

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

Solicitud de patente N° NC2020/0009715

Enero de 2023

1. Un oligonucleótido antisentido que comprende una secuencia de nucleótidos contiguos de 10 a 30 nucleótidos de longitud que son complementarios a una secuencia de ácido nucleico dentro de un transcripto de alfa-sinucleína (SNCA), en donde la secuencia de ácido nucleico corresponde a los nucleótidos 7592-7637 de SEQ ID NO: 1, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOs: 4 a 14 y 16 a 21, y donde el oligonucleótido antisentido es un gapmer de flanqueo alterno.
2. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la secuencia de ácido nucleico corresponde a:
 - i) los nucleótidos 7602-7627 de SEQ ID NO: 1;
 - ii) los nucleótidos 7603-7620 de SEQ ID NO: 1; o
 - iii) los nucleótidos 7604 – 7620 de SEQ ID NO: 1.
3. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de la reivindicación 1 o 2, en donde el transcripto de SNCA comprende SEQ ID NO: 1.
4. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el oligonucleótido antisentido puede inhibir la expresión del transcripto de SNCA humano en una célula que expresa el transcripto de SNCA humano.
5. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos comprende un análogo de nucleótido, en donde el análogo de nucleótido comprende un nucleósido modificado con azúcar.
6. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende la Fórmula de 5'-A-B-C-3', en donde
 - (i) la región B es una secuencia contigua de 6 a 23 nucleótidos de ADN, que pueden reclutar RNasa;

(ii) la región A es una secuencia de la primera sección de 1 a 10 nucleótidos, en donde la secuencia de la primera sección comprende 1 a 10 nucleósidos modificados con azúcar y, opcionalmente 1 a 9 nucleótidos de ADN, y en donde uno de los nucleósidos modificados con azúcar se ubica en el extremo 3' de A; y

(iii) la región C es una secuencia de la segunda sección de 1 a 10 nucleótidos, en donde la secuencia de la segunda sección comprende 1 a 10 nucleósidos modificados con azúcar y, opcionalmente 1 a 9 nucleótidos de ADN, y en donde uno de los nucleósidos modificados con azúcar se ubica en el extremo 5' de C.

7. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la reivindicación 6, en donde:

- a) la región A comprende (i) 1-10 nucleósidos modificados con azúcar y 0 nucleótidos de ADN; (ii) 1-9 nucleósidos modificados con azúcar y 1 nucleótido de ADN; (iii) 1-8 nucleósidos modificados con azúcar y 1-2 nucleótidos de ADN; (iv) 1-7 nucleósidos modificados con azúcar y 1-3 nucleótidos de ADN; (v) 1-6 nucleósidos modificados con azúcar y 1-4 nucleótidos de ADN; (vi) 1-5 nucleósidos modificados con azúcar y 1-5 nucleótidos de ADN; (vii) 1-4 nucleósidos modificados con azúcar y 1-6 nucleótidos de ADN; (viii) 1-3 nucleósidos modificados con azúcar y 1-7 nucleótidos de ADN; (ix) 1-2 nucleósidos modificados con azúcar y 1-8 nucleótidos de ADN; y (x) 1 nucleósido modificado con azúcar y 1-9 nucleótidos de ADN; y/o
- b) la región C comprende (i) 1-10 nucleósidos modificados con azúcar y 0 nucleótidos de ADN; (ii) 1-9 nucleósidos modificados con azúcar y 1 nucleótido de ADN; (iii) 1-8 nucleósidos modificados con azúcar y 1-2 nucleótidos de ADN; (iv) 1-7 nucleósidos modificados con azúcar y 1-3 nucleótidos de ADN; (v) 1-6 nucleósidos modificados con azúcar y 1-4 nucleótidos de ADN; (vi) 1-5 nucleósidos modificados con azúcar y 1-5 nucleótidos de ADN; (vii) 1-4 nucleósidos modificados con azúcar y 1-6 nucleótidos de ADN; (viii) 1-3 nucleósidos modificados con azúcar y 1-7 nucleótidos de ADN; (ix) 1-2 nucleósidos modificados con azúcar y 1-8 nucleótidos de ADN; y (x) 1 nucleósido modificado con azúcar y 1-9 nucleótidos de ADN.

8. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez nucleósidos modificados con azúcar.

9. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde

- (i) los nucleósidos modificados con azúcar son seleccionados del grupo que consiste en ácido nucleico bloqueado (LNA); 2'-O-alkil-ARN; 2'-amino-ADN; 2'-fluoro-ADN; ácido arabino-nucleico (ANA); 2'-fluoro-ANA, ácido hexitol-nucleico (HNA), ácido nucleico intercalado (INA), nucleósido de etilo restringido (cEt), ácido nucleico de 2'-O-metilo (2'-OMe), ácido nucleico de 2'-O-metoxietilo (2'-MOE) y cualquier combinación de estos; o
- (ii) los nucleósidos modificados con azúcar comprenden un azúcar bicíclico.

10. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el azúcar bicíclico comprende cEt, 2'-O-metoxietilo restringido en 2',4' (cMOE), LNA, α -L-LNA, β -D-LNA, ácidos nucleicos unidos con puentes de 2'-O,4'-C-etileno (ENA), amino-LNA, oxi-LNA o tio-LNA.

11. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10, el cual comprende un nucleobase de 5 metil cistósina.

12. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la reivindicación 9, que comprende:

- (i) dos a cinco LNA en la región 5' del oligonucleótido antisentido; o
- (ii) dos a cinco LNA en la región 3' del oligonucleótido antisentido.

13. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos comprende una secuencia establecida en SEQ ID NO: 7 con un diseño seleccionado del grupo que consiste en DES-002755, DES-005559, DES-005560, DES-005561, DES-005562, DES-005563, DES-005564, DES-005565, DES-005566, DES-005567, DES-005568, DES-005569, DES-005570, DES-005571, DES-005572, DES-005573, DES-005574, DES-005575, DES-005576, DES-005577, DES-005578, DES-005579, DES-005580, DES-005581, DES-005582, DES-005583, DES-005584, DES-005585, DES-005586, DES-005587, DES-005588, DES-005589, DES-005590, DES-005591, DES-005592, DES-005593, DES-005594, DES-005595, DES-005597, DES-005598, DES-005599, DES-005600, DES-005601, DES-005602, DES-005603, DES-005604, DES-005605, DES-005606, DES-005607, DES-005608, DES-005609, DES-005610, DES-005611, DES-005612, DES-005613, DES-005614, DES-005615, DES-005616, DES-005617, DES-005618, DES-005619, DES-005620, DES-005621, DES-005622, DES-005623, DES-005624, DES-005625, DES-005731, DES-005732, DES-005733, DES-005734, DES-005735, DES-005736, DES-005737, DES-005738, DES-005739, DES-005740, DES-005741, DES-005742, DES-005743, DES-005744,

DES-005745, DES-005746, DES-005747, DES-005748, DES-316392, DES-316393, DES-316394, y DES-316395, en donde la letra mayúscula es un nucleósido modificado con azúcar y la letra minúscula es ADN.

14. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde:

- (i) el oligonucleótido antisentido reduce la expresión de mRNA de *SNCA* en una célula alrededor de 20 %, alrededor de 30 %, alrededor de 40 %, alrededor de 50 %, alrededor de 60 %, alrededor de 70 %, alrededor de 80 %, alrededor de 90 % o alrededor de 100 % en comparación con una célula no expuesta al oligonucleótido antisentido; y/o
- (ii) el oligonucleótido antisentido reduce la expresión de la proteína *SNCA* en una célula alrededor de 60 %, alrededor de 70 %, alrededor de 80 %, alrededor de 90 % o alrededor de 95 % en comparación con una célula no expuesta al oligonucleótido antisentido.

15. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el ASO comprende una fórmula molecular de $C_{182}H_{229}N_{58}O_{96}P_{17}S_{17}$.

16. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, que comprende un enlace internucleósido seleccionado de: un enlace de fosfodiéster, un enlace de fosfotriéster, un enlace de metilfosfonato, un enlace de fosforamidato, un enlace de fosforotioato y combinaciones de estos.

17. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el enlace internucleósido comprende un enlace de fosfato modificado estereodefinido.

18. Un conjugado que comprende el oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en donde el oligonucleótido antisentido se une de manera covalente a una porción no nucleótido o no polinucleótido.

19. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la porción no nucleótido o no polinucleótido comprende una proteína, una cadena de ácidos grasos, un residuo de azúcar, una glucoproteína, un polímero o cualquier combinación de estos.

20. Una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, o el conjugado de acuerdo con las reivindicaciones 18 o 19, y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.
21. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 20, que también comprende un agente terapéutico.
22. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 21, en donde el agente terapéutico es un antagonista de alfa-sinucleína.
23. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 22, en donde el antagonista de alfa-sinucleína es un anticuerpo anti-alfa-sinucleína o un fragmento de este.
24. Un kit que comprende el oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, o el conjugado de acuerdo con las reivindicaciones 18 o 19, o la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23.
25. Un método para inhibir o reducir la expresión de mRNA de SNCA o la expresión de la proteína SNCA en una célula *in vitro*, en donde el método comprende contactar la célula que expresa mRNA de SNCA o proteína SNCA *in vitro* con el oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, o el conjugado de acuerdo con las reivindicaciones 18 o 19, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en donde la expresión de la proteína SNCA en la célula se inhibe o se reduce después del contacto.
26. El método de acuerdo con la reivindicación 25, en donde:
- (i) la expresión de mRNA de SNCA se reduce alrededor de 20 %, alrededor de 30 %, alrededor de 40 %, alrededor de 50 %, alrededor de 60 %, alrededor de 70 %, alrededor de 80 %, alrededor de 90 % o alrededor de 100 % después del contacto en comparación con una célula no expuesta al oligonucleótido antisentido; y/o
 - (ii) la expresión de la proteína SNCA se reduce alrededor de 60 %, alrededor de 70 %, alrededor de 80 % o alrededor de 90 % después del contacto en comparación con una célula no expuesta al oligonucleótido antisentido.

27. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25 o 26, en donde la célula es una neurona.