen SOD1 es H46R. En incluso otra modalidad, la mutación en el gen SOD1 es G93S.

En algunas modalidades, la mutación en el gen SOD1 humano se identifica mediante una prueba genética.

En determinadas modalidades, los métodos anteriores implican también identificar la mutación en el gen SOD1 humano mediante una prueba genética.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica se administra al sujeto humano al menos 5 veces (por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 veces) en el transcurso de cuatro meses.

En determinadas modalidades, al sujeto humano se le administra una dosis de carga o varias dosis de carga de la composición farmacéutica seguido de una dosis de mantenimiento o varias dosis de mantenimiento. En algunos casos, se administran tres dosis de carga, donde la segunda dosis de carga se administra aproximadamente dos semanas después o dos semanas después de la primera dosis de carga y la tercera carga de carga se administra aproximadamente dos semanas después o dos semanas después de la segunda dosis de carga (por ejemplo, las dosis de carga se administran el día 1, día 15 y el día 29). En algunos casos, las dosis de mantenimiento se administran aproximadamente cada 4 semanas o 4 semanas comenzando 4 semanas después de la tercera dosis de carga (por ejemplo, durante 1 mes, 2 meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, diez meses).

En determinadas modalidades, al sujeto humano se le administran tres dosis de carga de la composición farmacéutica seguido de al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) dosis de mantenimiento. En algunos casos, las tres dosis de carga se administran aproximadamente dos semanas o con dos semanas de diferencia. En algunos casos, las tres dosis de carga se administran aproximadamente 14 días o con 14 días de diferencia. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran comenzando aproximadamente 4 semanas o 4 semanas después de la tercera dosis de

carga. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran cada mes comenzando un mes después de la tercera dosis de carga. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran cada 28 días comenzando 28 días después de la tercera dosis de carga.

5 En determinadas modalidades, las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

(i) una primera dosis de carga de la composición farmacéutica;

(ii) una segunda dosis de carga de la composición farmacéutica se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

10 (iii) una tercera dosis de carga de la composición farmacéutica se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

(iv) una primera dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administra 28 días o 1 mes después de la tercera dosis de carga.

15 En determinadas modalidades, las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

(i) una primera dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de 100 mg del oligonucleótido antisentido;

20 (ii) una segunda dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la segunda dosis de carga se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

(iii) una tercera dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la tercera dosis de carga se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

25 (iv) una primera dosis de mantenimiento en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la primera dosis de mantenimiento se administra 28 días después de la tercera dosis de carga.

30 En determinadas modalidades, las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

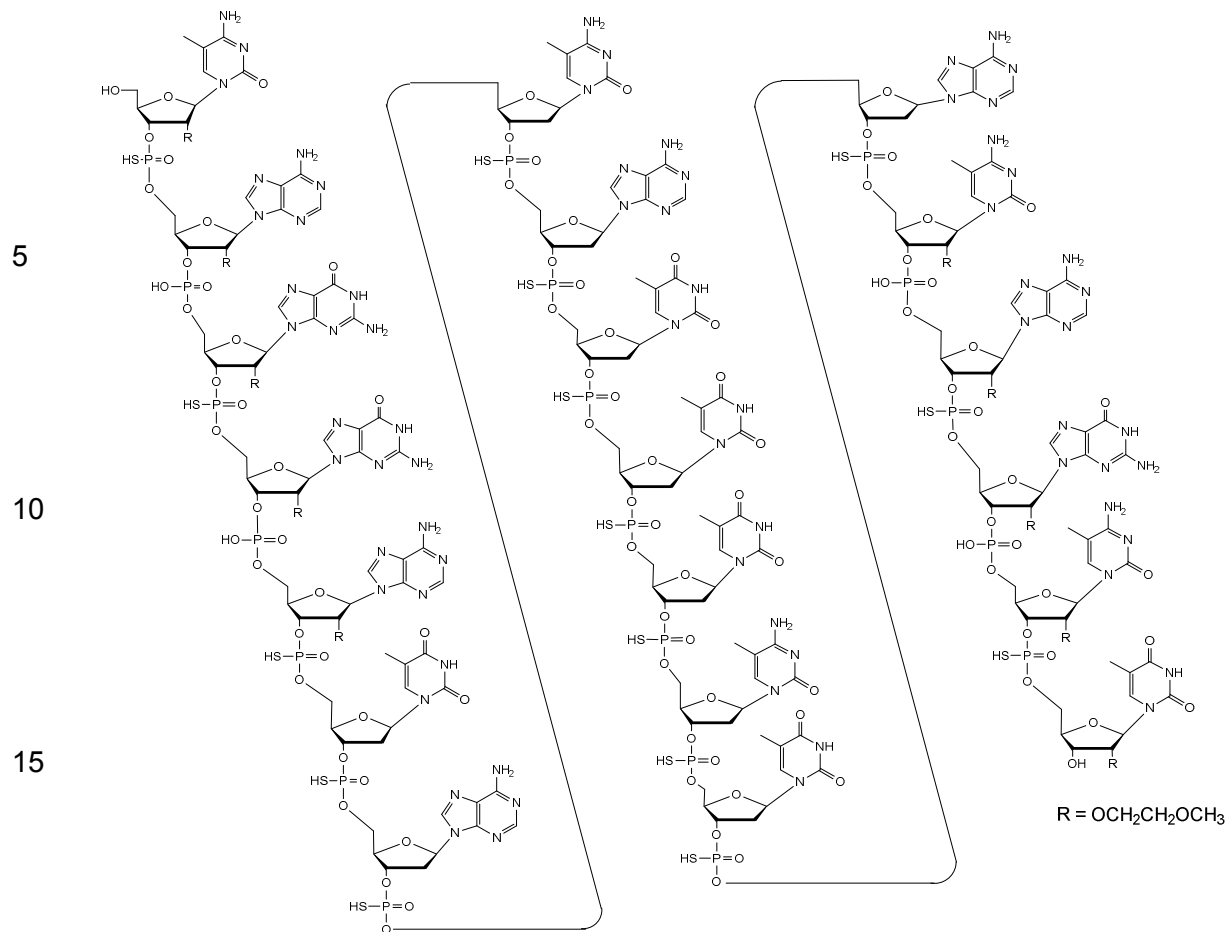
(i) una primera dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de 100 mg del oligonucleótido antisentido;

(ii) una segunda dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la segunda dosis de carga se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

(iii) una tercera dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la tercera dosis de carga se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

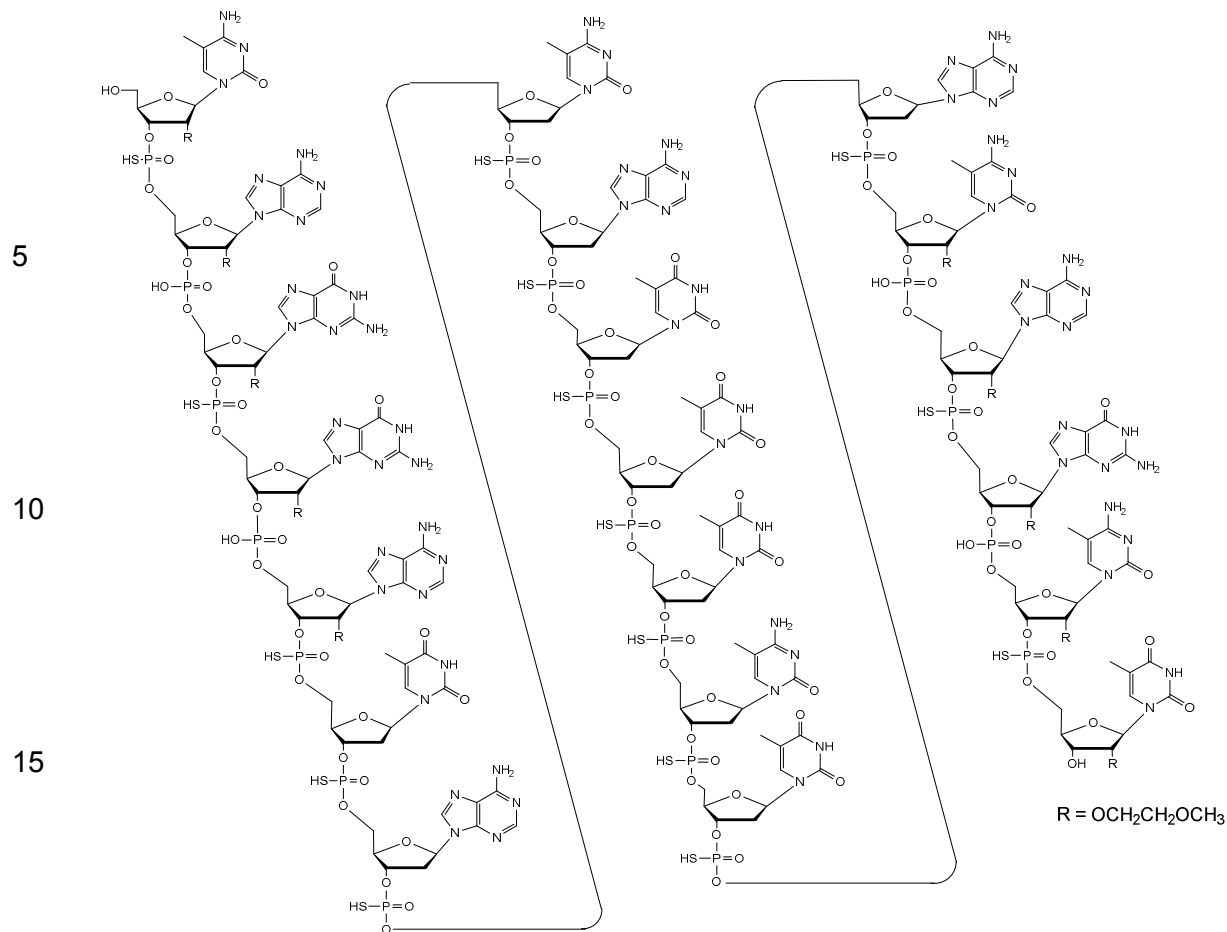
(iv) una primera dosis de mantenimiento en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la primera dosis de mantenimiento se administra 1 mes después de la tercera dosis de carga.

En un noveno aspecto, la descripción presenta un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



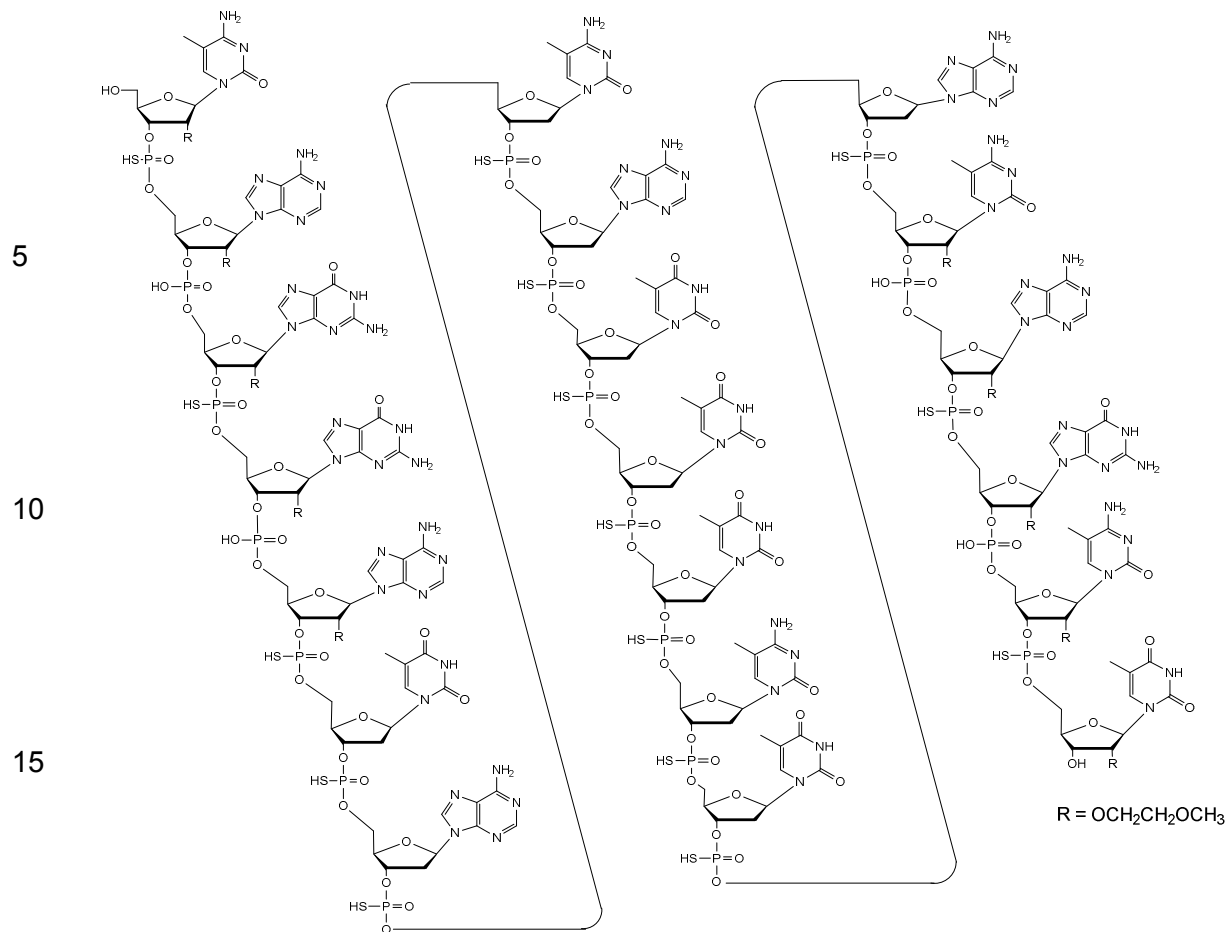
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido. 105,9 mg del Compuesto A (es decir, la sal de nonadecasodio del ISIS 666853) equivalen a 100 mg del oligonucleótido antisentido. La composición farmacéutica administrada puede comprender el oligonucleótido antisentido, una o más sales del oligonucleótido antisentido, o mezclas de estos.

En un décimo aspecto, la descripción proporciona un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



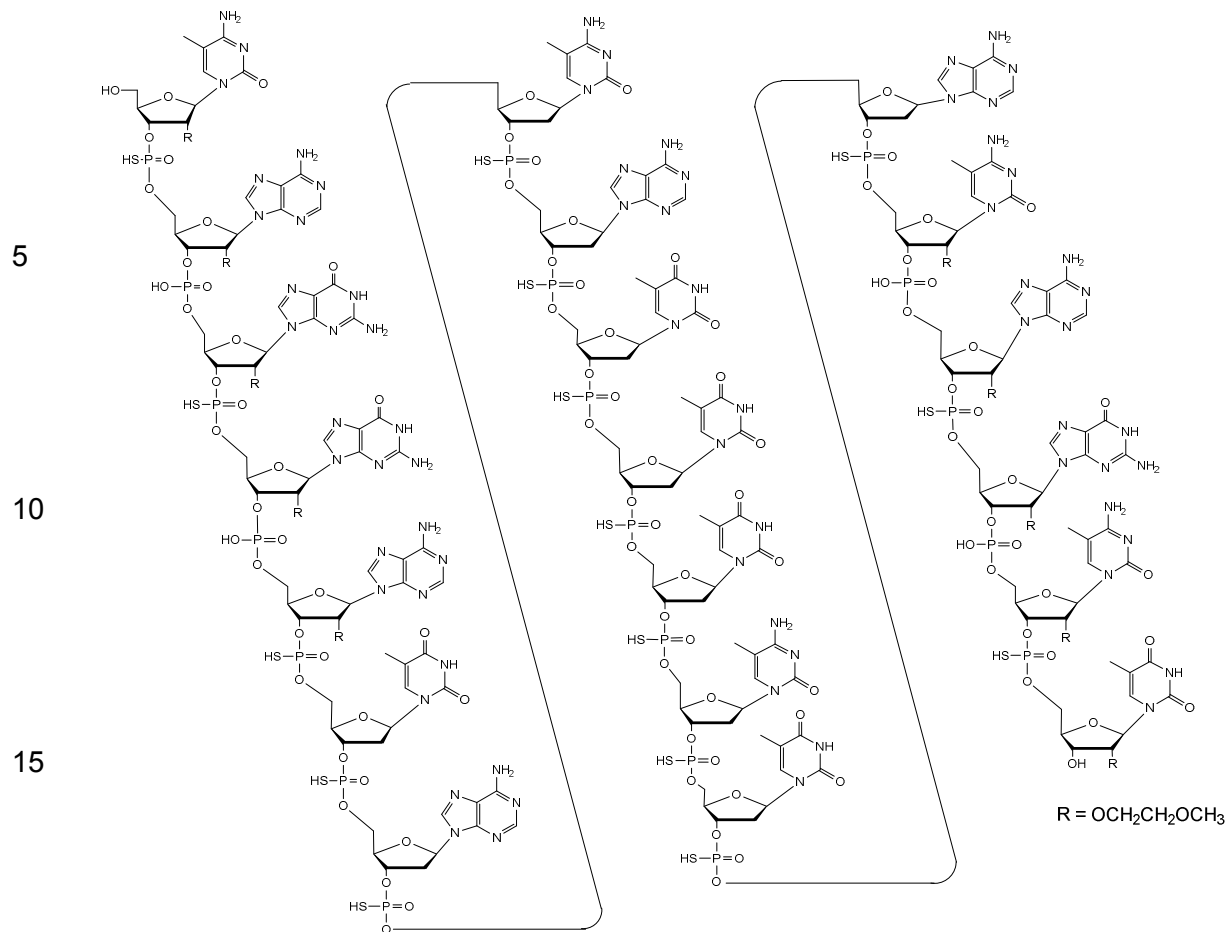
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a 60 mg del oligonucleótido antisentido. 63,5 mg del Compuesto A equivalen a 60 mg del oligonucleótido antisentido. La composición farmacéutica administrada puede comprender el oligonucleótido antisentido, una o más sales del oligonucleótido antisentido, o mezclas de estos.

En un décimo primer aspecto, la descripción proporciona un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



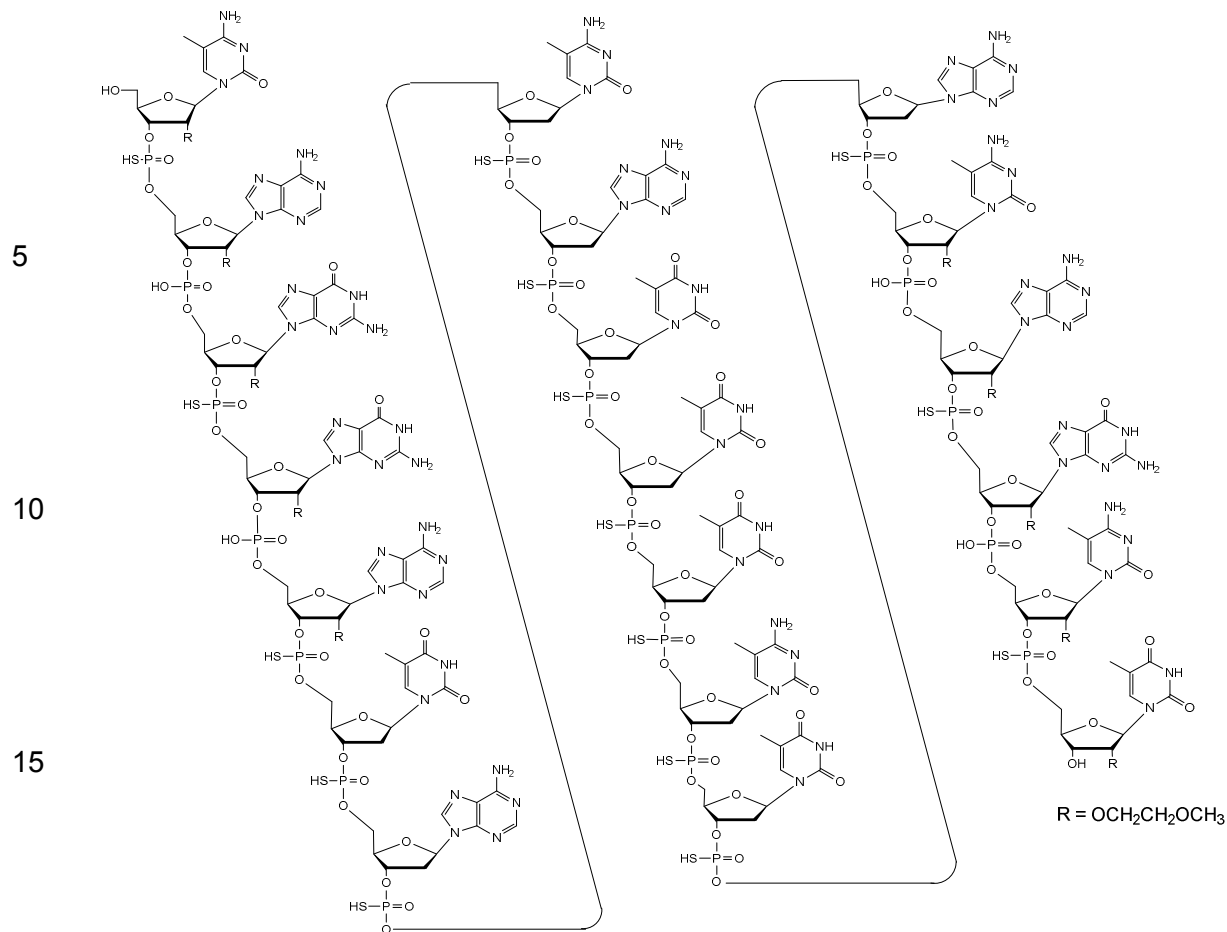
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a 40 mg del oligonucleótido antisentido. 42,3 mg del Compuesto A equivalen a 40 mg del oligonucleótido antisentido. La composición farmacéutica administrada puede comprender el oligonucleótido antisentido, una o más sales del oligonucleótido antisentido, o mezclas de estos.

En un décimo segundo aspecto, la descripción proporciona un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



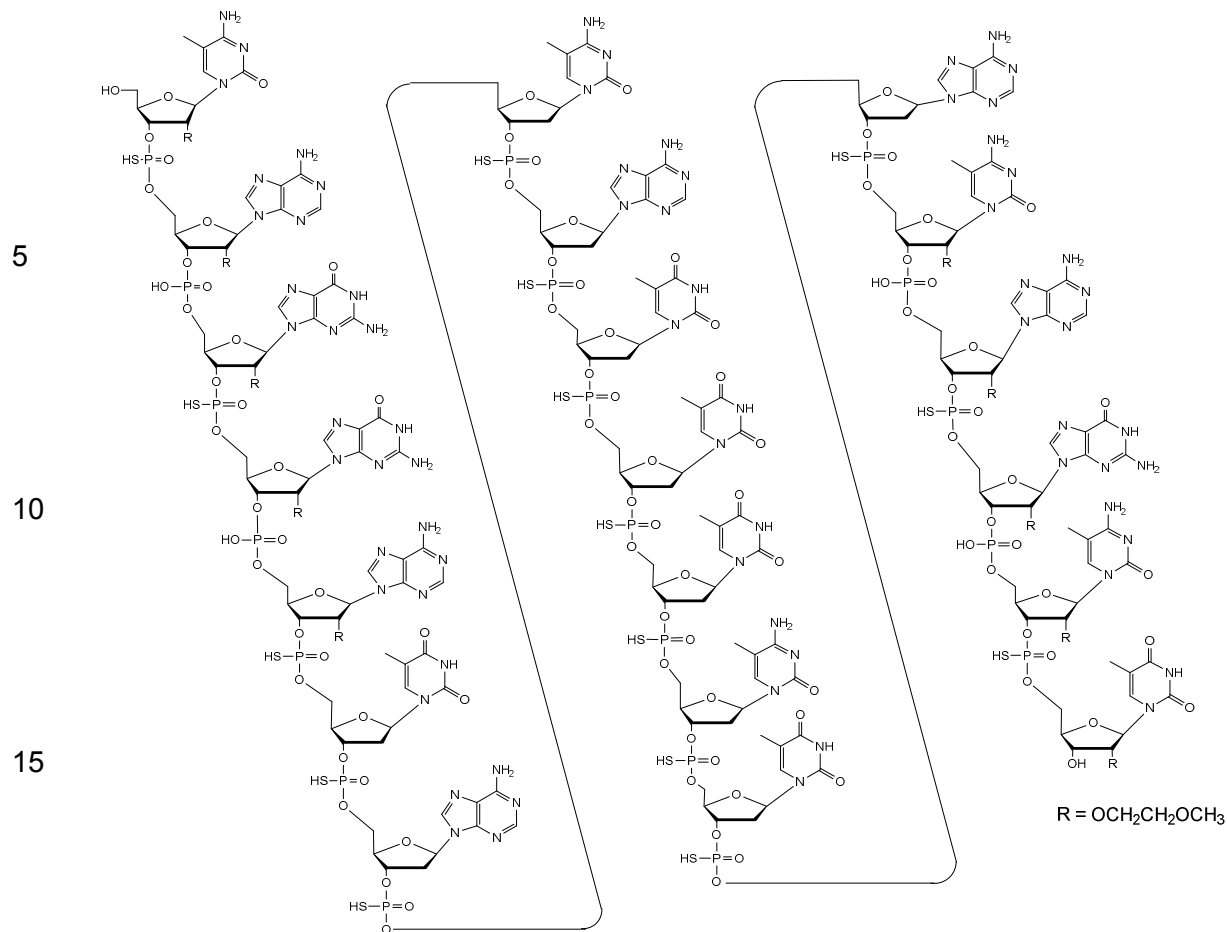
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a 20 mg del oligonucleótido antisentido. 21,2 mg del Compuesto A equivalen a 20 mg del oligonucleótido antisentido. La composición farmacéutica administrada puede comprender el oligonucleótido antisentido, una o más sales del oligonucleótido antisentido, o mezclas de estos.

En un décimo tercer aspecto, la descripción proporciona un método para reducir la síntesis de proteínas de SOD1 humanos o los niveles de SOD1 humanos en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



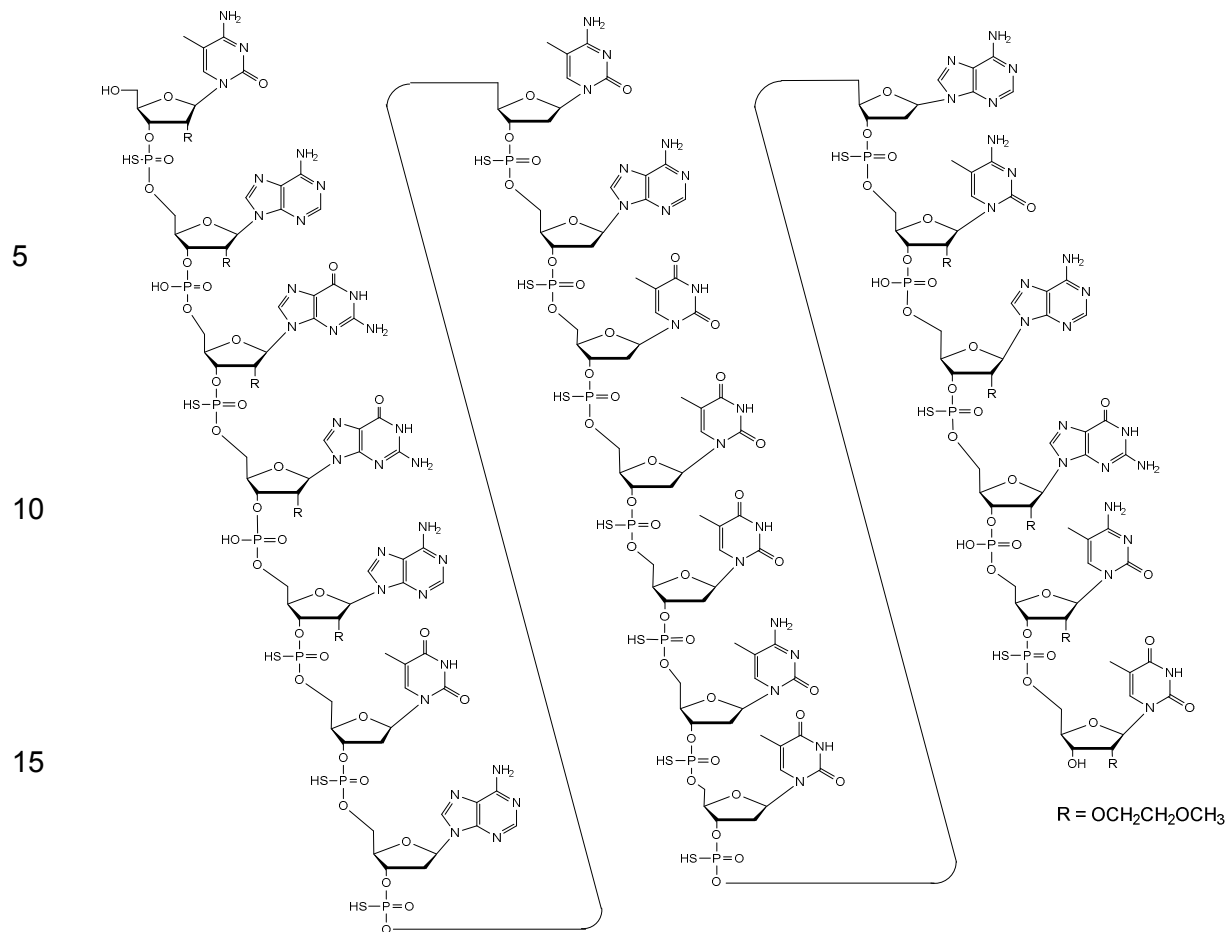
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido. 105,9 mg del Compuesto A equivalen a 100 mg del oligonucleótido antisentido. La composición farmacéutica administrada puede comprender el oligonucleótido antisentido, una o más sales del oligonucleótido antisentido, o mezclas de estos.

En un décimo cuarto aspecto, la descripción proporciona un método para reducir la síntesis de proteínas de SOD1 humanos o los niveles de SOD1 humanos en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



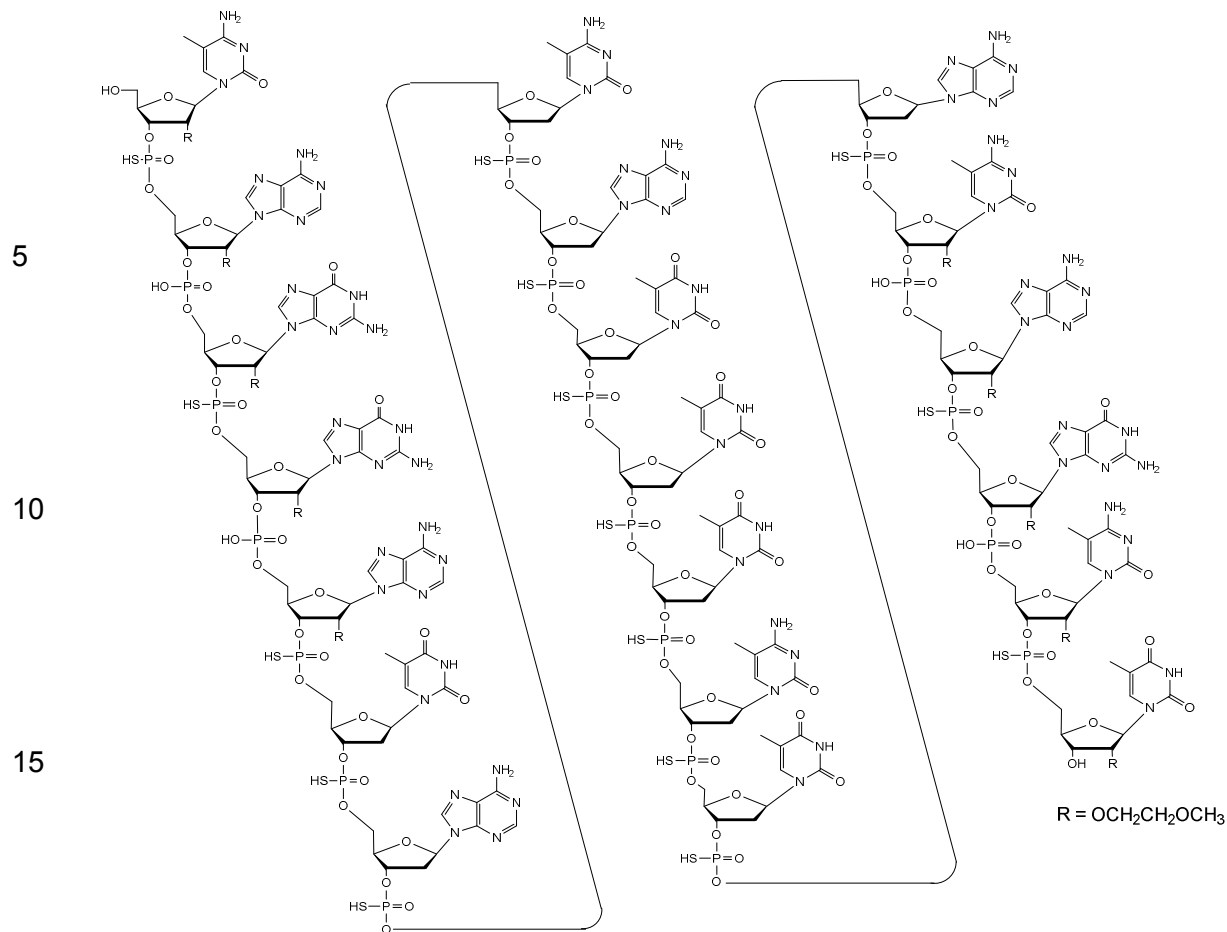
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a 60 mg del oligonucleótido antisentido. 63,5 mg del Compuesto A equivalen a 60 mg del oligonucleótido antisentido. La composición farmacéutica administrada puede comprender el oligonucleótido antisentido, una o más sales del oligonucleótido antisentido, o mezclas de estos.

En un décimo quinto aspecto, la descripción proporciona un método para reducir la síntesis de proteínas de SOD1 humanos o los niveles de SOD1 humanos en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



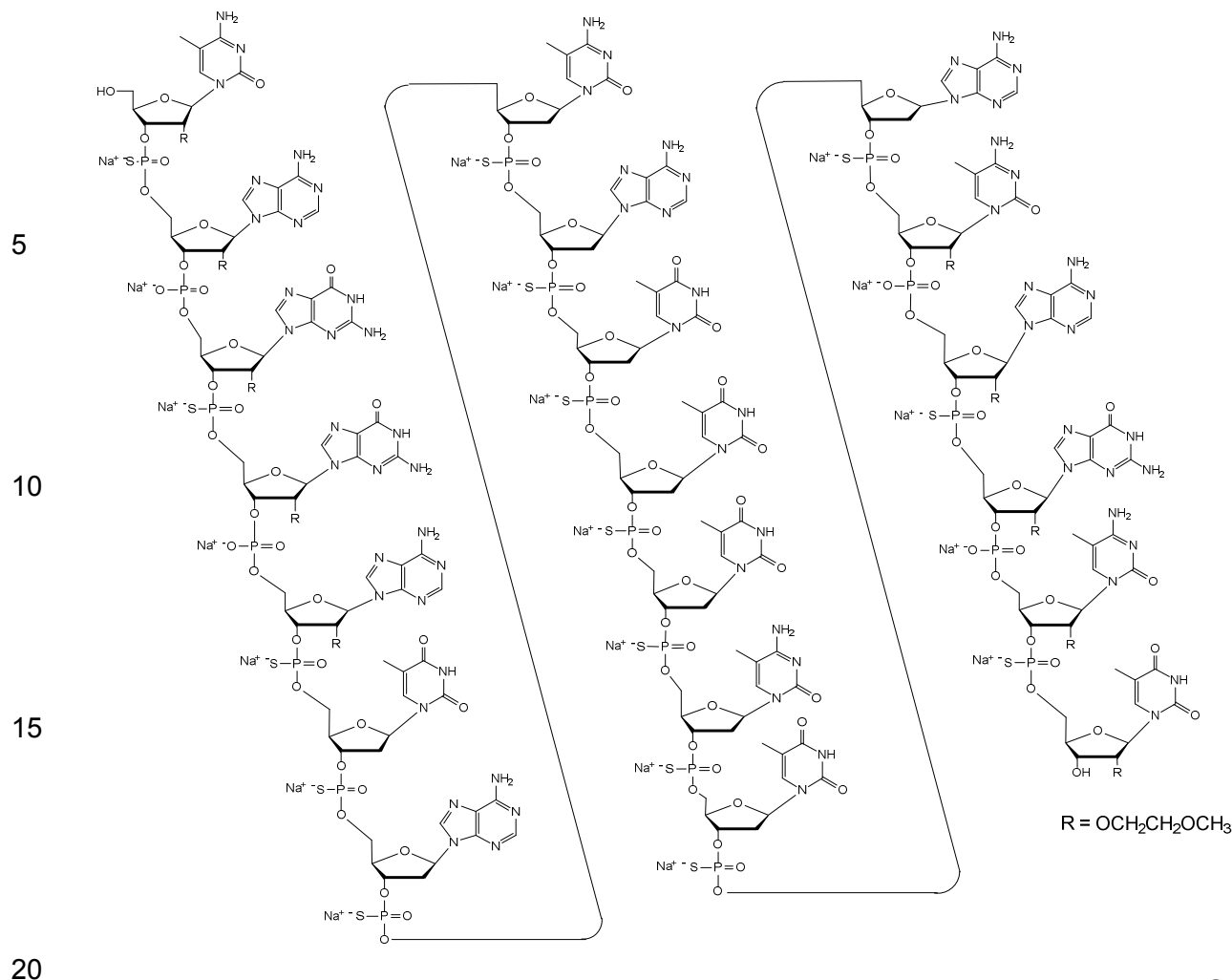
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a 40 mg del oligonucleótido antisentido. 42,3 mg del Compuesto A equivalen a 40 mg del oligonucleótido antisentido. La composición farmacéutica administrada puede comprender el oligonucleótido antisentido, una o más sales del oligonucleótido antisentido, o mezclas de estos.

En un décimo sexto aspecto, la descripción proporciona un método para reducir la síntesis de proteínas de SOD1 humanos o los niveles de SOD1 humanos en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a 20 mg del oligonucleótido antisentido. 21,2 mg del Compuesto A equivalen a 20 mg del oligonucleótido antisentido. La composición farmacéutica administrada puede comprender el oligonucleótido antisentido, una o más sales del oligonucleótido antisentido, o mezclas de estos.

En algunas modalidades, al sujeto humano se le administra una sal del oligonucleótido antisentido. En algunas modalidades, la sal es una sal de sodio. En algunas modalidades, la sal del oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



En algunas modalidades de los aspectos anteriores, la mutación en el gen SOD1 es A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88deltaTAD, A89T, V97M, S105deltaSL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R, o G147R. En una modalidad, la mutación en el gen SOD1 es A4V. En otra modalidad, la mutación en el gen SOD1 es H46R. En incluso otra modalidad, la mutación en el gen SOD1 es G93S.

En algunas modalidades, la mutación en el gen SOD1 humano se identifica mediante una prueba genética.

En determinadas modalidades, los métodos anteriores implican también identificar la mutación en el gen SOD1 humano mediante una prueba genética.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica se administra al sujeto humano al menos 5 veces en el transcurso de cuatro meses.

En determinadas modalidades, al sujeto humano se le administra una dosis de carga o varias dosis de carga de la composición farmacéutica seguido de una dosis de mantenimiento o varias dosis de mantenimiento. En algunos casos, se administran tres dosis de carga, donde las dosis de carga se separan en dos semanas durante, por ejemplo, el día 1, día 15 y el día 29. En algunos casos, las dosis de mantenimiento se administran cada 4 semanas comenzando 4 semanas después de la tercera dosis de carga (por ejemplo, durante 1 mes, 2 meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, diez meses).

En determinadas modalidades, al sujeto humano se le administran tres dosis de carga de la composición farmacéutica seguidas de al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) dosis de mantenimiento. En algunos casos, las tres dosis de carga se administran con dos semanas de diferencia. En algunos casos, las tres dosis de carga se administran con dos 14 días de diferencia. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran cada 4 semanas comenzando 4 semanas después de la tercera dosis de carga. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran todos los meses comenzando un mes después de la tercera dosis de carga. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran cada 28 días comenzando 28 días después de la tercera dosis de carga.

En determinadas modalidades, las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

(i) una primera dosis de carga de la composición farmacéutica;

(ii) una segunda dosis de carga de la composición farmacéutica se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

(iii) una tercera dosis de carga de la composición farmacéutica se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

(iv) una primera dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administra 28 días o 1 mes después de la tercera dosis de carga.

En determinadas modalidades, las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

(i) una primera dosis de carga equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido;

(ii) una segunda dosis de carga equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la segunda dosis de carga se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

(iii) una tercera dosis de carga equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la tercera dosis de carga se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

(iv) una primera dosis de mantenimiento equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la primera dosis de mantenimiento se administra 28 días después de la tercera dosis de carga.

En determinadas modalidades, las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

(i) una primera dosis de carga equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido;

(ii) una segunda dosis de carga equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la segunda dosis de carga se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

(iii) una tercera dosis de carga equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la tercera dosis de carga se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

(iv) una primera dosis de mantenimiento equivalente a 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la primera dosis de mantenimiento se administra 1 mes después de la tercera dosis de carga.

En otro aspecto, la descripción presenta una jeringa o bomba que comprende una preparación estéril de un oligonucleótido antisentido. La jeringa o bomba se adapta para la administración intratecal del oligonucleótido antisentido en una dosis fija de 20 mg, 40 mg, 60 mg o 100 mg. La secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que entiende normalmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Si bien se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los que se describen en la presente en la práctica o en pruebas de la presente invención, a continuación, se describirán los ejemplos de métodos y materiales. Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias mencionadas en la presente se incorporan en su totalidad mediante referencia. En caso de conflicto, prevalecerá la presente solicitud, lo que incluye las definiciones. Los materiales, métodos y ejemplos son solamente ilustrativos y no se pretende que sean taxativos.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y a partir de las reivindicaciones.

#### Breve descripción de las figuras

La **figura 1** es una representación gráfica de la duración de la enfermedad promedio (años desde el inicio de los síntomas) para pacientes con diferentes mutaciones SOD1 humanas.

La **figura 2** ilustra los incrementos dependientes de la dosis en concentraciones del líquido cefalorraquídeo (CSF, por sus siglas en inglés) del Compuesto A observados en cohortes de dosis ascendente múltiples (MAD, por sus siglas en inglés). La línea superior quebrada representa la dosis de 100 mg; las siguientes dos líneas quebradas las dosis de 60 y 40 mg y la línea inferior más quebrada representa la dosis de 20 mg.

La **figura 3** ilustra los incrementos dependientes de la dosis en concentraciones de SOD1 del CSF observados en cohortes de MAD. El día 85 del estudio, el círculo superior corresponde a 20 mg; el siguiente círculo por debajo al placebo; el siguiente círculo por debajo a 60 mg; el siguiente círculo por debajo a 40 mg; y el círculo más inferior a 100 mg del Compuesto A.

La **figura 4A** es una gráfica del cambio promedio LS a partir del valor de referencia en la Escala de Clasificación Funcional de Esclerosis Lateral Amiotrófica - Revisada (ALFSFRS-R) en pacientes en cohortes de MAD. El día 85 del estudio, el círculo superior corresponde a 40 mg del Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 100 mg del

Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 60 mg del Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 20 mg del Compuesto A; y el círculo más inferior al placebo.

La **figura 4B** es una gráfica del cambio promedio LS a partir del valor de referencia (IC de 90 %) en el porcentaje previsto de Capacidad Vital Lenta (SVC, por sus siglas en inglés) en pacientes en cohortes de MAD. El día 85 del estudio, el círculo superior corresponde a 60 mg del Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 40 mg del Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 100 mg del Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 20 mg del Compuesto A; y el círculo más inferior al placebo.

La **figura 4C** es una gráfica del cambio promedio LS a partir del valor de referencia (IC de 90 %) en Dinamometría Manual (HHD, por sus siglas en inglés) en pacientes en cohortes de MAD. El día 92 del estudio, el círculo superior corresponde a 40 mg del Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 100 mg del Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 60 mg del Compuesto A; el siguiente círculo por debajo a 20 mg del Compuesto A; y el círculo más inferior al placebo.

La **figura 5** ilustra los cambios en la megapuntuación de ALSFRS-R, SVC, HHD y el nivel de SOD1 del CSF a partir del valor de referencia hasta el Día 85 en pacientes con mutaciones de evolución rápida que reciben ya sea el placebo o 100 mg del Compuesto A.

La **figura 6** ilustra los cambios en la megapuntuación de ALSFRS-R, SVC, HHD y el nivel de SOD1 del CSF a partir del valor de referencia hasta el Día 85 en pacientes con mutaciones de evolución rápida que reciben ya sea el placebo o 100 mg del Compuesto A.

La **figura 7** ilustra el efecto del tratamiento con 100 mg del Compuesto A en niveles de pNFH a partir del valor de referencia hasta el Día 85 en pacientes con mutaciones SOD1 de evolución rápida.

La **figura 8** ilustra el efecto del tratamiento con 100 mg del Compuesto A en niveles de pNFH a partir del valor de referencia hasta el Día 85 en pacientes con mutaciones SOD1 de evolución rápida.

### Descripción Detallada

La presente descripción presenta pautas posológicas de oligonucleótidos antisentido o sales de estos, que reducen la expresión de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) y el uso de dichos oligonucleótidos antisentido o sales de estos para tratar,

prevenir o aliviar la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) en adultos que tienen una mutación del gen SOD1 humano.

### *Definiciones*

5 «2'-O-metoxietilo» (también 2'-MOE y 2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub> y MOE) hace referencia a una modificación de O-metoxi-etilo de la posición 2' de un anillo de furanosa. Un azúcar modificado con 2'-O-metoxietilo es un azúcar modificado.

Un «nucleósido 2'-MOE» (también nucleósido 2'-O-metoxietilo) significa un nucleósido que comprende un resto de azúcar modificado con MOE.

10 «5-metilcitosina» significa una citosina modificada con un grupo metilo unido a la posición 5'. Una 5-metilcitosina es una nucleobase modificada.

«Enlace de fosforotioato» hace referencia a un enlace entre nucleósidos donde el enlace de fosfodiéster se modifica mediante el remplazo de uno de los átomos de oxígeno que no forman puentes con un átomo de azufre. Un enlace de fosforotioato es un enlace  
15 entre nucleósidos modificado.

«Aproximadamente» en el contexto de la cantidad de una sustancia significa +/- 10 % del valor indicado. Por lo tanto, aproximadamente 100 mg de un oligonucleótido antisentido incluye entre 90 mg y 110 mg del oligonucleótido antisentido. En el contexto de las  
20 unidades temporales, por ejemplo, aproximadamente 10 días o aproximadamente 1 semana, «aproximadamente» significa +/- 3 días.

«Intratecal o IT» se refieren a la administración en el líquido cefalorraquídeo debajo de la membrana aracnoidea que cubre el cerebro y la médula espinal.

25 «Dosis de carga» significa una dosis administrada durante una fase de dosificación durante la cual se inicia la administración y se logra la concentración de estado estable del fármaco (por ejemplo, oligonucleótido antisentido).

«Dosis de mantenimiento» significa una dosis administrada durante una fase de dosificación después de que se logró la concentración de estado estable del fármaco (por  
30 ejemplo, oligonucleótido antisentido).

«Dosis fija» hace referencia a una cantidad predeterminada del oligonucleótido antisentido (por ejemplo, 20 mg, 40 mg, 60 mg, 100 mg) que se prevé que logre un efecto o concentración terapéutica deseada (por ejemplo, concentración de estado estable) en el  
35 sujeto.

### Esclerosis lateral amiotrófica

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa rara que provoca la pérdida de las neuronas motoras dentro de la corteza, el tronco del encéfalo y la médula espinal. Los pacientes padecen la pérdida progresiva de la masa muscular, la resistencia y función en los músculos bulbares, respiratorios y voluntarios. El deterioro es inevitable, es decir la muerte, típicamente como consecuencia de una insuficiencia respiratoria que se produce de 2 a 5 años, en promedio, después del diagnóstico. Aunque la mayoría de los pacientes padecen ELA esporádica, una fracción más pequeña de pacientes, aproximadamente 2 %, tienen una forma familiar o heredada de ELA provocada por una variedad de mutaciones en la superóxido dismutasa 1 (SOD1). Se han informado más de 180 mutaciones SOD1 que producen esta forma de ELA (la que se denomina ELA SOD1) desde su descubrimiento inicial en 1993. La base de datos genéticos en línea de la esclerosis lateral amiotrófica (ALSoD). Institute of Psychiatry, Psychology & Neuroscience. Publicado en 2015; Rosen, *Nature*, 364(6435):362 (1993)). El avance de la enfermedad para las mutaciones individuales es variable, con una supervivencia de menos de 15 meses con las mutaciones más graves. Aunque se desconoce el mecanismo a través del cual las mutaciones provocan ELA SOD1, la recopilación de datos sugiere que la ganancia tóxica de la función, no la pérdida de la actividad de SOD1, es el desencadenante que inicia la cascada de eventos que provocan la muerte de las neuronas motoras (Bruijn et ál., *Science*, 281(5384):1851-4 (1998)).

Los tratamientos aprobados para la ELA son el riluzol (Rilutek®) y edaravona (Radicava™). El riluzol proporciona un aumento modesto en la supervivencia (2 a 3 meses) sin mejora demostrable en la resistencia o discapacidad. La edaravona disminuye el deterioro funcional según lo medido por medio de la Escala de Clasificación de Esclerosis Lateral Amiotrófica - Revisada (ALSFRS-R). El efecto de la edaravona sobre la supervivencia se desconoce. No se encuentra disponible ningún tratamiento para la ELA específica para SOD1.

### Superóxido dismutasa 1

La superóxido dismutasa [Cu-Zn] también conocida como superóxido dismutasa 1 (SOD1) es una enzima que en los humanos está codificada por el gen SOD1, que se ubica en el cromosoma 21.

La SOD1 es un homodímero de 32 kDa que forma un barril  $\beta$  y contiene un enlace de disulfuro intramolecular y un sitio Cu/Zn binuclear en cada subunidad. Este sitio Cu/Zn conserva el cobre y un ion de cinc, y es responsable de catalizar la dismutación del superóxido en peróxido de hidrógeno y dióxígeno.

La SOD1 es una de las tres superóxido dismutasas responsable de destruir los radicales de superóxido libres en el cuerpo. La isoenzima codificada es una proteína de espacio intermembrana mitocondrial y citoplasmática, que actúa como un homodímero para convertir los radicales de superóxido de origen natural, pero dañinos, en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular. El peróxido de hidrógeno puede descomponerse entonces en otra enzima llamada catalasa.

Al menos 180 mutaciones en el gen SOD1 se han vinculado a la ELA familiar (Conwit RA, *J Neurol Sci.*, . 251 (1–2):1–2 (2006); Al-Chalabi A, Leigh PN, *Curr.Opin. in Neurol.*, 13(4):397–405 (2000); Redler RL, Dokholyan NV, *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 107:215–62 (2012)). Sin embargo, la SOD1 de tipo salvaje, en condiciones de estrés celular, ha estado implicada también en una parte considerable de casos de ELA esporádicos, los cuales representan el 90 % de los pacientes con ELA. Las mutaciones más frecuentes en la SOD1 humana son la A4V en Estados Unidos, la H46R en Japón y la G93S en Islandia. Otras mutaciones SOD1 humanas muy conocidas incluyen: A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88deltaTAD, A89T, V97M, S105deltaSL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R y G147R. Existe una heterogeneidad considerable en la duración de la enfermedad según la mutación SOD1 (véase, la **Figura 1**). Virtualmente todas las mutaciones SOD1 que causan ELA actúan de un modo dominante; una única copia mutante del gen SOD1 es suficiente para provocar la enfermedad.

La secuencia de aminoácidos de la SOD1 humana se puede encontrar en UniProt P00441 y el n.º de acceso GenBank NP\_000445 y se proporciona a continuación:

MATKAVCVLK GDGPVQGIIN FEQKESNGPV KVGWSIKGLT EGLHGFHVHE  
 FGDNTAGCTS AGPHFNPLSR KHGGPKDEER HVGDLGNVTA DKDGVADVSI  
 EDSVISLSGD HCIIGRTLTVV HEKADDLGKG GNEESTKTGN AGSRLACGVI  
 GIAQ (**SEQ ID NO: 2**)

5 Se proporciona la secuencia de nucleótidos que codifica la SOD1 humana en el n.º de acceso GenBank NM\_000454.4 y se proporciona también a continuación (se subraya la región reconocida por el oligonucleótido antisentido de la presente descripción):

1 gtttggggcc agagtgggcg aggcgcggag gtctggccta taaagtagtc gcggagacgg  
 61 ggtgctggtt tgcgtcgtag tctctgcag cgtctggggt ttccgttgca gtcctcgaa  
 10 121 ccaggacctc ggcgtggcct agcgagttat ggcgacgaag gccgtgtgcg tgctgaaggg  
 181 cgacggccca gtgcagggca tcatcaattt cgagcagaag gaaagtaatg gaccagtga  
 241 ggtgtgggga agcattaaag gactgactga aggcctgcat ggattccatg ttcattgatt  
 301 tggagataat acagcaggct gtaccagtgc aggtcctcac ttaactctc tatccagaaa  
 361 acacggtggg ccaaaggatg aagagaggca tgttgagac ttgggcaatg tgactgtga  
 15 421 caaagatggt gtggccgatg tgtctattga agattctgtg atctcactct caggagacca  
 481 ttgcatcatt ggccgcacac tgggtgtcca tgaaaaagca gatgacttg gcaaaggagg  
 541 aatgaagaa agtacaaaga caggaaacgc tgaagtcgt ttggcttggt gtgtaattgg  
 601 gatcgcccaa taaacattcc ctggatgta gtctgaggcc ccttaactca tctgttatcc  
 20 661 tgctagctgt agaaatgtat cctgataaac attaaacact gtaattctaa aagtgtatt  
 721 gtgtgacttt tcagagttg cttaaagta cctgtagtga gaaactgatt tatgatcact  
 781 tggaagattt gtatagtttt ataaaactca gttaaatgt ctgtttcaat gacctgtatt  
 841 ttgccagact taaatcacag atgggtatta aactgtcag aatttcttg tcattcaagc  
 901 ctgtgaataa aaaccctgta tggcacttat tatgaggcta taaaagaat ccaaattcaa  
 25 961 actaaaaaaaa aaaaaaaaaa a (**SEQ ID NO: 3**)

### ISIS 666853

ISIS 666853 es un gapmero MOE 5-10-5 que tiene la secuencia de (de 5' a 3')  
 30 CAGGATACATTTCTACAGCT (**SEQ ID NO: 1**), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y  
 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los  
 nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre  
 los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de  
 internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a

11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato, y donde cada citosina es una 5-metilcitosina. ISIS 666853 se describe por medio de la siguiente anotación química: mCes Aeo Ges Geo Aes Tds Ads mCds Ads Tds Tds Tds mCds Tds Ads mCeo Aes Geo mCes Te; donde,

A = una adenina,

mC = una 5-metilcitosina

G = una guanina,

T = una timina,

e = un azúcar modificado con 2'-O-methoxietilribosa,

d = un azúcar de 2'-desoxirribosa,

s = un enlace de internucleósidos de fosforotioato, y

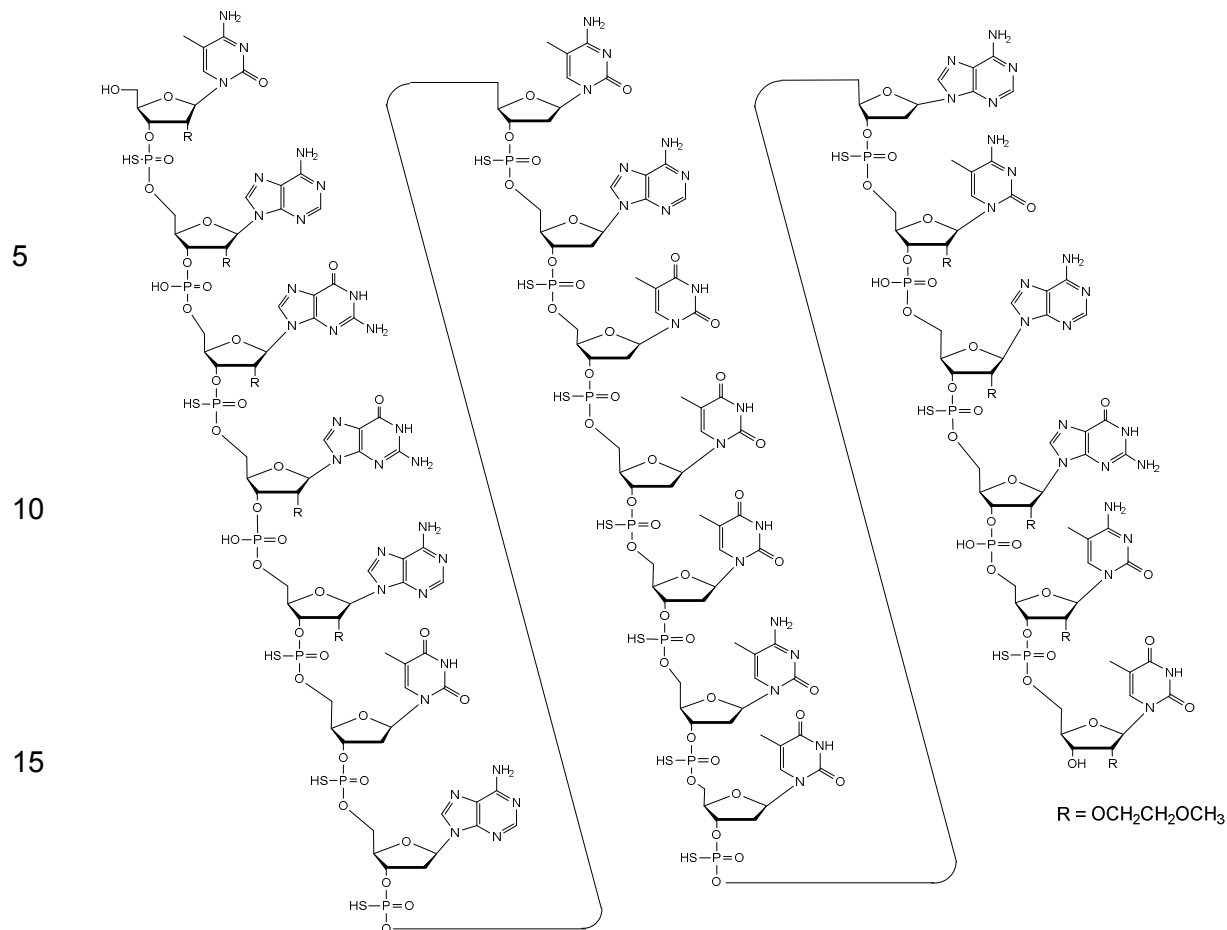
o = un enlace de internucleósidos de fosfodiéster.

La secuencia ISIS 666853 se puede escribir también abreviada de la siguiente manera:



Los residuos subrayados son nucleósidos 2'-MOE. La anotación P=O refleja la ubicación de los enlaces de diéster de fosfato.

ISIS 666853 se ilustra por medio de la siguiente estructura química:

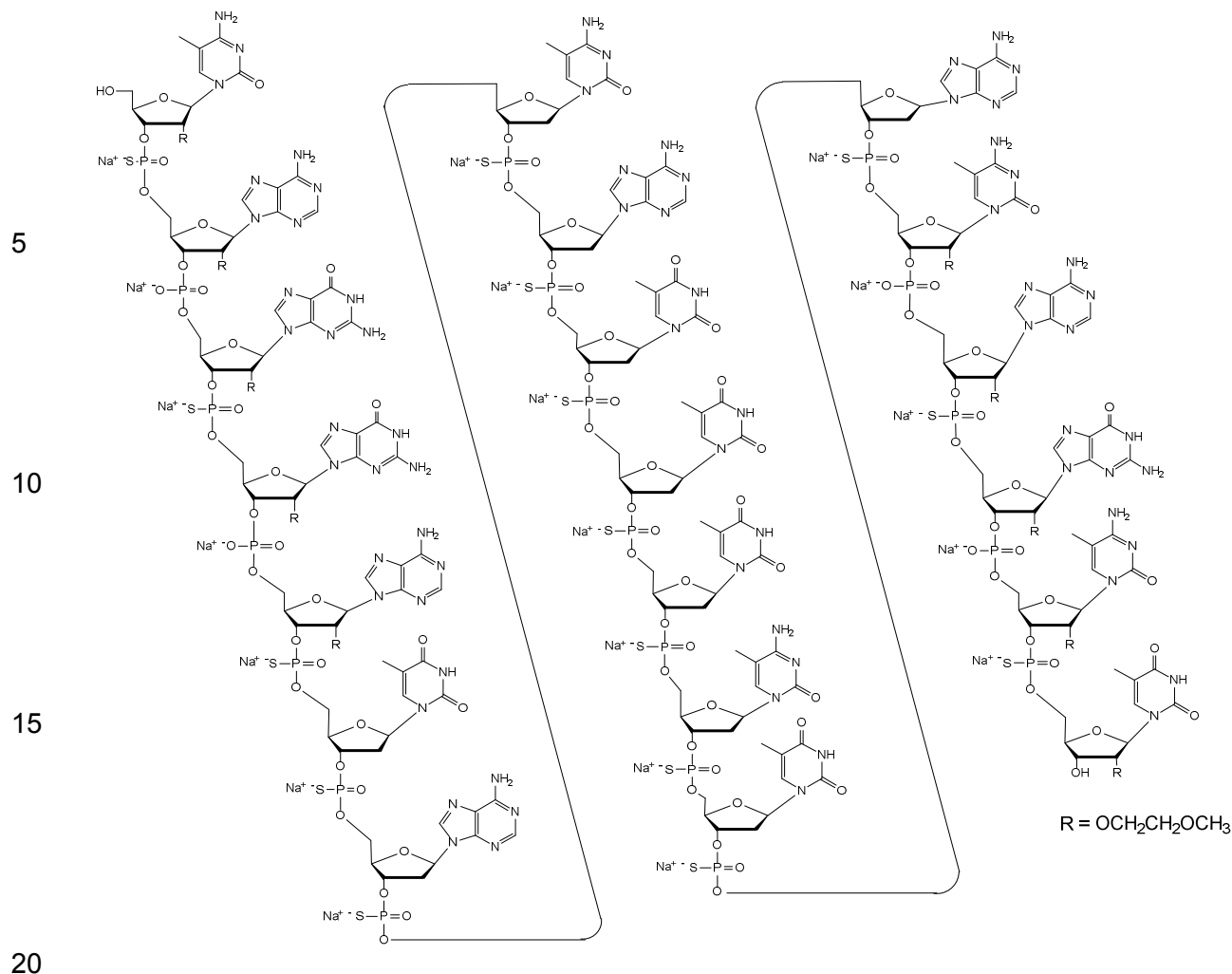


Se debe comprender que en solución el oligonucleótido antisentido puede existir en forma ácida libre, en una forma de sal o una mezcla de estos.

### Sal de nonadecasodio del ISIS 666853 («Compuesto A»)

El Compuesto A es una sal de nonadecasodio del ISIS 666853, un inhibidor del oligonucleótido antisentido del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de SOD1 que reduce los niveles de proteína SOD1 en sujetos con ELA SOD1. La reducción del ARNm de SOD1 y, posteriormente, la proteína SOD1 tóxica puede ofrecer un beneficio terapéutico para sujetos con ELA SOD1.

La estructura del Compuesto A se proporciona a continuación:



La fórmula molecular del Compuesto A es: C<sub>230</sub> H<sub>298</sub> N<sub>72</sub> Na<sub>19</sub> O<sub>123</sub> P<sub>19</sub> S<sub>15</sub> , la cual tiene un peso molecular = 7545,59 amu.

El Compuesto A es complementario a una parte de la región no traducida 3' (3'UTR) del ARNm para la SOD1 humana, que se une mediante el apareamiento de bases de Watson-Crick. La hibridación (unión) del Compuesto A con su ARNm análogo provoca la degradación mediada por RNasa-H1 del ARNm para SOD1 y, por lo tanto, reduce la cantidad de la síntesis de proteínas SOD1. La RNasa H es una enzima (nucleasa) que se expresa de forma generalizada que reconoce un heterodúplex de ácido ribonucleico - ácido desoxirribonucleico (ARN-ADN) y escinde la cadena de ARN del dúplex. Mediante la unión a la región 3'-UTR del ARNm SOD1, el Compuesto A se dirige selectivamente a la RNasa H1 hasta el ARNm SOD1 y promueve su escisión, lo cual conduce a la expresión reducida de variantes mutantes y de tipo salvaje de SOD1.

El Compuesto A aumentó considerablemente la supervivencia media en ratones transgénicos G93A con SOD1 (Mantel-Cox,  $p < 0,01$ ). También provocó una protección dependiente de la dosis de la función neuromuscular según lo medido por la acción muscular compuesta potencial en ratones transgénicos G93A con SOD1.

5

#### Oligonucleótidos antisentido conjugados

Los oligonucleótidos antisentido de la presente descripción pueden estar enlazados de forma covalente a uno o más restos o conjugados que mejoran la actividad, la distribución celular o la absorción celular de los oligonucleótidos antisentido resultantes.

10 Los grupos de conjugados típicos incluyen restos de colesterol y restos lipídicos. Los grupos conjugados adicionales incluyen carbohidratos, fosfolípidos, biotina, fenazina, folato, fenantridina, antraquinona, acridina, fluoresceínas, rodaminas, cumarinas y tintes. Los oligonucleótidos antisentido también pueden modificarse para que tengan uno o más

15 grupos estabilizadores que por lo general se encuentran unidos a uno o ambos extremos de oligonucleótidos antisentido para mejorar las propiedades tales como, por ejemplo, la estabilidad de las nucleasas. En los grupos estabilizadores se incluyen estructuras de casquetes. Estas modificaciones en los extremos protegen al oligonucleótido antisentido que tiene un ácido nucleico terminal a partir de la degradación de exonucleasas y pueden

20 colaborar en el suministro y/o la localización dentro de una célula. El casquete puede encontrarse presente en el extremo 5' (casquete 5') o en el extremo 3' (casquete 3'), o puede encontrarse en ambos extremos. Las estructuras de casquetes son muy conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, casquetes abásicos desoxi invertidos. Otros grupos estabilizadores 3' y 5' que pueden usarse para poner casquetes en uno o ambos extremos

25 de un oligonucleótido antisentido a efectos de impartir estabilidad de nucleasas incluyen aquellos que se describen en WO 03/004602.

#### Composiciones y métodos para formular composiciones farmacéuticas

30 Los oligonucleótidos antisentido o, sales de estos, de la presente descripción pueden mezclarse con sustancias inertes o activas farmacéuticamente aceptables para la preparación de formulaciones o composiciones farmacéuticas. Las composiciones y los métodos para la formulación de composiciones farmacéuticas dependen de diversos

35

criterios que incluyen, de modo no taxativo, la vía de administración, el grado de la enfermedad o la dosis que se ha de administrar.

Un oligonucleótido antisentido o, sal de este, dirigido a un ácido nucleico de SOD1 puede utilizarse en composiciones farmacéuticas mediante la combinación del oligonucleótido antisentido o sal de este, con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable y adecuado. Un diluyente farmacéuticamente aceptable incluye solución salina amortiguada con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés). PBS es un diluyente adecuado para su uso en composiciones que se administran de forma parenteral. Por consiguiente, en una modalidad, en los métodos descritos en la presente se emplea una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o sal de este, dirigido a un ácido nucleico de SOD1 y un diluyente farmacéuticamente aceptable.

Un oligonucleótido antisentido o sal de este, que se describe en la presente se puede formular como una composición farmacéutica para la administración intratecal a un sujeto.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden oligonucleótidos antisentido de la presente descripción abarcan cualquier sal o éster farmacéuticamente aceptable o sales de dichos ésteres o cualquier otro oligonucleótido que, luego de la administración a un animal, inclusive un humano, pueda proporcionar (directa o indirectamente) el metabolito biológicamente activo o un residuo de este. Por consiguiente, por ejemplo, la descripción también se dirige a sales farmacéuticamente aceptables de oligonucleótidos antisentido y otros bioequivalentes. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, de modo no taxativo, sales de sodio y potasio.

### Métodos de tratamiento

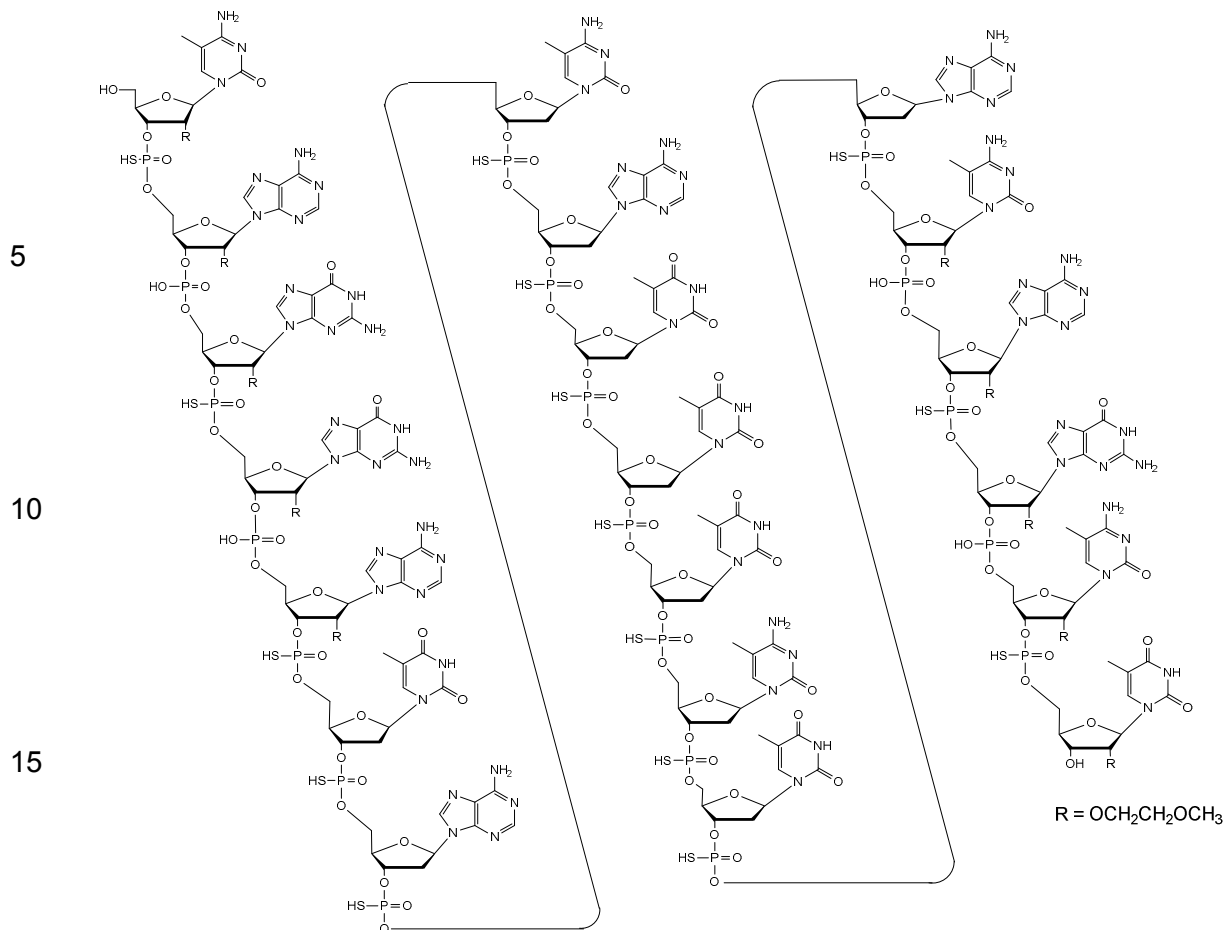
La descripción presenta métodos para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 humano en un sujeto humano que lo necesita. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una dosis fija de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a

5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina. En determinados casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 100 mg o 100 mg. En otros casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 60 mg o 60 mg. En incluso otros casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 40 mg o 40 mg. En algunos casos adicionales, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 20 mg o 20 mg. En determinados casos, la dosis fija de la sal de sodio del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 105,9 mg o 105,9 mg. En otros casos, la dosis fija de la sal de sodio del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 63,5 mg o 63,5 mg. En incluso otros casos, la dosis fija de la sal de sodio del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 42,3 mg o 42,3 mg. En algunos casos adicionales, la dosis fija de la sal de sodio del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 21,2 mg o 21,2 mg.

También se proporcionan métodos para reducir la síntesis de proteínas SOD1 humanas en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano mediante administración intratecal, una dosis fija de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina. En determinados casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 100 mg o 100 mg. En otros casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 60 mg o 60 mg. En incluso otros casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 40 mg o 40 mg. En otros casos adicionales, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 20 mg o 20 mg.

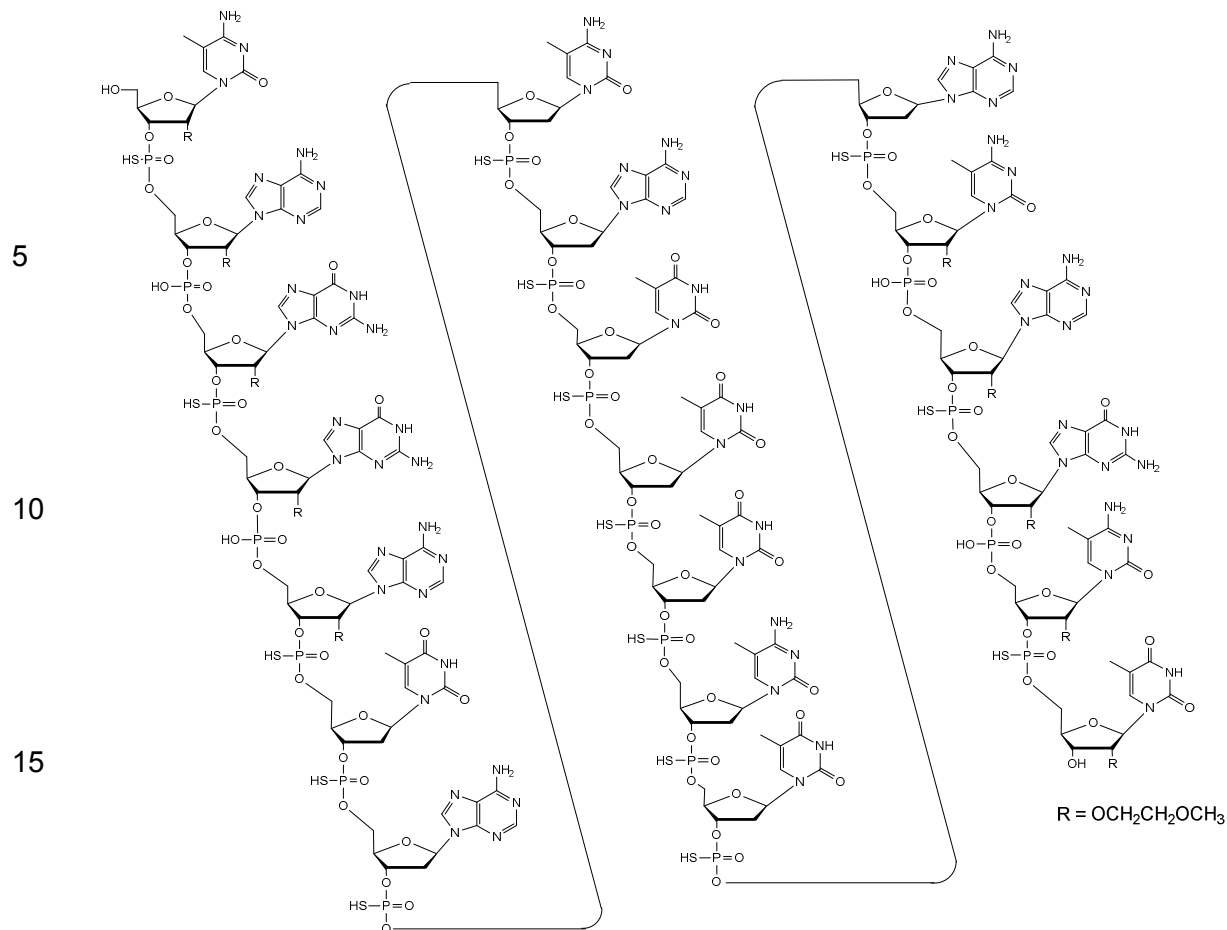
También se proporcionan métodos para reducir los niveles de ARNm SOD1 humano en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica. El método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una dosis fija de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina. En determinados casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 100 mg o 100 mg. En otros casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 60 mg o 60 mg. En incluso otros casos, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 40 mg o 40 mg. En otros casos adicionales, la dosis fija del oligonucleótido antisentido es de aproximadamente 20 mg o 20 mg.

También se proporcionan métodos para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen SOD1 en un sujeto humano que lo necesita, donde el método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



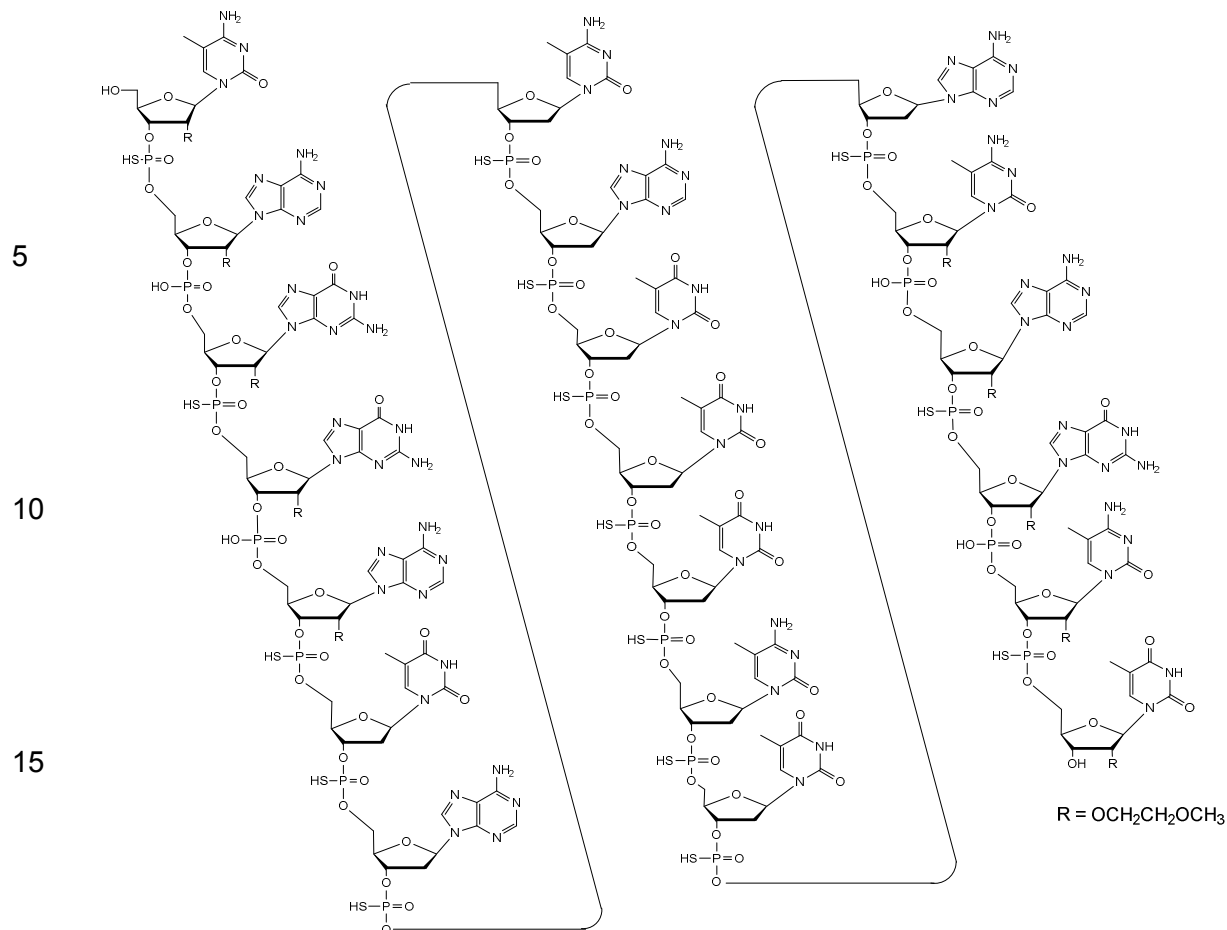
En determinados casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 100 mg o 100 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 60 mg o 60 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 40 mg o 40 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 20 mg o 20 mg del oligonucleótido antisentido.

También se proporcionan métodos para reducir la síntesis de proteínas SOD1 humanas en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, donde el método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



En determinados casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 100 mg o 100 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 60 mg o 60 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 40 mg o 40 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 20 mg o 20 mg del oligonucleótido antisentido.

También se proporcionan métodos para reducir los niveles de ARNm SOD1 humano en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, donde el método implica administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



En determinados casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 100 mg o 100 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 60 mg o 60 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 40 mg o 40 mg del oligonucleótido antisentido. En otros casos, el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 20 mg o 20 mg del oligonucleótido antisentido.

En algunos casos, una dosis fija indicada anteriormente del oligonucleótido antisentido o sal de este, se administra al sujeto humano una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez cada cuatro semanas.

En algunos casos, el oligonucleótido antisentido descrito en la presente se administra al sujeto humano como parte de una composición farmacéutica. En determinadas modalidades, la composición farmacéutica se administra al sujeto humano en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de (es decir, el equivalente de)

aproximadamente 20 mg del oligonucleótido antisentido. En determinadas modalidades, la composición farmacéutica se administra al sujeto humano en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 40 mg del oligonucleótido antisentido. En determinadas modalidades, la composición farmacéutica se administra al sujeto humano en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 60 mg del oligonucleótido antisentido. En determinadas modalidades, la composición farmacéutica se administra al sujeto humano en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido.

En determinadas modalidades, una dosis fija indicada anteriormente del oligonucleótido antisentido o sal de este, se administra como una/s dosis de carga. En algunas modalidades, una dosis fija indicada anteriormente del oligonucleótido antisentido se administra como una/s dosis de mantenimiento. En determinadas modalidades, la dosis fija indicada anteriormente del oligonucleótido antisentido se administra como una/s dosis de carga y va seguida de una/s dosis de mantenimiento. La o las dosis de carga se pueden administrar, por ejemplo, cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas o cada cuatro semanas. La o las dosis de mantenimiento se pueden administrar, por ejemplo, cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas o cada cuatro semanas después de la última dosis de carga. En algunos casos, la o las dosis de mantenimiento se administran todos los meses.

En determinadas modalidades, al sujeto humano se le administran tres dosis de carga del oligonucleótido antisentido o sal de este, seguidas de al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más) dosis de mantenimiento. En algunos casos, las tres dosis de carga se administran con dos semanas de diferencia. En algunos casos, las tres dosis de carga se administran con dos 14 días de diferencia. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran comenzando 4 semanas después de la tercera dosis de carga. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran cada mes comenzando después de la tercera dosis de carga. En algunos casos, las dosis/dosis de mantenimiento se administran cada 28 días comenzando después de la tercera dosis de carga.

La mutación en SOD1 puede ser cualquier mutación en el gen SOD1 humano que se una a la ELA. En algunos casos, la mutación es una mutación de la enfermedad ELA de evolución lenta. En algunos casos, la mutación es una mutación de la enfermedad ELA de

evolución rápida. En algunos casos, la mutación en el gen SOD1 humano es una o más de A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88deltaTAD, A89T, V97M, S105deltaSL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R o G147R. En una modalidad particular, el sujeto humano tiene una mutación A4V en el gen SOD1 humano. En otra modalidad particular, el sujeto humano tiene una mutación H46R en el gen SOD1 humano. En incluso otra modalidad particular, el sujeto humano tiene una mutación G93S en el gen SOD1 humano.

En determinados casos, la mutación en el gen SOD1 humano se identifica mediante una prueba genética.

En algunos casos, los métodos descritos anteriormente implican identificar la mutación en el gen SOD1 humano mediante una prueba genética.

En determinadas modalidades, la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un oligonucleótido antisentido o una sal de este (por ejemplo, el Compuesto A) a un sujeto humano está acompañada por el monitoreo de los niveles de SOD1 en el sujeto humano, para determinar la respuesta del sujeto humano a la administración del oligonucleótido antisentido o sal de este. Una respuesta del sujeto humano a la administración del oligonucleótido antisentido o sal de este, puede ser utilizada por un médico para determinar la cantidad y duración de la intervención terapéutica. En determinadas modalidades, los niveles de SOD1 humano se monitorean en el CSF. En determinadas modalidades, los niveles de SOD1 humano se monitorean en el plasma.

En determinadas modalidades, la administración de un oligonucleótido antisentido o sal de este (por ejemplo, el Compuesto A) provoca la reducción de la expresión de proteínas de SOD1. En determinadas modalidades, la administración de un oligonucleótido antisentido o una sal de este (por ejemplo, el Compuesto A) provoca la reducción de la expresión de proteínas SOD1 en al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 99 %, o un intervalo definido por dos cualquiera de estos valores. En determinadas modalidades, la reducción de la expresión de proteínas SOD1 es una reducción en el CSF. En determinadas modalidades, la reducción de la expresión de proteínas SOD1 es una reducción en el plasma.

En determinadas modalidades, la administración de un oligonucleótido antisentido o sal de este (por ejemplo, el Compuesto A) provoca mejor función motora y respiración en

el sujeto humano. En determinadas modalidades, la administración del oligonucleótido antisentido o sal de esta mejora la función y respiración en al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 99 %, o un intervalo definido por dos cualquiera de estos valores.

En determinadas modalidades, las composiciones farmacéuticas que comprenden un oligonucleótido antisentido o una sal de este (por ejemplo, el Compuesto A) se usan para la preparación de un medicamento para tratar un sujeto humano que padece o es susceptible a ELA (por ejemplo, un sujeto humano que tiene una mutación en SOD1 vinculada a la ELA).

#### Dispositivos de administración

En determinadas modalidades, un oligonucleótido antisentido o una sal de este (por ejemplo, el Compuesto A) se administra al sujeto humano con una jeringa para su suministro intratecal. En otra modalidad, un oligonucleótido antisentido o una sal de este (por ejemplo, el Compuesto A) se administra al sujeto humano con una bomba para su suministro intratecal. Por lo tanto, la presente descripción proporciona también una bomba o jeringa que comprende una preparación estéril del oligonucleótido antisentido o una sal de este (por ejemplo, el Compuesto A). La jeringa o bomba puede adaptarse para la administración intratecal del oligonucleótido antisentido o una sal de este. En algunos casos, la jeringa o bomba suministra una dosis fija (por ejemplo, aproximadamente 20 mg o 20 mg, aproximadamente 40 mg o 40 mg, aproximadamente 60 mg o 60 mg, o aproximadamente 100 mg o 100 mg) del oligonucleótido antisentido. La descripción proporciona también una bomba o jeringa que comprende una preparación estéril de la composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este (por ejemplo, el Compuesto A). La jeringa o bomba puede adaptarse para la administración intratecal de la composición farmacéutica. En algunos casos, la jeringa o bomba suministra una dosis fija (por ejemplo, aproximadamente 20 mg o 20 mg, aproximadamente 40 mg o 40 mg, aproximadamente 60 mg o 60 mg, o aproximadamente 100 mg o 100 mg) del oligonucleótido antisentido de la composición farmacéutica. En una modalidad particular, la bomba o jeringa comprende una preparación estéril de un oligonucleótido antisentido o sal de este, donde la jeringa o bomba se adapta para la administración intratecal de un oligonucleótido antisentido o sal de este (por ejemplo, el

Compuesto A) en una dosis fija de 20 mg, 40 mg, 60 mg, o 100 mg del oligonucleótido antisentido.

## Ensayos

### *Aislamiento de ARN*

El análisis de ARN puede llevarse a cabo en ARN celular total o ARNm poli(A)+. El ARN se prepara mediante el uso de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante el uso del reactivo TRIZOL (Invitrogen, Carlsbad, CA) de acuerdo con los protocolos recomendados por el fabricante.

### *Análisis de la inhibición de expresión o niveles objetivo*

La inhibición de los niveles o la expresión de un ácido nucleico de SOD1 pueden ser analizados de una variedad de formas conocidas en la técnica. Por ejemplo, los niveles de ácido nucleico objetivo pueden cuantificarse mediante, por ejemplo, análisis de transferencia Northern, reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por su sigla en inglés) competitiva o PCR en tiempo real cuantitativa. El análisis de ARN puede llevarse a cabo en ARN celular total o ARNm poli(A)+. En la técnica se conocen los métodos de aislamiento de ARN. El análisis de transferencia Northern también es habitual en la técnica. La PCR cuantitativa en tiempo real se puede lograr de manera conveniente usando el Sistema de Detección de Secuencia ABI PRISM 7600, 7700 o 7900, que se puede obtener de PE-Applied Biosystems, Foster City, CA, y se utiliza de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

### *Análisis de PCR cuantitativa en tiempo real de niveles de ARN diana*

La cuantificación de los niveles de ARN SOD1 puede ir acompañada por PCR en tiempo real cuantitativa mediante el uso del Sistema de Detección de Secuencias ABI PRISM 7600, 7700 o 7900 (PE-Applied Biosystems, Foster City, CA) de acuerdo con las instrucciones de fabricante. En la técnica se conocen los métodos de PCR cuantitativa en tiempo real.

Antes de la PCR en tiempo real, el ARN aislado se somete a una reacción con transcriptasa inversa (RT, por sus siglas en inglés), que produce ADN complementario (ADNc) que posteriormente se utiliza como el sustrato para la amplificación mediante PCR

en tiempo real. Se llevan a cabo reacciones con RT y PCR en tiempo real de manera secuencial en el mismo pocillo de muestra. Los reactivos de RT y PCR en tiempo real se obtienen de Invitrogen (Carlsbad, CA). Las reacciones de RT PCR en tiempo real se llevan a cabo mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica.

Las cantidades de gen (o ARN) establecidas como diana y obtenidas mediante PCR en tiempo real se normalizan mediante el uso del nivel de expresión de un gen cuya expresión sea constante, como la ciclofilina A o mediante la cuantificación de ARN total mediante el uso de RIBOGREEN (Invitrogen, Inc. Carlsbad, CA). La expresión de la ciclofilina A se cuantifica mediante PCR en tiempo real, que se puede realizar de forma simultánea con el objetivo, mediante multiplexación o por separado. El ARN total se cuantifica usando el reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN (Invitrogen, Inc. Eugene, OR). Los métodos para cuantificar ARN mediante RIBOGREEN se describen en Jones, L.J., et ál., (Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374). Se utiliza un instrumento A CYTOFLUOR 4000 (PE Applied Biosystems) para medir la fluorescencia de RIBOGREEN.

Las sondas y cebadores se diseñan para que se hibriden con un ácido nucleico de SOD1. Los métodos para diseñar sondas y cebadores para PCR en tiempo real se conocen en la técnica y pueden incluir el uso de software tal como PRIMER EXPRESS Software (Applied Biosystems, Foster City, CA).

#### *Análisis de los niveles de proteína*

La inhibición antisentido de los ácidos nucleicos de SOD1 puede ser evaluada mediante la medición de los niveles de proteína SOD1. Los niveles de proteína SOD1 pueden ser evaluados o cuantificados de diferentes formas conocidas en la técnica, como la inmunoprecipitación, el análisis de transferencia Western (inmunotransferencia), el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), ensayos cuantitativos de proteínas, ensayos de la actividad de las proteínas (por ejemplo, ensayos de la actividad de la caspasa), inmunohistoquímica, inmunocitoquímica o clasificación de células activadas por fluorescencia(FACS). Los anticuerpos dirigidos a un objetivo se pueden identificar y obtener a partir de diversas fuentes, como el catálogo de anticuerpos de MSRS (Aerie Corporation, Birmingham, MI) o pueden prepararse con métodos convencionales de generación de anticuerpos monoclonales o policlonales conocidos en la

técnica. Los anticuerpos útiles para la detección del SOD1 humano se encuentran comercialmente disponibles.

### *Pruebas para mutaciones SOD1*

Una causa genética subyacente para la ELA es una mutación en el gen SOD1 humano. Por consiguiente, la identificación de un sujeto que padece o es susceptible a la ELA se puede realizar mediante las pruebas genéticas del gen SOD1 del sujeto usando ensayos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, la secuenciación genética. En la técnica se conocen al menos 180 mutaciones en el SOD1 humano que se vinculan con la ELA.

El análisis de una susceptibilidad del sujeto a la enfermedad ELA se puede realizar también analizando los antecedentes familiares del sujeto para la ELA. El análisis de los antecedentes familiares puede incluir un registro genealógico de tres generaciones que documenta ELA, una revisión de registros médicos y estudios de autopsia de miembros familiares, y la identificación de un patrón dominante autosómico de la mutación SOD1.

No se debería interpretar que el ejemplo que se encuentra a continuación limita el alcance de la invención en forma alguna.

## **Ejemplos**

### **Ejemplo 1: Diseño del ensayo**

El Compuesto A se encuentra bajo investigación en ensayos clínicos continuados. Los ensayos implican un estudio de dosis ascendente única (SAD) y dosis ascendentes múltiples (MAD) controladas con placebo y aleatorizadas en pacientes con ELA SOD1. En la parte de MAD, los participantes recibieron 5 dosis del fármaco del estudio durante aproximadamente 3 meses. Cincuenta participantes se aleatorizaron (3:1 por cohorte) para que reciban 20 mg, 40 mg, 60 mg o 100 mg del Compuesto A o placebo. Entre 1 y 4 participantes tratados con el Compuesto A por cohorte tuvieron una mutación de SOD1 documentada que se adjudicó *a priori* que es de rápida evolución (principalmente A4V).

### **Ejemplo 2: Perfil de seguridad**

En el ensayo, 66 de 70 pacientes (94 %) experimentaron al menos 1 evento adverso (EA), la mayoría de los cuales se calificó como leve o moderado. La mayoría de los EA comunes que se producen en  $\geq 3$  participantes que recibieron el Compuesto A fueron dolor de cabeza ( $n = 16$ ), dolor causado por la intervención ( $n=14$ ), y síndrome por punción poslumbar ( $n = 13$ ). Siete pacientes experimentaron eventos adversos graves (EAG), 3 de los cuales fueron eventos fatales. No se informó ningún EAG en el grupo de dosis más alta (100 mg del Compuesto A). Seis sujetos tuvieron EAG que se evaluaron como no relacionados como el Compuesto A y se sintieron que se relacionan con la ELA o comorbilidades. Se evaluaron todos los eventos fatales como no relacionados. Un paciente tuvo un EAG de aumento de glóbulos blancos del CSF y aumento de proteínas del CSF que se evaluó que se relaciona con el Compuesto A. Esas anormalidades de laboratorio se resolvieron pese a la dosificación continuada del Compuesto A y el paciente terminó el estudio. No se informó ningún evento adverso grave en la dosis más alta probada, 100 mg.

### **Ejemplo 3: Farmacocinética y farmacodinámica**

Se observaron aumentos dependientes de la dosis en el Compuesto A (no se muestra) y concentraciones del CSF en las cohortes de MAD y SAD (no se muestra) (**Figura 2**). La concentración de plasma del Compuesto A fue proporcional a la dosis, se midió en los Días 1 y 85, mientras que la exposición del Compuesto A en el CSF mostró una respuesta proporcional a la dosis menor. Se observaron reducciones a partir del valor de referencia en concentraciones de SOD1 del CSF en el nivel de dosis múltiple de 40 mg y superior (es decir, 60 mg y 100 mg), lo cual aumentó con la cantidad de dosificación, con una reducción promedio máxima de 36 % en el grupo de dosis múltiples de 100 mg (**Figura 3**). Se observaron reducciones a partir del valor de referencia en el SOD1 del CSF en todos los participantes en el grupo de dosis de 100 mg. Se observó una reducción de SOD1 máxima en la última dosis o inmediatamente después de esta, lo que indica que la dosificación continua más allá de 5 dosis puede producir reducciones adicionales. El modelado que se basa en los datos preclínicos sugieren que 100 mg del Compuesto A reduce eficazmente los niveles de SOD1 en la médula espinal en  $> 99 \%$  y aproximadamente en 25-30 % en la corteza.

### **Ejemplo 4: Observaciones clínicas**

Se evaluó la eficacia en múltiples puntos de tiempo en varias escalas que incluyen la Escala de Clasificación Funcional de Esclerosis Lateral Amiotrófica - Revisada (ALFSFRS-R), la Capacidad Vital Lenta (SVC) y las escalas de Dinamometría Manual (HHD). En todas las cohortes, los grupos tratados con el Compuesto A tuvieron puntuaciones mayores, es decir, mejores, en comparación con los grupos tratados con placebo (**Figuras 4A a 4C**). El cambio promedio a partir del valor de referencia al Día 85 en puntuaciones ALSFRS-R para los participantes tratados con el Compuesto A en el grupo de dosis de 100 mg (N=10) fue de -1,1 frente a -5,6 para los participantes tratados con placebo (N=12); una diferencia de 4,4 puntos. En participantes con mutaciones de SOD1 que se sabe que evolucionan rápidamente, por ejemplo, A4V, se observó una diferencia marcada entre los participantes tratados con el Compuesto A en el grupo de dosis de 100 mg y los participantes tratados con placebo. En estos participantes con evolución rápida, la diferencia media en el cambio de ALSFRS-R a partir del valor de referencia al Día 85 se acercó a 10 puntos (**Figura 5**). El efecto del tratamiento pareció ser consistente en todas las escalas clínicas múltiples y reducción de SOD1 CSF en participantes con evolución rápida (**Figura 5**) y con evolución no rápida (**Figura 6**). Como marco de referencia, la diferencia de ALSFRS-R a los 6 meses fue de 2,5 puntos en el ensayo pivotal de edaravona en ELA.

Tomados en conjunto, el ensayo demostró que el Compuesto A es un tratamiento seguro y efectivo para sujetos con ELA SOD1. Esto se refuerza más fuertemente por medio de los resultados en los sujetos tratados con el Compuesto A con subtipos de mutación de evolución rápida (principalmente A4V), particularmente en el grupo de dosis de 100 mg, para quienes se esperaba el deterioro rápido en ausencia de un tratamiento eficaz. Como se indicó anteriormente, se evaluó la eficacia en múltiples puntos de tiempo en varias escalas que incluyen la Escala de Clasificación Funcional de Esclerosis Lateral Amiotrófica - Revisada (ALFSFRS-R), la Capacidad Vital Lenta (SVC) y las escalas de Dinamometría manual (HHD). Los resultados muestran un deterioro mucho más pequeño para cada uno de los 3 criterios de valoración de la función clínica en el grupo de dosis de 100 mg del Compuesto A en comparación con el grupo con placebo.

#### **Ejemplo 5: Niveles de cadena pesada de neurofilamentos fosforilados del CSF (pNFH)**

En pacientes con mutaciones SOD1 de evolución rápida, el tratamiento con el Compuesto A provocó una reducción en los niveles de pNFH del CSF y un enlentecimiento del deterioro clínico en comparación con el placebo. Se observó una diferencia mayor en los niveles de pNFH el día 85 entre los grupos con placebo y 100 mg del Compuesto A en pacientes con mutaciones SOD1 de evolución rápida (**Figura 7**), en comparación con los pacientes con otras mutaciones SOD1 (**Figura 8**).

#### Otras modalidades

Si bien la invención se describió junto con la descripción detallada de esta, se pretende que la descripción anterior ilustre y no limite el alcance de la invención, que se encuentra definido por el alcance de las reivindicaciones anexas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones que siguen.

1. Un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que lo necesita, la método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

2. Un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que lo necesita, la método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 60 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

3. Un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano

que lo necesita, la método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 40 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

4. Un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que lo necesita, la método comprende administrar al sujeto humano mediante administración intratecal una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 20 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

5. Un método para reducir la síntesis de proteínas de superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido

antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

6. Un método para reducir la síntesis de proteínas de superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 60 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

7. Un método para reducir la síntesis de proteínas de superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, tal método comprende administrar al sujeto humano mediante administración intratecal una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 40 mg de un oligonucleótido antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de

internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

5 8. Un método para reducir la síntesis de proteínas de superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, tal método comprende administrar al sujeto humano mediante administración intratecal una composición farmacéutica en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 20 mg de un oligonucleótido  
10 antisentido, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y 16-20 son nucleósidos modificados con 2'-O-metoxietilribosa, y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de  
15 internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

20 9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la mutación en el gen SOD1 es A4V.

10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la mutación en el gen SOD1 es A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A,  
25 V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88deltaTAD, A89T, V97M, S105deltaSL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R o G147R.

30 11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde la mutación en el gen SOD1 se identifica mediante una prueba genética.

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende identificar la mutación en el gen SOD1 mediante una prueba genética.

13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la composición farmacéutica se administra al sujeto humano al menos 5 veces en el transcurso de cuatro meses.

5

14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde al sujeto humano se le administran dosis de carga de la composición farmacéutica seguidas por dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica.

10

15. El método de la reivindicación 14, donde al sujeto humano se le administran tres dosis de carga, y donde las dosis de carga se administran con dos semanas de diferencia.

15

16. El método de la reivindicación 14, donde las dosis de mantenimiento se administran cada 4 semanas comenzando 4 semanas después de la tercera dosis de carga.

20

17. El método de la reivindicación 14, donde las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

(i) una primera dosis de carga de la composición farmacéutica;

(ii) una segunda dosis de carga de la composición farmacéutica se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

25

(iii) una tercera dosis de carga de la composición farmacéutica se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

(iv) una primera dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administra 28 días o 1 mes después de la tercera dosis de carga.

30

18. El método de la reivindicación 14, donde las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

(i) una primera dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido;

35

(ii) una segunda dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la segunda dosis de carga se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

(iii) una tercera dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la tercera dosis de carga se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

(iv) una primera dosis de mantenimiento en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la primera dosis de mantenimiento se administra 28 días después de la tercera dosis de carga.

19. El método de la reivindicación 14, donde las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

(i) una primera dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido;

(ii) una segunda dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la segunda dosis de carga se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

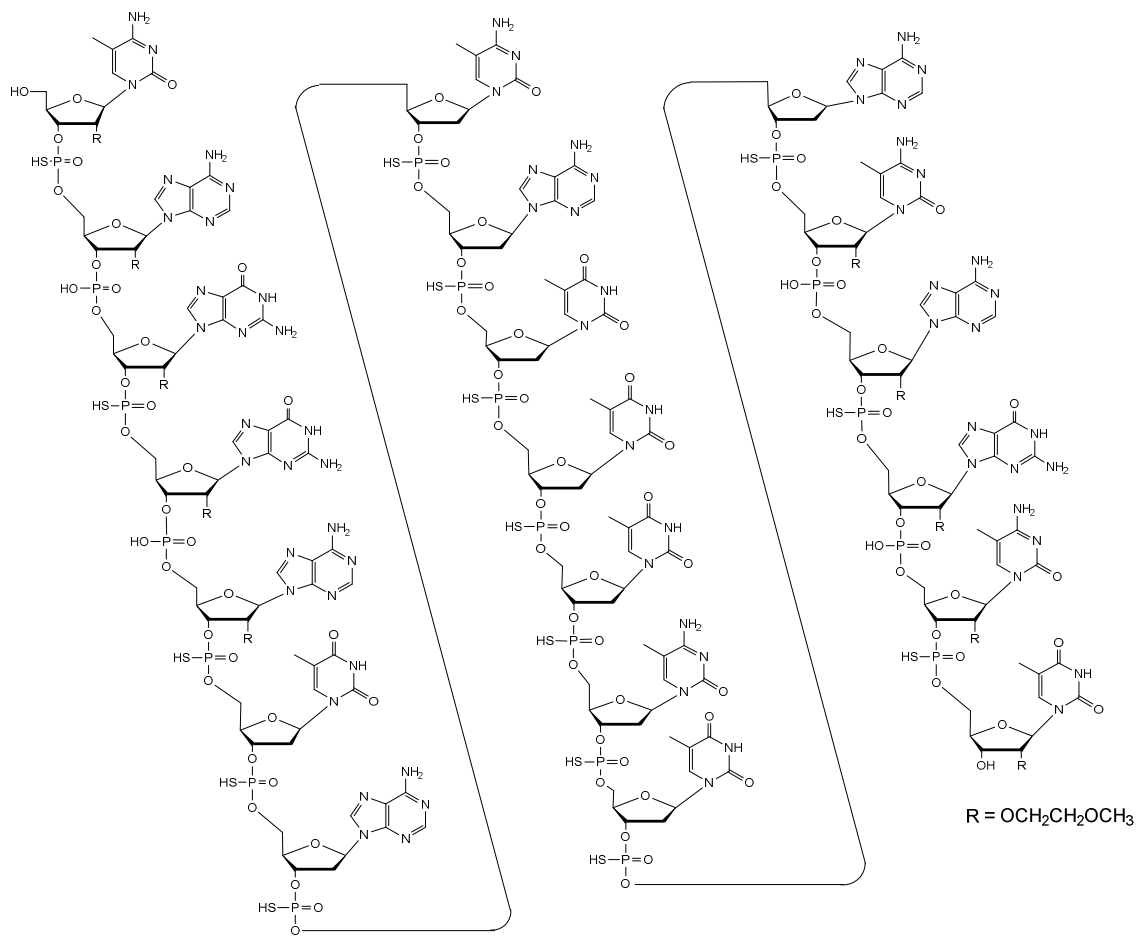
(iii) una tercera dosis de carga en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la tercera dosis de carga se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

(iv) una primera dosis de mantenimiento en una cantidad suficiente para suministrar una dosis fija de aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la primera dosis de mantenimiento se administra 1 día después de la tercera dosis de carga.

20. Una jeringa o bomba que comprende una preparación estéril de un oligonucleótido antisentido, donde la jeringa o bomba se adapta para la administración intratecal del oligonucleótido antisentido en una dosis fija de aproximadamente 20 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 60 mg o aproximadamente 100 mg, donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido antisentido consiste en CAGGATACATTCTACAGCT (SEQ ID NO:1), donde cada uno de los nucleósidos 1-5 y

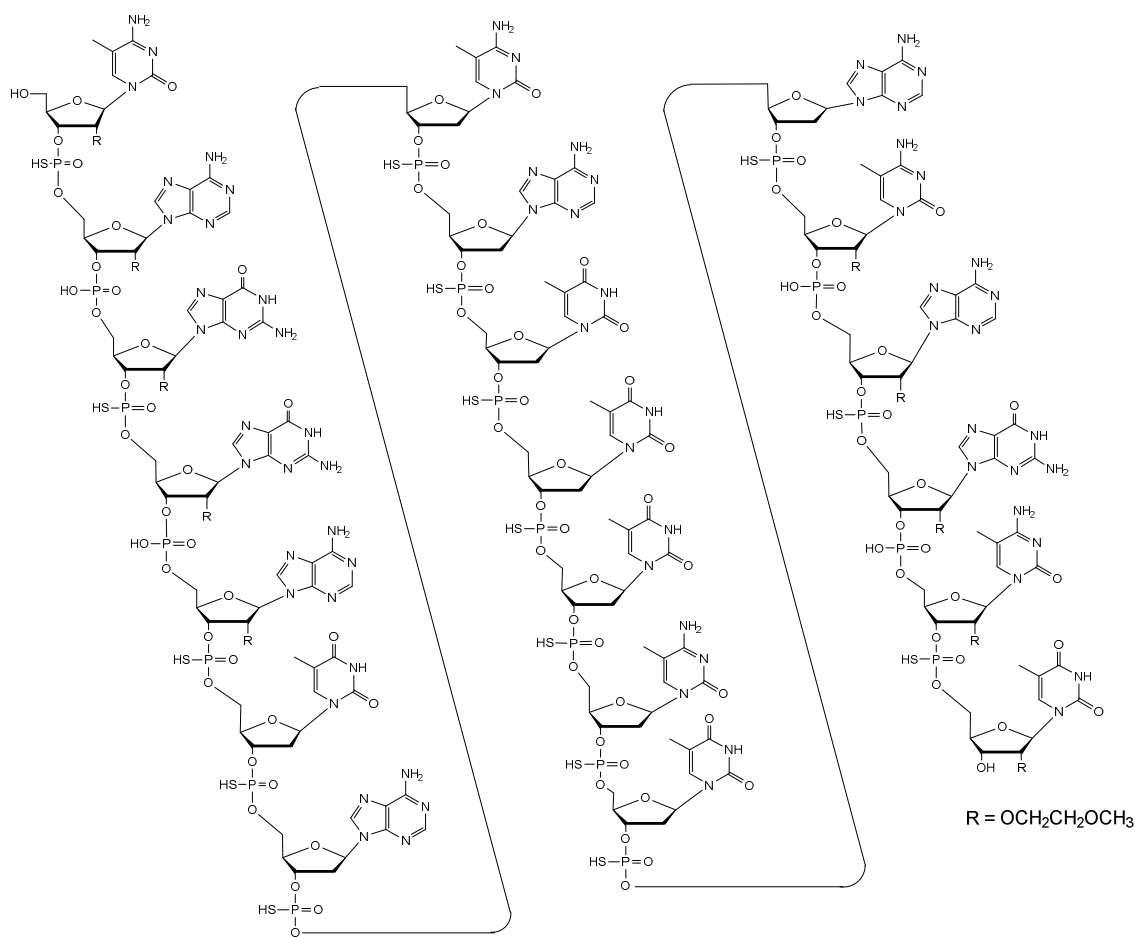
16-20 son nucleósidos modificados con la 2'-O-metoxietilribosa y cada uno de los nucleósidos 6-15 son 2'-desoxinucleósidos, donde los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 2 a 3, 4 a 5, 16 a 17 y 18 a 19 son enlaces de fosfodiéster y los enlaces de internucleósidos entre los nucleósidos 1 a 2, 3 a 4, 5 a 6, 6 a 7, 7 a 8, 8 a 9, 9 a 10, 10 a 11, 11 a 12, 12 a 13, 13 a 14, 14 a 15, 15 a 16, 17 a 18 y 19 a 20 son enlaces de fosforotioato y donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

21. Un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que lo necesita, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido.

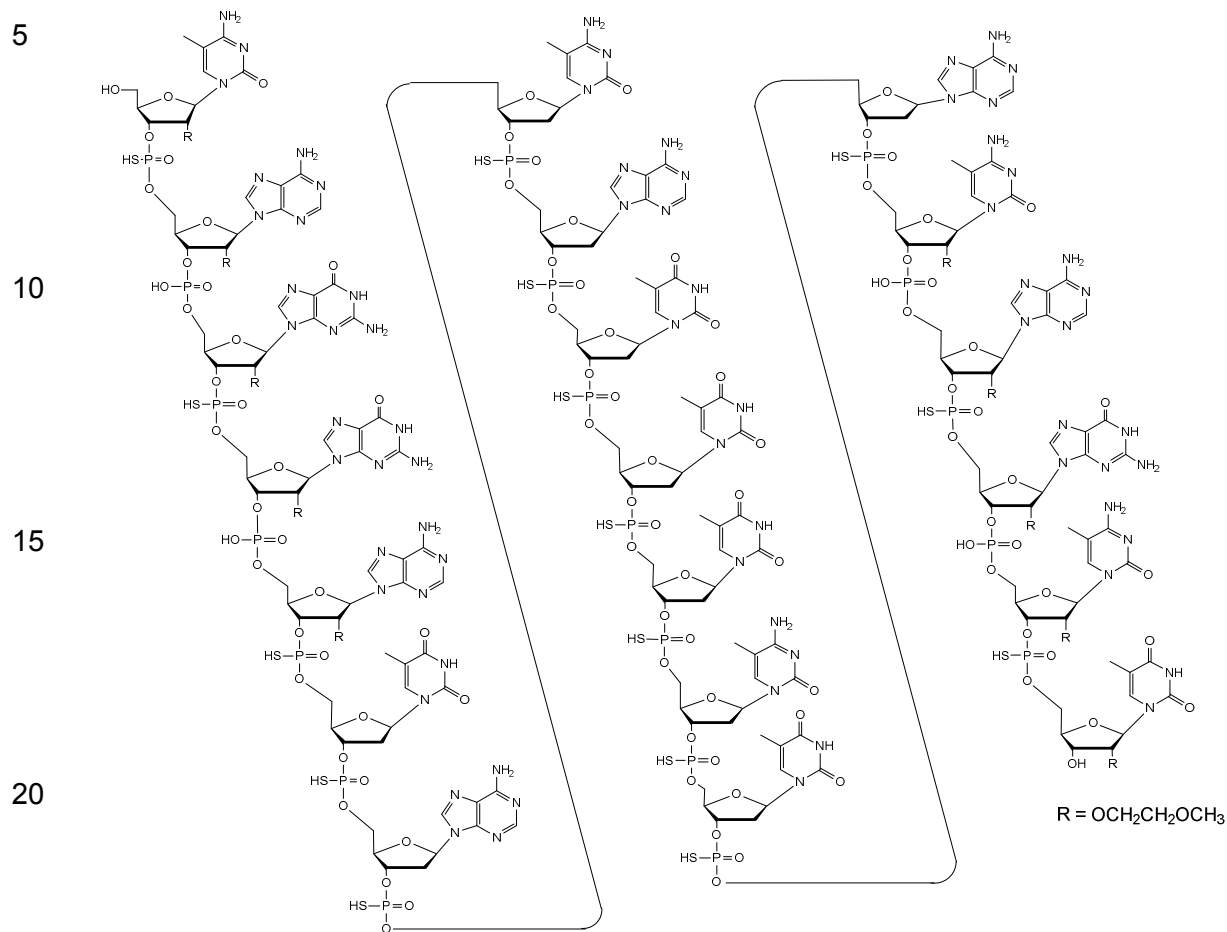
22. Un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que lo necesita, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 60 mg del oligonucleótido antisentido.

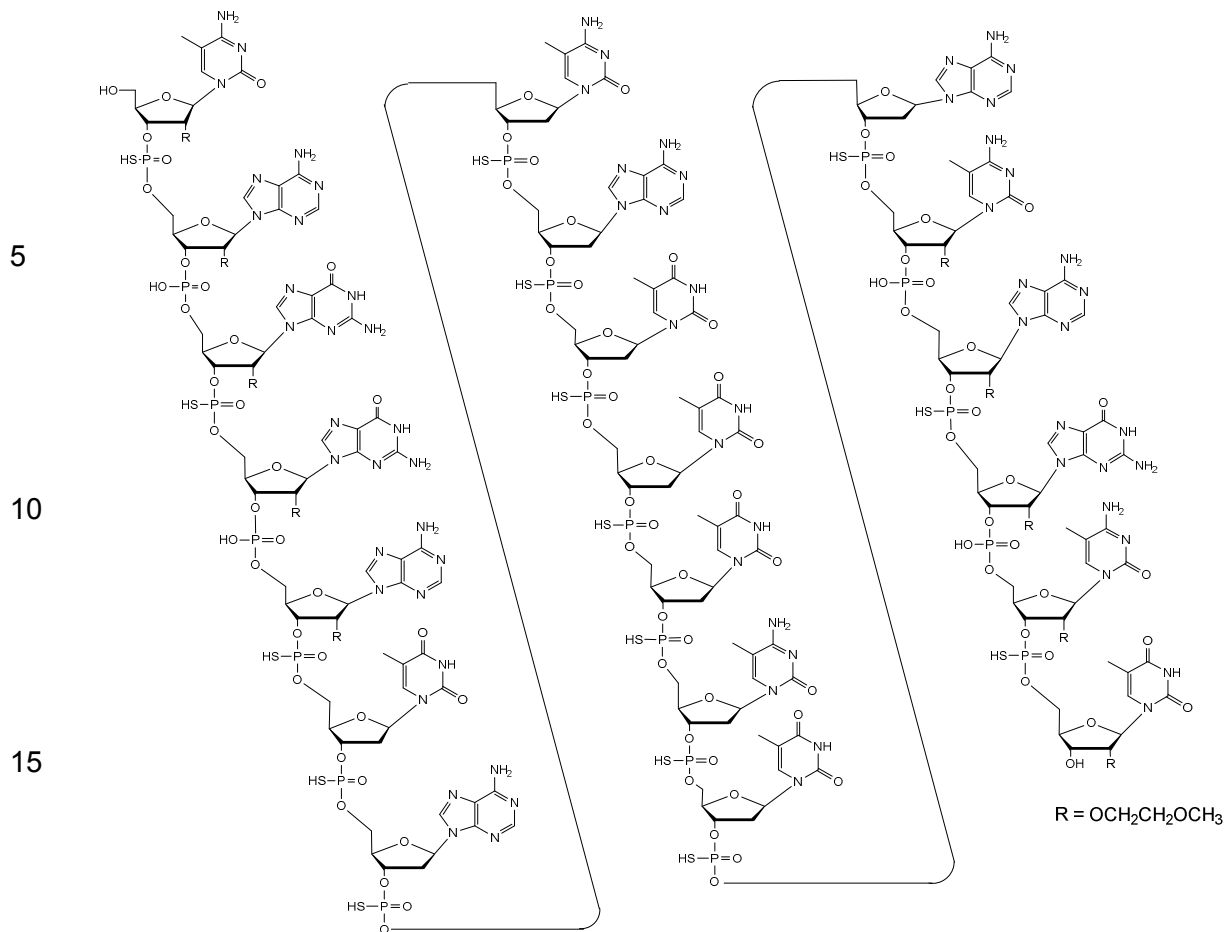
23. Un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano

que lo necesita, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



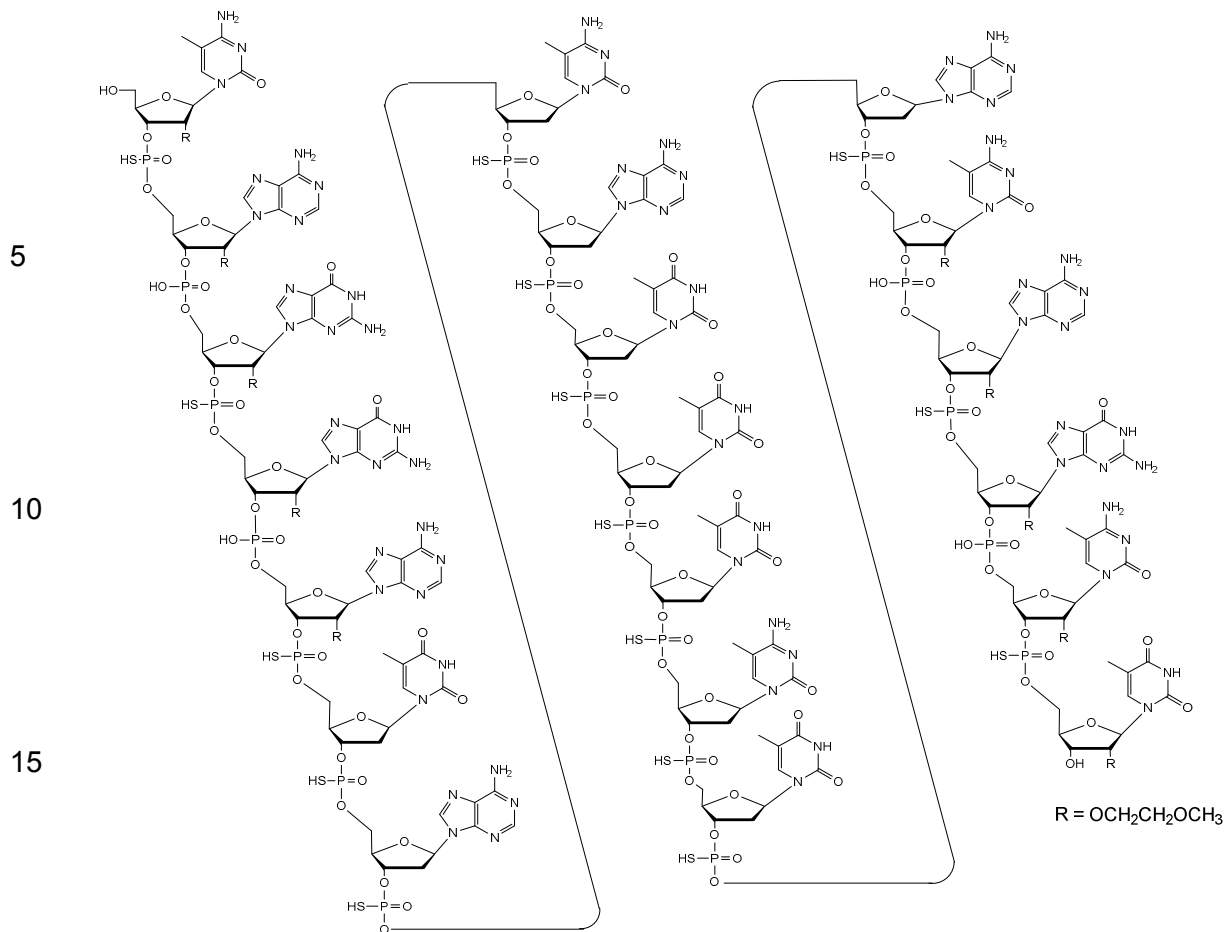
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 40 mg del oligonucleótido antisentido.

24. Un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica que se asocia con una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que lo necesita, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



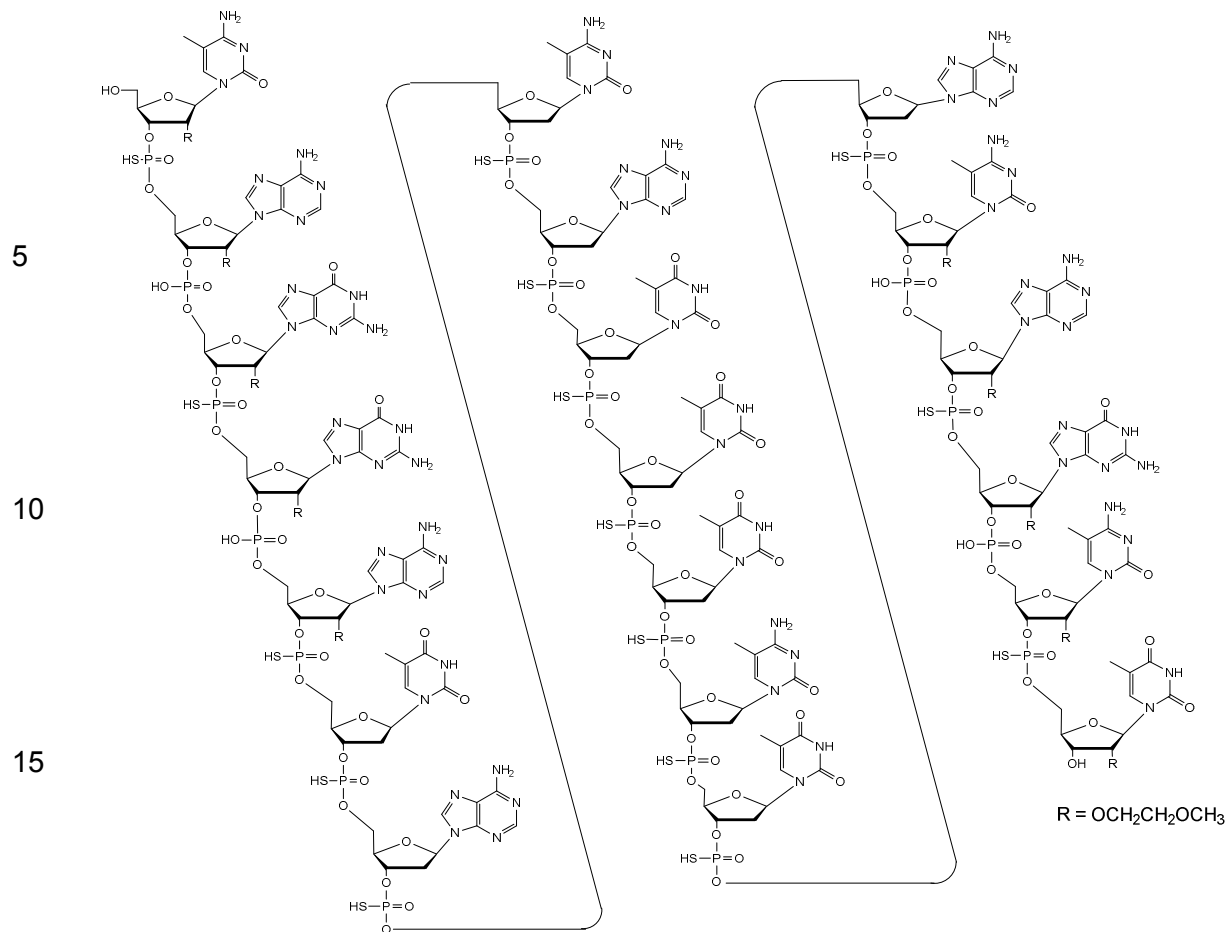
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 20 mg del oligonucleótido antisentido.

25. Un método para reducir la síntesis de proteínas de superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



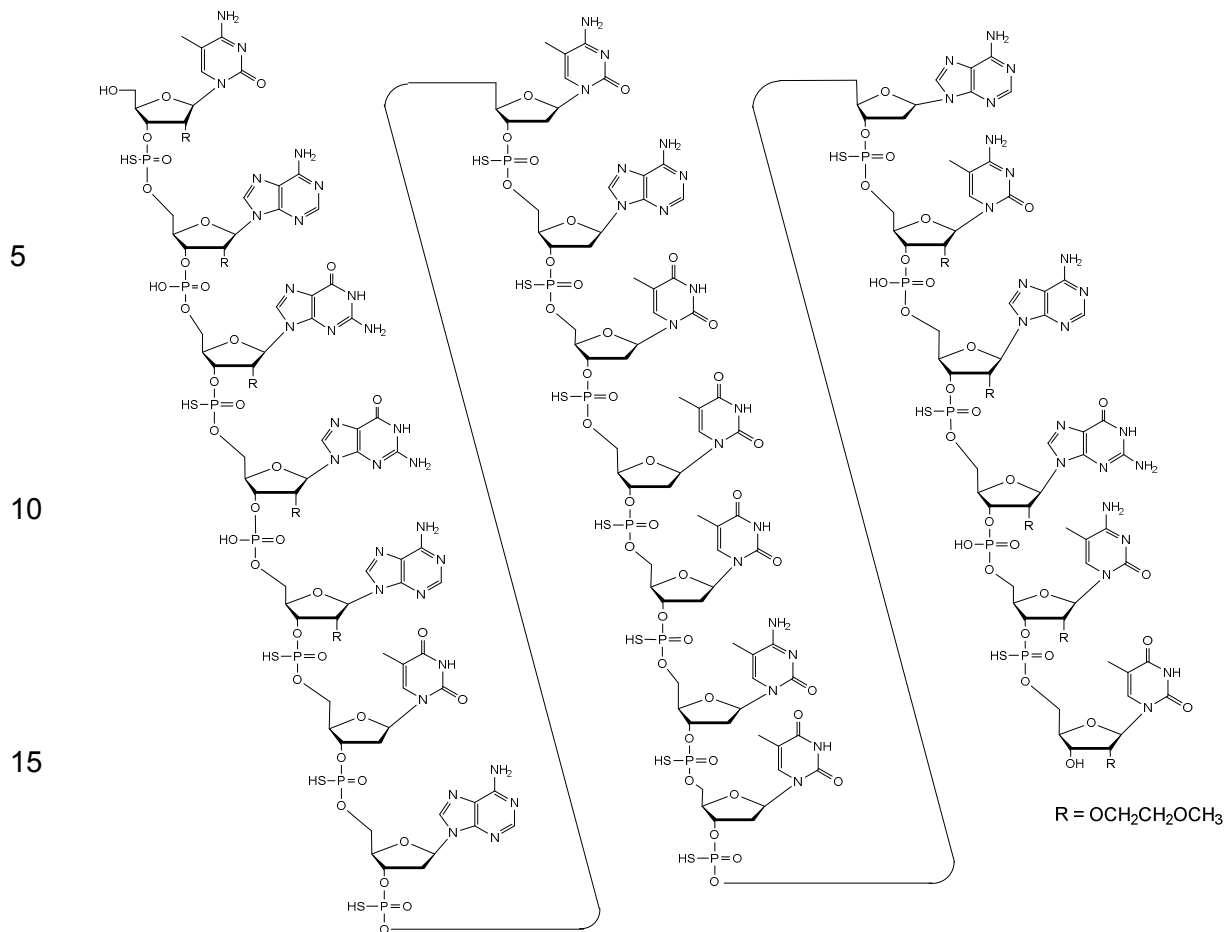
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido.

26. Un método para reducir la síntesis de proteínas de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



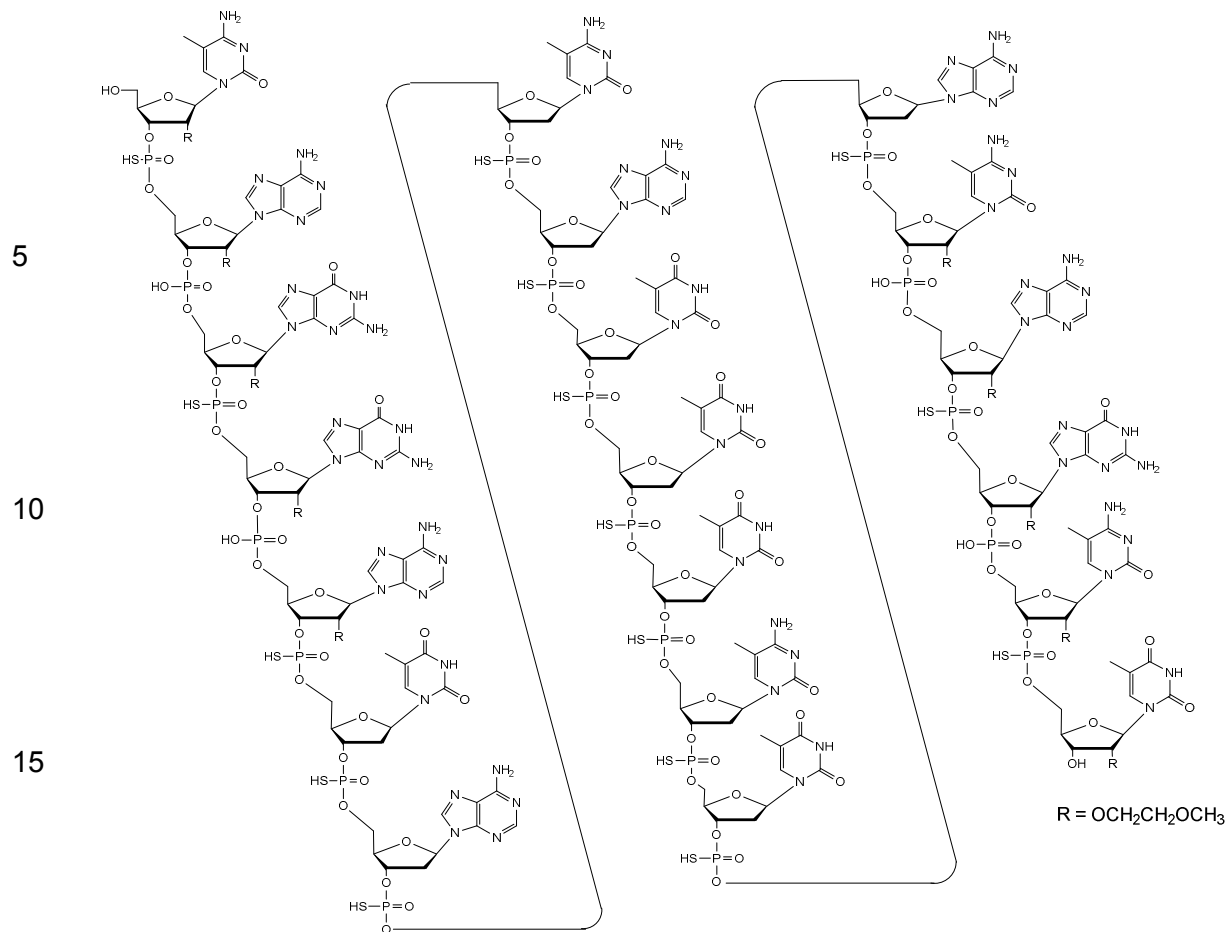
y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 60 mg del oligonucleótido antisentido.

27. Un método para reducir la síntesis de proteínas de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 40 mg del oligonucleótido antisentido.

28. Un método para reducir la síntesis de proteínas de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en un sujeto humano que tiene una mutación en el gen SOD1 humano que se asocia con la esclerosis lateral amiotrófica, tal método comprende administrar al sujeto humano, mediante administración intratecal, una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido antisentido o una sal de este, donde el oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



y donde el oligonucleótido antisentido o la sal de este se administra en una dosis equivalente a aproximadamente 20 mg del oligonucleótido antisentido.

29. El método de cualquiera de las reivindicaciones 21 a 28, donde la mutación en el gen SOD1 es A4V.

30. El método de cualquiera de las reivindicaciones 21 a 28, donde la mutación en el gen SOD1 es A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88deltaTAD, A89T, V97M, S105deltaSL, V118L, D124G, L114F, D90A, G12R o G147R.

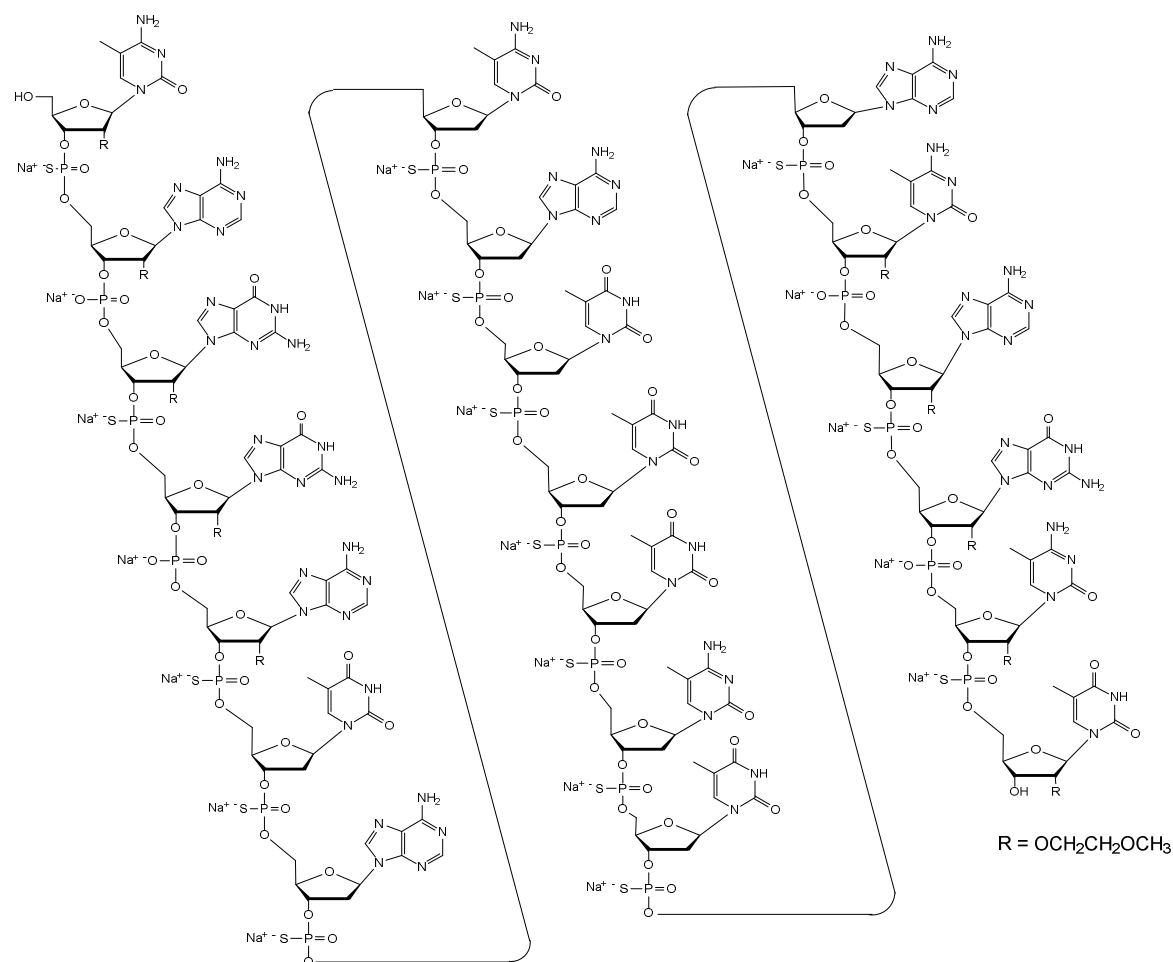
31. El método de cualquiera de las reivindicaciones 21 a 30, donde la mutación en el gen SOD1 se identifica mediante una prueba genética.

32. El método de cualquiera de las reivindicaciones 21 a 30, que comprende identificar la mutación en el gen SOD1 mediante una prueba genética.

33. El método de cualquiera de las reivindicaciones 21 a 32, donde al sujeto humano se le administra una sal del oligonucleótido antisentido.

34. El método de la reivindicación 33, donde la sal es sal de sodio.

35. El método de la reivindicación 33, donde la sal del oligonucleótido antisentido tiene la siguiente estructura:



36. El método de cualquiera de las reivindicaciones 21 a 35, donde al sujeto humano se le administran dosis de carga de la composición farmacéutica seguidas por dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica.

37. El método de la reivindicación 36, donde al sujeto humano se le administran tres dosis de carga, y donde las dosis de carga se administran con dos semanas de diferencia.

5           38. El método de la reivindicación 36, donde las dosis de mantenimiento se administran cada 4 semanas comenzando 4 semanas después de la tercera dosis de carga.

10           39. El método de la reivindicación 36, donde las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

          (i) una primera dosis de carga de la composición farmacéutica;

          (ii) una segunda dosis de carga de la composición farmacéutica se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

15           (iii) una tercera dosis de carga de la composición farmacéutica se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

          (iv) una primera dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administra 28 días o 1 mes después de la tercera dosis de carga.

20           40. El método de la reivindicación 36, donde las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

25           (i) una primera dosis de carga equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido;

          (ii) una segunda dosis de carga equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la segunda dosis de carga se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

30           (iii) una tercera dosis de carga equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la tercera dosis de carga se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

(iv) una primera dosis de mantenimiento equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la primera dosis de mantenimiento se administra 28 mes después de la tercera dosis de carga.

5           41. El método de la reivindicación 36, donde las dosis de carga y las dosis de mantenimiento de la composición farmacéutica se administran al sujeto humano de la siguiente manera:

          (i) una primera dosis de carga equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido;

10           (ii) una segunda dosis de carga equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la segunda dosis de carga se administra 14 días después de la primera dosis de carga;

          (iii) una tercera dosis de carga equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la tercera dosis de carga se administra 28 días después de la primera dosis de carga; y

15           (iv) una primera dosis de mantenimiento equivalente a aproximadamente 100 mg del oligonucleótido antisentido, donde la primera dosis de mantenimiento se administra 1 mes después de la tercera dosis de carga.

20

25

30

35

Resumen

Se proporcionan pautas posológicas para oligonucleótidos antisentido que se dirigen a SOD1 y sales de estos. Las pautas posológicas se utilizan en el tratamiento de sujetos que tienen o se encuentran en riesgo de desarrollar esclerosis lateral amiotrófica.

5

10

15

20

25

30

35