

(12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 67580 B1** (51) Cl. internationale : **C12N 15/113**

(43) Date de publication :
30.09.2024

(21) N° Dépôt :
67580

(22) Date de Dépôt :
11.11.2016

(30) Données de Priorité :
12.11.2015 EP 20150194367

(71) Demandeur(s) :
F. Hoffmann-La Roche AG, Grenzacherstrasse 124 4070 Basel (CH)

(72) Inventeur(s) :
HEDTJÄRN, Maj ; COSTA, Veronica ; HOENER, Marius ; JAGASIA, Ravi ; JENSEN, Mads Aaboe ; PEDERSEN, Lykke ; RASMUSSEN, Søren Vestergaard ; PATSCH, Christoph

(74) Mandataire :
ATLAS INTELLECTUAL PROPERTY

(86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation :23152543.7

(54) Titre : **OLIGONUCLÉOTIDES POUR INDUIRE L'EXPRESSION DE PATERNAL UBE3A**

(57) Abrégé : La présente invention concerne des oligonucléotides capables d'induire l'expression de l'ubiquitine-protéine ligase E3A (UBE3A) à partir de l'allèle paternel dans les neurones animaux ou humains. Les oligonucléotides ciblent le suppresseur de l'allèle paternel UBE3A par hybridation à l'ARN non codant long SNHG14 en aval de SNORD109B. La présente invention concerne en outre des compositions pharmaceutiques et des méthodes de traitement du syndrome d'Angelman.

Revendications

1. Oligonucléotide antisens pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du syndrome d'Angelman chez un sujet, dans lequel l'oligonucléotide antisens comprend une séquence nucléotidique contiguë de 10 à 30 nucléotides de longueur avec une complémentarité de 100 % par rapport à la position 25278410 à 25419462 sur le chromosome humain 15 (SEQ ID NO:1), dans lequel l'oligonucléotide antisens est capable d'induire l'expression du UBE3A paternel humain.

2. Conjugué pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du syndrome d'Angelman chez un sujet, le conjugué comprenant un oligonucléotide antisens et au moins un groupement conjugué lié de manière covalente à l'oligonucléotide, dans lequel l'oligonucléotide antisens comprend une séquence nucléotidique contiguë de 10 à 30 nucléotides de longueur avec 100 % de complémentarité par rapport à la position 25278410 à 25419462 sur le chromosome humain 15 (SEQ ID NO:1), dans lequel l'oligonucléotide antisens est capable d'induire l'expression du UBE3A paternel humain.

3. Composition pharmaceutique pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du syndrome d'Angelman chez un sujet, la composition pharmaceutique comprenant

(a) un oligonucléotide antisens comprenant une séquence nucléotidique contiguë de 10 à 30 nucléotides de longueur avec une complémentarité de 100 % par rapport à la position 25278410 à 25419462 sur le chromosome humain 15 (SEQ ID NO:1), dans laquelle l'oligonucléotide antisens est capable d'induire l'expression du UBE3A paternel humain ; ou

(b) un conjugué comprenant l'oligonucléotide antisens de (a) et au moins un groupement conjugué lié de manière covalente à l'oligonucléotide ; et un diluant, solvant, support, sel et/ou adjuvant acceptable sur le plan pharmaceutique.

4. Procédé *in vitro* pour induire l'expression du UBE3A dans une cellule cible où l'expression du UBE3A paternel est supprimée, ledit procédé comprenant l'administration en une quantité efficace à ladite cellule

(a) d'un oligonucléotide antisens comprenant une séquence nucléotidique contiguë de 10 à 30 nucléotides de longueur avec une complémentarité de 100 % par rapport à la position 25278410 à 25419462 sur le chromosome humain 15 (SEQ ID NO:1), dans lequel l'oligonucléotide antisens est capable d'induire l'expression du UBE3A paternel humain ; ou

(b) d'un conjugué comprenant l'oligonucléotide antisens de (a) et au moins un groupement conjugué lié de manière covalente à l'oligonucléotide ; ou

(c) d'une composition pharmaceutique comprenant l'oligonucléotide antisens de (a) ou le conjugué de (b), et un diluant, solvant, support, sel et/ou adjuvant acceptable sur le plan pharmaceutique.

5. Oligonucléotide pour une utilisation selon la revendication 1, conjugué pour une utilisation selon la revendication 2, composition pharmaceutique pour une utilisation selon la revendication 3, ou procédé selon la revendication 4, dans lequel/laquelle la séquence nucléotidique contiguë est complémentaire à une région de l'acide nucléique cible de SEQ ID NO: 1.

6. Oligonucléotide pour une utilisation selon la revendication 1 ou la revendication 5, conjugué pour une utilisation selon la revendication 2 ou la revendication 5, composition pharmaceutique pour une utilisation selon la revendication 3 ou la revendication 5, ou procédé selon la revendication 4 ou la revendication 5, dans lequel/laquelle la séquence nucléotidique contiguë est 100 % complémentaire à une région de l'acide nucléique cible de la position 1 à 55318 de SEQ ID NO : 1.

7. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1, 5 et 6, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2, 5 et 6, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3, 5 et 6, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, dans lequel/laquelle la séquence nucléotidique contiguë est complémentaire à une sous-séquence de l'acide nucléique cible, dans lequel/laquelle la sous-séquence est sélectionnée dans le groupe constitué par les régions indiquées dans le tableau 1 ou 2.

8. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 5 à 7, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 et 5 à 7, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 7, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 7, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide comprend ou est constitué de 17 à 22 nucléotides de longueur ou de 15 à 20 nucléotides de longueur.

9. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 5 à 8, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 et 5 à 8, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 8, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 8, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide est constitué de 20 nucléotides de longueur.

10. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 5 à 9, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 et 5 à 9, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 9, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 9, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide comprend un ou plusieurs nucléosides modifiés.

11. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 5 à 10, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 et 5 à 10, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 10, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 10, dans lequel/laquelle la 5-méthyl-cytosine est utilisée à la place de la cytosine dans l'oligonucléotide.

12. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation, ou procédé selon la revendication 10 ou la revendication 11, dans lequel/laquelle le ou les nucléosides modifiés sont un nucléoside à sucre modifié en 2'.

13. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation ou procédé selon la revendication 12, dans lequel/laquelle le ou les nucléosides à sucre modifié en 2' sont sélectionnés indépendamment dans le groupe constitué par des nucléosides 2'-O-alkyl-ARN, 2'-O-méthyl-ARN, 2'-alcoxy-ARN, 2'-O-méthoxyéthyl-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, acide arabino nucléique (ANA), 2'-fluoro-ANA et LNA.

14. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation ou procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 13, dans lequel/laquelle le ou les nucléosides modifiés sont un nucléoside 2'-O-méthoxyéthyl-ARN.

15. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 5 à 14, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 et 5 à 14, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 14, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 14, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide comprend au moins une liaison internucléosidique modifiée.

16. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation ou procédé selon la revendication 15, dans lequel/laquelle la liaison internucléosidique modifiée est une liaison internucléosidique phosphorothioate.

17. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation, ou procédé selon la revendication 16, dans lequel/laquelle au moins 60 % des liaisons internucléosides dans l'oligonucléotide sont des liaisons internucléosides phosphorothioate.

18. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 5 à 17, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 et 5 à 17, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 17, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 17, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide est capable de recruter la RNase H.

19. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation ou procédé selon la revendication 18, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide est un gapmère.

20. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation, ou procédé selon la revendication 18 ou la revendication 19, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide est un gapmère de formule 5'-F-G-F'-3', où les régions F et F' comprennent indépendamment 1 à 7 nucléosides modifiés et G est une région comprise entre 6 et 16 nucléosides qui sont capables de recruter la RNaseH.

21. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation ou procédé selon la revendication 20, dans lequel/laquelle les nucléosides modifiés sont des nucléosides à sucre modifié en 2', sélectionnés indépendamment dans le groupe constitué par des nucléosides 2'-O-alkyl-ARN, 2'-O-méthyl-ARN, 2'-alcoxy-ARN, 2'-O-méthoxyéthyl-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, acide arabino nucléique (ANA), 2'-fluoro-ANA et LNA.

22. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 5 à 21, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 et 5 à 21, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 21, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 21, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide est un gapmère de la formule F-G-F' dans lequel chacune des régions F et F' est constituée indépendamment de 2, 3, 4 ou 5 unités nucléosides modifiées et la région G est constituée de 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou 15 unités nucléosides.

23. Oligonucléotide pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 5 à 20, conjugué pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 et 5 à 22, composition pharmaceutique pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 22, ou procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 22, dans lequel/laquelle l'oligonucléotide est un gapmère de la formule F-G-F' dans lequel chacune des régions F et F' est constituée indépendamment de 2, 3, 4 ou 5 unités à sucre 2'-O-méthoxyéthyl-ribose (2'-MOE), et la région G est constituée de 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou 15 unités d'ADN.

24. Oligonucléotide pour une utilisation, conjugué pour une utilisation, composition pharmaceutique pour une utilisation ou procédé selon l'une quelconque des revendications 20 à 23, dans lequel/laquelle chacune des régions F et F' est constituée indépendamment de 5 unités nucléosides à sucre 2'-O-méthoxyéthyl-ribose (2'-MOE) et la région G est constituée de 10 unités nucléosides d'ADN.

25. Oligonucléotide antisens capable d'induire l'expression du UBE3A paternel humain pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du syndrome d'Angelman chez un sujet, dans lequel ledit oligonucléotide antisens comprend une séquence nucléotidique contiguë qui est 100 % complémentaire à une région de l'acide nucléique cible de la position 1 à 55318 de SEQ ID NO : 1, dans lequel l'oligonucléotide est soit de 15 à 20 nucléotides de longueur, soit de 17 à 22 nucléotides de longueur, dans lequel l'oligonucléotide comprend un ou plusieurs nucléosides modifiés, dans lequel le ou les nucléotides modifiés sont un nucléoside à sucre modifié en 2', dans lequel le ou les nucléosides à sucre modifié en 2' sont sélectionnés indépendamment dans le groupe constitué par des nucléosides 2'-O-alkyl-ARN, 2'-O-méthyl-ARN, 2'-alcoxy-ARN, 2'-O-méthoxyéthyl-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, acide arabino nucléique (ANA), 2'-fluoro-ANA et LNA, dans lequel l'oligonucléotide comprend au moins une liaison internucléosidique modifiée, dans lequel ladite liaison internucléosidique modifiée est une liaison phosphorothioate, dans lequel l'oligonucléotide est un gapmère de la formule F-G-F', dans lequel chacune des régions F et F' est constituée indépendamment de 2, 3, 4 ou 5 unités nucléosides modifiées et la région G est constituée de 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou 15 unités nucléosides.

26. Conjugué pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du syndrome d'Angelman chez un sujet, conjugué comprenant un oligonucléotide antisens et au moins un groupement conjugué lié de manière covalente à l'oligonucléotide, dans lequel l'oligonucléotide antisens comprend une séquence nucléotidique contiguë qui est 100 % complémentaire à une région de l'acide nucléique cible de la position 1 à 55318 de SEQ ID NO : 1, dans lequel l'oligonucléotide est soit de 15 à 20 nucléotides de longueur, soit de 17 à 22 nucléotides de longueur, dans lequel l'oligonucléotide comprend un ou plusieurs nucléosides modifiés, dans lequel le ou les nucléotides modifiés sont un nucléoside à sucre modifié en 2', dans lequel le ou les nucléosides à sucre modifié en 2' sont sélectionnés indépendamment dans le groupe constitué par des nucléosides 2'-O-alkyl-ARN, 2'-O-méthyl-ARN, 2'-alcoxy-ARN, 2'-O-méthoxyéthyl-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, acide arabino nucléique (ANA), 2'-fluoro-ANA et LNA, dans lequel l'oligonucléotide comprend au moins une liaison internucléosidique modifiée, dans lequel ladite liaison internucléosidique modifiée est une liaison phosphorothioate, dans lequel l'oligonucléotide est un gapmère de la formule F-G-F', dans lequel chacune des régions F et F' est constituée indépendamment de 2, 3, 4 ou 5 unités nucléosides modifiées et la région G est constituée de 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou 15 unités nucléosides.

27. Composition pharmaceutique dans le traitement ou la prévention du syndrome d'Angelman chez un sujet, la composition pharmaceutique comprenant

(i) un oligonucléotide antisens comprenant une séquence nucléotidique contiguë qui est 100 % complémentaire à une région de l'acide nucléique cible de la position 1 à 55318 de SEQ ID NO: 1, dans laquelle l'oligonucléotide est soit de 15 à 20 nucléotides de longueur, soit de 17 à 22 nucléotides de longueur, dans laquelle l'oligonucléotide comprend un ou plusieurs nucléosides modifiés, dans laquelle le ou les nucléotides modifiés sont un nucléoside à sucre modifié en 2', dans laquelle le ou les nucléosides à sucre modifié en 2' sont sélectionnés indépendamment dans le groupe constitué par des nucléosides 2'-O-alkyl-ARN, 2'-O-méthyl-ARN, 2'-alcoxy-ARN, 2'-O-méthoxyéthyl-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, acide arabino nucléique (ANA), 2'-fluoro-ANA et LNA, dans laquelle l'oligonucléotide comprend au moins une liaison internucléosidique modifiée, dans laquelle ladite liaison internucléosidique modifiée est une liaison phosphorothioate, dans laquelle l'oligonucléotide est un gapmère de la formule F-G-F', dans laquelle chacune des régions F et F' est constituée indépendamment de 2, 3, 4 ou 5 unités nucléosides modifiées et la région G est constituée de 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou 15 unités nucléosides ; ou

(ii) un conjugué comprenant l'oligonucléotide antisens de (i) et au moins un groupement conjugué lié de manière covalente à l'oligonucléotide ;

et un diluant, solvant, support, sel et/ou adjuvant acceptable sur le plan pharmaceutique.

28. Procédé *in vitro* pour induire l'expression du UBE3A dans une cellule cible où l'expression du UBE3A paternel est supprimée, ledit procédé comprenant l'administration en une quantité efficace à ladite cellule

(i) d'un oligonucléotide antisens comprenant une séquence nucléotidique contiguë qui est 100 % complémentaire à une région de l'acide nucléique cible de la position 1 à 55318 de SEQ ID NO: 1, dans lequel l'oligonucléotide est soit

de 15 à 20 nucléotides de longueur, soit de 17 à 22 nucléotides de longueur, dans lequel l'oligonucléotide comprend un ou plusieurs nucléosides modifiés, dans lequel le ou les nucléotides modifiés sont un nucléoside à sucre modifié en 2', dans lequel le ou les nucléosides à sucre modifié en 2' sont sélectionnés indépendamment dans le groupe constitué par des nucléosides 2'-O-alkyl-ARN, 2'-O-méthyl-ARN, 2'-alcoxy-ARN, 2'-O-méthoxyéthyl-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, acide arabino nucléique (ANA), 2'-fluoro-ANA et LNA, dans lequel l'oligonucléotide comprend au moins une liaison internucléosidique modifiée, dans lequel ladite liaison internucléosidique modifiée est une liaison phosphorothioate, dans lequel l'oligonucléotide est un gapmère de la formule F-G-F', dans lequel chacune des régions F et F' est constituée indépendamment de 2, 3, 4 ou 5 unités nucléosides modifiées et la région G est constituée de 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou 15 unités nucléosides ; ou

(ii) d'un conjugué comprenant l'oligonucléotide antisens de (i) et au moins un groupement conjugué lié de manière covalente à l'oligonucléotide ; ou

(iii) d'une composition pharmaceutique comprenant l'oligonucléotide antisens de (i) ou le conjugué de (ii), et un diluant, solvant, support, sel et/ou adjuvant acceptable sur le plan pharmaceutique.

29. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 24 et 28, dans lequel l'expression du UBE3A est augmentée d'au moins 40 % par rapport à un témoin.

30. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 24, 28 et 29, dans lequel le niveau du transcript SNHG14 en aval de SNORD109B est réduit d'au moins 30 % par rapport à un témoin.

31. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 24 et 28 à 30, dans lequel la cellule cible est une cellule neuronale.

32. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 24 et 28 à 31, dans lequel l'expression de SNORD115 n'est pas significativement affectée par rapport à un témoin.