



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 119213005 A

(43) 申请公布日 2024. 12. 27

(21) 申请号 202380040964.6

奥马里·戈特斯曼

(22) 申请日 2023.03.15

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

(30) 优先权数据

专利代理师 王玉桂 武晶晶

63/320,431 2022.03.16 US

63/354,359 2022.06.22 US

63/430,542 2022.12.06 US

(51) Int.Cl.

C07H 15/00 (2006.01)

C12N 15/113 (2006.01)

A61K 47/54 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/064384 2023.03.15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/178144 EN 2023.09.21

(71) 申请人 艾姆皮瑞克公司

地址 美国加利福尼亚州

权利要求书27页 说明书136页
序列表(电子公布)

(72) 发明人 达伦·H·瓦克菲 大卫·罗泽马

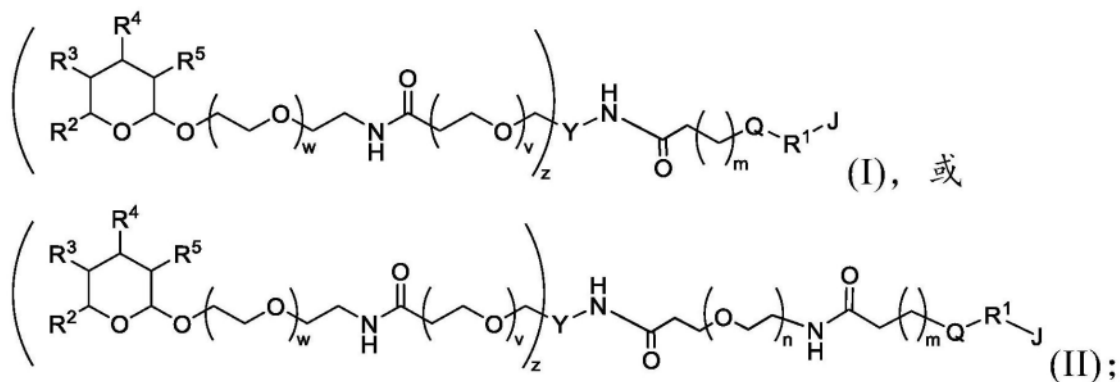
(54) 发明名称

用于提高siRNA生物利用度的GALNAC组合物

(57) 摘要

本文提供了包含可与寡核苷酸缀合的GalNAc部分的组合物。寡核苷酸可以是小干扰RNA或反义寡核苷酸。本文还提供了包括向对象施用该组合物的治疗方法。

1. 式 (I) 或 (II) 所示的化合物:



或其盐, 其中

J 是寡核苷酸;

每个 w 独立地选自 1 至 20 的任何值;

每个 v 独立地选自 1 至 20 的任何值;

n 选自 1 至 20 的任何值;

m 选自 1 至 20 的任何值;

z 选自 1 至 3 的任何值, 其中

如果 z 为 3, 则 Y 为 C;

如果 z 为 2, 则 Y 为 CR⁶, 或者

如果 z 为 1, 则 Y 为 C(R⁶)₂;

Q 选自:

任选地被一个或多个取代基取代的 C₃₋₁₀ 碳环, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷ 和 C₁₋₆ 烷基, 其中所述 C₁₋₆ 烷基任选地被一个或多个独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂ 和 -NH₂ 的取代基取代;

R¹ 是选自以下的接头:

-O-、-S-、-N(R⁷)-、-C(O)-、-C(O)N(R⁷)-、-N(R⁷)C(O)-、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)-、-OC(O)N(R⁷)-、-N(R⁷)C(O)O-、-C(O)O-、-OC(O)-、-S(O)-、-S(O)₂-、-OS(O)₂-、-OP(O)(OR⁷)O-、-SP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(SR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)S-、-OP(O)(O⁻)O-、-SP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(S⁻)O-、-OP(O)(O⁻)S-、-OP(O)(OR⁷)NR⁷-、-OP(O)(N(R⁷)₂)NR⁷-、-OP(OR⁷)O-、-OP(N(R⁷)₂)O-、-OP(OR⁷)N(R⁷)- 和 -OPN(R⁷)₂NR⁷-;

每个 R² 独立地选自:

任选地被一个或多个取代基取代的 C₁₋₆ 烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷ 和 -S(O)R⁷;

R³ 和 R⁴ 各自独立地选自:

-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷ 和 -S(O)R⁷;

每个 R⁵ 独立地选自:

$-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 和 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$;

每个 R^6 独立地选自:

氢;

卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 和 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$;以及

任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 和 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$;

每个 R^7 独立地选自:

氢;

C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环;以及

C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、

$-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 碳环、3元至10元杂环和 C_{1-6} 卤代烷基。

2. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中每个 w 独立地选自1至10的任何值。

3. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中每个 w 独立地选自1至5的任何值。

4. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中每个 w 是1。

5. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中每个 v 独立地选自1至10的任何值。

6. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中每个 v 独立地选自1至5的任何值。

7. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中每个 v 是1。

8. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 n 选自1至10的任何值。

9. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 n 选自1至5的任何值。

10. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 n 是2。

11. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 m 选自1至10的任何值。

12. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 m 选自1至5的任何值。

13. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 m 选自1和2。

14. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 z 为3并且 Y 为 C 。

15. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 Q 选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{5-6} 碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 和 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$ 。

16. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 Q 选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{5-6} 碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 和 $-\text{NH}_2$ 。

17. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中 Q 选自苯基和环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 和

NH₂。

18. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中Q选自苯基。

19. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中Q选自环己基。

20. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-、-SP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(SR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)S-、-OP(O)(O⁻)O-、-SP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(S⁻)O-、-OP(O)(O⁻)S-、-OP(O)(OR⁷)NR⁷-、-OP(O)(N(R⁷)₂)NR⁷-、-OP(OR⁷)O-、-OP(N(R⁷)₂)O-、-OP(OR⁷)N(R⁷)-和-OPN(R⁷)₂NR⁷。

21. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-、-SP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(SR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)S-、-OP(O)(O⁻)O-、-SP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(S⁻)O-、-OP(O)(O⁻)S-和-OP(OR⁷)O-。

22. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(S⁻)O-和-OP(OR⁷)O-。

23. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-和-OP(OR⁷)O-。

24. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R²选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷和-S(O)R⁷。

25. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R²选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基,所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷和-N(R⁷)₂。

26. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R²选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基,所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。

27. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R³选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。

28. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R³选自-OR⁷、-SR⁷、-OC(O)R⁷和-N(R⁷)₂。

29. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R³选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。

30. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R⁴选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。

31. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R⁴选自-OR⁷、-SR⁷、-OC(O)R⁷和-N(R⁷)₂。

32. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R⁴选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。

33. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R⁵选自-OC(O)R⁷、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂和-N(R⁷)C(O)OR⁷。

34. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中R⁵选自-OC(O)R⁷和-N(R⁷)C(O)R⁷。

35. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中每个R⁷独立地选自:

氢;和

任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂、=O、

=S、-O-C₁₋₆烷基、-S-C₁₋₆烷基、-N(C₁₋₆烷基)₂、-NH(C₁₋₆烷基)、

C₃₋₁₀碳环或3元至10元杂环。

36. 如权利要求1至30中任一项所述的化合物或盐,其中每个R⁷独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂、=O、=S、-O-C₁₋₆烷基、-S-C₁₋₆烷基、-N(C₁₋₆烷基)₂和-NH(C₁₋₆烷基)。

37. 如权利要求1至34中任一项所述的化合物或盐,其中每个 R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH和-SH。

38. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中

w是1;

v是1;

n是2;

m是1或2;

z为3并且Y为C;

Q是苯基或环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂和 C_{1-3} 烷基;

R^1 选自 -OP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(S⁻)O-和-OP(OR⁷)O-;

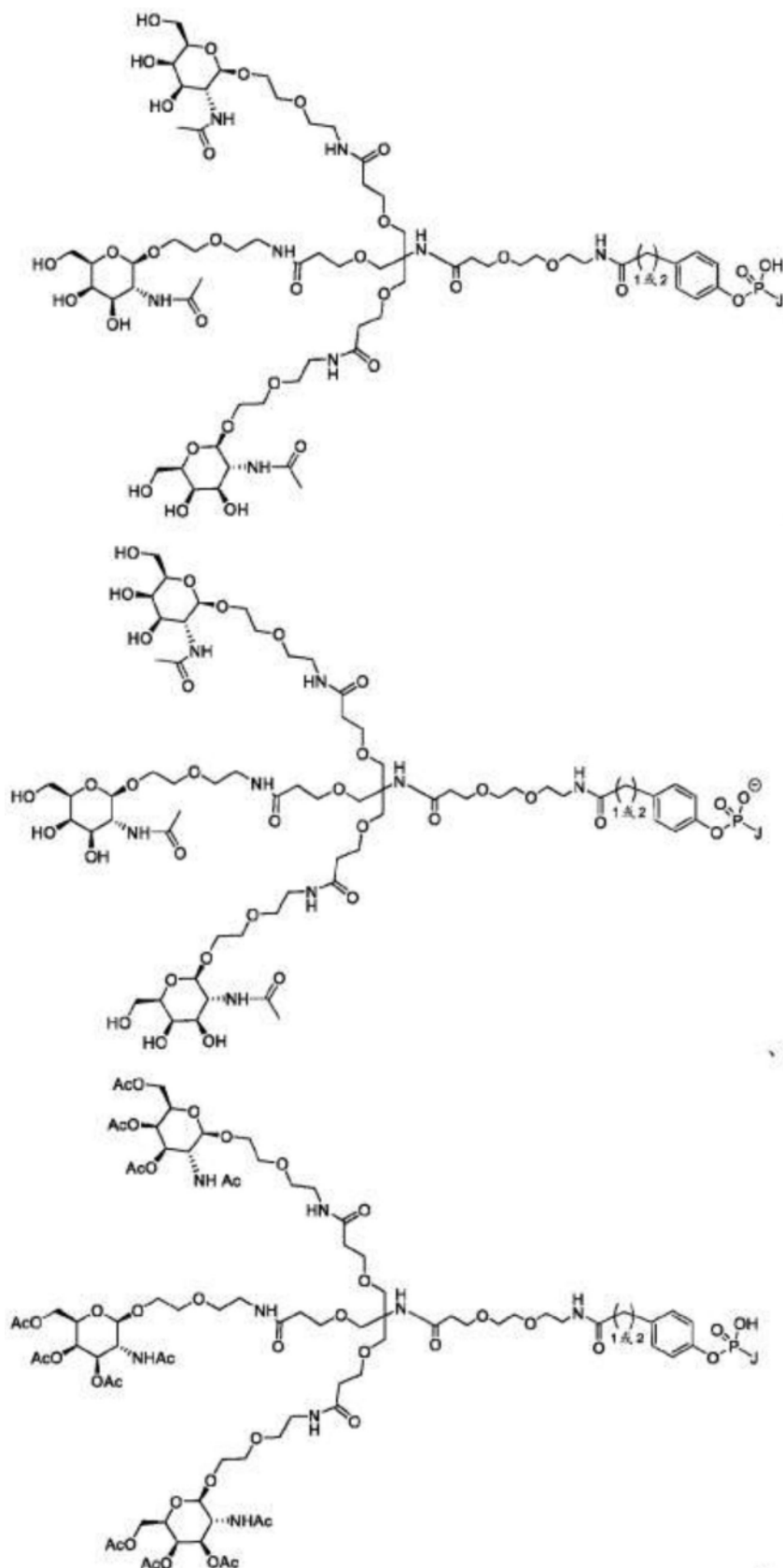
R^2 是被-OH或-OC(O)CH₃取代的 C_1 烷基;

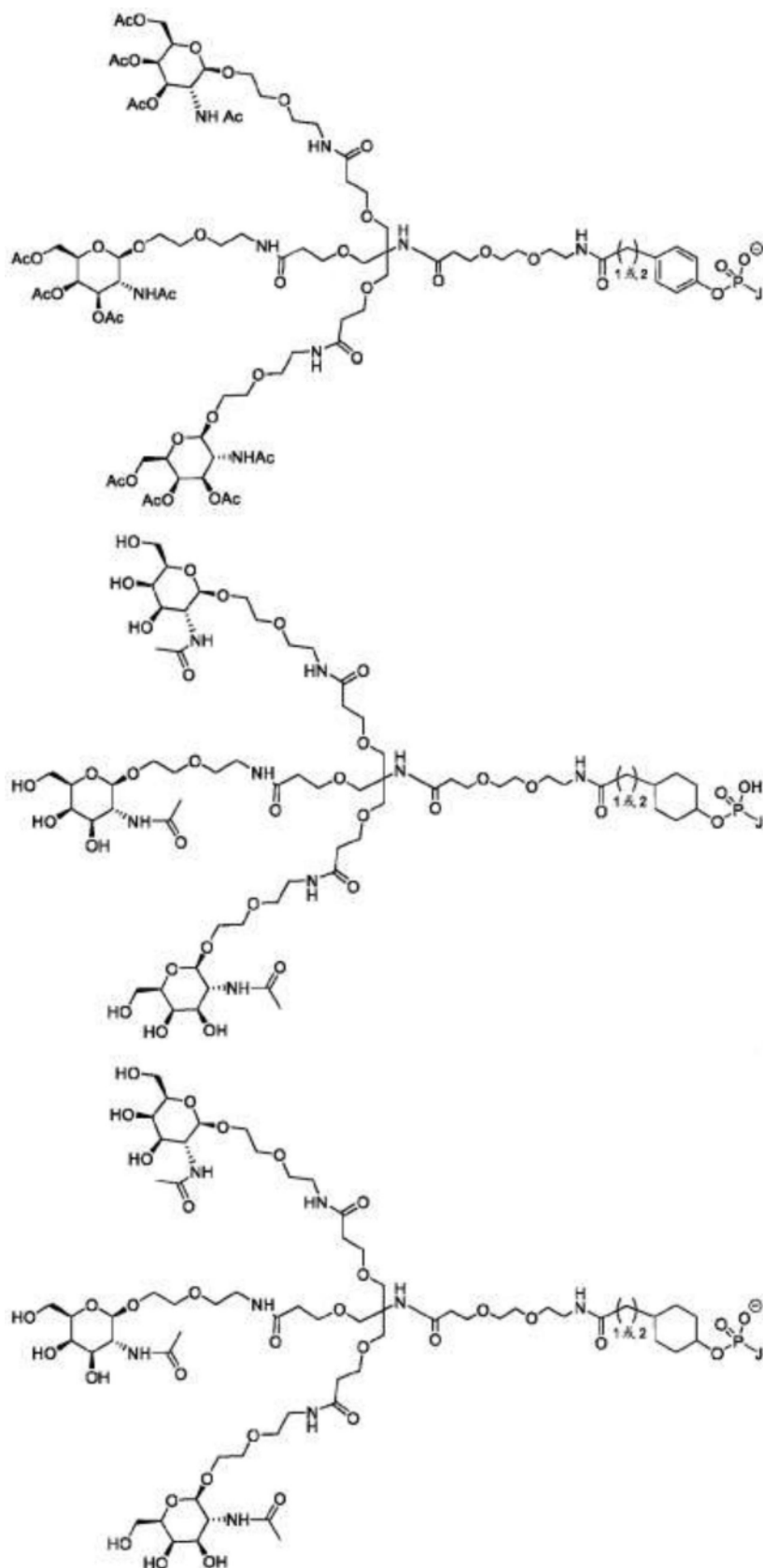
R^3 是-OH或-OC(O)CH₃;

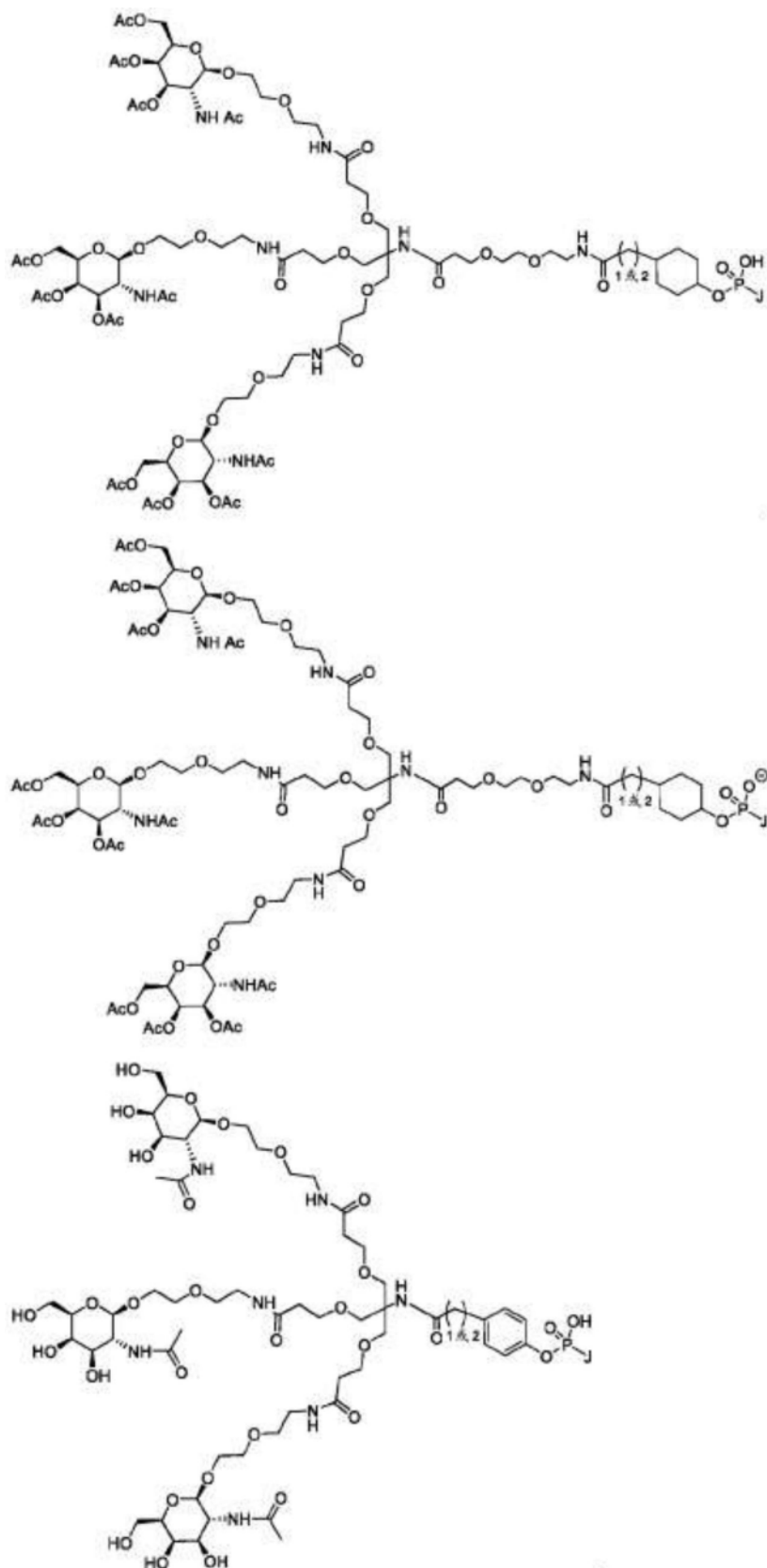
R^4 是-OH或-OC(O)CH₃;并且

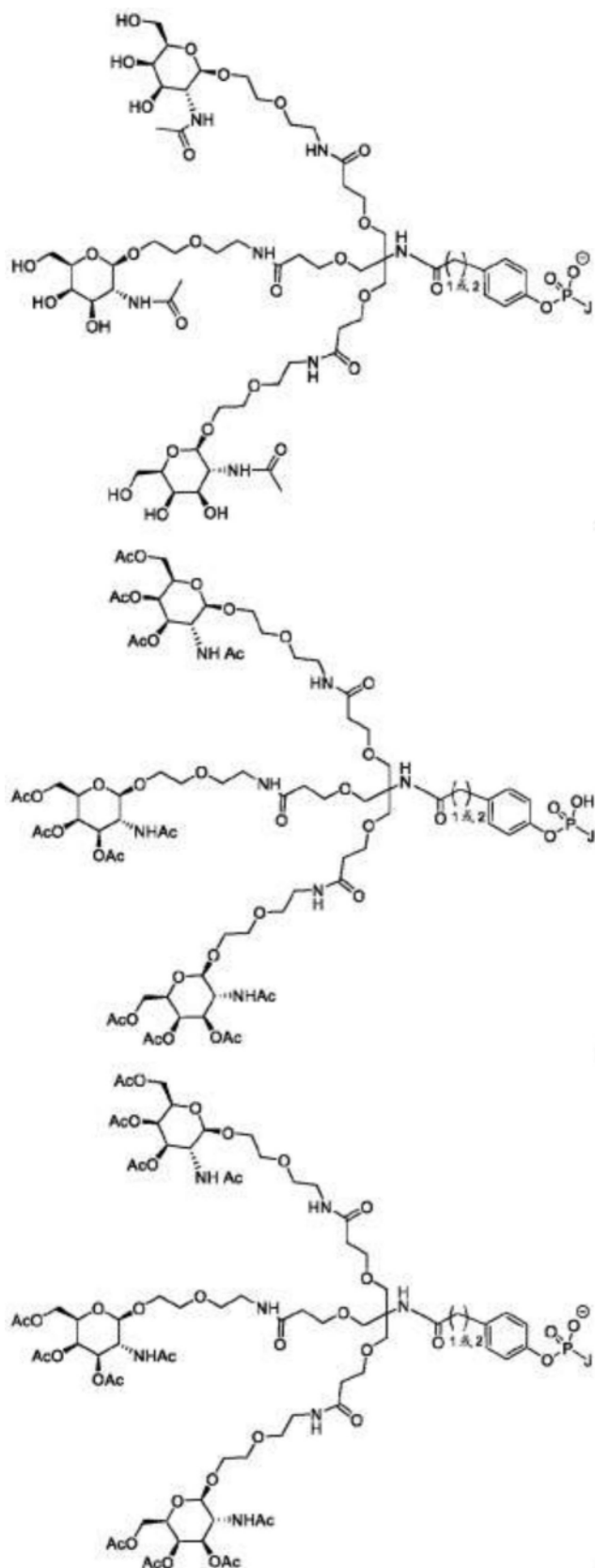
R^5 是-NH(O)CH₃。

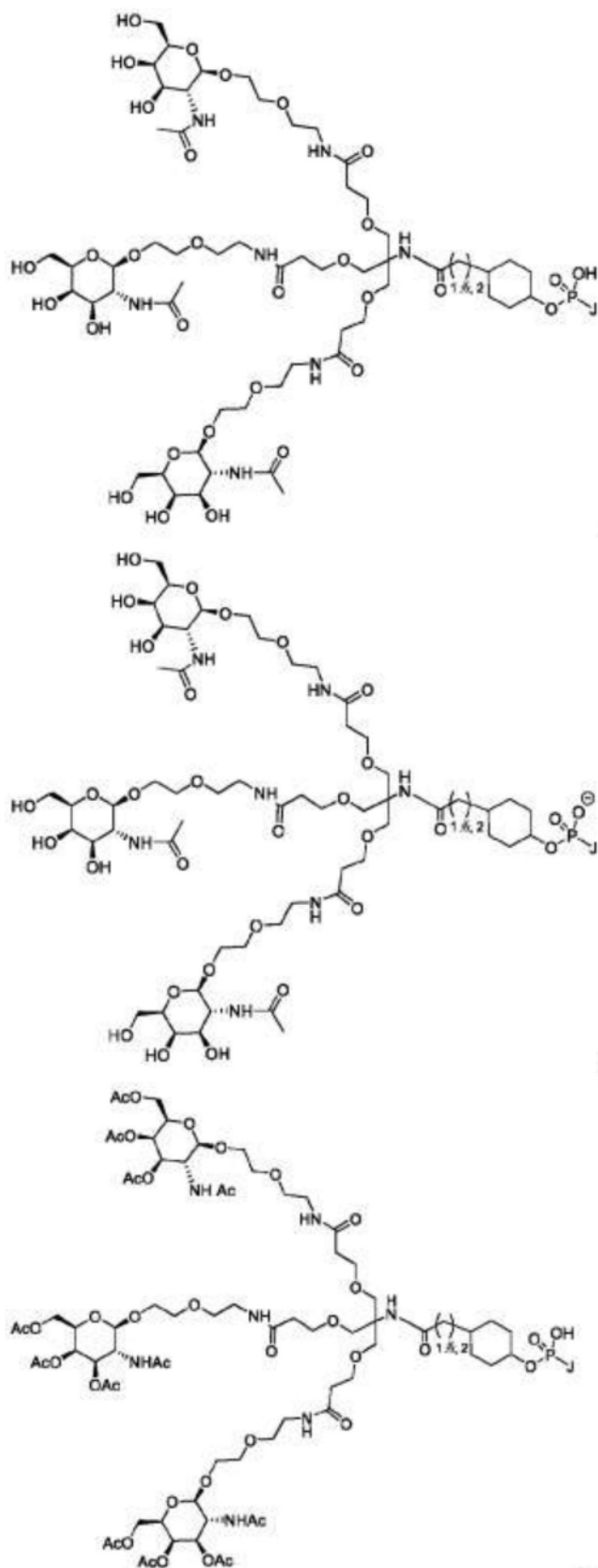
39. 如权利要求1所述的化合物或盐,其中所述化合物包括:

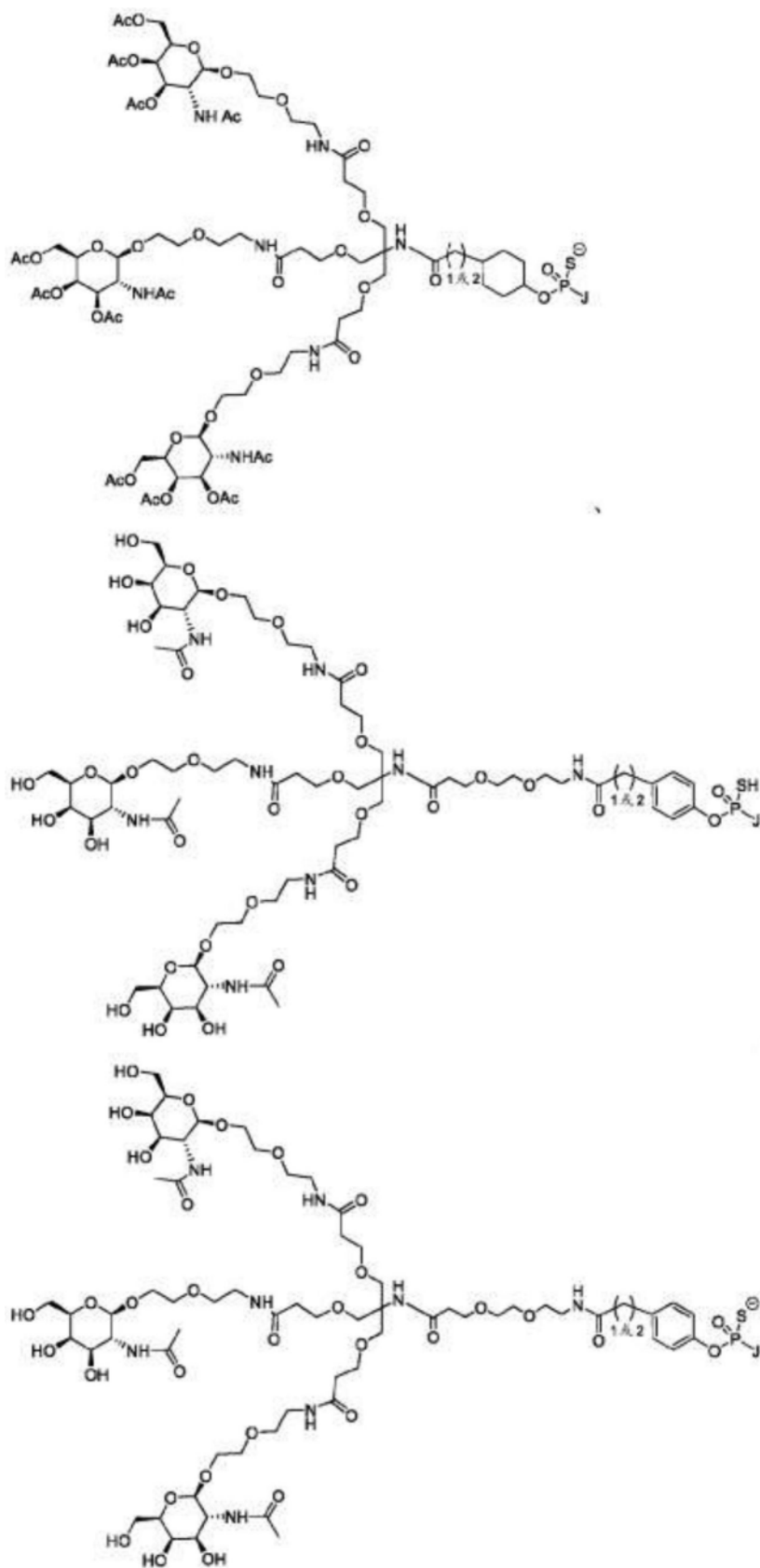


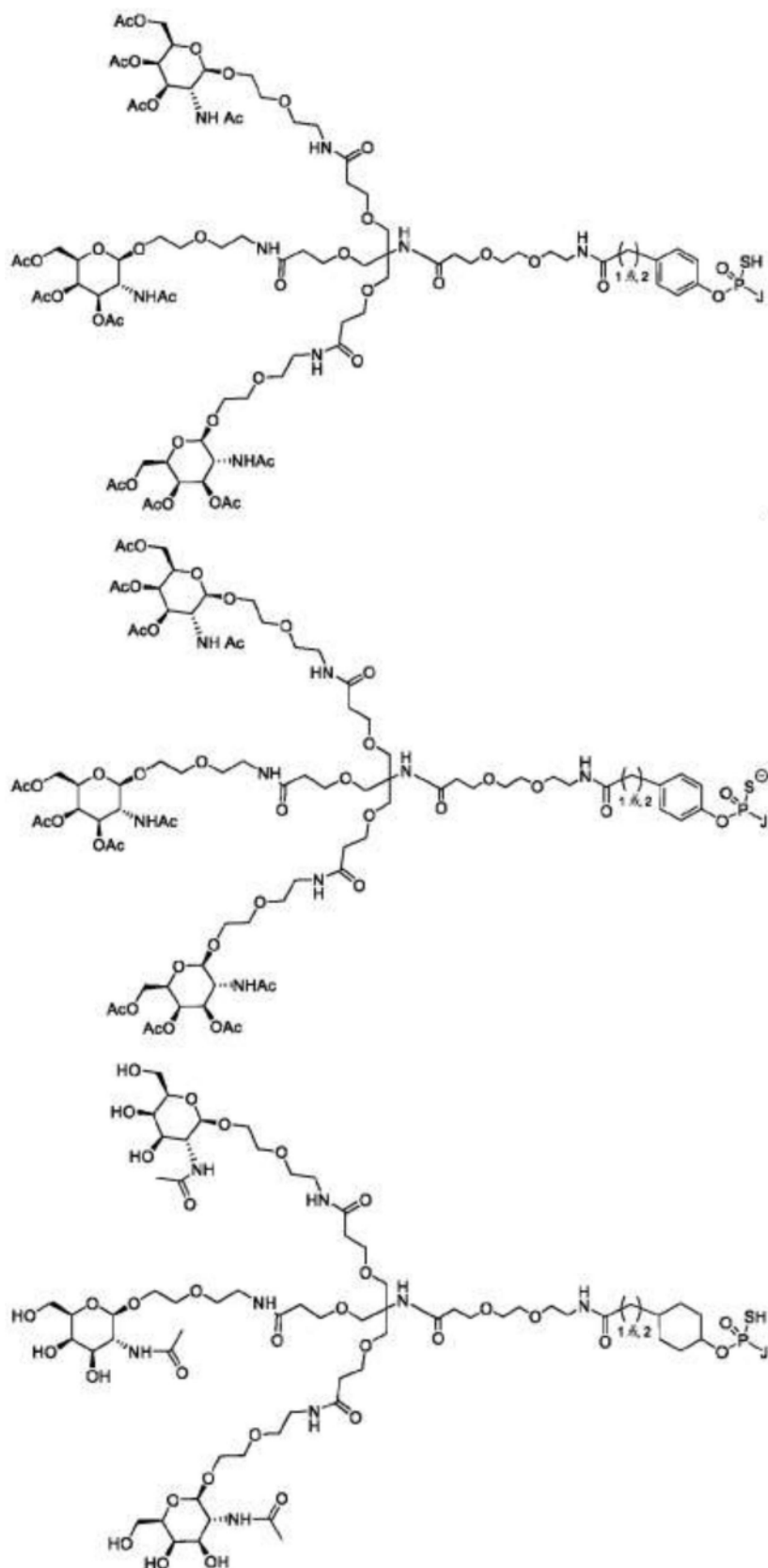


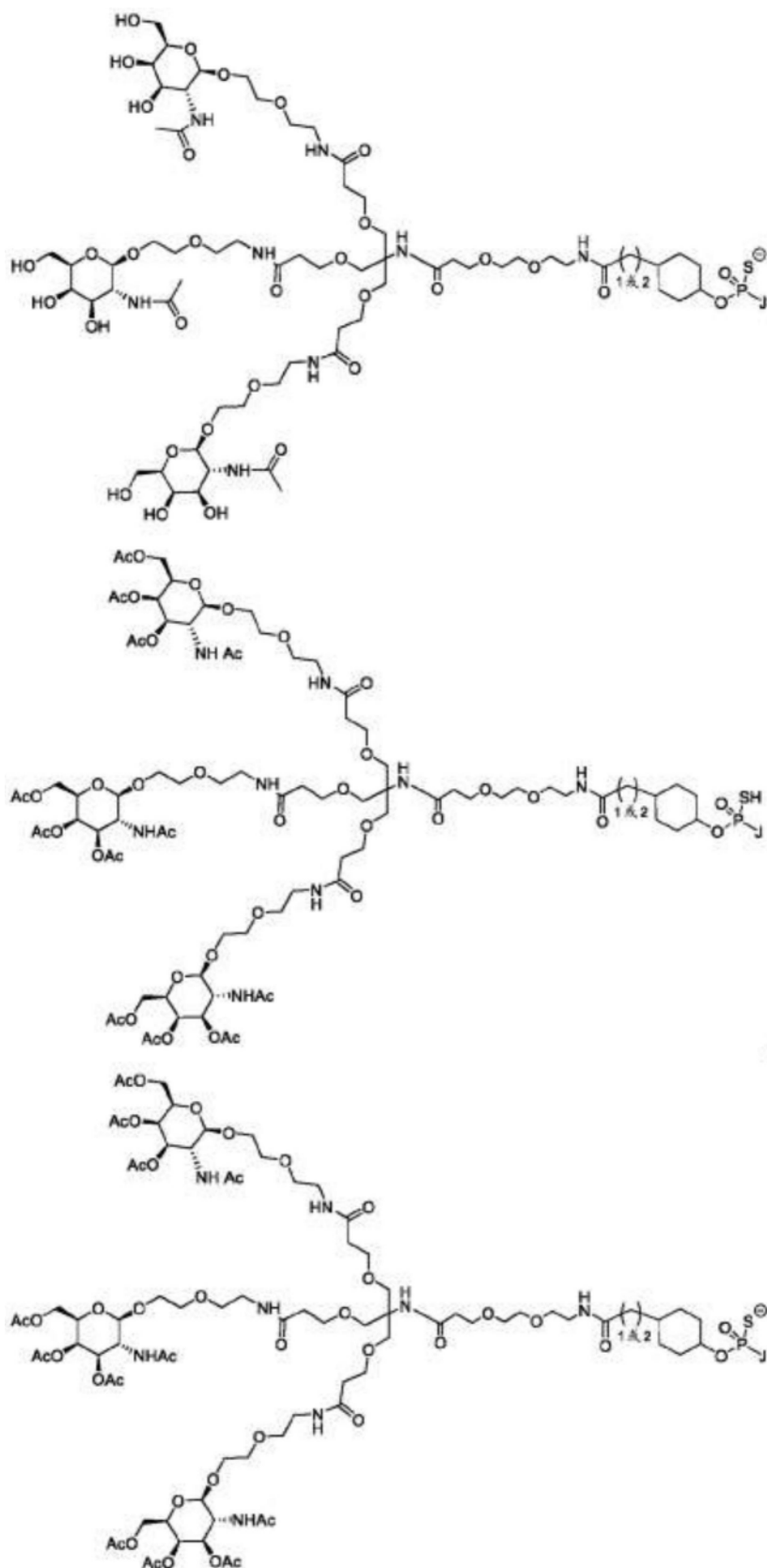


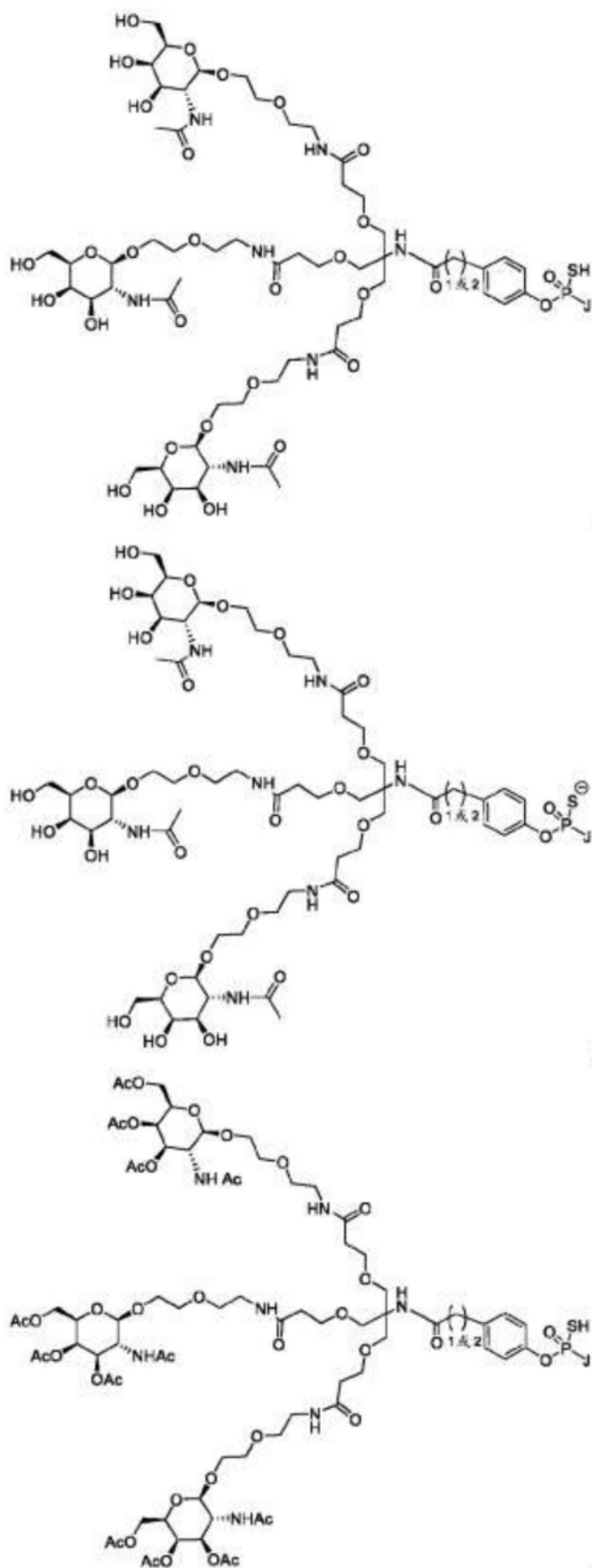


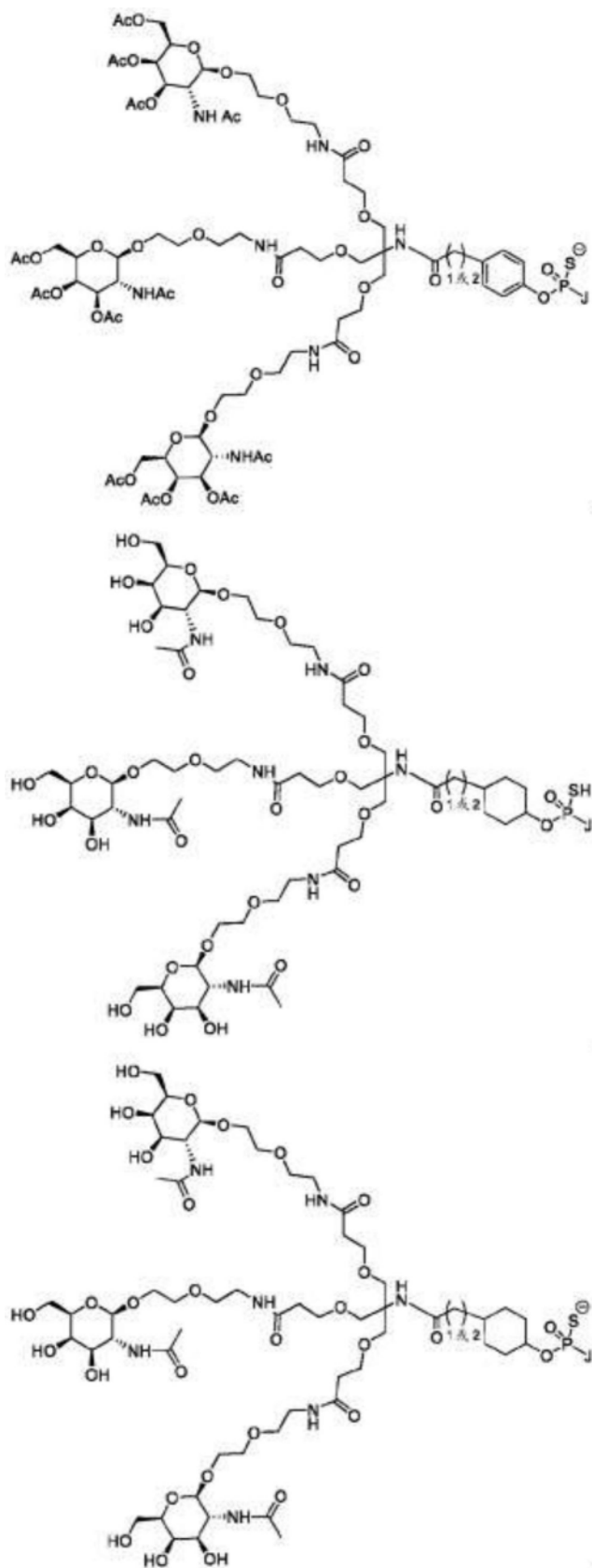


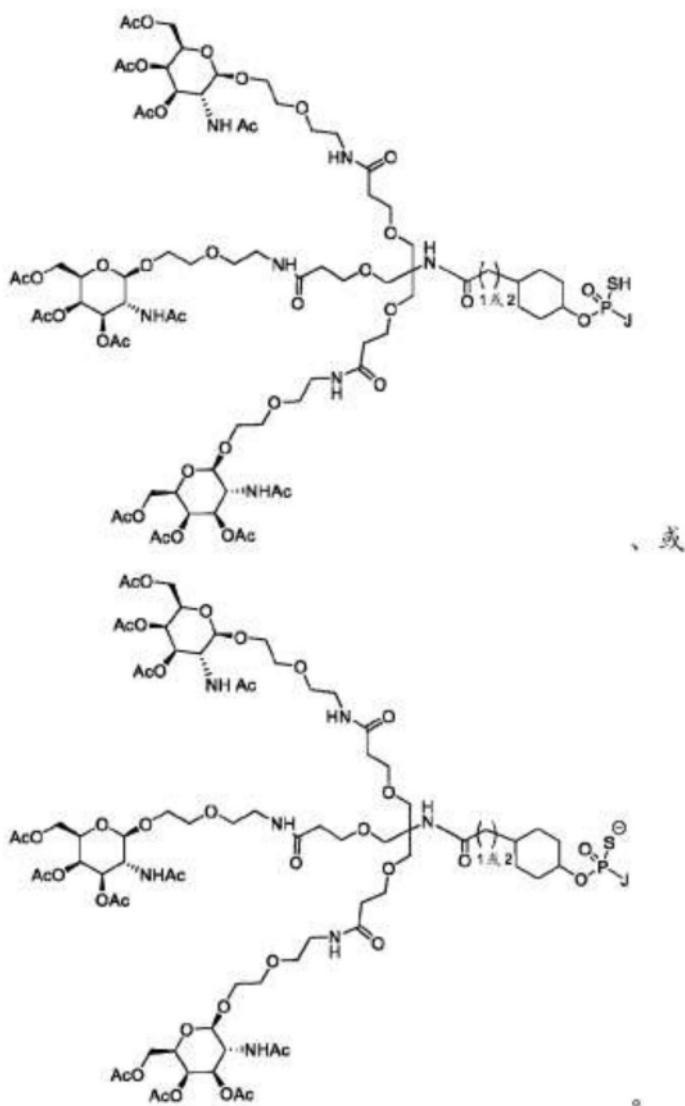












40. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸(J)在所述寡核苷酸的5'端或3'端处附接。

41. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包括DNA。

42. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包括RNA。

43. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷间键联。

44. 如权利要求43所述的化合物,其中所述一个或多个经修饰的核苷间键联包括烷基膦酸酯、硫代膦酸酯、甲基膦酸酯、二硫代膦酸酯、烷基硫代膦酸酯、氨基膦酸酯、氨基甲酸酯、碳酸酯、磷酸三酯、乙酰亚胺酯或羧甲基酯,或其组合。

45. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个经修饰的核苷间键联。

46. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷。

47. 如权利要求46所述的化合物,其中所述一个或多个经修饰的核苷包括锁核酸(LNA)、己糖醇核酸(HLA)、环己烯核酸(CeNA)、2'-甲氧基乙基、2'-O-烷基、2'-O-烯丙基、2'-O-烯丙基、2'-氟或2'-脱氧,或其组合。

48. 如权利要求46所述的化合物,其中所述一个或多个经修饰的核苷包括2',4'-受约束乙基核苷、2'-O-甲基核苷、2'-脱氧氟核苷、2'-O-N-甲基乙酰氨基(2'-O-NMA)核苷、2'-O-二甲基氨基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)核苷、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)核苷、2'-ara-F、2'-氟或2'-O-烷基,或其组合。

49. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或更多个经修饰的核苷。

50. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包含在所述寡核苷酸的3'端或5'末端处附接的脂质。

51. 如权利要求50所述的化合物,其中所述脂质包括胆固醇、肉豆蔻酰、棕榈酰、硬脂酰、石胆酰、二十二烷酰、二十二碳六烯酰、肉豆蔻基、棕榈基、硬脂基或 α -生育酚,或其组合。

52. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包含在所述寡核苷酸的3'端或5'末端处附接的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)肽。

53. 如权利要求52所述的化合物,其中所述RGD肽包括环状(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Cys)、环状(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys)、环状(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-叠氮基)、氨基苯甲酸衍生的RGD,或其组合。

54. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包括包含有义链和反义链的小干扰RNA(siRNA)。

55. 如权利要求54所述的化合物,其中所述有义链的长度为12-30个核苷。

56. 如权利要求54所述的化合物,其中所述反义链的长度为12-30个核苷。

57. 如权利要求54所述的化合物,其中所述有义链和所述反义链形成双链RNA双螺旋。

58. 如权利要求57所述的化合物,其中所述双链RNA双螺旋的第一碱基对是AU碱基对。

59. 如权利要求54所述的化合物,其中所述有义链或所述反义链包含3'突出端。

60. 如权利要求59所述的化合物,其中所述3'突出端包含1、2或更多的核苷。

61. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸包括反义寡核苷酸(ASO)。

62. 如权利要求61所述的化合物,其中所述ASO的长度为12-30个核苷。

63. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物与脱唾液酸糖蛋白受体结合。

64. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物靶向肝细胞。

65. 一种药物组合物,包含权利要求1所述的化合物以及药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

66. 如权利要求65所述的药物组合物,其中所述药物组合物是无菌的。

67. 如权利要求65所述的药物组合物,其中所述药物组合物包含药学上可接受的载剂。

68. 如权利要求67所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的载剂包括水、缓冲剂或生理盐水。

69. 如权利要求65所述的药物组合物,其中所述寡核苷酸靶向靶mRNA,并且当以有效量向对象施用,使所述靶mRNA或靶蛋白减少至少10%。

70. 一种减少有需要的对象的靶mRNA或靶蛋白的方法,包括向所述对象施用有效量的权利要求65所述的药物组合物。

71. 如权利要求70所述的方法,其中所述有效量使所述对象的所述靶mRNA或靶蛋白的

测量值相对于基线靶mRNA或靶蛋白测量值而言降低。

72. 如权利要求70所述的方法, 其中所述有效量治疗所述对象的病症。

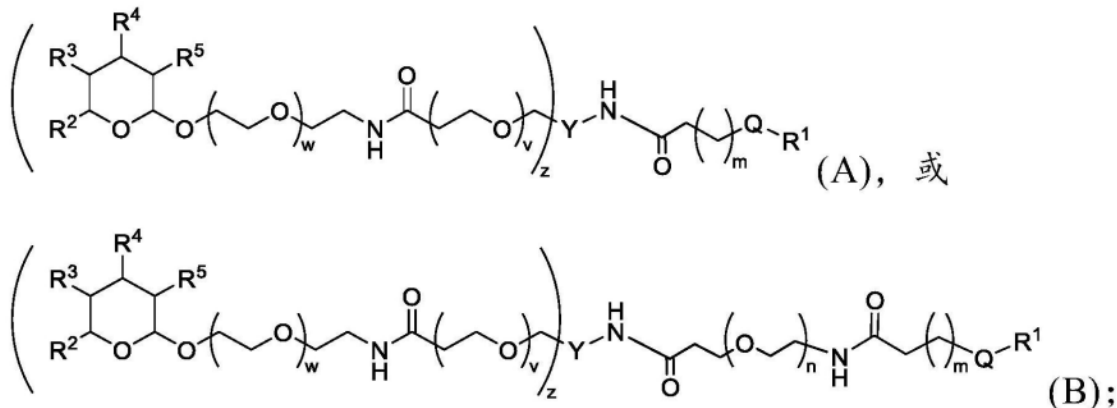
73. 如权利要求72所述的方法, 其中所述有效量使所述对象的与所述病症相关的症状或参数的测量值相对于基线症状或参数的测量值而言降低。

74. 如权利要求72所述的方法, 其中所述对象的与所述病症相关的所述症状或参数的所述测量值减少至少10天。

75. 如权利要求72所述的方法, 其中所述病症包括代谢病症。

76. 如权利要求72所述的方法, 其中所述病症包括肝脏病症。

77. 式 (A) 或 (B) 所示的化合物:



或其盐, 其中

每个w独立地选自1至20的任何值;

每个v独立地选自1至20的任何值;

n选自1至20的任何值;

m选自1至20的任何值;

z选自1至3的任何值, 其中

如果z为3, 则Y为C

如果z为2, 则Y为CR⁶, 或者

如果z为1, 则Y为C(R⁶)₂;

Q选自:

任选地被一个或多个取代基取代的C₃₋₁₀碳环, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷和C₁₋₆烷基, 其中所述C₁₋₆烷基任选地被一个或多个取代基取代, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂;

R¹选自:

-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-OS(O)₂R⁷、-OP(O)(OR⁷)₂、-OP(S)(OR⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)(OR⁷)、-OP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(S)(OR⁷)N(R⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(S)(N(R⁷)₂)₂、-SP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(OR⁷)₂、-SP(OR⁷)₂、-OP(OR⁷)(SR⁷)、-OP(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(SR⁷)N(R⁷)₂、-SP(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP

$(N(R^7)_2)_2$ 和 $-SP(N(R^7)_2)_2$;

每个 R^2 独立地选自:

任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

R^3 和 R^4 各自独立地选自:

$-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

每个 R^5 独立地选自:

$-OC(O)R^7$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 和 $-C(O)N(R^7)_2$;

每个 R^6 独立地选自:

氢;

卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;以及

任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

每个 R^7 独立地选自:

氢;

C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环;以及

C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 碳环、3元到10元杂环和 C_{1-6} 卤代烷基。

78. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个 w 独立地选自1至10的任何值。

79. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个 w 独立地选自1至5的任何值。

80. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个 w 为1。

81. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个 v 独立地选自1至10的任何值。

82. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个 v 独立地选自1至5的任何值。

83. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个 v 为1。

84. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 n 选自1至10的任何值。

85. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 n 选自1至5的任何值。

86. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 n 为2。

87. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 m 选自1至10的任何值。

88. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 m 选自1至5的任何值。

89. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 m 选自1和2。

90. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 z 为3且 Y 为C。

91. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 Q 选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{5-6} 碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$ 。

92. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 Q 选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{5-6} 碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 和 $-NH_2$ 。

93. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 Q 选自苯基和环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 和 $-NH_2$ 。

94. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 Q 选自苯基。

95. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 Q 选自环己基。

96. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^1 选自 $-OP(O)(OR^7)_2$ 、 $-OP(O)(OR^7)N(R^7)_2$ 、 $-OP(O)N(R^7)_2$ 、 $-OP(OR^7)_2$ 、 $-OP(OR^7)N(R^7)_2$ 和 $-OP((NR^7)_2)_2$ 。

97. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^1 选自 $-OP(O)(OR^7)_2$ 和 $-OP(OR^7)N(R^7)_2$ 。

98. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^1 选自 $-OP(O)(OCH_2CH_3)OH$ 和 $-OP(OCH_2CH_2CN)N(CH(CH_3)_2)_2$ 。

99. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^1 为 $-OP(OCH_2CH_2CN)N(CH(CH_3)_2)_2$ 。

100. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^2 选自被一个或多个取代基取代的 C_{1-3} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$ 。

101. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^2 选自被一个或多个取代基取代的 C_{1-3} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自 $-OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-SR^7$ 和 $-N(R^7)_2$ 。

102. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^2 选自被一个或多个取代基取代的 C_{1-3} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自 $-OR^7$ 和 $-OC(O)R^7$ 。

103. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^3 选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$ 。

104. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^3 选自 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-N(R^7)_2$ 。

105. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^3 选自 $-OR^7$ 和 $-OC(O)R^7$ 。

106. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^4 选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$ 。

107. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^4 选自 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-N(R^7)_2$ 。

108. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^4 选自 $-OR^7$ 和 $-OC(O)R^7$ 。

109. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^5 选自 $-OC(O)R^7$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 和 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 。

110. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中 R^5 选自 $-OC(O)R^7$ 和 $-N(R^7)C(O)R^7$ 。

111. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个 R^7 独立地选自:

氢;以及

任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤

素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂、=O、=S、-O-C₁₋₆烷基、-S-C₁₋₆烷基、-N(C₁₋₆烷基)₂、-NH(C₁₋₆烷基)、C₃₋₁₀碳环,或3至10元杂环。

112. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个R⁷独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂、=O、=S、-O-C₁₋₆烷基、-S-C₁₋₆烷基、-N(C₁₋₆烷基)₂和-NH(C₁₋₆烷基)。

113. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中每个R⁷独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH和-SH。

114. 如权利要求113所述的化合物或盐,其中

w为1;

v为1;

n为2;

m为1或2;

z为3且Y为C;

Q为苯基或环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂和C₁₋₃烷基;

R¹选自-OP(O)(OR⁷)₂和-OP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂;

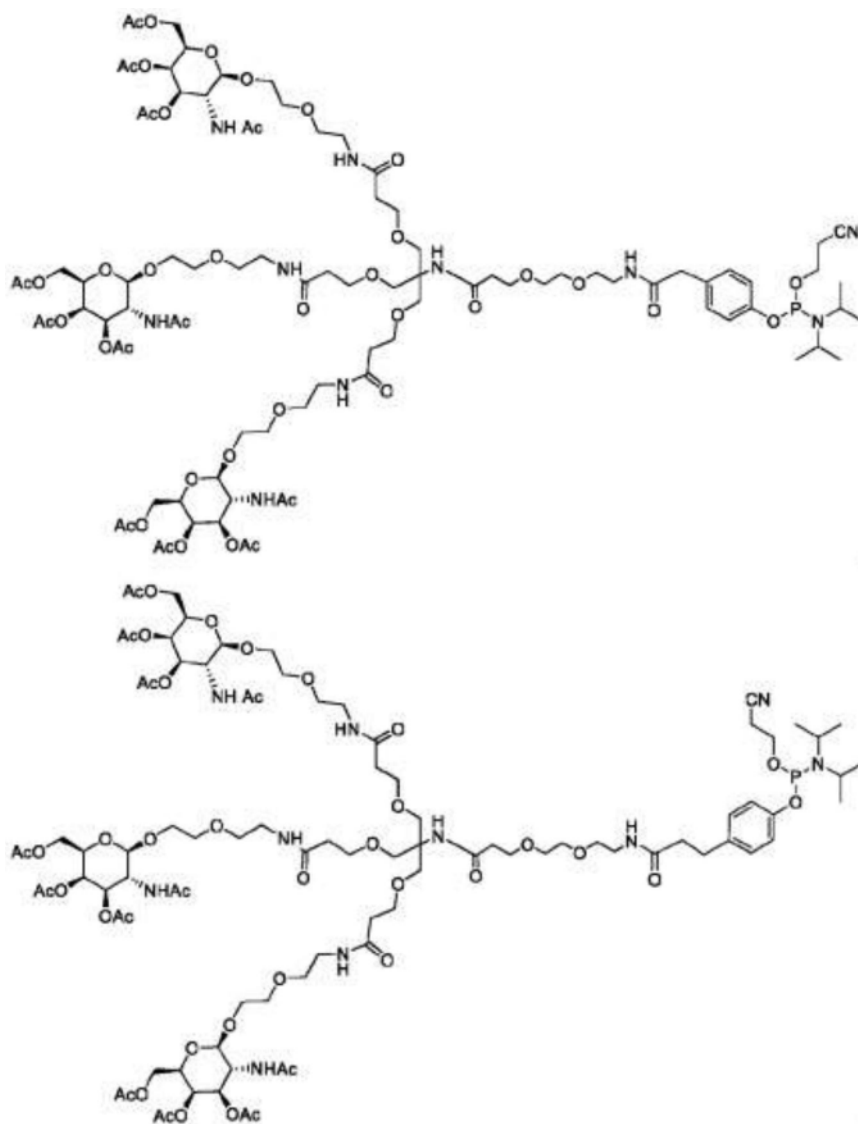
R²为被-OH或-OC(O)CH₃取代的C₁烷基;

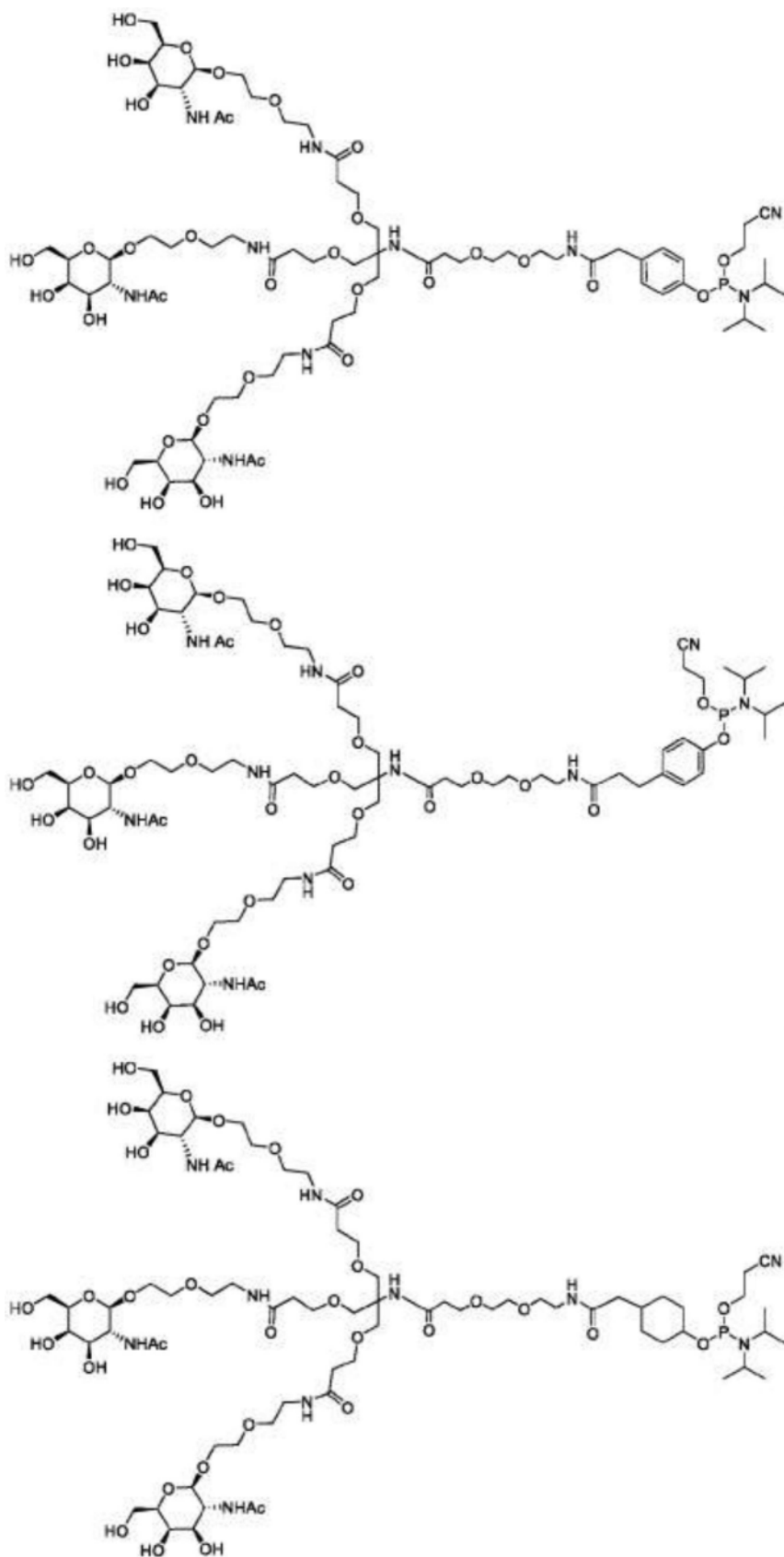
R³为-OH或-OC(O)CH₃;

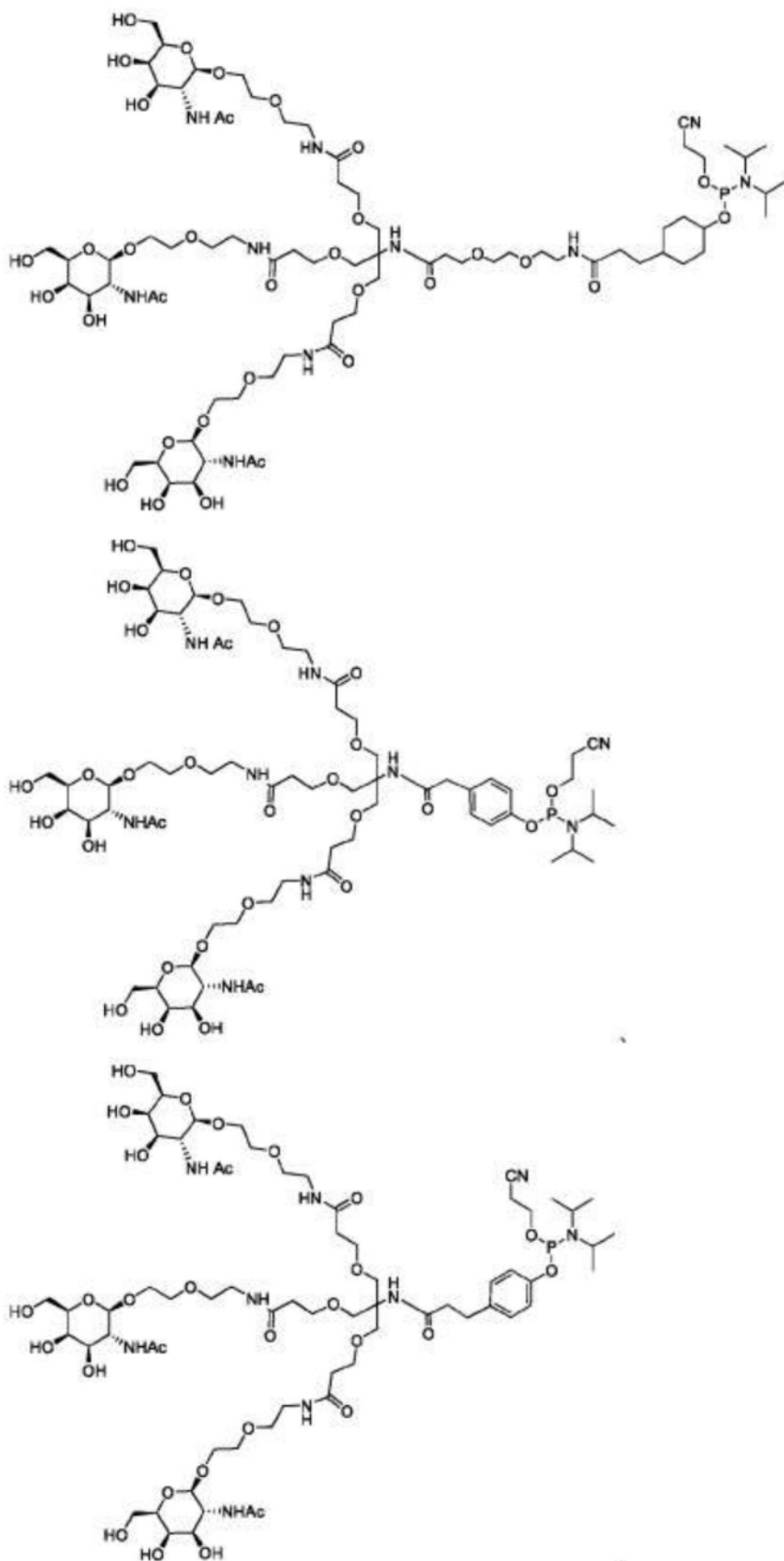
R⁴为-OH或-OC(O)CH₃;并且

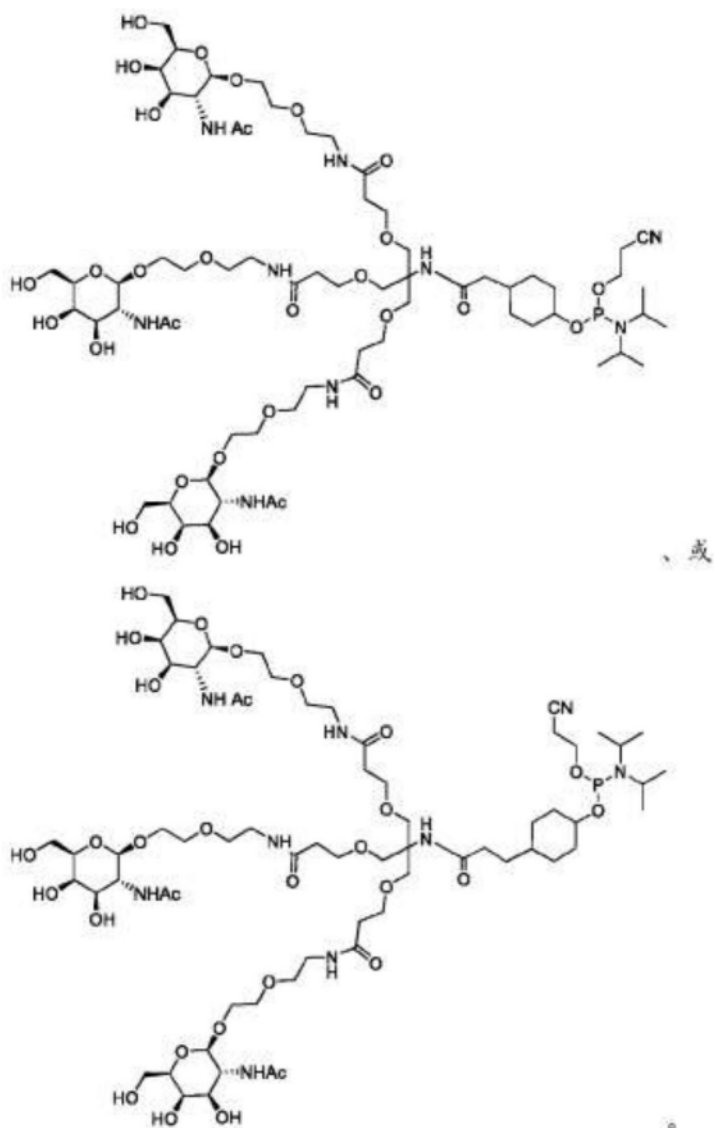
R⁵为-NH(O)CH₃。

115. 如权利要求77所述的化合物或盐,其中所述化合物包括:

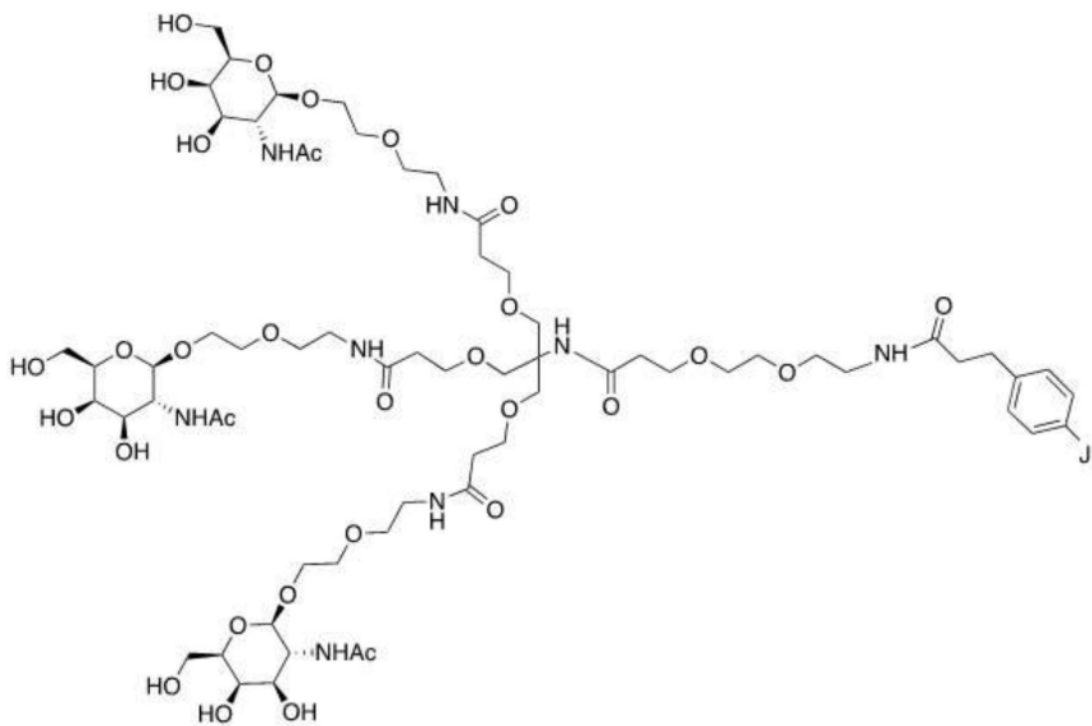








116. 一种化合物, 包括:



其中J包括寡核苷酸,或包括与所述寡核苷酸的连接。

117. 如权利要求116所述的化合物,其中J还包括一个或多个将所述结构连接至所述寡核苷酸的磷酸酯基团。

118. 如权利要求116所述的化合物,其中J还包括一个或多个将所述结构连接至所述寡核苷酸的硫代磷酸酯基团。

119. 如权利要求116所述的化合物,其中所述寡核苷酸包括5' 端,并且J包括与所述寡核苷酸的5' 端的连接。

120. 如权利要求116所述的化合物,其中所述寡核苷酸包括siRNA。

用于提高siRNA生物利用度的GALNAC组合物

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求于2022年3月16日提交的美国临时申请号63/320,431、2022年6月22日提交的美国临时申请号63/354,359和2022年12月6日提交的美国临时申请号63/430,542的权益,这些申请通过引用并入本文。

[0003] 序列表的援引并入

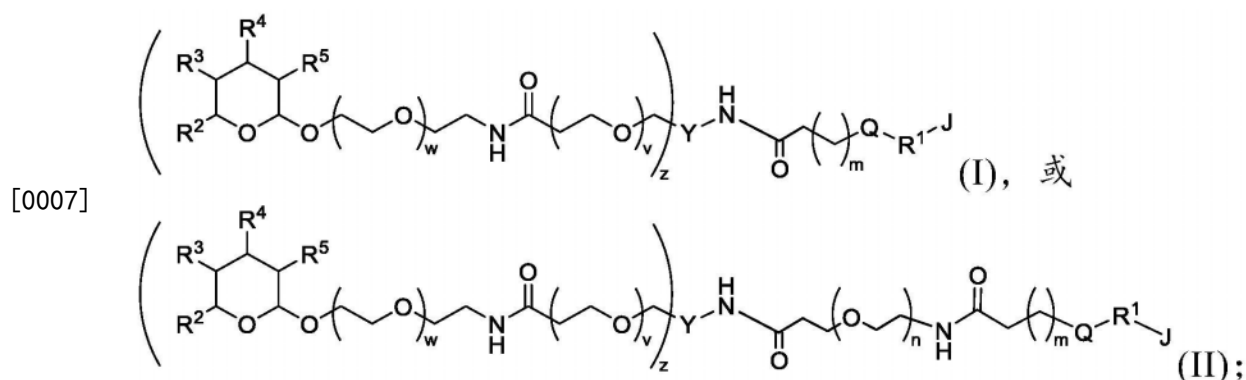
[0004] 本申请随附有以电子格式提交的序列表。序列表作为名为“54462-735601_PCT.xml”的文件提供,所述文件创建于2023年3月13日,大小为922,453字节。电子格式的序列表中的信息通过引用整体并入本文。

背景技术

[0005] 与心血管、代谢和肝脏相关的病症非常多,并且可影响各种人群。需要改进的疗法来治疗这些病症。

发明内容

[0006] 本文公开了一种由式(I)或(II)表示的化合物:



[0008] 或其盐,其中

[0009] J是寡核苷酸;

[0010] 每个w独立地选自1至20的任何值;

[0011] 每个v独立地选自1至20的任何值;

[0012] n选自1至20的任何值;

[0013] m选自1至20的任何值;

[0014] z选自1至3的任何值,其中

[0015] 如果z为3,则Y为C;

[0016] 如果z为2,则Y为CR⁶,或者

[0017] 如果z为1,则Y为C(R⁶)₂;

[0018] Q选自:

[0019] 任选地被一个或多个取代基取代的C₃₋₁₀碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N

$(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-S(O)R^7$ 和 C_{1-6} 烷基,其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 和 $-NH_2$ 的取代基取代;

[0020] R^1 是选自以下的接头:

[0021] $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^7)-$ 、 $-N(R^7)C(O)-$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)-$ 、 $-OC(O)N(R^7)-$ 、 $-N(R^7)C(O)O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、 $-OP(O)(OR^7)O-$ 、 $-SP(O)(OR^7)O-$ 、 $-OP(S)(OR^7)O-$ 、 $-OP(O)(SR^7)O-$ 、 $-OP(O)(OR^7)S-$ 、 $-OP(O)(O^-)O-$ 、 $-SP(O)(O^-)O-$ 、 $-OP(S)(O^-)O-$ 、 $-OP(O)(S^-)O-$ 、 $-OP(O)(O^-)S-$ 、 $-OP(O)(OR^7)NR^7-$ 、 $-OP(O)(N(R^7)_2)NR^7-$ 、 $-OP(OR^7)O-$ 、 $-OP(N(R^7)_2)O-$ 、 $-OP(OR^7)N(R^7)-$ 和 $-OPN(R^7)_2NR^7-$;

[0022] 每个 R^2 独立地选自:

[0023] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0024] R^3 和 R^4 各自独立地选自:

[0025] $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0026] 每个 R^5 独立地选自:

[0027] $-OC(O)R^7$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 和 $-C(O)N(R^7)_2$;

[0028] 每个 R^6 独立地选自:

[0029] 氢;

[0030] 卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;以及

[0031] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0032] 每个 R^7 独立地选自:

[0033] 氢;

[0034] C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环;以及

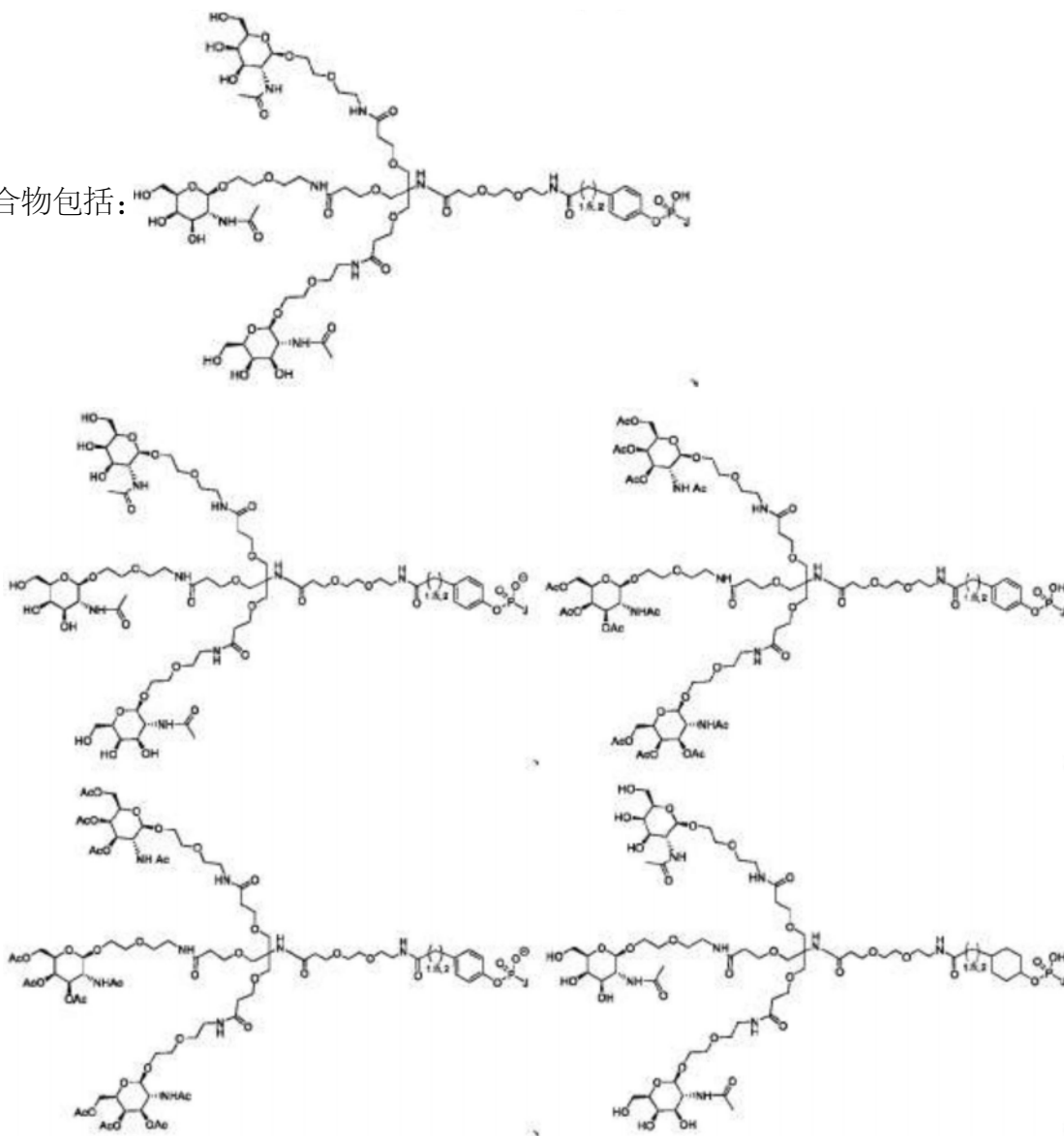
[0035] C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 碳环、3元至10元杂环和 C_{1-6} 卤代烷基。

[0036] 在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至10的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至5的任何值。在一些实施方案中,每个 w 是1。在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至10的任何值。在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至5的任何值。在一些实施方案中,每个 v 是1。在一些实施方案中, n 选自1至10的任何值。在一些实施方案中, n 选自1至5的任何值。在一些实施方案中, n 是2。在一些实施方案中, m 选自1至10的任何值。在一些实施方

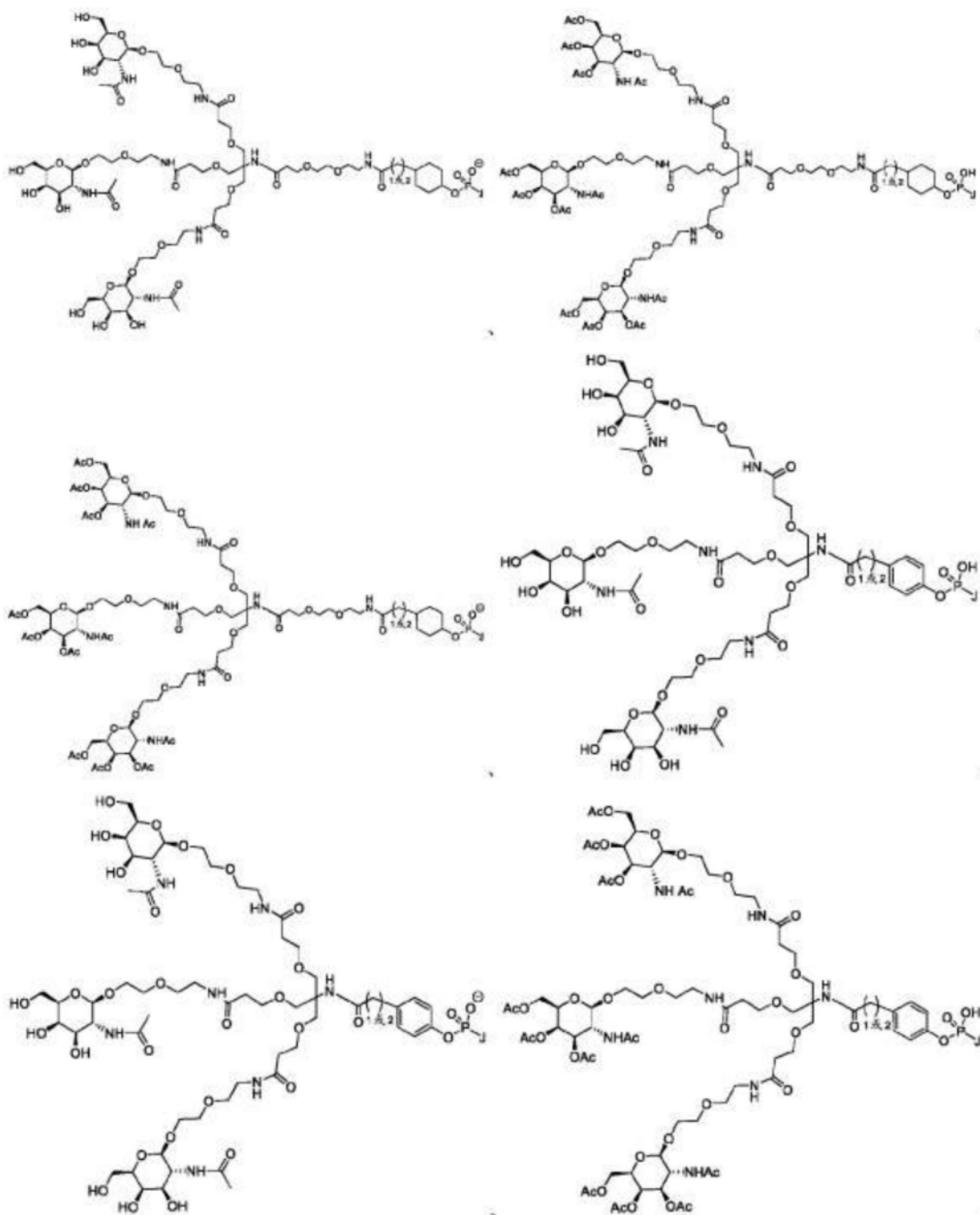
案中, m 选自1至5的任何值。在一些实施方案中, m 选自1和2。在一些实施方案中, z 为3并且 Y 为C。在一些实施方案中, Q 选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{5-6} 碳环, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中, Q 选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{5-6} 碳环, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中, Q 选自苯基和环己基, 其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中, Q 选自苯基。在一些实施方案中, Q 选自环己基。在一些实施方案中, R^1 选自-OP(O)(OR⁷)O⁻、-SP(O)(OR⁷)O⁻、-OP(S)(OR⁷)O⁻、-OP(O)(SR⁷)O⁻、-OP(O)(OR⁷)S⁻、-OP(O)(O⁻)O⁻、-SP(O)(O⁻)O⁻、-OP(S)(O⁻)O⁻、-OP(O)(S⁻)O⁻、-OP(O)(O⁻)S⁻、-OP(O)(OR⁷)NR⁷、-OP(O)(N(R⁷)₂)NR⁷、-OP(OR⁷)O⁻、-OP(N(R⁷)₂)O⁻、-OP(OR⁷)N(R⁷)⁻和-OPN(R⁷)₂NR⁷。在一些实施方案中, R^1 选自-OP(O)(OR⁷)O⁻、-SP(O)(OR⁷)O⁻、-OP(S)(OR⁷)O⁻、-OP(O)(SR⁷)O⁻、-OP(O)(OR⁷)S⁻、-OP(O)(O⁻)O⁻、-SP(O)(O⁻)O⁻、-OP(S)(O⁻)O⁻、-OP(O)(S⁻)O⁻、-OP(O)(O⁻)S⁻和-OP(OR⁷)O⁻。在一些实施方案中, R^1 选自-OP(O)(OR⁷)O⁻、-OP(S)(OR⁷)O⁻、-OP(O)(O⁻)O⁻、-OP(S)(O⁻)O⁻、-OP(O)(S⁻)O⁻和-OP(OR⁷)O⁻。在一些实施方案中, R^2 选自被一个或多个取代基取代的 C_{1-3} 烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中, R^2 选自被一个或多个取代基取代的 C_{1-3} 烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷和-N(R⁷)₂。在一些实施方案中, R^2 选自被一个或多个取代基取代的 C_{1-3} 烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。在一些实施方案中, R^3 选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中, R^3 选自-OR⁷、-SR⁷、-OC(O)R⁷和-N(R⁷)₂。在一些实施方案中, R^3 选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。在一些实施方案中, R^4 选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中, R^4 选自-OR⁷、-SR⁷、-OC(O)R⁷和-N(R⁷)₂。在一些实施方案中, R^4 选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。在一些实施方案中, R^5 选自-OC(O)R⁷、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂和-N(R⁷)C(O)OR⁷。在一些实施方案中, R^5 选自-OC(O)R⁷和-N(R⁷)C(O)R⁷。在一些实施方案中, 每个 R^7 独立地选自: 氢; 和任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂、=O、=S、-O- C_{1-6} 烷基、-S- C_{1-6} 烷基、-N(C_{1-6} 烷基)₂、-NH(C_{1-6} 烷基)、 C_{3-10} 碳环或3元至10元杂环。在一些实施方案中, 每个 R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂、=O、=S、-O- C_{1-6} 烷基、-S- C_{1-6} 烷基、-N(C_{1-6} 烷基)₂和-NH(C_{1-6} 烷基)。在一些实施方案中, 每个 R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH和-SH。在一些实施方案中, w 是1; v 是1; n 是2; m 是1或2; z 为3并且 Y 为C; Q 是苯基或环己基, 其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂和 C_{1-3} 烷基; R^1 选自-OP(O)(OR⁷)O⁻、-OP(S)(OR⁷)O⁻、-OP(O)(O⁻)O⁻、-OP(S)(O⁻)O⁻、-OP(O)(S⁻)O⁻和-OP(OR⁷)O⁻; R^2 是被-OH或-OC(O)CH₃取代的 C_1 烷基;

[0037] R^3 是-OH或-OC(O)CH₃; R^4 是-OH或-OC(O)CH₃; 并且 R^5 是-NH(O)CH₃。在一些实施方案

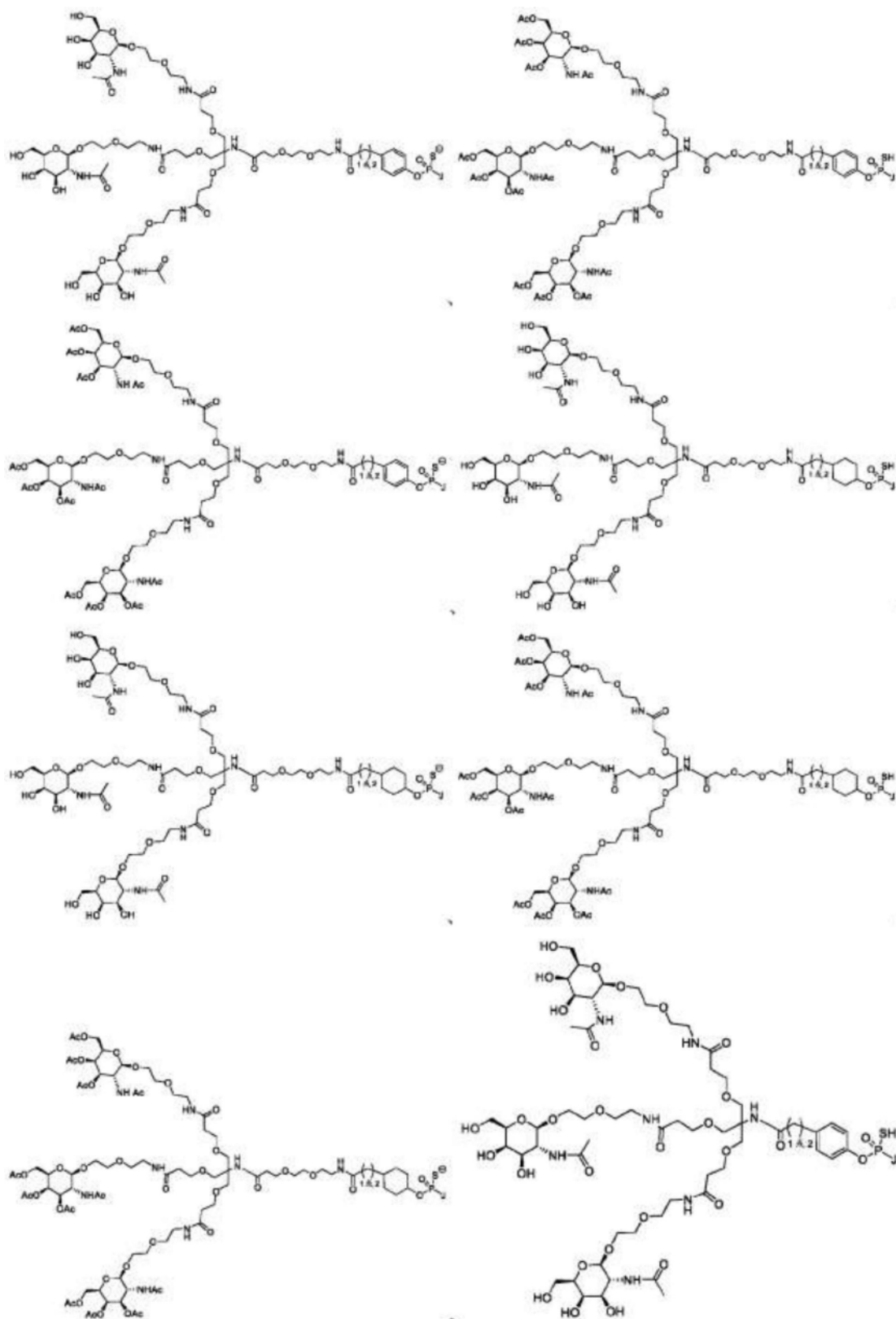
中,该化合物包括:



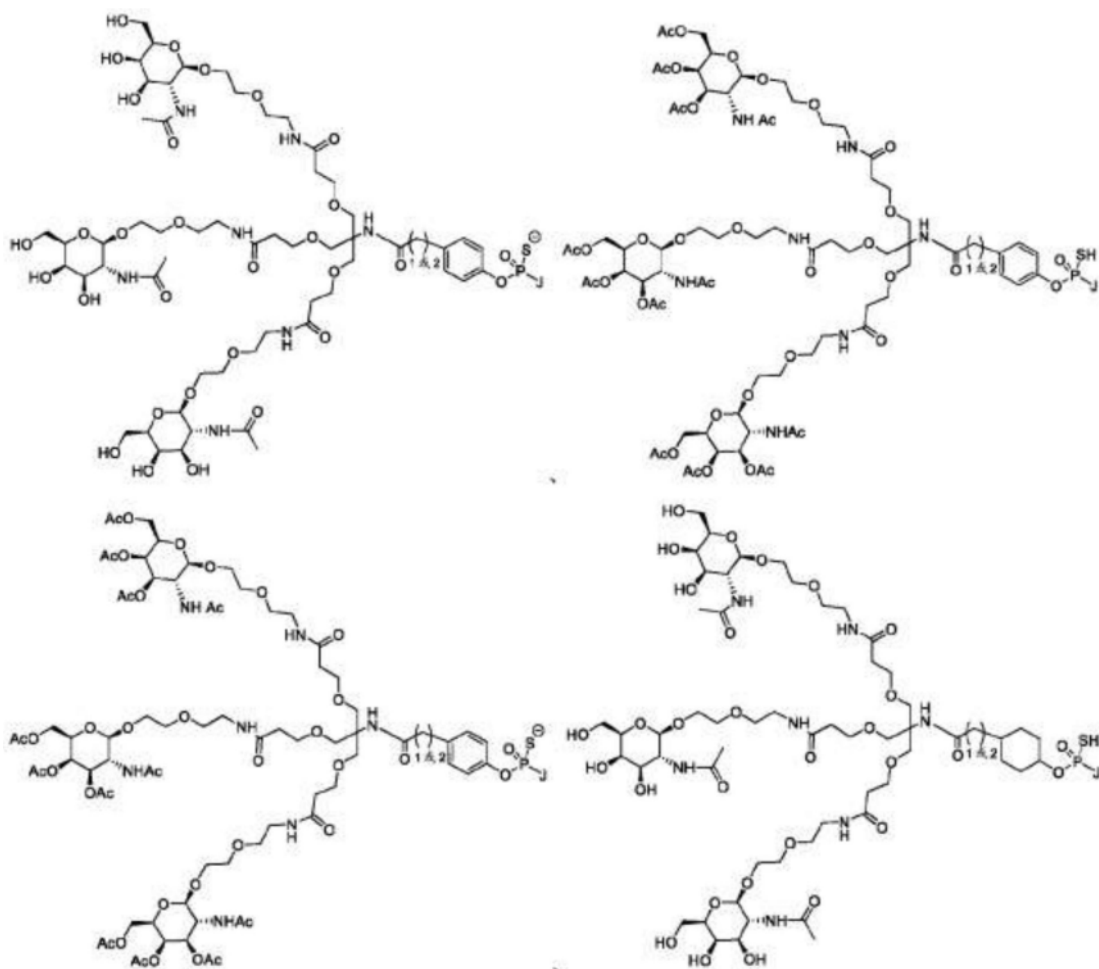
[0038]

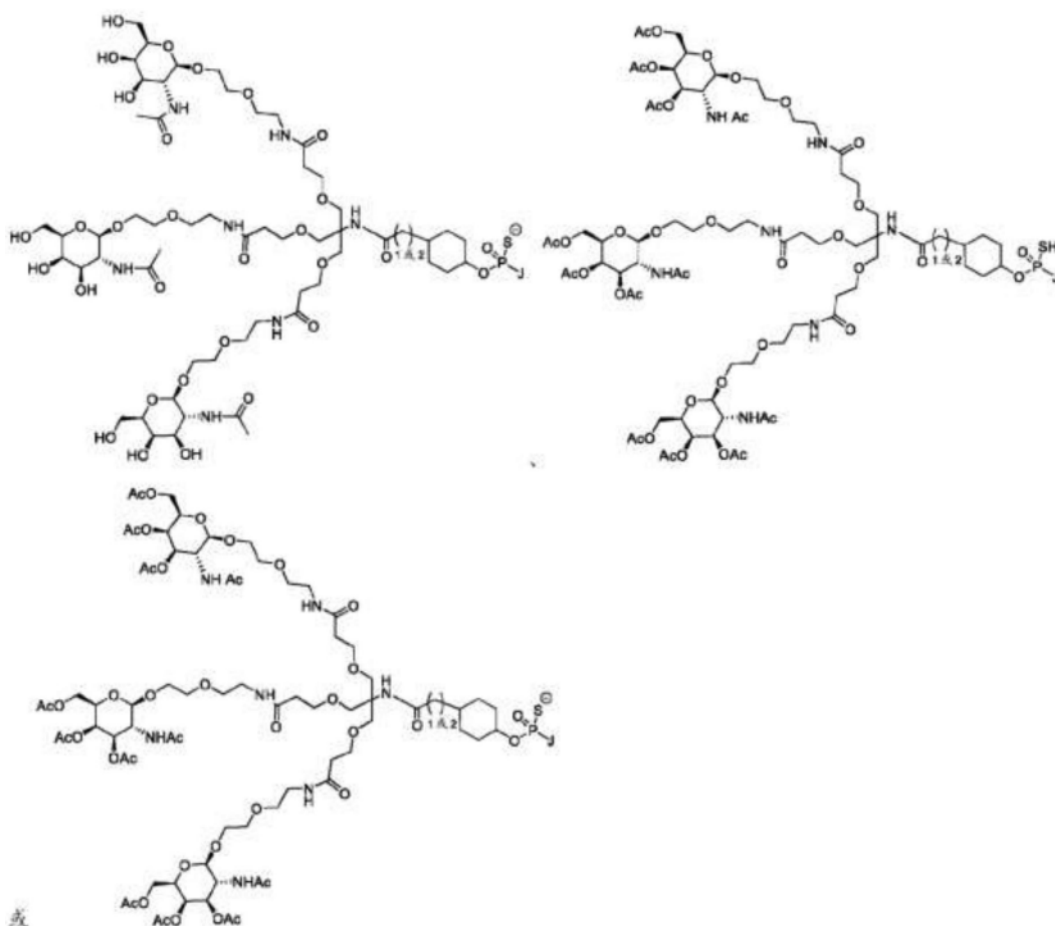


[0040]



[0041]



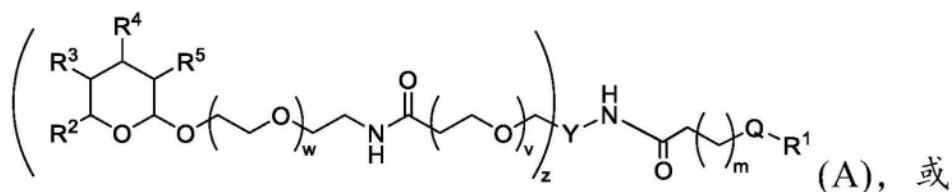


[0043] 在一些实施方案中,寡核苷酸(J)在寡核苷酸的5'端或3'端处附接。在一些实施方案中,寡核苷酸包括DNA。在一些实施方案中,寡核苷酸包括RNA。在一些实施方案中,寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,一个或多个经修饰的核苷间键联包括烷基磷酸酯、硫代磷酸酯、甲基磷酸酯、二硫代磷酸酯、烷基硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、氨基甲酸酯、碳酸酯、磷酸三酯、乙酰亚胺酯或羧甲基酯,或其组合。在一些实施方案中,寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷。在一些实施方案中,一个或多个经修饰的核苷包括锁核酸(LNA)、己糖醇核酸(HLA)、环己烯核酸(CeNA)、2'-甲氧基乙基、2'-O-烷基、2'-O-烯丙基、2'-O-烯丙基、2'-氟或2'-脱氧,或其组合。在一些实施方案中,一个或多个经修饰的核苷包括2',4'-受约束乙基核苷、2'-O-甲基核苷、2'-脱氧氟核苷、2'-O-N-甲基乙酰氨基(2'-O-NMA)核苷、2'-O-二甲基氨基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)核苷、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)核苷、2'-ara-F、2'-氟或2'-O-烷基或其组合。在一些实施方案中,寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或更多个经修饰的核苷。在一些实施方案中,寡核苷酸包含在所述寡核苷酸的3'端或5'末端处附接的脂质。在一些实施方案中,脂质包括胆固醇、肉豆蔻酰、棕榈酰、硬脂酰、石胆酰、二十二烷酰、二十二碳六烯酰、肉豆蔻基、棕榈基、硬脂基或 α -生育酚,或其组合。在一些实施方案中,寡核苷酸包含在所述寡核苷酸的3'端或5'末端处附接的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)肽。在一些实施方案中,RGD肽包括环状(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Cys)、环状(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys)、环状(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-叠氮基)、氨基苯甲酸衍生的RGD,或其组合。

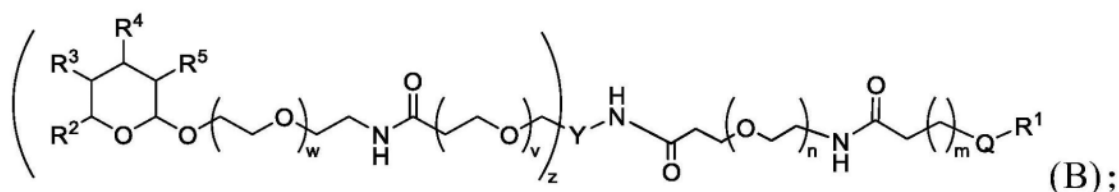
在一些实施方案中,寡核苷酸包括包含有义链和反义链的小干扰RNA(siRNA)。在一些实施方案中,有义链的长度为12-30个核苷。在一些实施方案中,反义链的长度为12-30个核苷。在一些实施方案中,有义链和反义链形成双链RNA双螺旋。在一些实施方案中,双链RNA双螺旋的第一碱基对是AU碱基对。在一些实施方案中,有义链或反义链包含3' 突出端。在一些实施方案中,3' 突出端包含1、2或更多的核苷。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S至6S或1S#2至6S#2中的任意一种。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式1AS至9AS中的任意一种。在一些实施方案中,寡核苷酸包含反义寡核苷酸(ASO)。在一些实施方案中,ASO的长度为12-30个核苷。在一些实施方案中,ASO包含修饰模式ASO1。在一些实施方案中,该化合物与脱唾液酸糖蛋白受体结合。在一些实施方案中,该化合物靶向肝细胞。本文公开了一种药物组合物,该药物组合物包含本文所述的任一种化合物和药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。在一些实施方案中,药物组合物是无菌的。在一些实施方案中,药物组合物包含药学上可接受的载剂。在一些实施方案中,药学上可接受的载剂包括水、缓冲剂或生理盐水。在一些实施方案中,寡核苷酸靶向靶mRNA,并且当以有效量向对象施用,使靶mRNA或靶蛋白减少至少10%。

[0044] 本文公开了一种减少有需要的对象的靶mRNA或靶蛋白的方法,该方法包括施用有效量的本文描述的任一化合物的药物组合物。在一些实施方案中,有效量使对象的靶mRNA或靶蛋白的测量值相对于基线靶mRNA或靶蛋白测量值而言降低。在一些实施方案中,有效量治疗对象的病症。在一些实施方案中,有效量使对象的与病症相关的症状或参数的测量值相对于基线症状或参数测量值而言降低。在一些实施方案中,对象的与病症相关的症状或参数的测量值减少至少10天。在一些实施方案中,对象的与病症相关的症状或参数的测量值减少至少100天。在一些实施方案中,病症为代谢性病症。在一些实施方案中,病症为肝脏病症。

[0045] 本文公开了一种由式(A)或(B)表示的化合物:



[0046]



[0047] 或其盐,其中

[0048] 每个w独立地选自1至20的任何值;

[0049] 每个v独立地选自1至20的任何值;

[0050] n选自1至20的任何值;

[0051] m选自1至20的任何值;

[0052] z选自1至3的任何值,其中

[0053] 如果z为3,则Y为C

[0054] 如果 z 为2,则 Y 为 CR^6 ,或者

[0055] 如果 z 为1,则 Y 为 $C(R^6)_2$;

[0056] Q 选自:

[0057] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{3-10} 碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-S(O)R^7$ 和 C_{1-6} 烷基,其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 和 $-NH_2$;

[0058] R^1 选自:

[0059] $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-S(O)R^7$ 、 $-S(O)_2R^7$ 、 $-OS(O)_2R^7$ 、 $-OP(O)(OR^7)_2$ 、 $-OP(S)(OR^7)_2$ 、 $-SP(O)(OR^7)_2$ 、 $-OP(O)(SR^7)(OR^7)$ 、 $-OP(O)(OR^7)N(R^7)_2$ 、 $-OP(S)(OR^7)N(R^7)_2$ 、 $-SP(O)(OR^7)N(R^7)_2$ 、 $-OP(O)(SR^7)N(R^7)_2$ 、 $-OP(O)(N(R^7)_2)_2$ 、 $-OP(S)(N(R^7)_2)_2$ 、 $-SP(O)(N(R^7)_2)_2$ 、 $-OP(OR^7)_2$ 、 $-SP(OR^7)_2$ 、 $-OP(OR^7)(SR^7)$ 、 $-OP(OR^7)N(R^7)_2$ 、 $-OP(SR^7)N(R^7)_2$ 、 $-SP(OR^7)N(R^7)_2$ 、 $-OP(N(R^7)_2)_2$ 和 $-SP(N(R^7)_2)_2$;

[0060] 每个 R^2 独立地选自:

[0061] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0062] R^3 和 R^4 各自独立地选自:

[0063] $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0064] 每个 R^5 独立地选自:

[0065] $-OC(O)R^7$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 和 $-C(O)N(R^7)_2$;

[0066] 每个 R^6 独立地选自:

[0067] 氢;

[0068] 卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;以及

[0069] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0070] 每个 R^7 独立地选自:

[0071] 氢;

[0072] C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环;以及

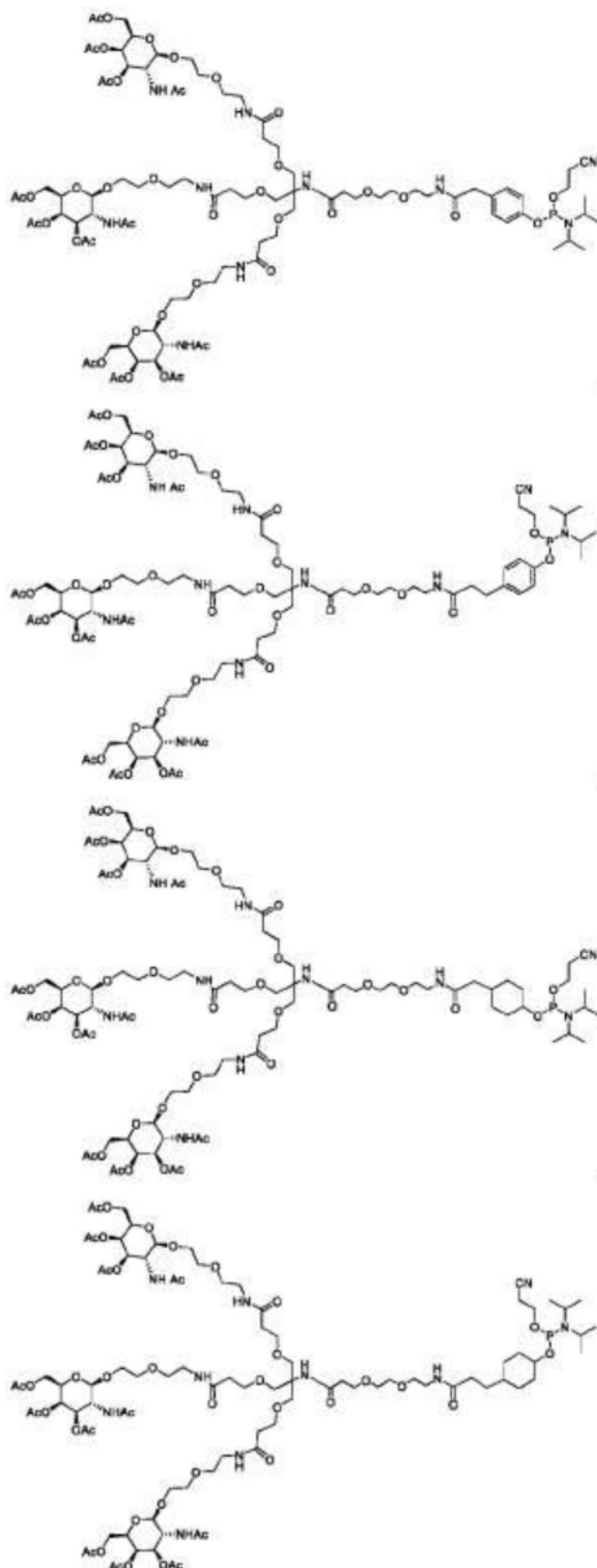
[0073] C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$

烷基、-N(C₁₋₆烷基)₂、-NH(C₁₋₆烷基)、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₃₋₁₀碳环、3元至10元杂环和C₁₋₆卤代烷基。

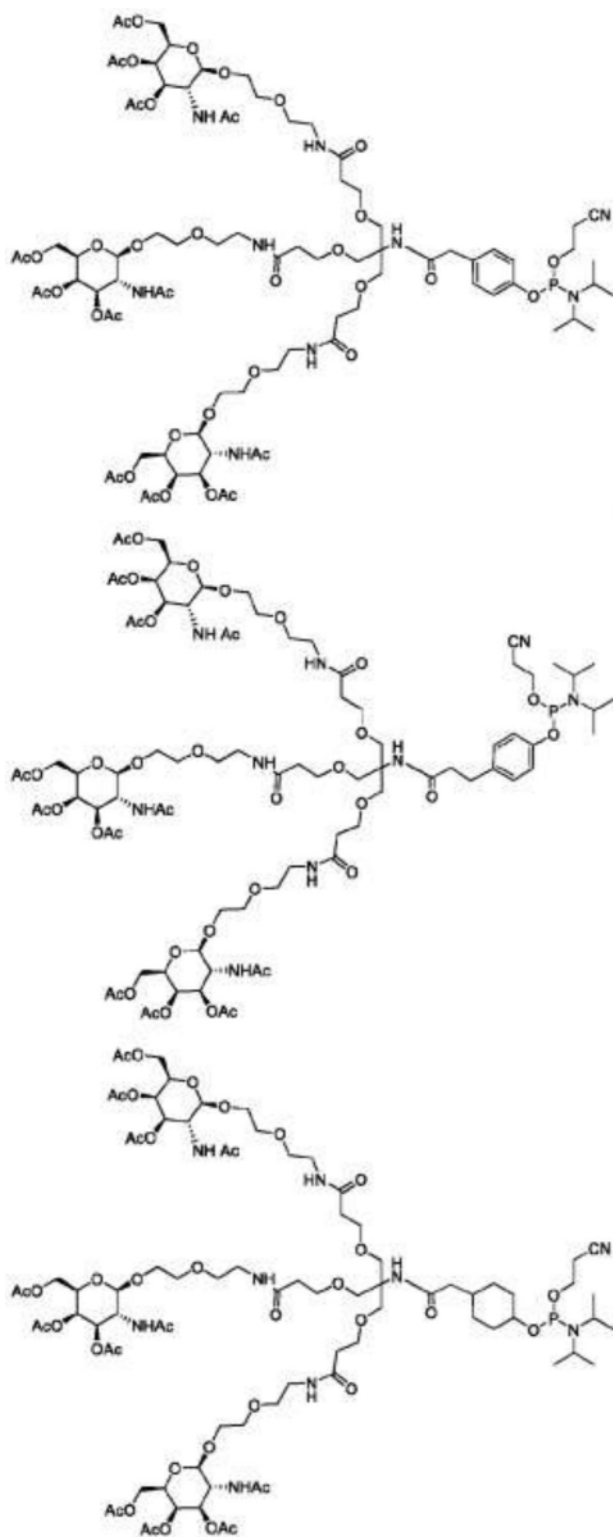
[0074] 在一些实施方案中,每个w独立地选自1至10的任何值。在一些实施方案中,每个w独立地选自1至5的任何值。在一些实施方案中,每个w为1。在一些实施方案中,每个v独立地选自1至10的任何值。在一些实施方案中,每个v独立地选自1至5的任何值。在一些实施方案中,每个v为1。在一些实施方案中,n选自1至10的任何值。在一些实施方案中,n选自1至5的任何值。在一些实施方案中,n为2。在一些实施方案中,m选自1至10的任何值。在一些实施方案中,m选自1至5的任何值。在一些实施方案中,m选自1和2。在一些实施方案中,z为3且Y为C。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₅₋₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₅₋₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自苯基和环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自苯基。在一些实施方案中,Q选自环己基。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)₂、-OP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(OR⁷)₂、-OP(OR⁷)N(R⁷)₂和-OP((NR⁷)₂)₂。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)₂和-OP(OR⁷)N(R⁷)₂。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OCH₂CH₃)OH和-OP(OCH₂CH₂CN)N(CH(CH₃)₂)₂。在一些实施方案中,R¹为-OP(OCH₂CH₂CN)N(CH(CH₃)₂)₂。在一些实施方案中,R²选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,R²选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基,所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷和-N(R⁷)₂。在一些实施方案中,R²选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基,所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。在一些实施方案中,R³选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,R³选自-OR⁷、-SR⁷、-OC(O)R⁷和-N(R⁷)₂。在一些实施方案中,R³选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。在一些实施方案中,R⁴选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,R⁴选自-OR⁷、-SR⁷、-OC(O)R⁷和-N(R⁷)₂。在一些实施方案中,R⁴选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。在一些实施方案中,R⁵选自-OC(O)R⁷、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂和-N(R⁷)C(O)OR⁷。在一些实施方案中,R⁵选自-OC(O)R⁷和-N(R⁷)C(O)R⁷。在一些实施方案中,每个R⁷独立地选自:氢;以及任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂、=O、=S、-O-C₁₋₆烷基、-S-C₁₋₆烷基、-N(C₁₋₆烷基)₂、-NH(C₁₋₆烷基)、C₃₋₁₀碳环,或3至10元杂环。在一些实施方案中,每个R⁷独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂、=O、=S、-O-C₁₋₆烷基、-S-C₁₋₆烷基、-N(C₁₋₆烷基)₂和-NH(C₁₋₆烷基)。在一些实施方案中,每个R⁷独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH和-SH。在一些实施方案中,w为1;v为1;n为2;m为1或2;z为3且Y为C;Q为苯基或环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂、-NH₂和C₁₋₃烷基;R¹选自-OP(O)(OR⁷)₂和-OP(OR⁷)N(R⁷)₂;R²为被-OH或-OC(O)CH₃取代的C₁烷基;R³为-OH或-OC(O)CH₃;R⁴为-OH或-OC(O)CH₃;并

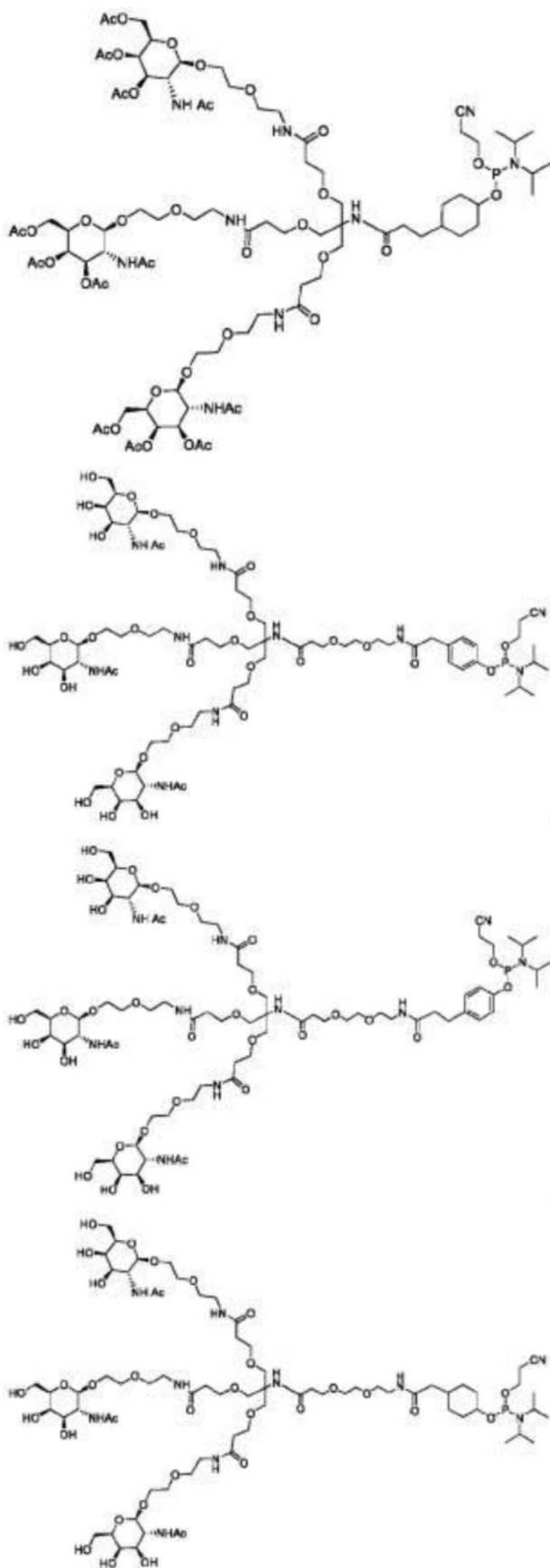
且R⁵为-NH(O)CH₃。在一些实施方案中,该化合物包括:

[0075]



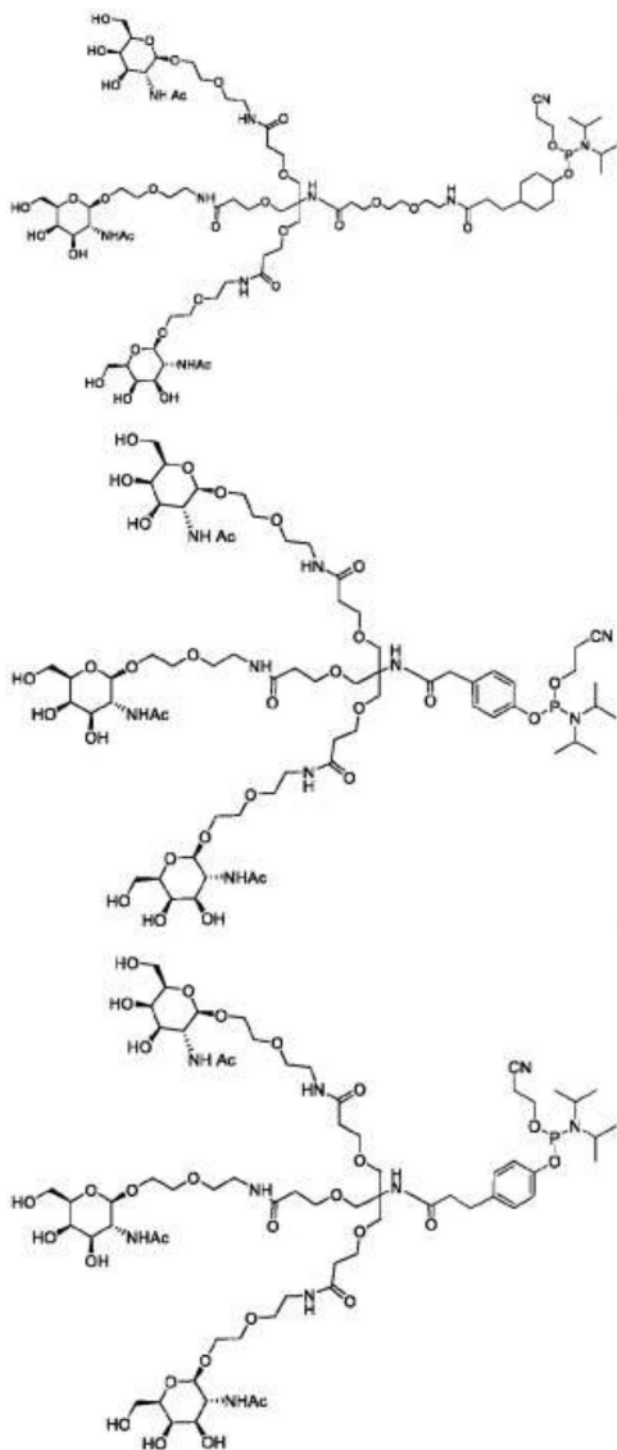
[0076]



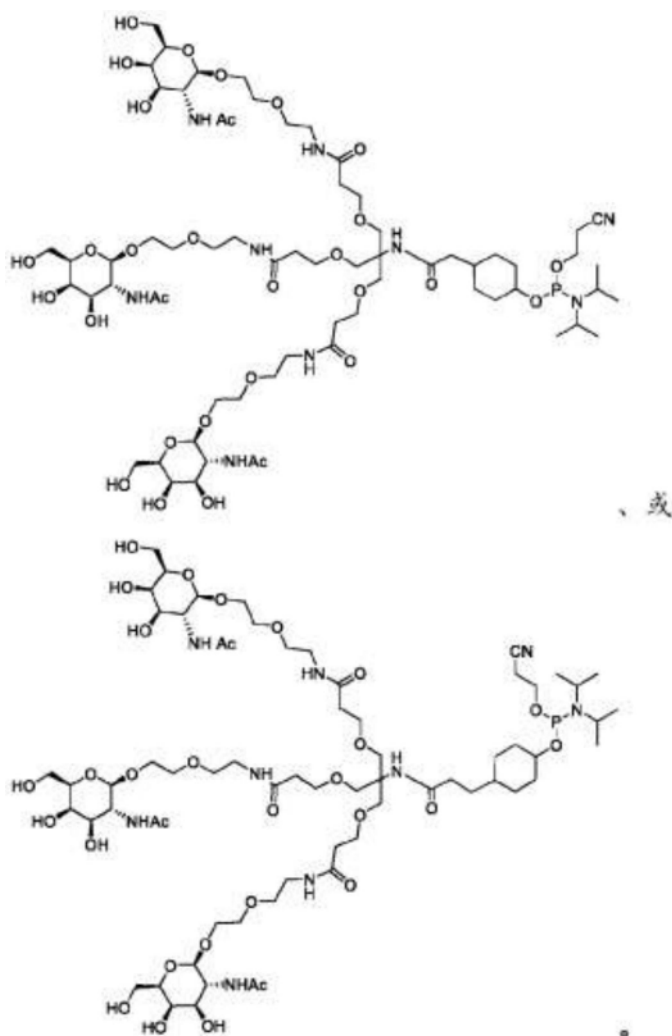


[0077]

[0078]



[0079]



具体实施方式

[0080] N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 是半乳糖的氨基糖衍生物。GalNAc 和含 GalNAc 的部分可以结合凝集素, 如脱唾液酸糖蛋白受体。这些受体可存在于肝细胞上。因此, GalNAc 可以将寡核苷酸靶向至肝细胞或肝脏。

[0081] 本文提供了 GalNAc 部分。这些 GalNAc 部分可以与寡核苷酸 (如小干扰 RNA (siRNA) 或反义寡核苷酸 (ASO)) 缀合。与 GalNAc 部分缀合的寡核苷酸可以施用至对象, 靶向肝脏或肝细胞, 或用于治疗对象的肝脏相关病症。

[0082] I. 组合物

[0083] 在一些实施方案中, 本文提供了包含寡核苷酸和 N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 部分的组合物。在一些实施方案中, 组合物包含寡核苷酸。该寡核苷酸可以抑制靶基因或寡核苷酸。该寡核苷酸可以结合靶寡核苷酸。在一些实施方案中, 组合物用于本文描述的方法中。

[0084] 在一些实施方案中, 本文提供了包含寡核苷酸和 GalNAc 部分的化合物。在一些实施方案中, 该化合物包含寡核苷酸。该寡核苷酸可以与靶寡核苷酸结合。在一些实施方案中, 该化合物用于本文描述的方法中。在一些实施方案中, 该化合物包含在本文描述的组合物中。

[0085] 本文描述的化合物或组合物的寡核苷酸可以包含小干扰 RNA (siRNA) 或反义寡核

苷酸 (ASO)。

[0086] 一些实施方案包括一种组合物,其包含GalNAc部分和寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时降低对象的细胞、液体或组织中靶mRNA或蛋白质水平。一些实施方案包括一种组合物,包含GalNAc部分和寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时降低肝组织或肝细胞中的靶mRNA或蛋白质水平。在一些实施方案中,组合物包含GalNAc部分和寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时降低细胞或组织中靶标(例如mRNA)的水平。在一些实施方案中,该细胞为肝细胞。在一些实施方案中,该组织为肝组织。一些实施方案包括一种组合物,其包含GalNAc部分和寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时降低肝组织中的靶mRNA水平。一些实施方案包括一种组合物,其包含GalNAc部分和寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时降低肝细胞中的靶mRNA水平。

[0087] 在一些实施方案中,相对于其他细胞类型,靶寡核苷酸水平的降低是特异性针对肝细胞的。在一些实施方案中,相对于其他细胞类型,靶RNA水平的降低是特异性针对肝细胞的。在一些实施方案中,相对于其他细胞类型,靶mRNA水平的降低是特异性针对肝细胞的。在一些实施方案中,相对于其他细胞类型,靶蛋白水平的降低是特异性针对肝细胞的。在一些实施方案中,相对于其他细胞类型,靶寡核苷酸水平的降低是特异性针对肝组织的。在一些实施方案中,相对于其他细胞类型,靶RNA水平的降低是特异性针对肝脏的。在一些实施方案中,相对于其他细胞类型,靶mRNA水平的降低是特异性针对肝脏的。在一些实施方案中,相对于其他细胞类型,靶蛋白水平的降低是特异性针对肝脏的。

[0088] 在一些实施方案中,组合物包含GalNAc部分和与靶寡核苷酸结合的寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时降低细胞或组织中靶寡核苷酸的水平。在一些实施方案中,靶寡核苷酸水平相较于施用前降低约2.5%或更多、约5%或更多、或约7.5%或更多。在一些实施方案中,靶寡核苷酸水平相较于施用前降低约10%或更多。在一些实施方案中,靶寡核苷酸水平相较于施用前降低约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多或约100%。在一些实施方案中,靶寡核苷酸水平相较于施用前降低不超过约2.5%、不超过约5%或不超过约7.5%。在一些实施方案中,靶寡核苷酸水平相较于施用前降低不超过约10%。在一些实施方案中,靶寡核苷酸水平相较于施用前降低不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%或不超过约100%。在一些实施方案中,靶寡核苷酸水平降低2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或降低的范围由上述百分比中的任意两个定义。

[0089] 在一些实施方案中,组合物包含GalNAc部分和与靶mRNA结合的寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时降低细胞或组织中靶mRNA的水平。在一些实施方案中,靶mRNA水平相较于施用前降低约2.5%或更多、约5%或更多、或约7.5%或更多。在一些实施方案中,靶mRNA水平相较于施用前降低约10%或更多。在一些实施方案中,靶mRNA水平相较于施用前降低约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多、或约100%。在一些实施方案中,靶mRNA水平相较于施用前降低不超过约2.5%、不超过约5%或不超过约7.5%。在一些实施方案中,靶mRNA水平相较于施用前降低不超过约10%。在一些实施方案中,靶mRNA水平相较于施用前

降低不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%或不超过约100%。在一些实施方案中,靶mRNA水平降低2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或降低的范围由上述百分比中的任意两个定义。

[0090] 在一些实施方案中,组合物包含GalNAc部分和与编码靶蛋白的寡核苷酸结合的寡核苷酸,该组合物在以有效量施用于对象时降低细胞或组织中靶蛋白的水平。在一些实施方案中,该细胞为肝细胞。在一些实施方案中,该组织为肝组织。在一些实施方案中,靶蛋白水平相较于施用前降低约2.5%或更多、约5%或更多,或约7.5%或更多。在一些实施方案中,靶蛋白水平相较于施用前降低约10%或更多。在一些实施方案中,靶蛋白水平相较于施用前降低约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多,或约100%。在一些实施方案中,靶蛋白水平相较于施用前降低不超过约2.5%、不超过约5%或不超过约7.5%。在一些实施方案中,靶蛋白水平相较于施用前降低不超过约10%。在一些实施方案中,靶蛋白水平相较于施用前降低不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%或不超过约100%。在一些实施方案中,靶蛋白水平降低2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或降低的范围由上述百分比中的任意两个定义。

[0091] 在一些实施方案中,组合物包含GalNAc部分和与靶寡核苷酸(例如mRNA)结合的寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时降低不良表型(例如与靶寡核苷酸相关的疾病症状)。在一些实施方案中,不良表型相较于施用前降低约2.5%或更多、约5%或更多,或约7.5%或更多。在一些实施方案中,不良表型相较于施用前降低约10%或更多。在一些实施方案中,不良表型相较于施用前降低约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多,或约100%。在一些实施方案中,不良表型相较于施用前降低不超过约2.5%、不超过约5%或不超过约7.5%。在一些实施方案中,不良表型相较于施用前降低不超过约10%。在一些实施方案中,不良表型相较于施用前降低不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%或不超过约100%。在一些实施方案中,不良表型降低2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或降低的范围由上述百分比中的任意两个定义。

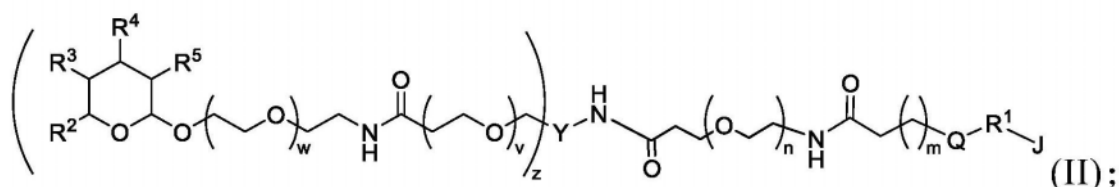
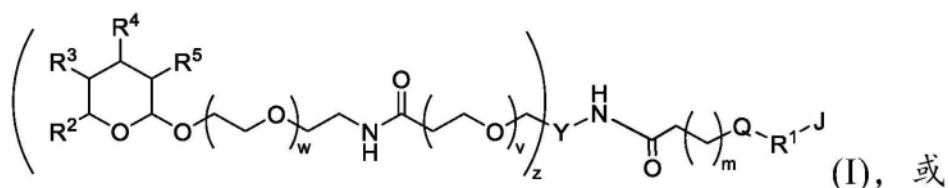
[0092] 在一些实施方案中,组合物包含GalNAc部分和与靶寡核苷酸(例如mRNA)结合的寡核苷酸,该寡核苷酸在以有效量施用于对象时增加保护性表型(例如针对病症的保护)。在一些实施方案中,保护性表型相较于施用前增加约2.5%或更多、约5%或更多,或约7.5%或更多。在一些实施方案中,保护性表型相较于施用前增加约10%或更多。在一些实施方案中,保护性表型相较于施用前增加约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多,或约100%或更多。在一些实施方案中,保护性表型相较于施用前增加约200%或更多、约300%或更多、约400%或

更多、约500%或更多、约600%或更多、约700%或更多、约800%或更多、约900%或更多、或约1000%或更多。在一些实施方案中,保护性表型相较于施用前增加不超过约2.5%、不超过约5%或不超过约7.5%。在一些实施方案中,保护性表型相较于施用前增加不超过约10%。在一些实施方案中,保护性表型相较于施用前增加不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%或不超过约100%。在一些实施方案中,保护性表型相较于施用前增加不超过约200%、不超过约300%、不超过约400%、不超过约500%、不超过约600%、不超过约700%、不超过约800%、不超过约900%或不超过约1000%。在一些实施方案中,保护性表型增加2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、150%、200%、250%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%或1000%,或增加的范围由上述百分比中的任意两个定义。

[0093] A.GalNAc部分和化合物

[0094] 在一些实施方案中,本文提供了包含GalNAc部分的组合物。在一些实施方案中,本方案还提供了包含GalNAc部分和寡核苷酸的组合物。在一些实施方案中,包含GalNAc部分和寡核苷酸的组合物由式(I)或式(II)的化合物描述。在一些实施方案中,式(I)或式(II)中的寡核苷酸为J。在一些实施方案中,式(I)或式(II)中的GalNAc部分是与J结合的分子部分。该寡核苷酸可以包含小干扰RNA(siRNA)或反义寡核苷酸(ASO)。

[0095] 在一些实施方案中,本文提供了由式(I)或(II)表示的化合物:



[0096] 或其盐,其中

[0097] J是寡核苷酸;

[0098] 每个w独立地选自1至20的任何值;

[0099] 每个v独立地选自1至20的任何值;

[0100] n选自1至20的任何值;

[0101] m选自1至20的任何值;

[0102] z选自1至3的任何值,其中

[0103] 如果z为3,则Y为C;

[0104] 如果z为2,则Y为CR⁶,或

[0105] 如果z为1,则Y为C(R⁶)₂;

[0106] Q选自:

[0107] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{3-10} 碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-S(O)R^7$ 和 C_{1-6} 烷基,其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 和 $-NH_2$;

[0108] R^1 是选自以下的接头:

[0109] $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^7)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^7)-$ 、 $-N(R^7)C(O)-$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)-$ 、 $-OC(O)N(R^7)-$ 、 $-N(R^7)C(O)O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、 $-OP(O)(OR^7)O-$ 、 $-SP(O)(OR^7)O-$ 、 $-OP(S)(OR^7)O-$ 、 $-OP(O)(SR^7)O-$ 、 $-OP(O)(OR^7)S-$ 、 $-OP(O)(O^-)O-$ 、 $-SP(O)(O^-)O-$ 、 $-OP(S)(O^-)O-$ 、 $-OP(O)(S^-)O-$ 、 $-OP(O)(O^-)S-$ 、 $-OP(O)(OR^7)NR^7-$ 、 $-OP(O)(N(R^7)_2)NR^7-$ 、 $-OP(OR^7)O-$ 、 $-OP(N(R^7)_2)O-$ 、 $-OP(OR^7)N(R^7)-$ 和 $-OPN(R^7)_2NR^7-$;

[0110] 每个 R^2 独立地选自:

[0111] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0112] R^3 和 R^4 各自独立地选自:

[0113] $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0114] 每个 R^5 独立地选自:

[0115] $-OC(O)R^7$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 和 $-C(O)N(R^7)_2$;

[0116] 每个 R^6 独立地选自:

[0117] 氢;

[0118] 卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;以及

[0119] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;

[0120] 每个 R^7 独立地选自:

[0121] 氢;

[0122] C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环;以及

[0123] C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 碳环、3元至10元杂环和 C_{1-6} 卤代烷基。

[0124] 在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至20的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至15的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至10的任何值。在一些

实施方案中,每个w独立地选自1至5的任何值。在一些实施方案中,每个w独立地选自1至4的任何值。在一些实施方案中,每个w独立地选自1至3的任何值。在一些实施方案中,每个w独立地选自1至2的任何值。在一些实施方案中,每个w独立地为1。在一些实施方案中,w为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0125] 在一些实施方案中,每个v独立地选自1至20的任何值。在一些实施方案中,每个v独立地选自1至15的任何值。在一些实施方案中,每个v独立地选自1至10的任何值。在一些实施方案中,每个v独立地选自1至5的任何值。在一些实施方案中,每个v独立地选自1至4的任何值。在一些实施方案中,每个v独立地选自1至3的任何值。在一些实施方案中,每个v独立地选自1至2的任何值。在一些实施方案中,每个v独立地为1。在一些实施方案中,v为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0126] 在一些实施方案中,n选自1至20的任何值。在一些实施方案中,n选自1至15的任何值。在一些实施方案中,n选自1至10的任何值。在一些实施方案中,n选自1至9的任何值。在一些实施方案中,n选自1至8的任何值。在一些实施方案中,n选自1至7的任何值。在一些实施方案中,n选自1至6的任何值。在一些实施方案中,n选自1至5的任何值。在一些实施方案中,n选自1至4的任何值。在一些实施方案中,n选自2至4的任何值。在一些实施方案中,n选自1至3的任何值。在一些实施方案中,n为2或3。在一些实施方案中,n为3。在一些实施方案中,n选自1至2的任何值。在一些实施方案中,n为2。在一些实施方案中,n为1。在一些实施方案中,n为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0127] 在一些实施方案中,m选自1至20的任何值。在一些实施方案中,m选自1至15的任何值。在一些实施方案中,m选自1至10的任何值。在一些实施方案中,m选自1至9的任何值。在一些实施方案中,m选自1至8的任何值。在一些实施方案中,m选自1至7的任何值。在一些实施方案中,m选自3至7的任何值。在一些实施方案中,m选自1至6的任何值。在一些实施方案中,m选自2至6的任何值。在一些实施方案中,m选自3至6的任何值。在一些实施方案中,m选自4至6的任何值。在一些实施方案中,m为6。在一些实施方案中,m选自1至5的任何值。在一些实施方案中,m选自3至5的任何值。在一些实施方案中,m为5。在一些实施方案中,m为4或5。在一些实施方案中,m选自1至4的任何值。在一些实施方案中,m为4。在一些实施方案中,m为3或4。在一些实施方案中,m选自2至4的任何值。在一些实施方案中,m选自1至3的任何值。在一些实施方案中,m为3。在一些实施方案中,m选自1至2的任何值。在一些实施方案中,m为2。在一些实施方案中,m为1。在一些实施方案中,m为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0128] 在一些实施方案中,z选自1至3的任何值。在一些实施方案中,z为3且Y为C。在一些实施方案中,z为2且Y为CR⁶。在一些实施方案中,z为1且Y为C(R⁶)₂。

[0129] 在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₃₋₁₀碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷和C₁₋₆烷基,其中C₁₋₆烷基任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₃₋₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC

(O)R⁷、-S(O)R⁷和C₁₋₆烷基,其中C₁₋₆烷基任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₅₋₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₅碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₅₋₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自苯基、环己基、环戊二烯和环戊基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自苯基和环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自苯基和环己基。在一些实施方案中,Q为苯基。在一些实施方案中,Q为环己基。

[0130] 在一些实施方案中,R¹是选自以下的接头:-O-、-S-、-N(R⁷)-、-C(O)-、-C(O)N(R⁷)-、-N(R⁷)C(O)-、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)-、-OC(O)N(R⁷)-、-N(R⁷)C(O)O-、-C(O)O-、-OC(O)-、-S(O)-、-S(O)₂-、-OS(O)₂-、-OP(O)(OR⁷)O-、-SP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)S-、-OP(O)(OR⁷)NR⁷-、-OP(O)(N(R⁷)₂)NR⁷-、-OP(OR⁷)O-、-OP(N(R⁷)₂)O-、-OP(OR⁷)N(R⁷)-和-OPN(R⁷)₂NR⁷-。在一些实施方案中,R¹是选自以下的接头:-O-、-S-、-N(R⁷)-、-C(O)-、-C(O)N(R⁷)-、-N(R⁷)C(O)-、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)-、-OC(O)N(R⁷)-、-N(R⁷)C(O)O-、-C(O)O-、-OC(O)-、-S(O)-、-S(O)₂-、-OS(O)₂-、-OP(O)(OR⁷)O-、-SP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)S-、-OP(O)(OR⁷)NR⁷-、-OP(O)(N(R⁷)₂)NR⁷-、-OP(OR⁷)O-、-OP(N(R⁷)₂)O-、-OP(OR⁷)N(R⁷)-和-OPN(R⁷)₂NR⁷-。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-、-SP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)S-、-OP(O)(O⁻)O-、-SP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(O⁻)S-、-OP(O)(OR⁷)NR⁷-、-OP(O)(N(R⁷)₂)NR⁷-、-OP(OR⁷)O-、-OP(N(R⁷)₂)O-、-OP(OR⁷)N(R⁷)-和-OPN(R⁷)₂NR⁷-。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-、-SP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)S-、-OP(O)(O⁻)O-、-SP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(O⁻)S-和-OP(OR⁷)O-。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(O⁻)S-和-OP(OR⁷)O-。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-和-OP(OR⁷)O-。在一些实施方案中,R¹是选自以下的接头:-OP(O)(OH)O-、-SP(O)(OH)O-、-OP(S)(OH)O-、-OP(O)(SH)O-、-OP(O)(OH)S-、-OP(O)(O⁻)O-、-SP(O)(O⁻)O-、-OP(S)(O⁻)O-、-OP(O)(O⁻)S-和-OP(O)(O⁻)S-。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)NR⁷-、-OP(O)(N(R⁷)₂)NR⁷-、-OP(OR⁷)O-、-OP(N(R⁷)₂)O-、-OP(OR⁷)N(R⁷)-和-OPN(R⁷)₂NR⁷-。在一些实施方案中,R¹选自-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-OS(O)₂-、-SP(O)(OR⁷)O-、-OP(S)(OR⁷)O-、-OP(O)(SR⁷)O-、-OP(O)(OR⁷)S-、-SP(O)(O⁻)O-、-OP

(S) (O⁻) O⁻、-OP (O) (S⁻) O⁻和-OP (O) (O⁻) S⁻。在一些实施方案中, R¹选自-S⁻、-S (O) ⁻、-S (O)₂⁻、-OS (O)₂、-SP (O) (OR⁷) O⁻、-OP (S) (OR⁷) O⁻、-OP (O) (SR⁷) O⁻和-OP (O) (OR⁷) S⁻。在一些实施方案中, R¹选自-OP (S) (OR⁷) O⁻、-OP (O) (SR⁷) O⁻和-OP (O) (OR⁷) S⁻。在一些实施方案中, R¹选自-OP (S) (OR⁷) O⁻、-OP (O) (SR⁷) O⁻、-OP (S) (O⁻) O⁻和-OP (O) (S⁻) O⁻。在一些实施方案中, R¹选自-OP (S) (OR⁷) O⁻和-OP (O) (SR⁷) O⁻。在一些实施方案中, R¹选自-OP (O) (OR⁷) O⁻、-OP (OR⁷) N (R⁷) ⁻和-OPN (R⁷)₂O⁻。在一些实施方案中, R¹是-OP (O) (OH) O⁻、-OP (O) (OCH₂CH₃) O⁻、-OP (OCH₂CH₂CN) N (CH (CH₃)₂)₂O⁻或-OPN (CH (CH₃)₂)₂O⁻。在一些实施方案中, R¹选自-OP (O) (OH) O⁻和OP (O) (O⁻) O⁻。在一些实施方案中, R¹包含-O⁻或-S⁻。在一些实施方案中, R¹包含-O⁻。在一些实施方案中, R¹包含-S⁻。在一些实施方案中, R¹是选自-O⁻或-S⁻的接头。在一些实施方案中, R¹是-O⁻。在一些实施方案中, R¹是-S⁻。

[0131] 在一些实施方案中, 每个R²独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N (R⁷)₂、-C (O) R⁷、-C (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) R⁷、-N (R⁷) C (O) N (R⁷)₂、-OC (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) OR⁷、-C (O) OR⁷、-OC (O) R⁷和-S (O) R⁷。在一些实施方案中, 每个R²独立地选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-OC (O) R⁷、-SR⁷、-N (R⁷)₂、-C (O) R⁷和-S (O) R⁷。在一些实施方案中, 每个R²独立地选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷、-OC (O) R⁷、-SR⁷和-N (R⁷)₂。在一些实施方案中, 每个R²独立地选自被一个或多个取代基取代的C₁烷基, 所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷和-OC (O) R⁷。在一些实施方案中, 每个R²独立地选自-CH₂OH和-CH₂OC (O) CH₃。

[0132] 在一些实施方案中, 每个R³独立地选自-OR⁷、-SR⁷、-N (R⁷)₂、-C (O) R⁷、-C (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) R⁷、-N (R⁷) C (O) N (R⁷)₂、-OC (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) OR⁷、-C (O) OR⁷、-OC (O) R⁷和-S (O) R⁷。在一些实施方案中, 每个R³独立地选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N (R⁷)₂、-C (O) R⁷、-OC (O) R⁷和-S (O) R⁷。在一些实施方案中, 每个R³独立地选自-OR⁷、-OC (O) R⁷、-SR⁷和-N (R⁷)₂。在一些实施方案中, 每个R³独立地选自-OR⁷和-OC (O) R⁷。在一些实施方案中, R³独立地选自-OH和-OC (O) CH₃。

[0133] 在一些实施方案中, 每个R⁴独立地选自-OR⁷、-SR⁷、-N (R⁷)₂、-C (O) R⁷、-C (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) R⁷、-N (R⁷) C (O) N (R⁷)₂、-OC (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) OR⁷、-C (O) OR⁷、-OC (O) R⁷和-S (O) R⁷。在一些实施方案中, 每个R⁴独立地选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N (R⁷)₂、-C (O) R⁷、-OC (O) R⁷和-S (O) R⁷。在一些实施方案中, 每个R⁴独立地选自-OR⁷、-OC (O) R⁷、-SR⁷和-N (R⁷)₂。在一些实施方案中, 每个R⁴独立地选自-OR⁷和-OC (O) R⁷。在一些实施方案中, R⁴独立地选自-OH和-OC (O) CH₃。

[0134] 在一些实施方案中, 每个R⁵独立地选自-OC (O) R⁷、-OC (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) R⁷、-N (R⁷) C (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) OR⁷、-C (O) R⁷、-C (O) OR⁷和-C (O) N (R⁷)₂。在一些实施方案中, 每个R⁵选自-OC (O) R⁷、-OC (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) R⁷、-N (R⁷) C (O) N (R⁷)₂和-N (R⁷) C (O) OR⁷。在一些实施方案中, 每个R⁵独立地选自-OC (O) R⁷和-N (R⁷) C (O) R⁷。在一些实施方案中, 每个R⁵独立地选自-N (H) C (O) CH₃。

[0135] 在一些实施方案中, 每个R⁶独立地选自氢、卤素、-CN、-OR⁷、-SR⁷、-N (R⁷)₂、-C (O) R⁷、-C (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) R⁷、-N (R⁷) C (O) N (R⁷)₂、-OC (O) N (R⁷)₂、-N (R⁷) C (O) OR⁷、-C (O) OR⁷、-OC (O) R⁷和-S (O) R⁷; 以及任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基, 所述一个或多个

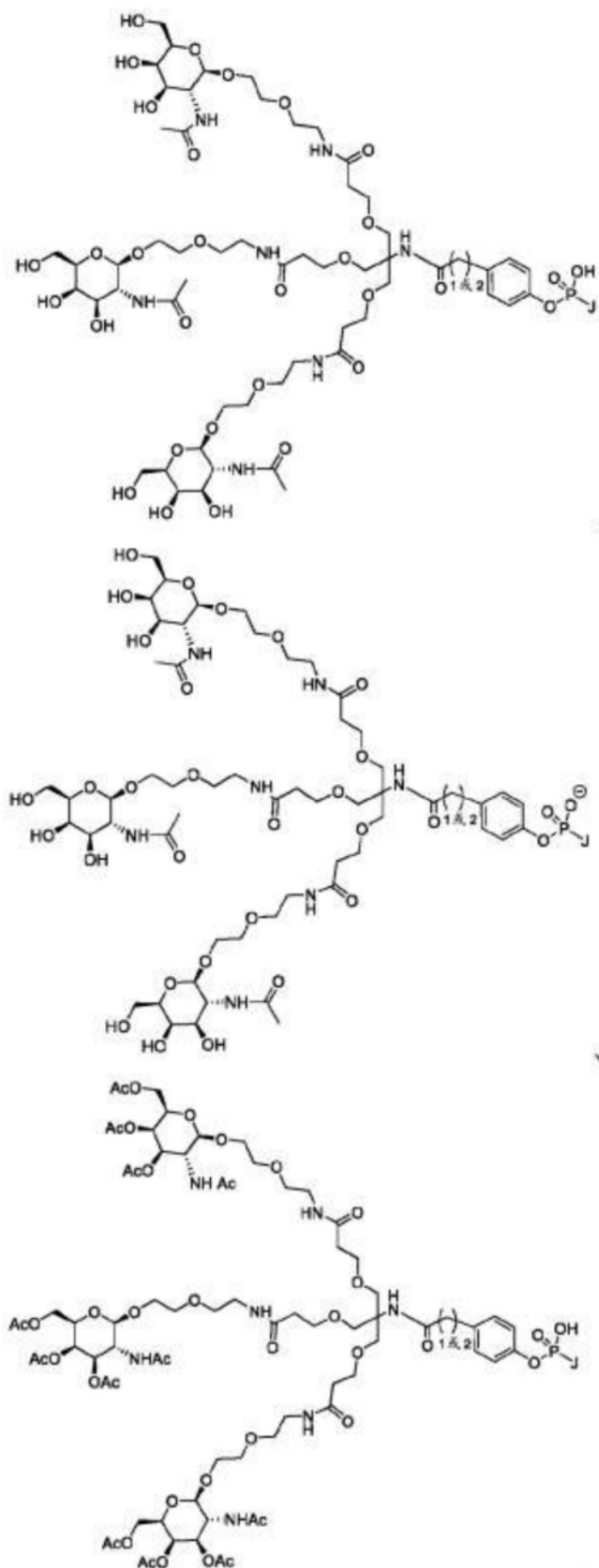
取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 和 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$ 。在一些实施方案中,每个 R^6 独立地选自氢、卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 以及任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 和 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 。在一些实施方案中,每个 R^6 独立地选自氢、卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 。

[0136] 在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自:氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 C_{3-10} 碳环和3至10元杂环;以及 C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 碳环、3至10元杂环和 C_{1-6} 卤代烷基。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自:氢;以及任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 C_{3-10} 碳环、3元至10元杂环。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 和 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 。在一些实施方案中, R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{SH}$ 。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自氢。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-3} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 和 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 。

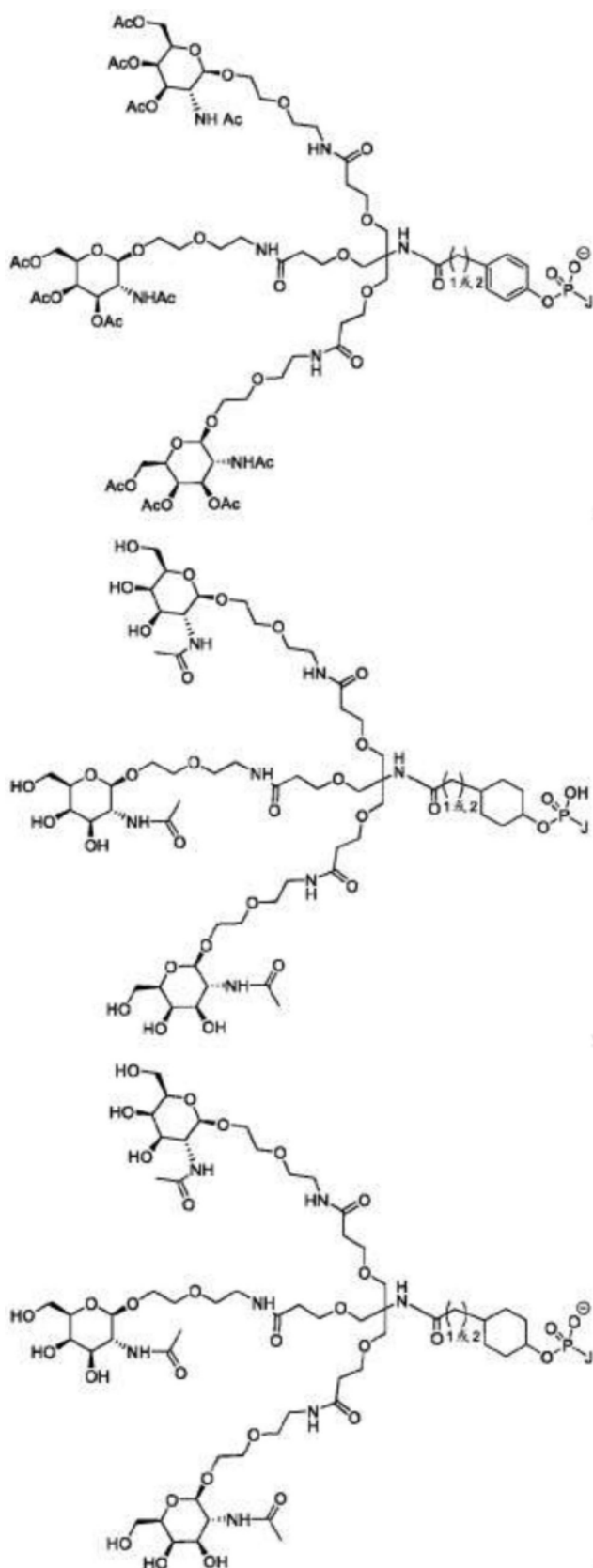
[0137] 在一些实施方案中, w 为1; v 为1; n 为2; m 为1或2; z 为3且 Y 为 C ; Q 为苯基或环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 和 C_{1-3} 烷基; R^1 选自 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^7)\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OR}^7)\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{O}^-)\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{O}^-)\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{S}^-)\text{O}-$ 和 $-\text{OP}(\text{OR}^7)\text{O}-$; R^2 是被 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ 取代的 C_1 烷基; R^3 是 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$; R^4 是 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;并且 R^5 是 $-\text{NH}(\text{O})\text{CH}_3$ 。

[0138] 在一些实施方案中, w 为1; v 为1; n 为2; m 为1或2; z 为3且 Y 为 C ; Q 为苯基或环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 和 C_{1-3} 烷基; R^1 选自 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OH})\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{O}^-)\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{O}^-)\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{S}^-)\text{O}-$ 和 $-\text{OP}(\text{OH})\text{O}-$; R^2 是被 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ 取代的 C_1 烷基; R^3 是 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$; R^4 是 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;并且 R^5 是 $-\text{NH}(\text{O})\text{CH}_3$ 。在一些实施方案中, w 为1; v 为1; n 为2; m 为1或2; z 为3且 Y 为 C ; Q 为苯基或环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 和 C_{1-3} 烷基; R^1 选自 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})\text{O}-$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OH})\text{O}-$ 和 $-\text{OP}(\text{OH})\text{O}-$; R^2 是被 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ 取代的 C_1 烷基; R^3 是 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$; R^4 是 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;并且 R^5 是 $-\text{NH}(\text{O})\text{CH}_3$ 。

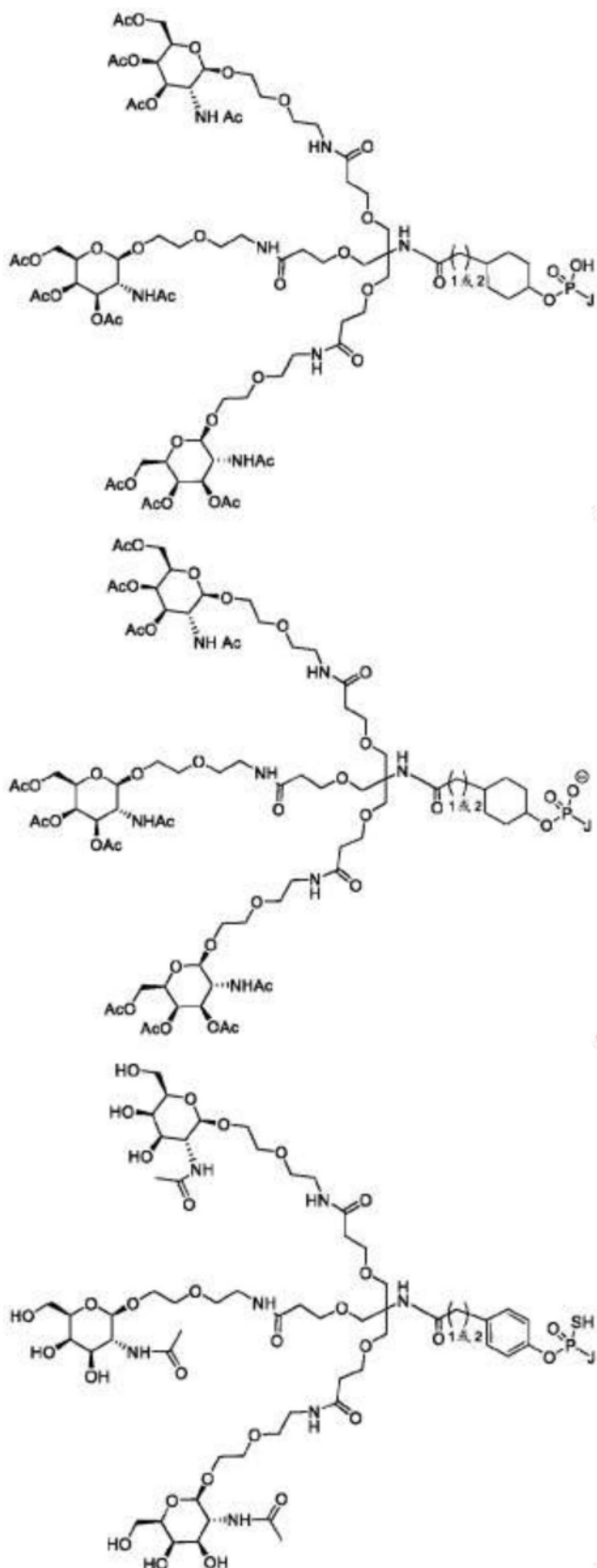
[0139] 在一些实施方案中,式(I)的化合物选自:



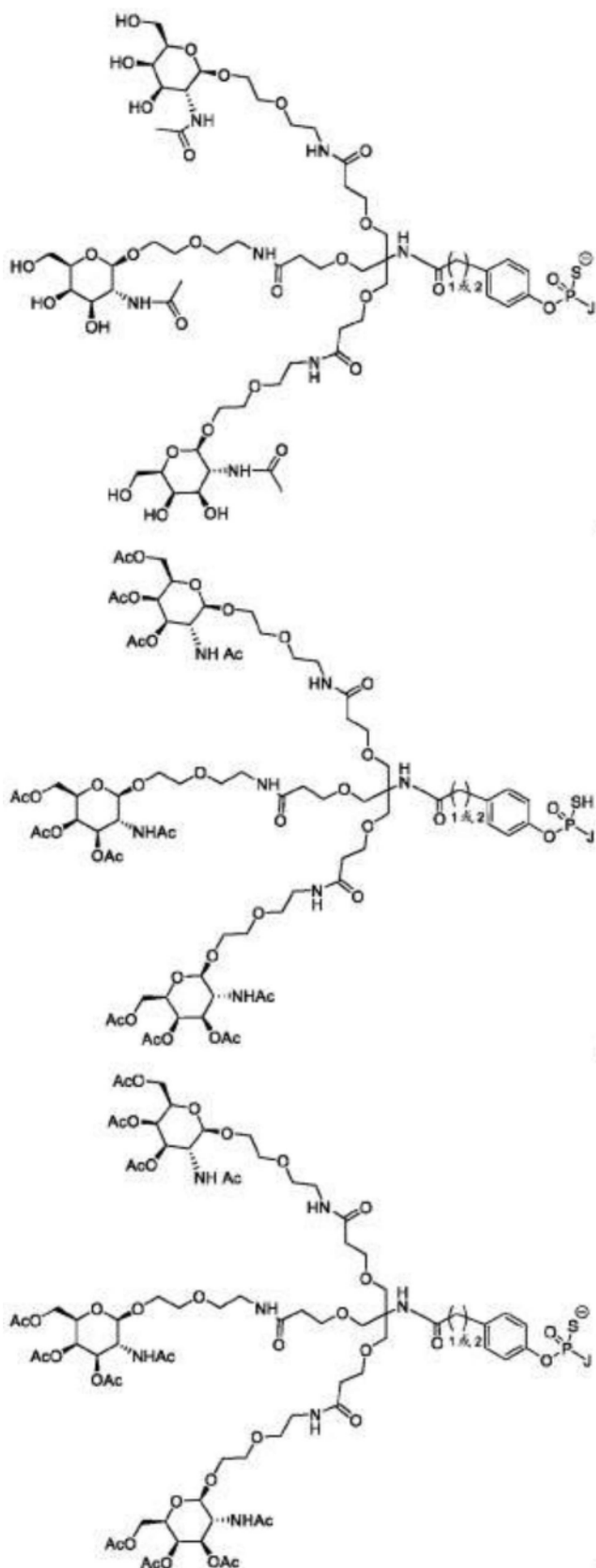
[0141]



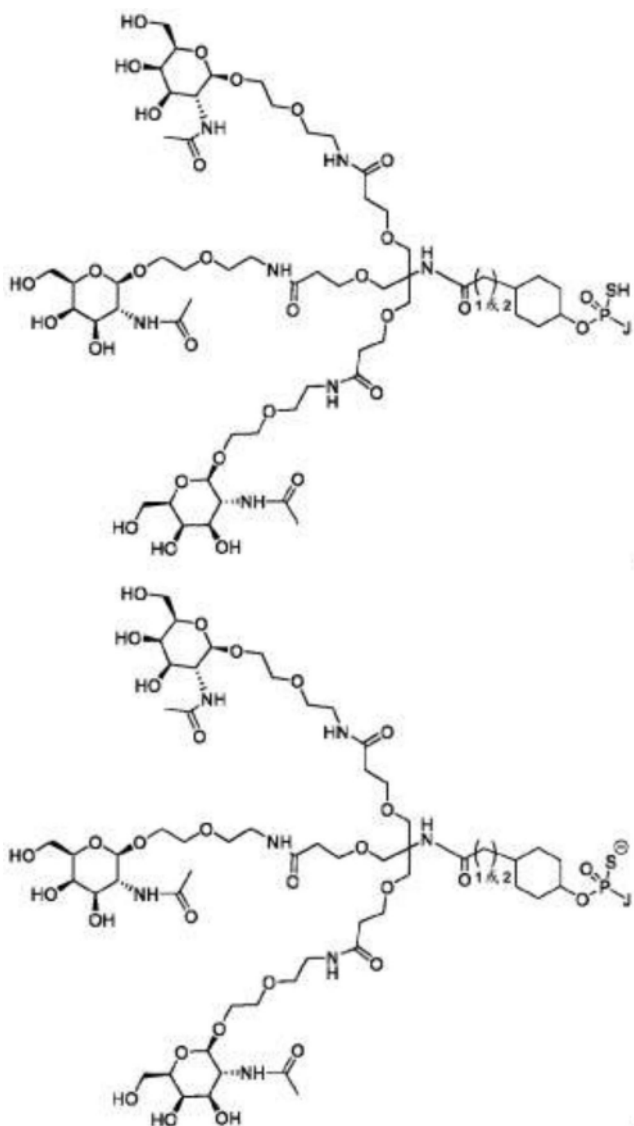
[0142]

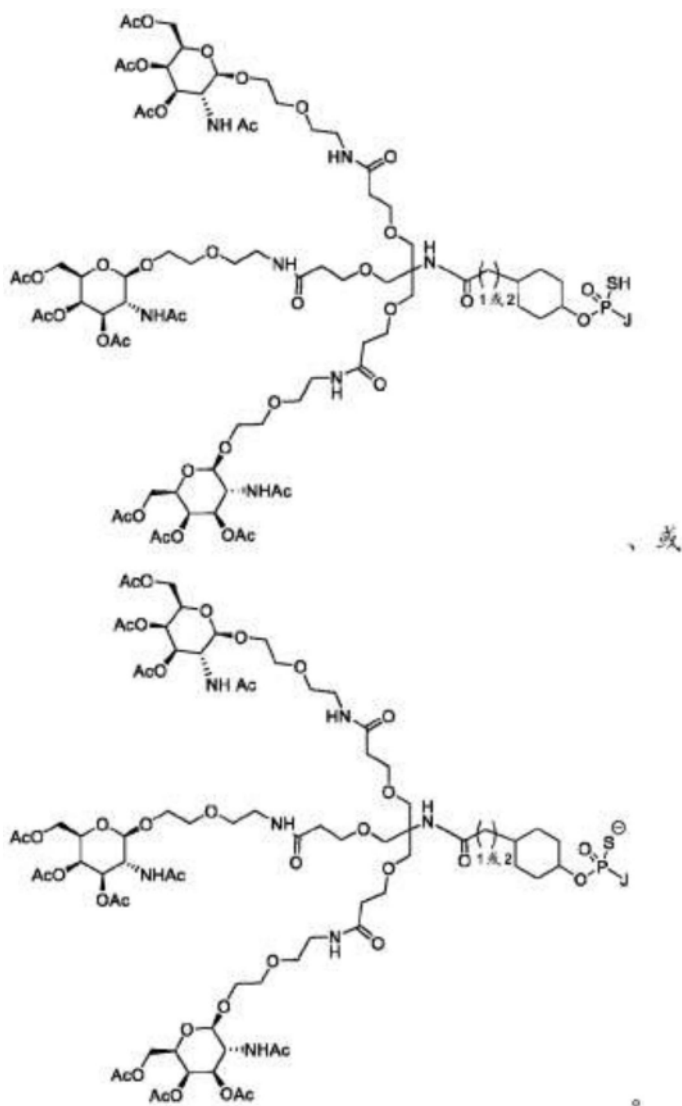


[0143]



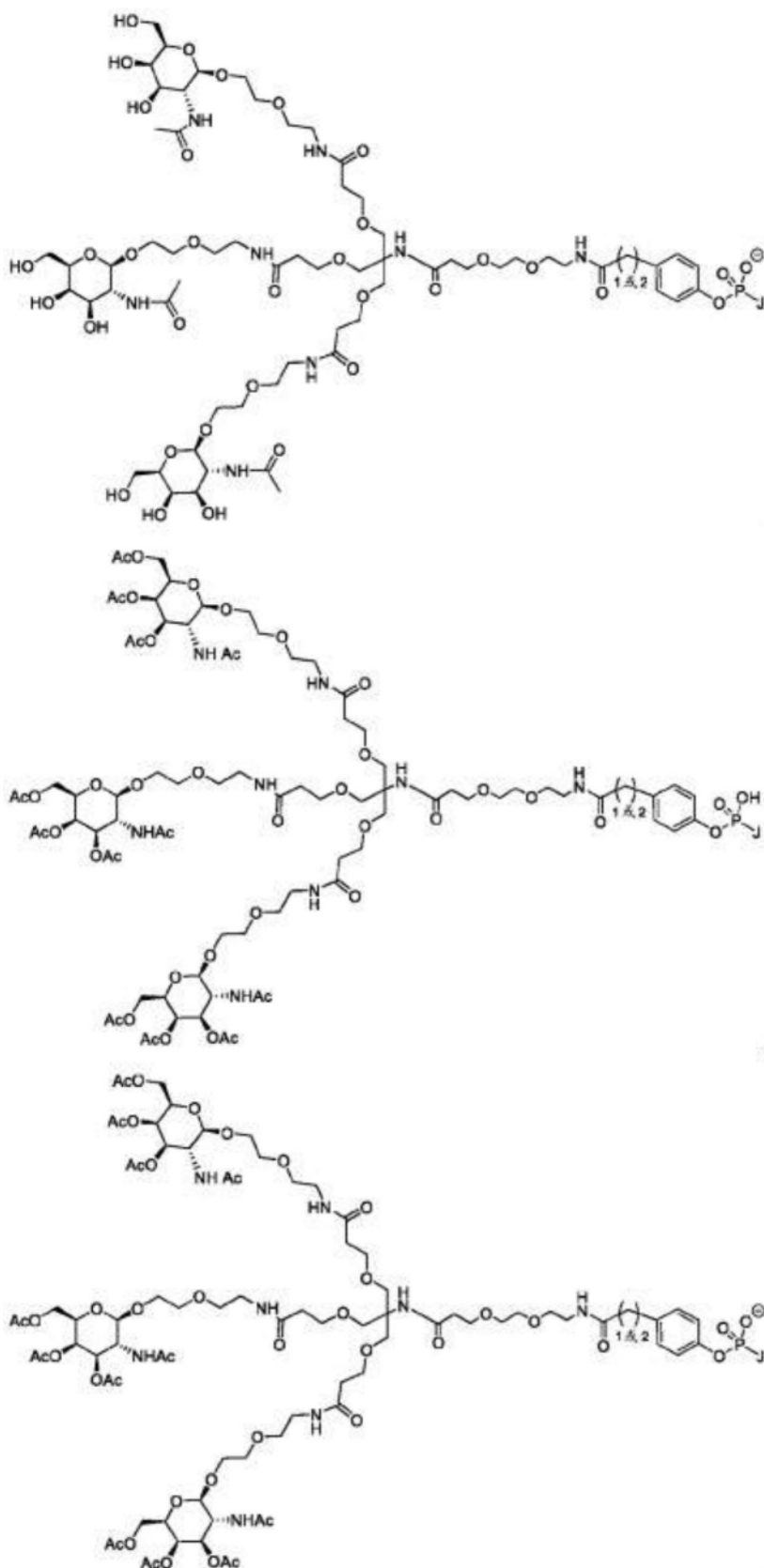
[0144]

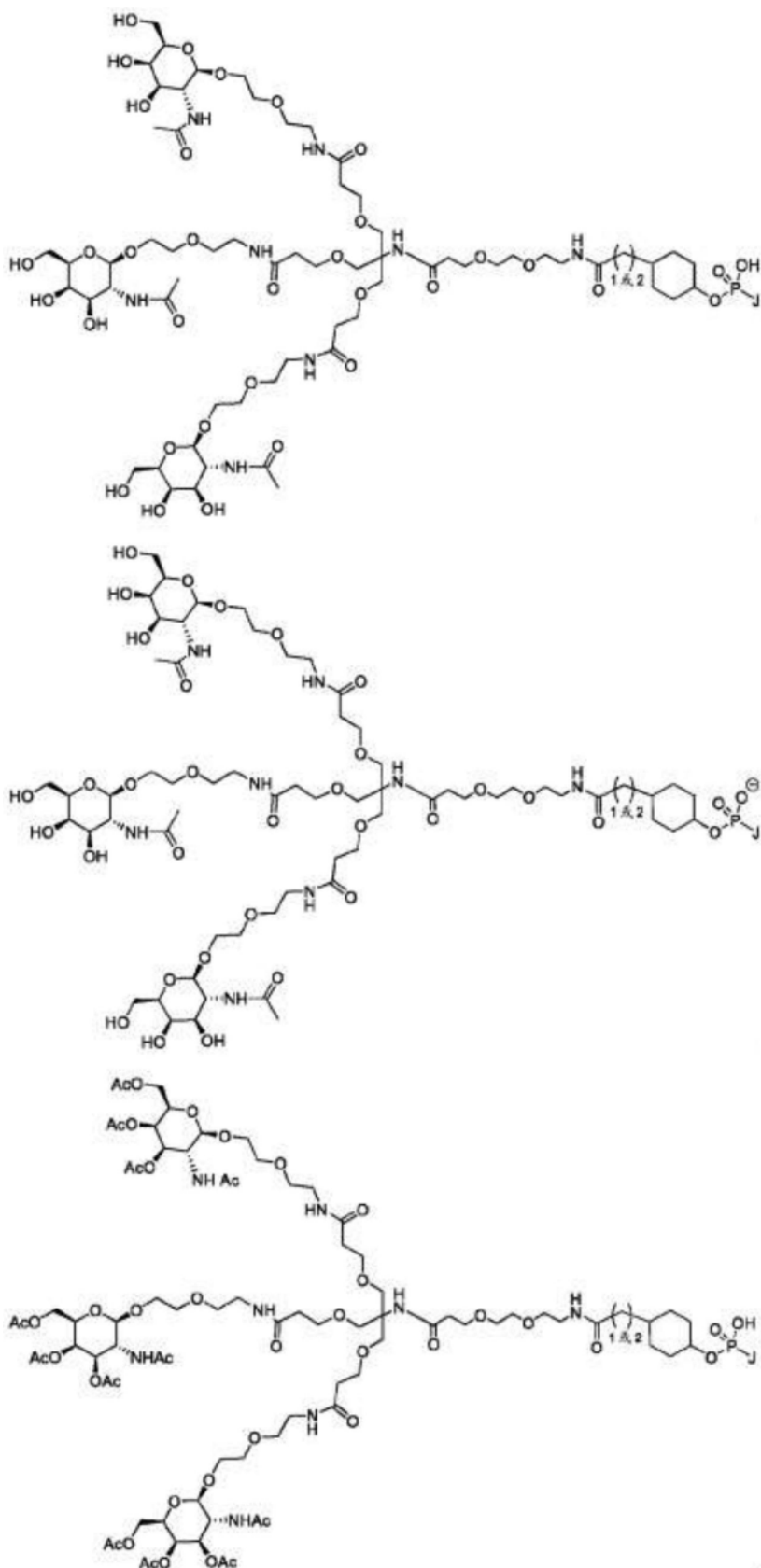




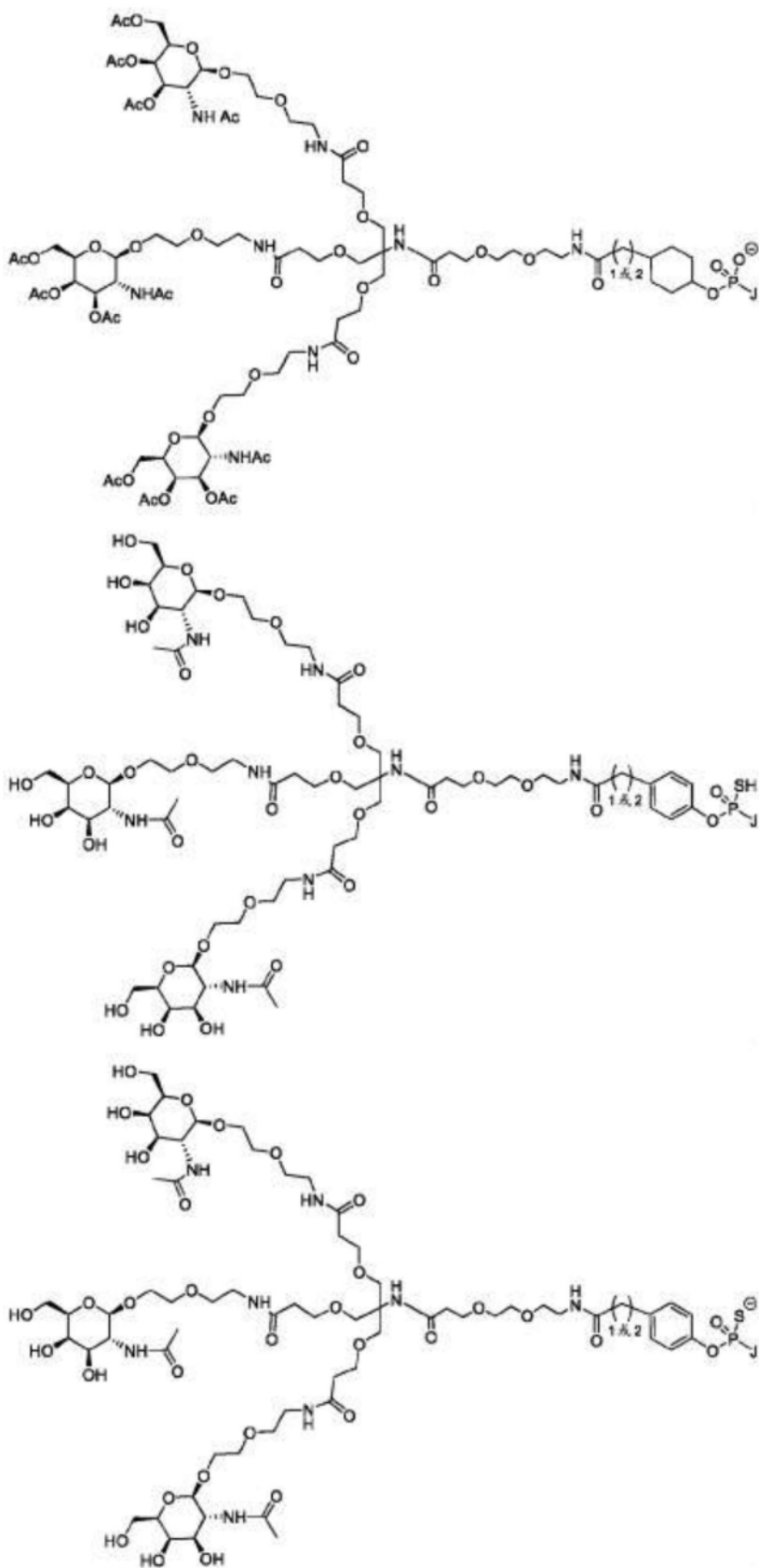
[0146] 在一些实施方案中,式(II)的化合物选自:

[0147]

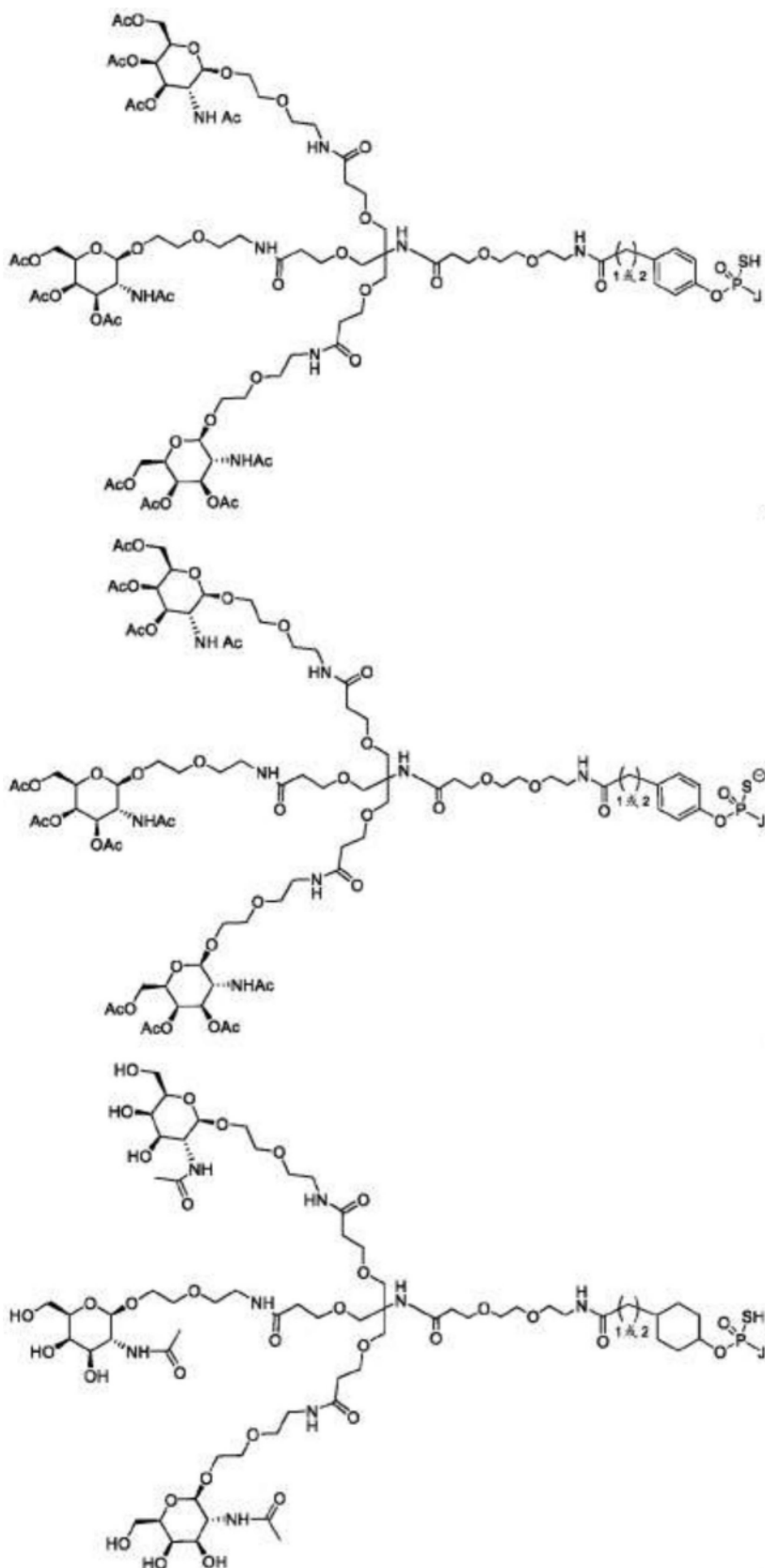




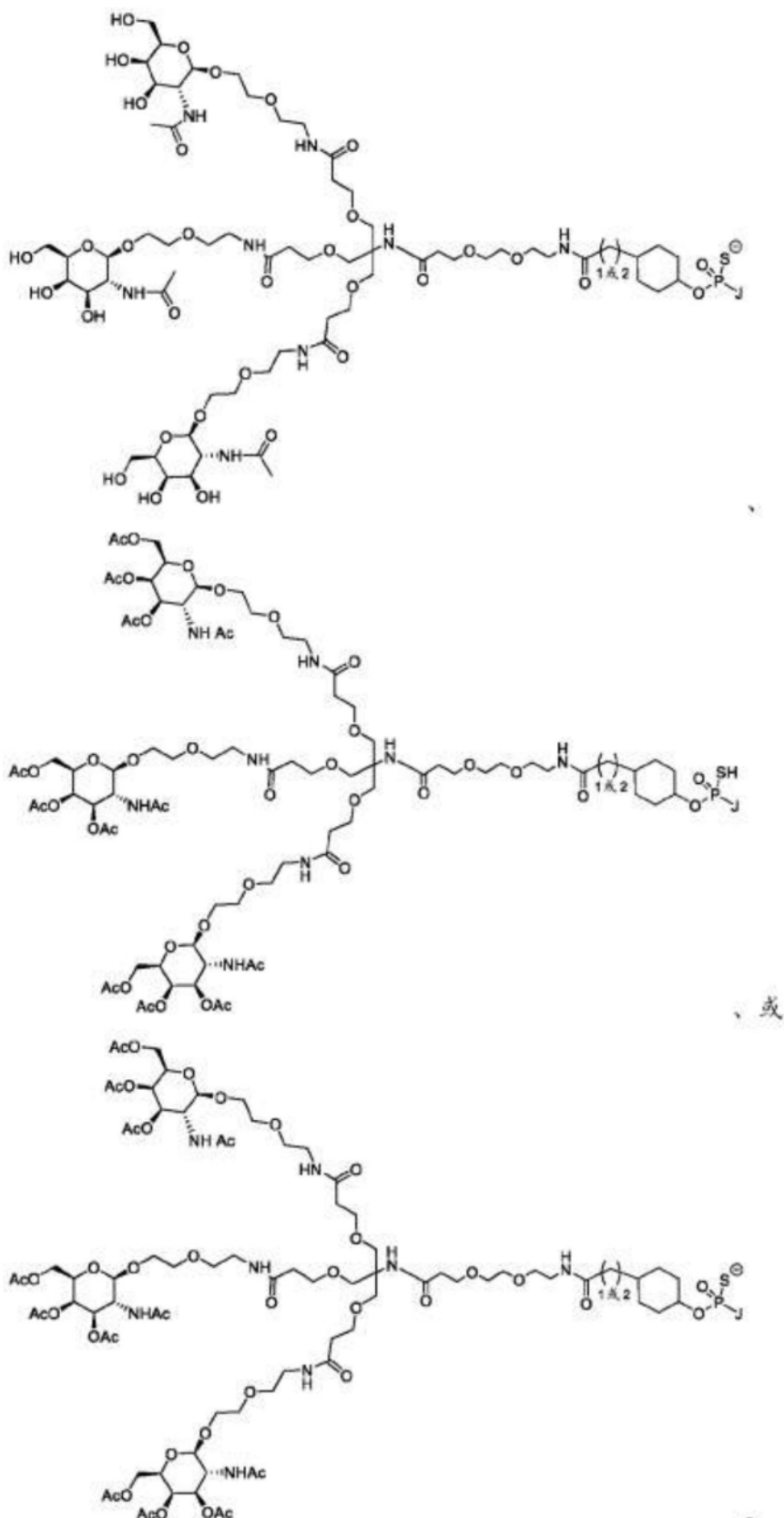
[0149]



[0150]



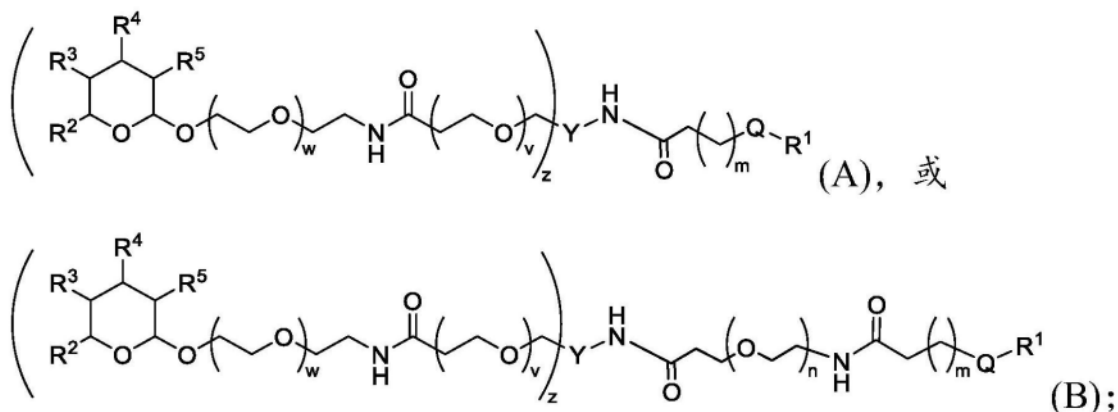
[0151]



[0152] 在一些实施方案中,式(I)、(II)或(III)的化合物与凝集素结合。在一些实施方案中,该化合物与脱唾液酸糖蛋白受体结合。在一些实施方案中,该化合物与肝细胞受体结合。在一些实施方案中,该化合物与肝实质细胞受体结合。在一些实施方案中,该化合物靶

向肝细胞。

[0153] 在本文提供的实施方案中,本文描述的组合物包含GalNAc化合物。在一些实施方案中,GalNAc化合物描述了式(A)或式(B)的化合物:



[0154] 或其盐,其中:

[0155] 每个w独立地选自1至20的任何值;

[0156] 每个v独立地选自1至20的任何值;

[0157] n选自1至20的任何值;

[0158] m选自1至20的任何值;

[0159] z选自1至3的任何值,其中

[0160] 如果z为3,则Y为C;

[0161] 如果z为2,则Y为CR⁶,或

[0162] 如果z为1,则Y为C(R⁶)₂;

[0163] Q选自:

[0164] 任选地被一个或多个取代基取代的C₃₋₁₀碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷和C₁₋₆烷基,其中C₁₋₆烷基任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂;

[0165] R¹选自:

[0166] -OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-OS(O)₂R⁷、-OP(O)(OR⁷)₂、-OP(S)(OR⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)(OR⁷)、-OP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(S)(OR⁷)N(R⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(S)(N(R⁷)₂)₂、-SP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(OR⁷)₂、-SP(OR⁷)₂、-OP(OR⁷)(SR⁷)、-OP(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(SR⁷)N(R⁷)₂、-SP(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(N(R⁷)₂)₂和-SP(N(R⁷)₂)₂;

[0167] 每个R²独立地选自:

[0168] 任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷;

[0169] R³和R⁴各自独立地选自:

[0170] $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 和 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$;

[0171] 每个 R^5 独立地选自:

[0172] $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 和 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$;

[0173] 每个 R^6 独立地选自:

[0174] 氢;

[0175] 卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 和 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$;以及

[0176] 任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OR}^7$ 、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ 和 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$;

[0177] 每个 R^7 独立地选自:

[0178] 氢;

[0179] C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、

[0180] $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、

[0181] $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环;以及

[0182] C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-\text{CN}$ 、

[0183] $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、

[0184] $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 碳环、3元至10元杂环和 C_{1-6} 卤代烷基。

[0185] 在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至20的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至15的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至10的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至5的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至4的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至3的任何值。在一些实施方案中,每个 w 独立地选自1至2的任何值。在一些实施方案中, w 为1。在一些实施方案中, w 为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0186] 在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至20的任何值。在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至15的任何值。在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至10的任何值。在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至5的任何值。在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至4的任何值。在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至3的任何值。在一些实施方案中,每个 v 独立地选自1至2的任何值。在一些实施方案中,每个 v 为1。在一些实施方案中, v 为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0187] 在一些实施方案中, n 选自1至20的任何值。在一些实施方案中, n 选自1至15的任何值。在一些实施方案中, n 选自1至10的任何值。在一些实施方案中, n 选自1至9的任何值。在一些实施方案中, n 选自1至8的任何值。在一些实施方案中, n 选自1至7的任何值。在一些实施方案中, n 选自1至6的任何值。在一些实施方案中, n 选自1至5的任何值。在一些实施方案

中,n选自1至4的任何值。在一些实施方案中,n选自2至4的任何值。在一些实施方案中,n选自1至3的任何值。在一些实施方案中,n为2或3。在一些实施方案中,n为3。在一些实施方案中,n选自1至2的任何值。在一些实施方案中,n为2。在一些实施方案中,n为1。在一些实施方案中,n为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0188] 在一些实施方案中,m选自1至20的任何值。在一些实施方案中,m选自1至15的任何值。在一些实施方案中,m选自1至10的任何值。在一些实施方案中,m选自1至9的任何值。在一些实施方案中,m选自1至8的任何值。在一些实施方案中,m选自1至7的任何值。在一些实施方案中,m选自3至7的任何值。在一些实施方案中,m选自1至6的任何值。在一些实施方案中,m选自2至6的任何值。在一些实施方案中,m选自3至6的任何值。在一些实施方案中,m选自4至6的任何值。在一些实施方案中,m为6。在一些实施方案中,m选自1至5的任何值。在一些实施方案中,m选自3至5的任何值。在一些实施方案中,m为5。在一些实施方案中,m为4或5。在一些实施方案中,m选自1至4的任何值。在一些实施方案中,m为4。在一些实施方案中,m为3或4。在一些实施方案中,m选自2至4的任何值。在一些实施方案中,m选自1至3的任何值。在一些实施方案中,m为3。在一些实施方案中,m选自1至2的任何值。在一些实施方案中,m为2。在一些实施方案中,m为1。在一些实施方案中,m为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0189] 在一些实施方案中,z选自1至3的任何值。在一些实施方案中,z为3且Y为C。在一些实施方案中,z为2且Y为CR⁶。在一些实施方案中,z为1且Y为C(R⁶)₂。

[0190] 在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₃₋₁₀碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷和C₁₋₆烷基,其中C₁₋₆烷基任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₃₋₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷和C₁₋₆烷基,其中C₁₋₆烷基任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₅₋₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₅碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-NO₂、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,Q选自任选地被一个或多个取代基取代的C₅₋₆碳环,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自苯基、环己基、环戊二烯和环戊基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自苯基和

环己基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-CN、-OH、-SH、-NO₂和-NH₂。在一些实施方案中,Q选自苯基和环己基。在一些实施方案中,Q为苯基。在一些实施方案中,Q为环己基。

[0191] 在一些实施方案中,R¹选自-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-OS(O)₂R⁷、-OP(O)(OR⁷)₂、-OP(S)(OR⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)(OR⁷)、-OP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(S)(OR⁷)N(R⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(S)(N(R⁷)₂)₂、-SP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(OR⁷)₂、-SP(OR⁷)₂、-OP(OR⁷)(SR⁷)、-OP(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(SR⁷)N(R⁷)₂、-SP(OR⁷)N(R⁷)₂和-SP(N(R⁷)₂)₂。在一些实施方案中,R¹选自-OR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷、-OP(O)(OR⁷)₂、-OP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(OR⁷)₂、OP(OR⁷)N(R⁷)₂和-OP(N(R⁷)₂)₂。在一些实施方案中,R¹选自-SR⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-OS(O)₂R⁷、-OP(S)(OR⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)(OR⁷)、-OP(S)(OR⁷)N(R⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)N(R⁷)₂、-OP(S)(N(R⁷)₂)₂、-SP(O)(N(R⁷)₂)₂、-SP(OR⁷)₂、-OP(OR⁷)(SR⁷)、-OP(SR⁷)N(R⁷)₂、-SP(OR⁷)N(R⁷)₂和-SP(N(R⁷)₂)₂。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)₂、-OP(S)(OR⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)(OR⁷)、-OP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(S)(OR⁷)N(R⁷)₂、-SP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(SR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(S)(N(R⁷)₂)₂、-SP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(OR⁷)₂、-SP(OR⁷)₂、-OP(OR⁷)(SR⁷)、-OP(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(SR⁷)N(R⁷)₂、-SP(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(N(R⁷)₂)₂和-SP(N(R⁷)₂)₂。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)₂、-OP(O)(OR⁷)N(R⁷)₂、-OP(O)(N(R⁷)₂)₂、-OP(OR⁷)₂、-OP(OR⁷)N(R⁷)₂和-OP((N(R⁷)₂)₂)。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OR⁷)₂和-OP(OR⁷)N(R⁷)₂。在一些实施方案中,R¹选自-OP(O)(OCH₂CH₃)OH和-OP(OCH₂CH₂CN)N(CH(CH₃)₂)₂。在一些实施方案中,R¹是-OP(OCH₂CH₂CN)N(CH(CH₃)₂)₂。

[0192] 在一些实施方案中,每个R²独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的C₁₋₆烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,每个R²独立地选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,每个R²独立地选自被一个或多个取代基取代的C₁₋₃烷基,所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷和-N(R⁷)₂。在一些实施方案中,每个R²独立地选自被一个或多个取代基取代的C₁烷基,所述一个或多个取代基独立地选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。在一些实施方案中,每个R²独立地选自-CH₂OH和-CH₂OC(O)CH₃。

[0193] 在一些实施方案中,每个R³独立地选自-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,每个R³独立地选自卤素、-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)R⁷。在一些实施方案中,每个R³独立地选自-OR⁷、-OC(O)R⁷、-SR⁷和-N(R⁷)₂。在一些实施方案中,每个R³独立地选自-OR⁷和-OC(O)R⁷。在一些实施方案中,R³独立地选自-OH和-OC(O)CH₃。

[0194] 在一些实施方案中,每个R⁴独立地选自-OR⁷、-SR⁷、-N(R⁷)₂、-C(O)R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)R⁷、-N(R⁷)C(O)N(R⁷)₂、-OC(O)N(R⁷)₂、-N(R⁷)C(O)OR⁷、-C(O)OR⁷、-OC(O)R⁷和-S(O)

R^7 。在一些实施方案中,每个 R^4 独立地选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$ 。在一些实施方案中,每个 R^4 独立地选自 $-OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 、 $-SR^7$ 和 $-N(R^7)_2$ 。在一些实施方案中,每个 R^4 独立地选自 $-OR^7$ 和 $-OC(O)R^7$ 。在一些实施方案中, R^4 独立地选自 $-OH$ 和 $-OC(O)CH_3$ 。

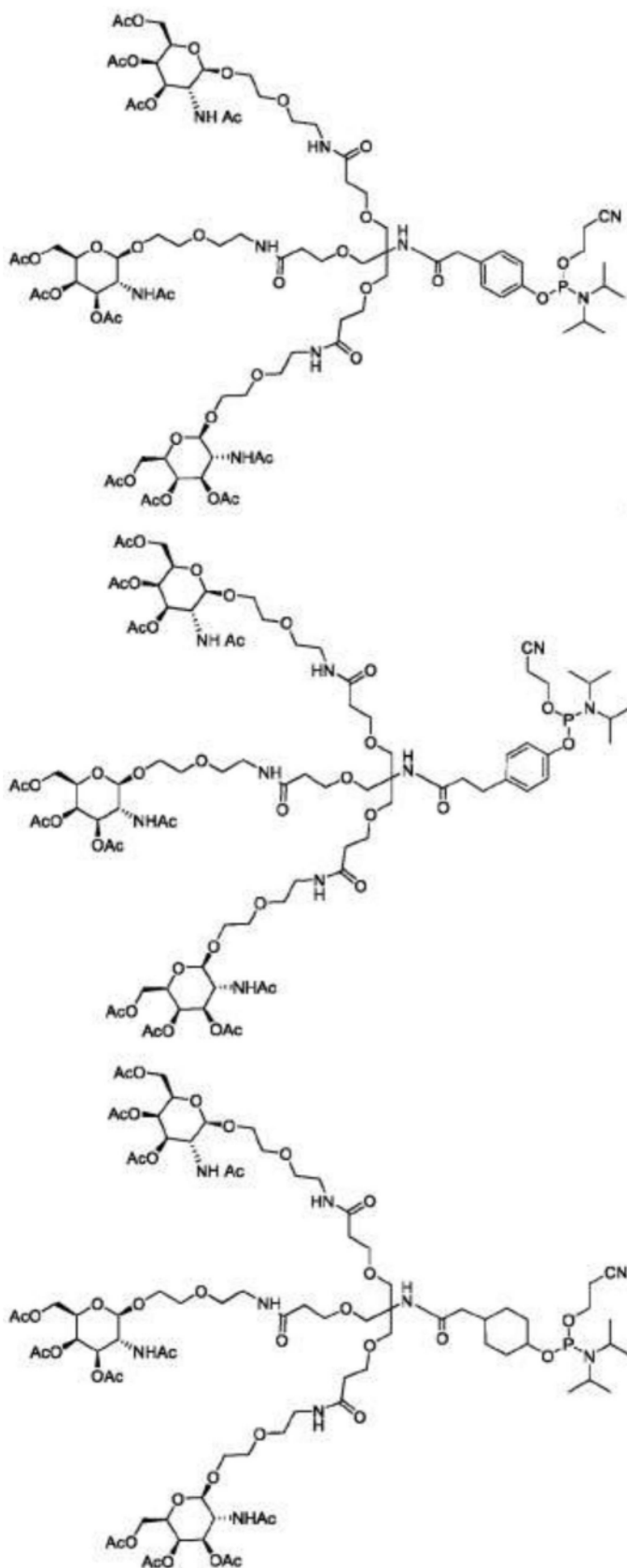
[0195] 在一些实施方案中,每个 R^5 独立地选自 $-OC(O)R^7$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 和 $-C(O)N(R^7)_2$ 。在一些实施方案中,每个 R^5 选自 $-OC(O)R^7$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 和 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 。在一些实施方案中,每个 R^5 独立地选自 $-OC(O)R^7$ 和 $-N(R^7)C(O)R^7$ 。在一些实施方案中,每个 R^5 独立地选自 $-N(H)C(O)CH_3$ 。

[0196] 在一些实施方案中,每个 R^6 独立地选自氢、卤素、 $-CN$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$;以及任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-C(O)R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)R^7$ 、 $-N(R^7)C(O)N(R^7)_2$ 、 $-OC(O)N(R^7)_2$ 、 $-N(R^7)C(O)OR^7$ 、 $-C(O)OR^7$ 、 $-OC(O)R^7$ 和 $-S(O)R^7$ 。在一些实施方案中,每个 R^6 独立地选自氢、卤素、 $-CN$ 、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 、 $-N(R^7)_2$ 以及任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-OR^7$ 、 $-SR^7$ 和 $-N(R^7)_2$ 。在一些实施方案中,每个 R^6 独立地选自氢、卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 和 $-NH_2$ 。

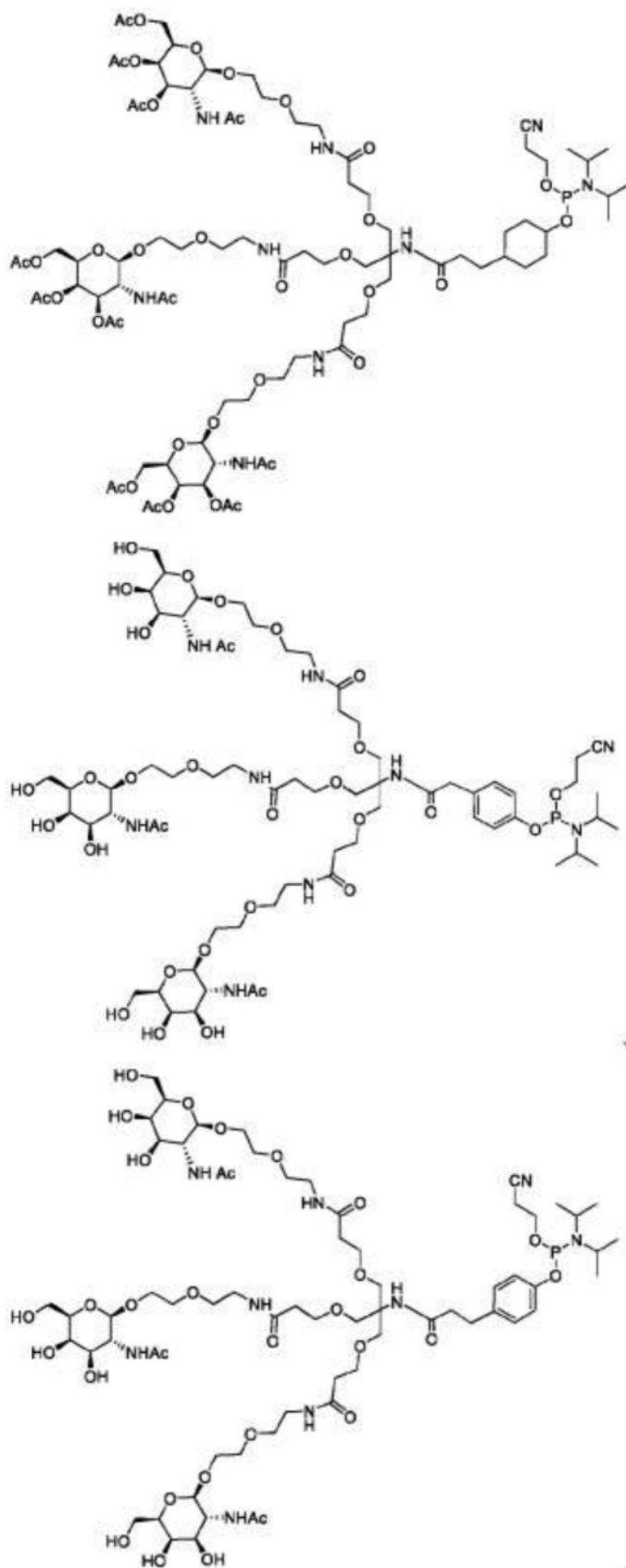
[0197] 在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自:氢; C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{3-10} 碳环和3元至10元杂环;以及 C_{3-10} 碳环和3至10元杂环,其中的每一个任选地被一个或多个取代基取代,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 碳环、3元至10元杂环和 C_{1-6} 卤代烷基。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自:氢;以及任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 、 C_{3-10} 碳环、3元至10元杂环。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 和 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自氢。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-3} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6}烷基)_2$ 和 $-NH(C_{1-6}烷基)$ 。在一些实施方案中,每个 R^7 独立地选自任选地被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 烷基,所述一个或多个取代基独立地选自卤素、 $-CN$ 、 $-OH$ 和 $-SH$ 。

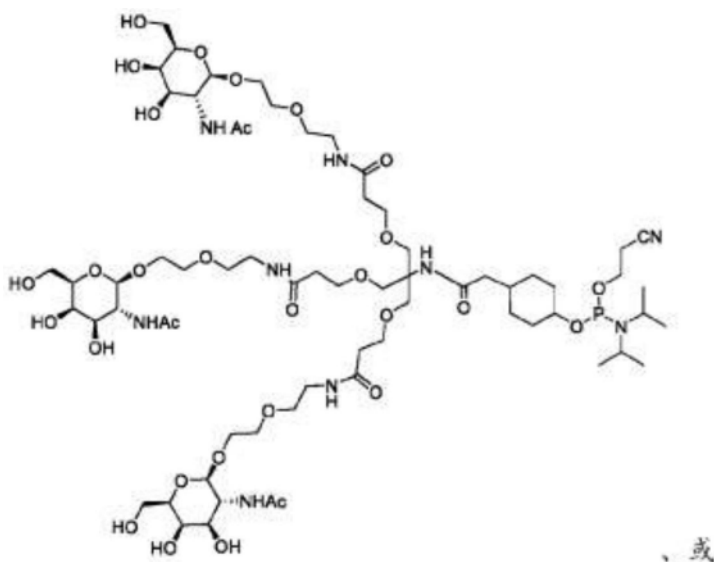
[0198] 在一些实施方案中,式(A)的化合物选自:

[0199]

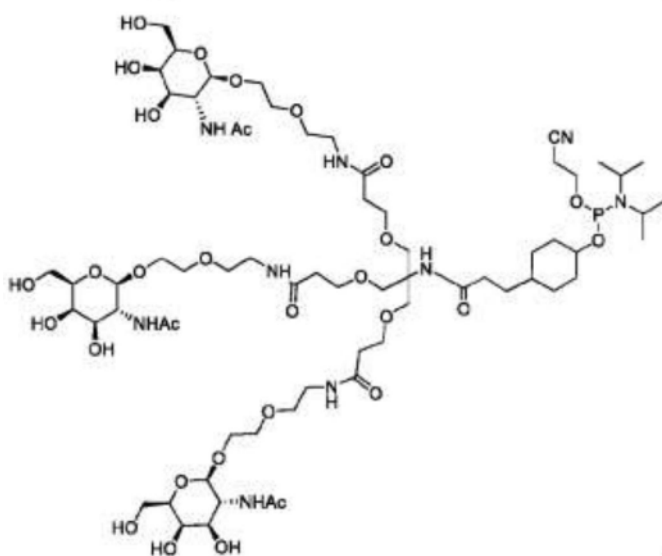


[0200]



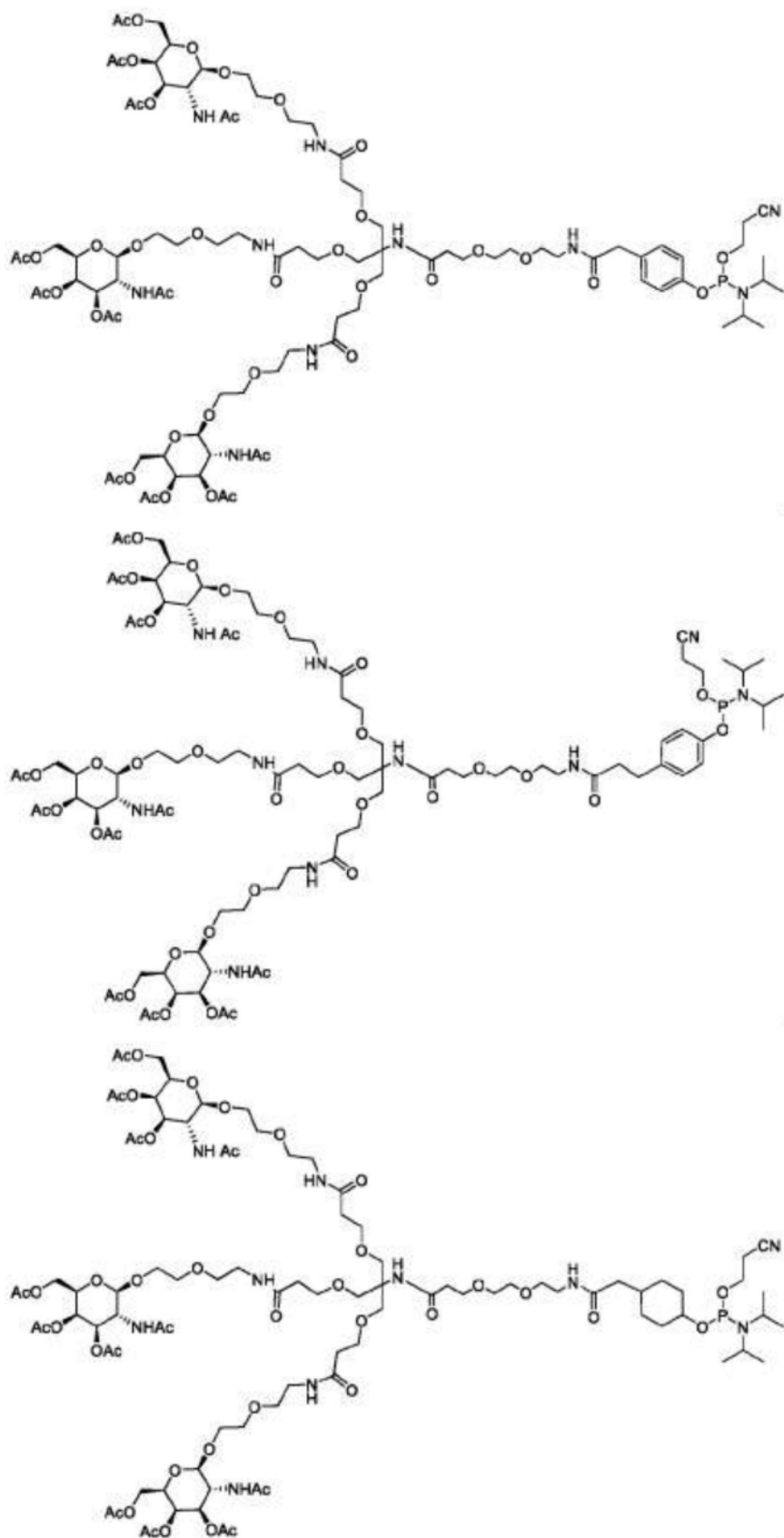


[0201]

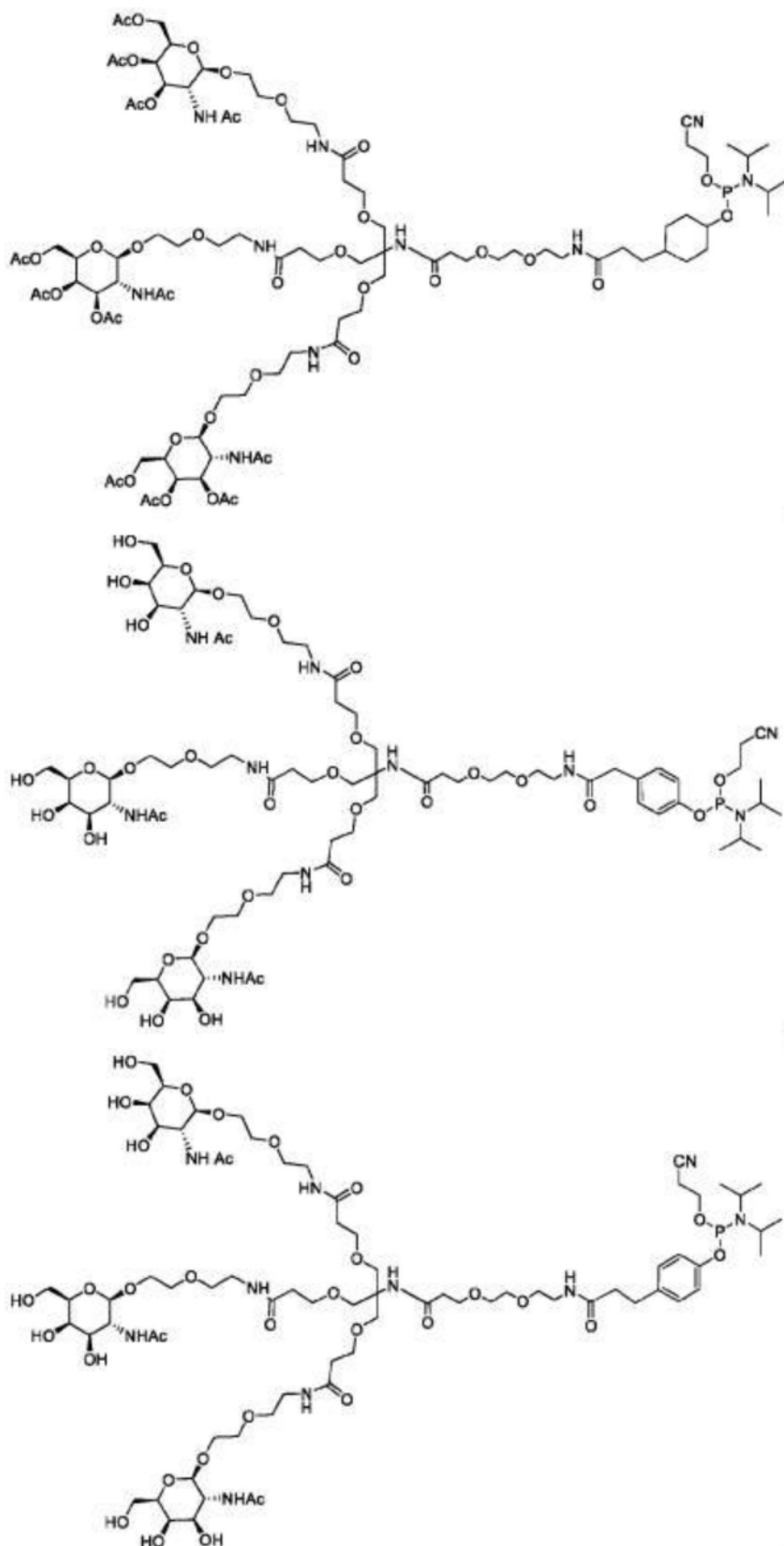


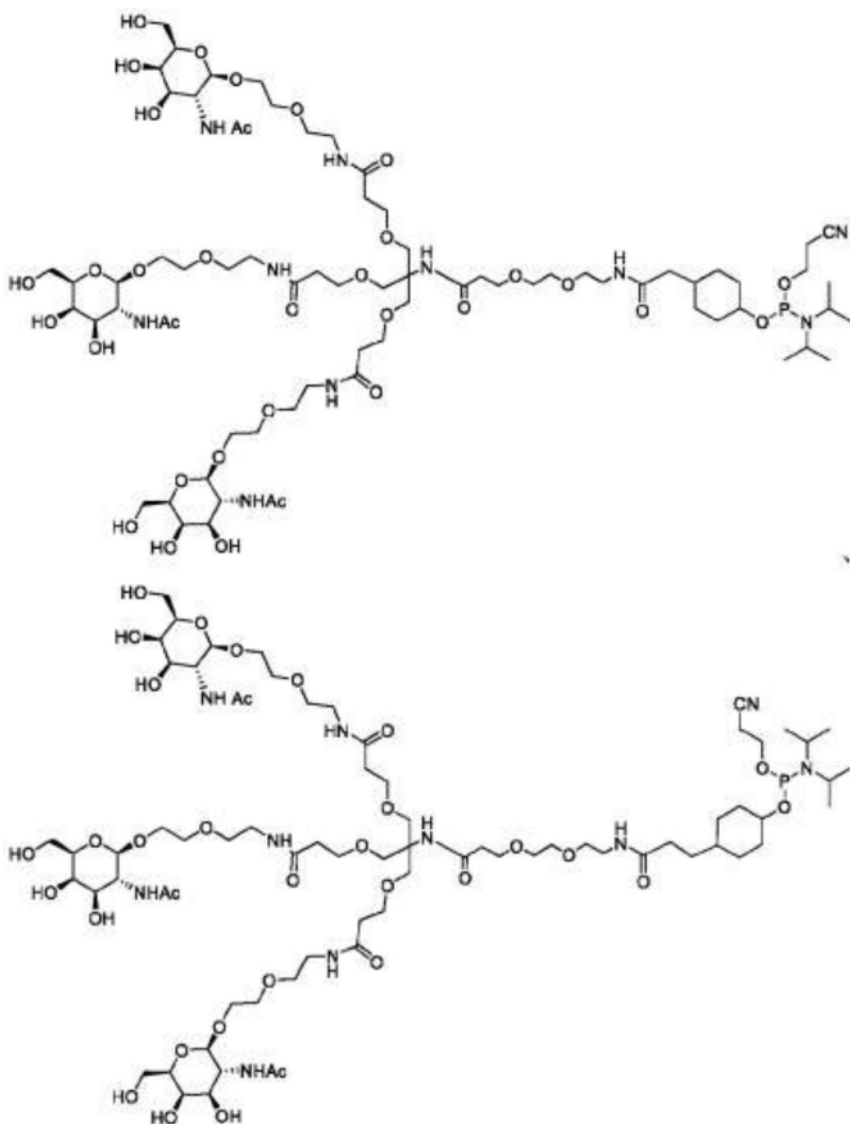
[0202] 在一些实施方案中,本文提供了一种由式(B)表示的化合物:

[0203]



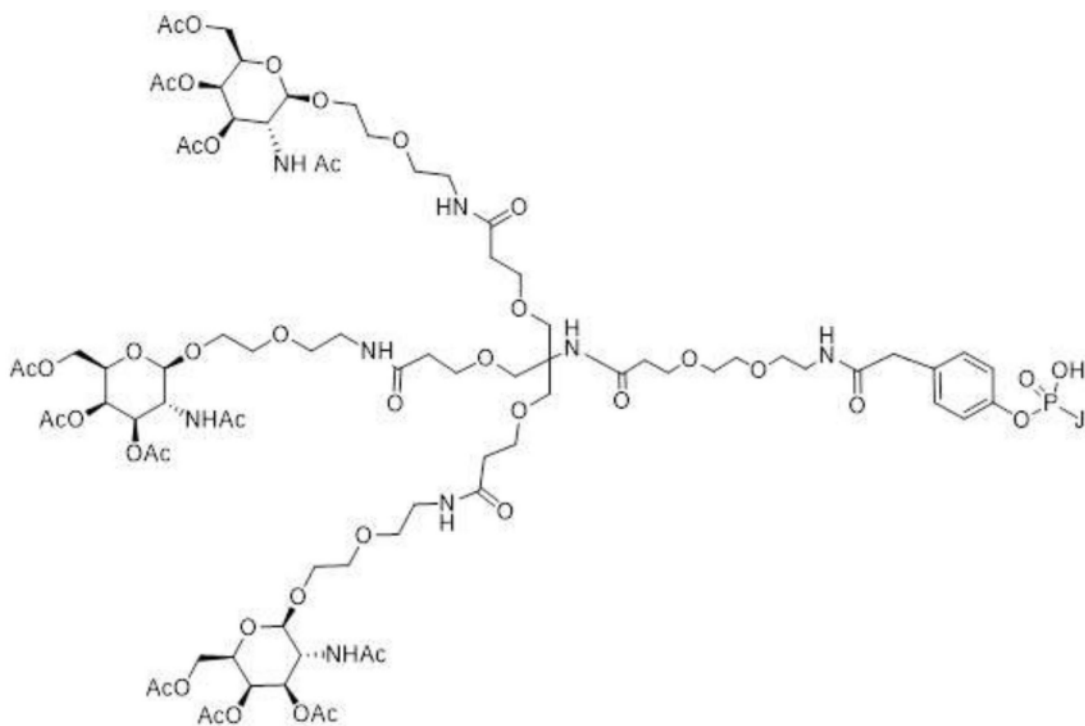
[0204]





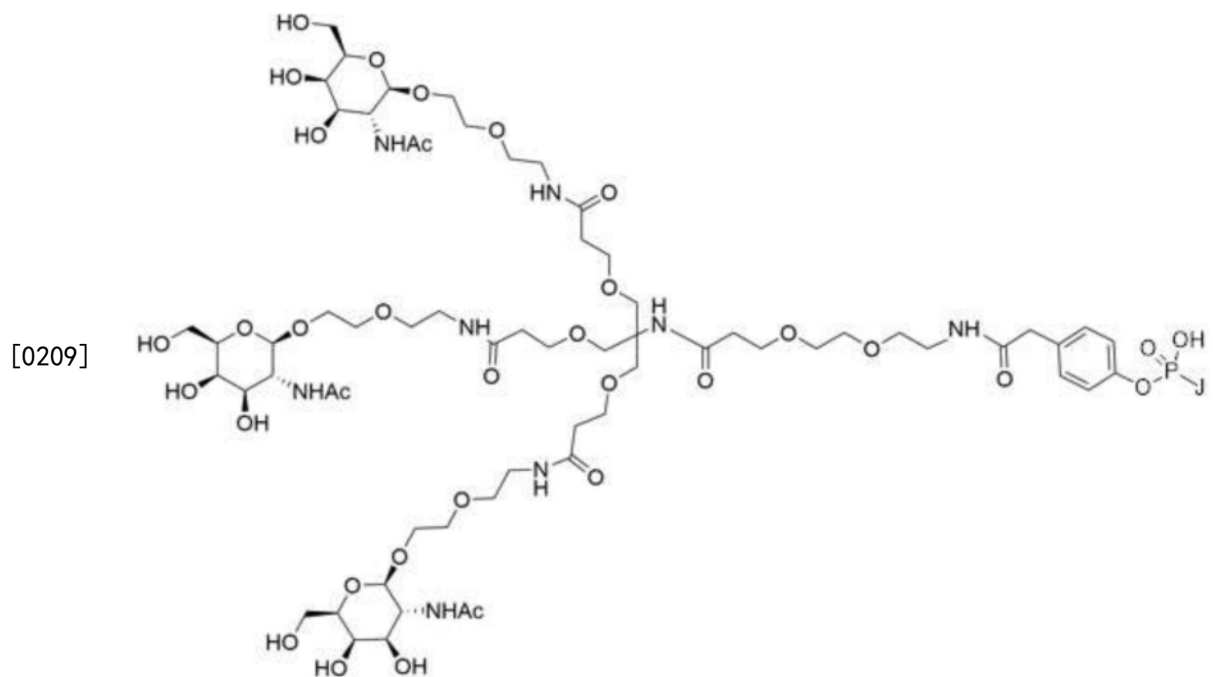
[0206] 在一些实施方案中,磷酸盐去质子化以形成式(I)、(II)、(A)或(B)的盐。在一些实施方案中,阳离子是金属离子,如金属阳离子。非限制性金属阳离子的实例包括 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 。在一些实施方案中,金属阳离子包括 Na^+ 。在一些实施方案中,金属阳离子包括 K^+ 。在一些实施方案中,金属阳离子包括 Mg^{2+} 。在一些实施方案中,金属阳离子包括 Ca^{2+} 。在一些实施方案中,阳离子是有机或无机的小分子。在其中化合物是式(I)或(II)的去质子化形式的一些实施方案中,阳离子是寡核苷酸中存在的带正电荷的核酸。

[0207] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:



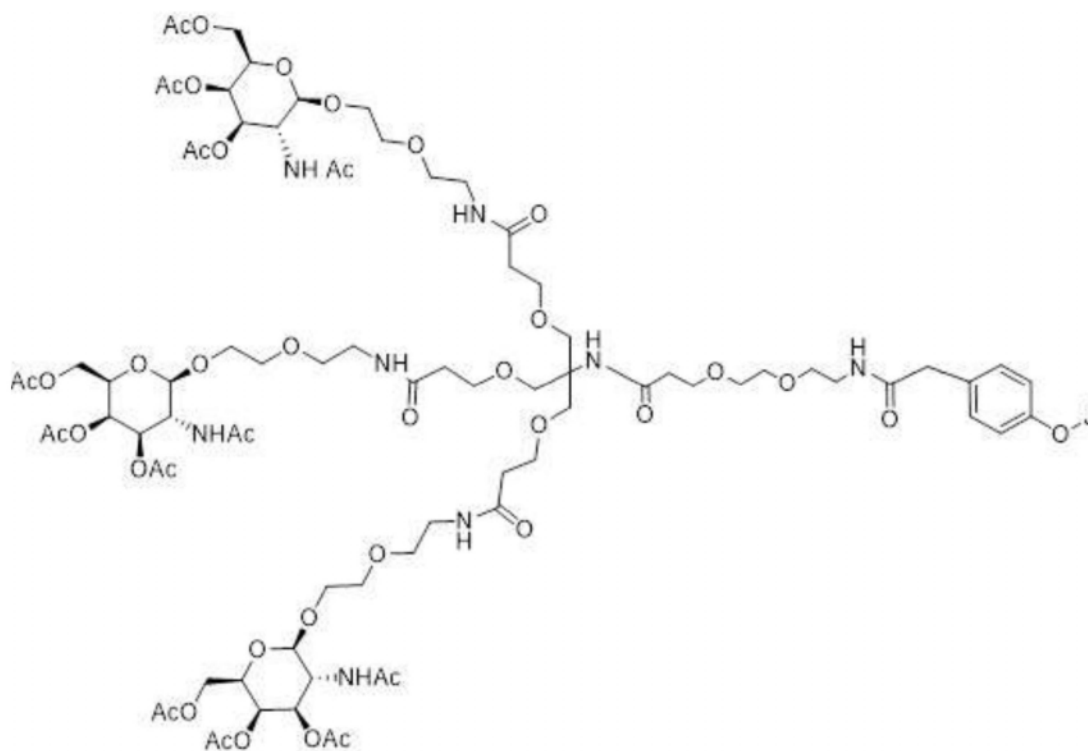
J可以包括一个或多个额外的磷酸酯或一个或多个硫代磷酸酯,其与寡核苷酸连接。J可以包括一个或多个额外的与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。

[0208] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:



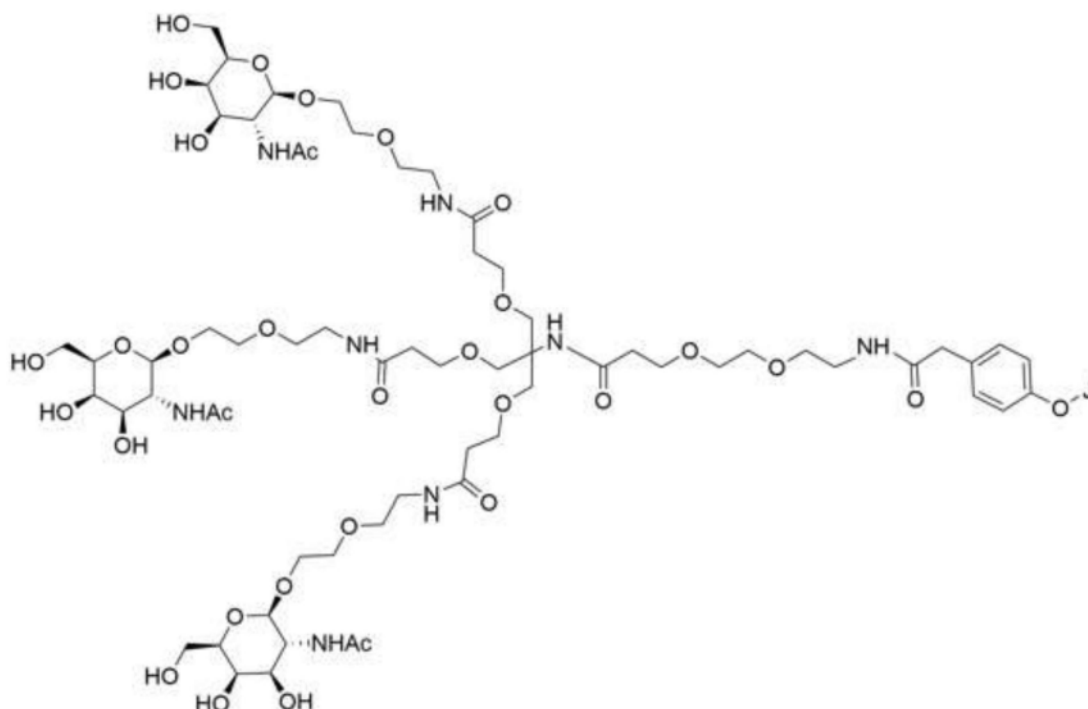
J可以包括一个或多个额外的磷酸酯或一个或多个硫代磷酸酯,其与寡核苷酸连接。J可以包括一个或多个额外的与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。

[0210] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:



J可以包括一个或多个磷酸酯或硫代磷酸酯,其与寡核苷酸连接。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。

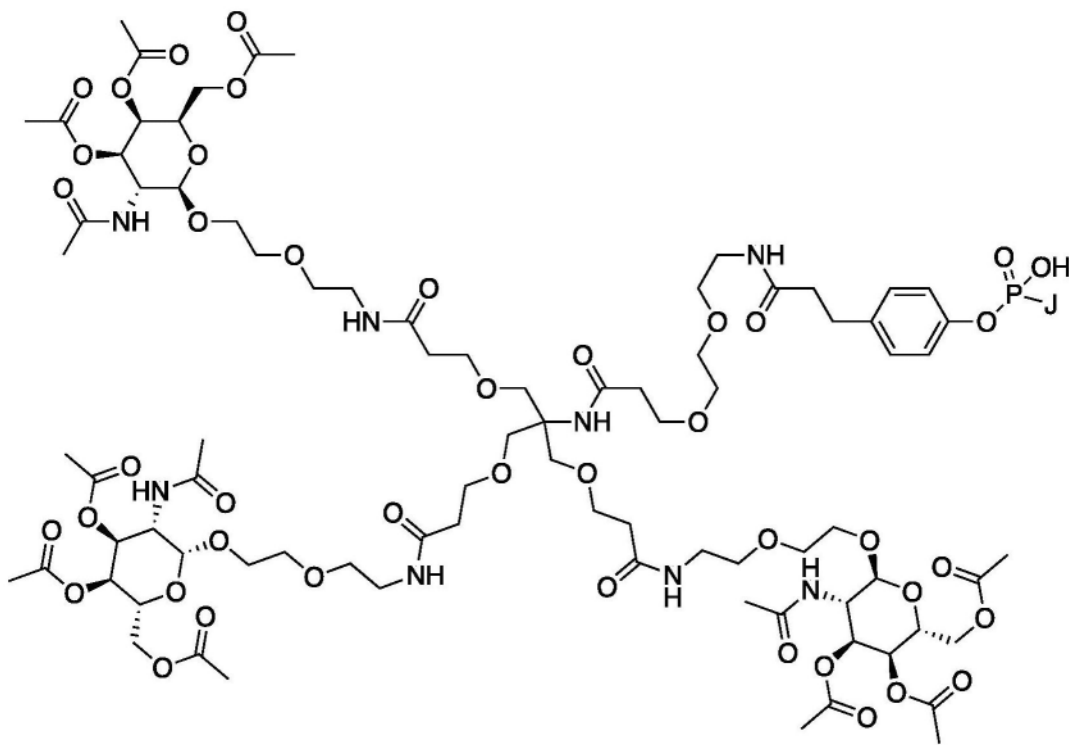
[0211] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:



该化合物中与寡核苷酸(J)附接的结构是GalNAc部分的实例。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的磷酸酯或硫代磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。J可

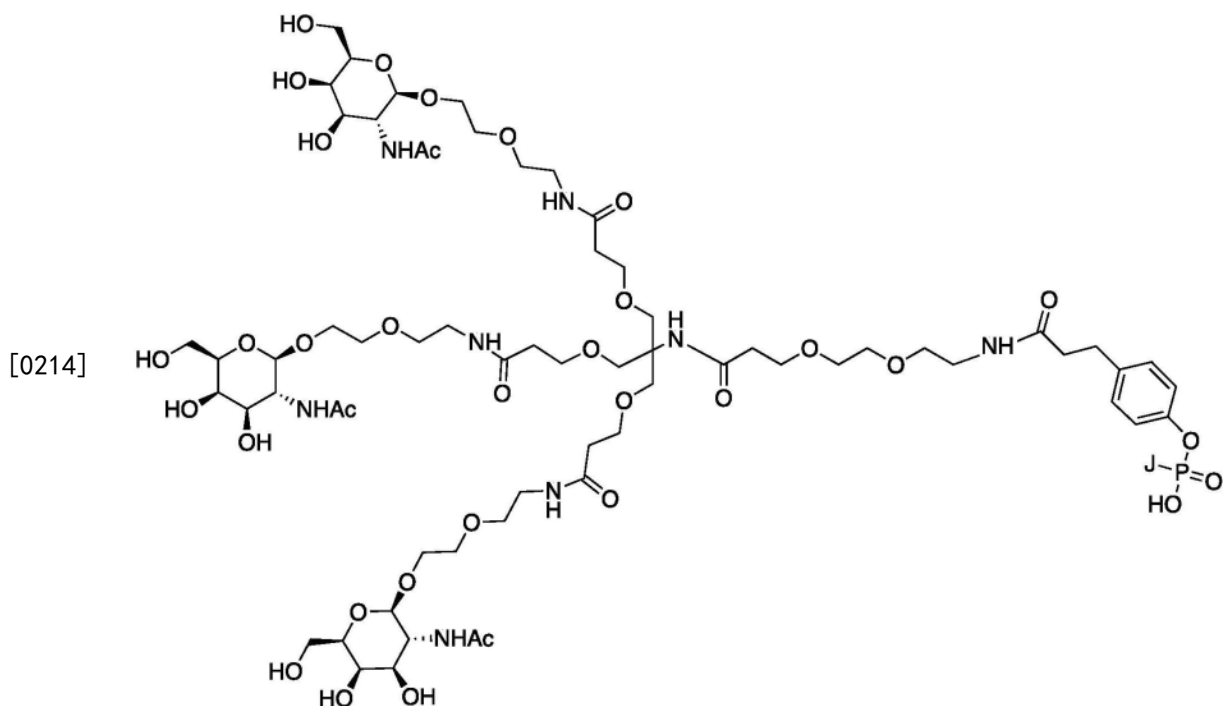
以包括与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。

[0212] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:



J可以包括一个或多个额外的磷酸酯或一个或多个硫代磷酸酯,其与寡核苷酸连接。J可以包括一个或多个额外的与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。

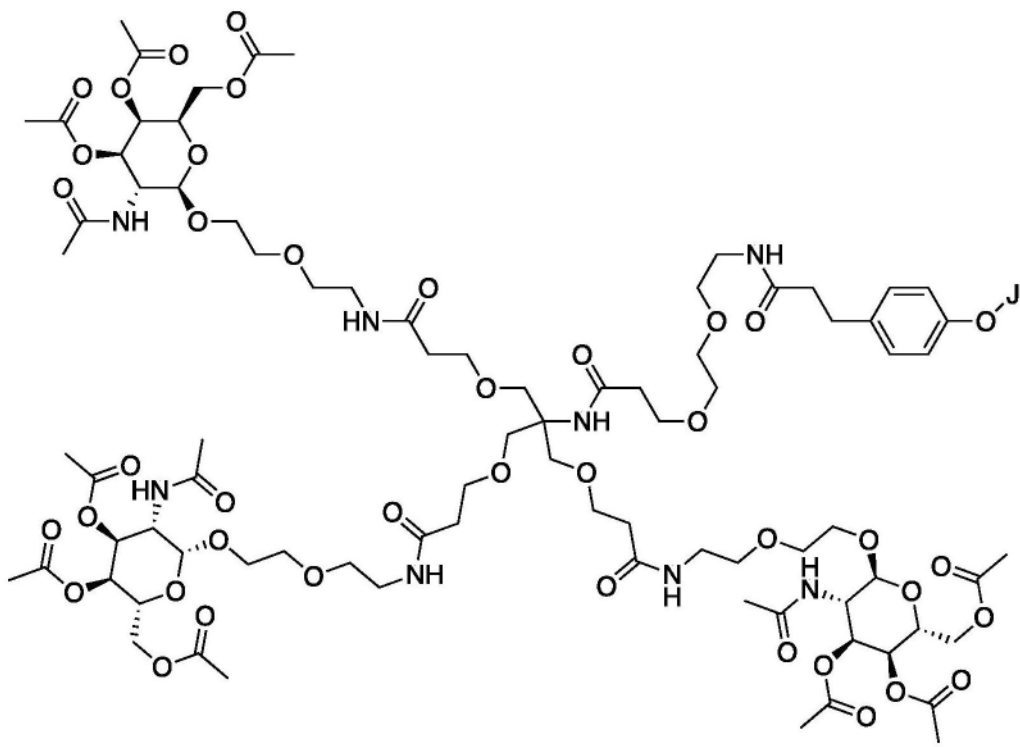
[0213] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:



[0215] J可以包括一个或多个额外的磷酸酯或一个或多个硫代磷酸酯,其与寡核苷酸连接。J可以包括一个或多个额外的与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸

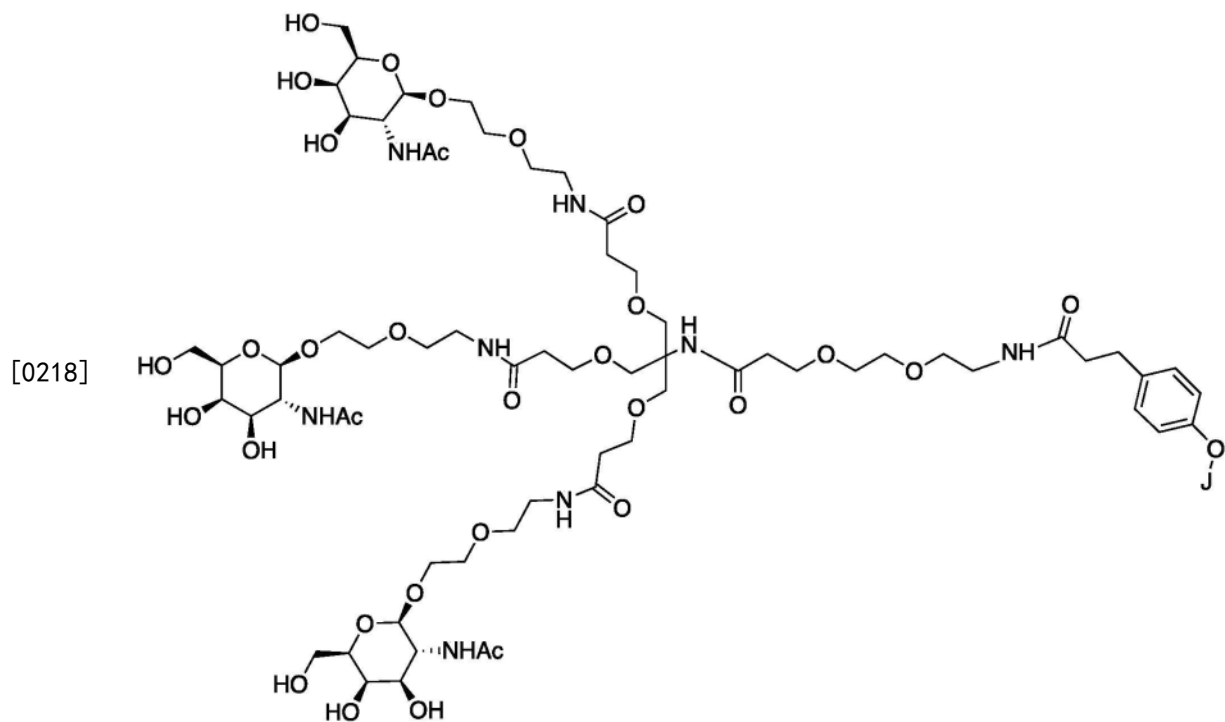
苷酸连接的硫代磷酸酯。

[0216] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:



J可以包括一个或多个磷酸酯或硫代磷酸酯,其与寡核苷酸连接。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。

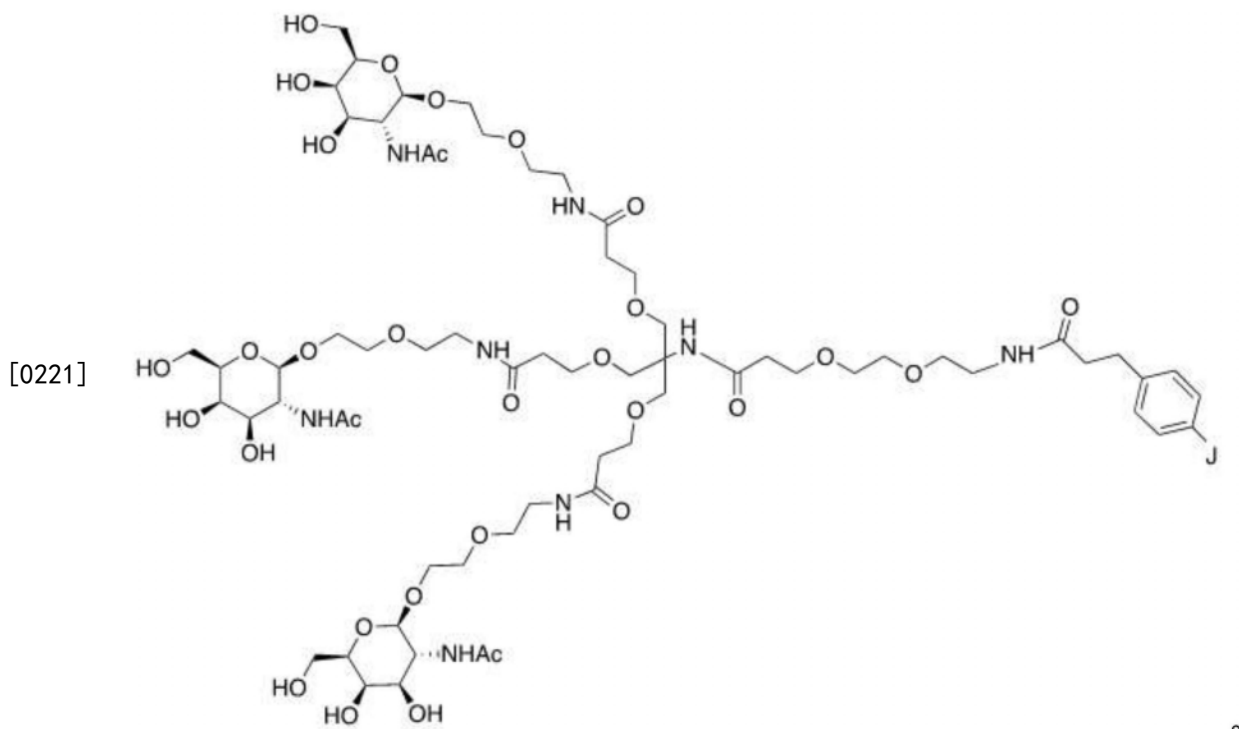
[0217] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:



[0219] 该化合物中附接至寡核苷酸(J)的结构可以称为“ETL17”,是GalNAc部分的实例。J

可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的磷酸酯或硫代磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。

[0220] 一些实施方案包括以下项,其中J是寡核苷酸:

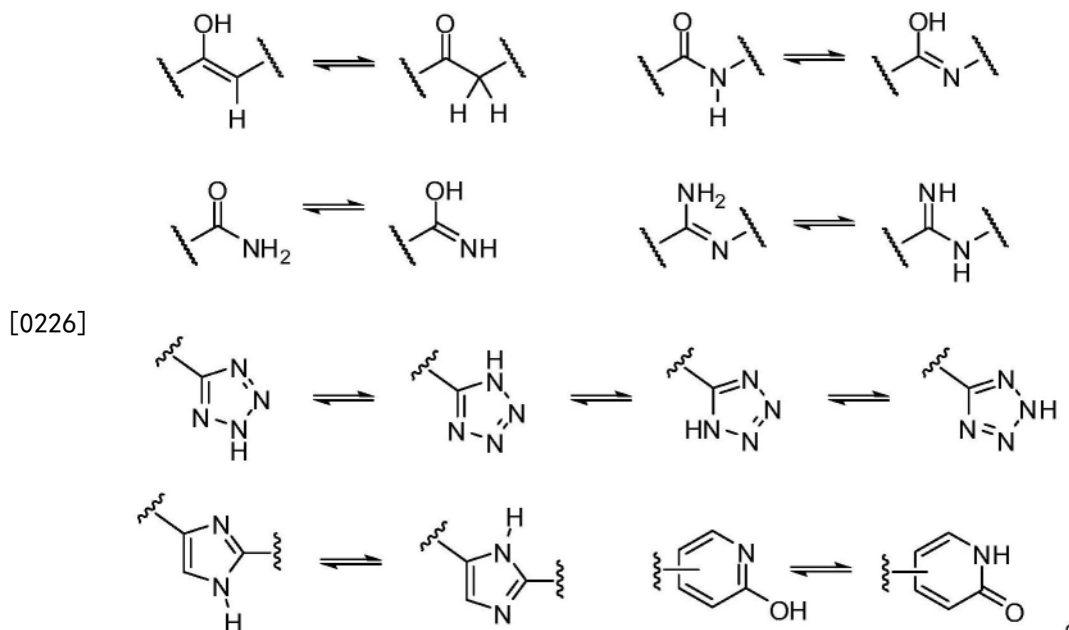


[0222] 该化合物中附接至寡核苷酸(J)的结构是GalNAc部分的实例。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的磷酸酯或硫代磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的磷酸酯。J可以包括一个或多个与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。J可以包括与寡核苷酸连接的硫代磷酸酯。在任何实施方案中,J可以包括额外的接头。

[0223] 1.类似物

[0224] 具有碳-碳双键或碳-氮双键的化学实体可以以Z-或E-形式(或顺式-或反式-形式)存在。此外,一些化学实体可以存在于不同的互变异构形式中。除非另有说明,本文描述的化合物还包括所有Z-、E-和互变异构形式。

[0225] “互变异构体”是指其中质子可能从分子的一个原子转移至同一分子中的另一个原子的分子或部分。本文提出的化合物在一些实施方案中以互变异构体的形式存在。在可能发生互变异构的情况下,互变异构体的化学平衡将存在。互变异构体的确切比例取决于多个因素,包括物理状态、温度、溶剂和pH。一些互变异构平衡的实例包括:



[0227] 本文所公开的化合物和部分在一些实施方案中采用不同的富集同位素形式,例如富含 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 和/或 ^{14}C 。在一个特定的实施方案中,化合物在至少一个位置被氘化。这些氘化形式可以通过美国专利号5,846,514和6,334,997中描述的程序制备。如美国专利号5,846,514和6,334,997所述,氘化可以提高代谢稳定性和/或效力,从而延长药物的作用时间。

[0228] 除非另有说明,本文描述的化合物和部分旨在包括仅在一个或多个同位素富集的原子存在中有所不同的化合物和部分。例如,具有现有结构但氢被氘或氚替代或碳被 ^{13}C 或 ^{14}C 富集碳替代的化合物,均落入本公开的范围。

[0229] 本公开的化合物和部分任选包含构成此化合物的一个或多个原子处的非天然比例的原子同位素。例如,化合物可以被同位素例如氘(^2H)、氚(^3H)、碘-125 (^{125}I) 或碳-14 (^{14}C) 标记。 ^2H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}C 、 ^{12}N 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{16}N 、 ^{16}O 、 ^{17}O 、 ^{14}F 、 ^{15}F 、 ^{16}F 、 ^{17}F 、 ^{18}F 、 ^{33}S 、 ^{34}S 、 ^{35}S 、 ^{36}S 、 ^{35}Cl 、 ^{37}Cl 、 ^{79}Br 、 ^{81}Br 和 ^{125}I 的同位素取代均在考虑范围内。本发明的化合物和部分的的所有同位素变体,无论是否具有放射性,均包含在本发明的范围内。

[0230] 在一些实施方案中,所公开的化合物和部分的一些或全部 ^1H 原子被 ^2H 原子替代。含氘化合物的合成方法是本领域已知的,且仅作为非限制性示例,包括以下合成方法。

[0231] 氘取代化合物使用多种方法来合成,例如描述于:Dean,Dennis C.;编辑.Recent Advances in the Synthesis and Applications of Radiolabeled Compounds for Drug Discovery and Development.[In: Curr., Pharm. Des., 2000; 6 (10)] 2000, 110pp; George W.; Varma, Rajender S. The Synthesis of Radiolabeled Compounds via Organometallic Intermediates, Tetrahedron, 1989, 45 (21), 6601-21; 以及 Evans, E. Anthony. Synthesis of radiolabeled compounds, J. Radioanal. Chem., 1981, 64 (1-2), 9-32。

[0232] 氘化的起始材料易于获得并由本文所述的合成方法进行处理,以提供含氘化合物的合成。大量含氘的试剂和结构单元可通过化学供应商(如Aldrich Chemical Co.)从商业途径获得。

[0233] 本文公开的内容中包含本文所述化合物的盐,特别是药学上可接受的盐。具有足够的酸性、足够的碱性或二者兼具的官能团的本文公开的化合物可以与多种无机碱、无机酸和有机酸反应,以形成盐。或者,具有固有电荷的化合物,例如含有季铵氮的化合物,可以与适当的对离子形成盐,例如溴化物、氯化物或氟化物,特别是溴化物。

[0234] 本文描述的化合物在一些情况下可能以非对映异构体、对映异构体或其他立体异构形式存在。本文提供的化合物包括所有的非对映异构体、对映异构体和差向异构体形式,以及它们的适当混合物。立体异构体的分离可以通过色谱法,或通过形成非对映异构体并通过重结晶或色谱法分离,或其任意组合来进行。(Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981, 在此通过引用并入本公开内容)。立体异构体也可以通过立体选择性合成获得。

[0235] 本文描述的方法和组合物包含无定形形式和晶体形式(也称为多晶型)的使用。本文所述的化合物可以以药学上可接受的盐的形式存在。此外,在一些实施方案中,这些化合物的具有相同活性的活性代谢物也包括在本公开的范围。此外,本文所述的化合物可以以无溶剂或溶剂化形式存在,其中药学上可接受的溶剂是例如水、乙醇等。本文所述的化合物的溶剂化形式也被认为是已公开的内容。

[0236] B. 寡核苷酸

[0237] 在一些实施方案中,本文提供了包含寡核苷酸的组合物或化合物。寡核苷酸可以与GalNAc部分缀合。寡核苷酸可以直接连接至与GalNAc部分连接的接头。寡核苷酸可以用于本文描述的方法中。

[0238] 在一些实施方案中,寡核苷酸与靶寡核苷酸结合。靶寡核苷酸的实例包括靶RNA或靶DNA。在一些实施方案中,寡核苷酸与靶DNA结合。在一些实施方案中,寡核苷酸与靶DNA结合,并抑制来自该靶DNA的RNA(例如mRNA)表达。在一些实施方案中,寡核苷酸与靶RNA结合。靶RNA可以包括靶mRNA。在一些实施方案中,寡核苷酸与靶mRNA结合。在一些实施方案中,寡核苷酸例如通过减少靶mRNA的量、引起靶mRNA的降解、或减少或防止靶mRNA的翻译来抑制靶mRNA。在一些实施方案中,寡核苷酸例如通过抑制靶mRNA来减少从靶mRNA产生的靶蛋白的量。寡核苷酸可以包括小干扰RNA(siRNA)。寡核苷酸可以包括反义寡核苷酸(ASO)。

[0239] 在一些实施方案中,该组合物包含与靶寡核苷酸结合并抑制由靶寡核苷酸编码的靶蛋白的表达的寡核苷酸。在一些实施方案中,该组合物包含与靶RNA结合并抑制由靶RNA编码的靶蛋白的表达的寡核苷酸。在一些实施方案中,该组合物包含与靶mRNA结合并抑制由靶mRNA编码的靶蛋白的表达的寡核苷酸。

[0240] 在一些实施方案中,该组合物包含与靶寡核苷酸结合并抑制由靶寡核苷酸编码的第二寡核苷酸表达的寡核苷酸。在一些实施方案中,该组合物包含与靶DNA结合并抑制由靶DNA编码的靶RNA表达的寡核苷酸。在一些实施方案中,该组合物包含与靶DNA结合并抑制由靶DNA编码的靶mRNA表达的寡核苷酸。

[0241] 靶寡核苷酸可以通过多种方式鉴定。在一些情况下,靶寡核苷酸包括mRNA,该mRNA的表达水平与病症(例如肝脏病症)的发病相关。在一些情况下,靶寡核苷酸包括由具有与疾病相关的特定基因型的基因编码的mRNA。大规模的人类遗传学数据可以提高药物发现与开发的成功率。全基因组关联研究(GWAS)可以检测群体样品中的遗传变体与性状之间的关联。GWAS可以使得能够更好地理解疾病的生物学,并提供适用的治疗方法。GWAS可以利用基

因分型和/或测序数据,并且通常涉及对数百万个相对均匀地分布在基因组上的遗传变体的评价。最常见的GWAS设计是病例对照研究,其涉及比较病例相对于对照中的变体频率。如果变体在病例相对于对照中具有显著不同的频率,则称此变体与疾病相关联。可以在GWAS中使用的关联统计是作为统计显著性的度量的p值;作为效应量的度量的优势比(OR);或作为效应量的度量的 β 系数(β)。研究人员通常假设加性遗传模型并计算等位基因优势比,其是每个另外的等位基因拷贝所赋予的增加(或减少)的疾病风险(与不携带此等位基因拷贝相比)。GWAS设计和解释中的另一概念是连锁不平衡,其是等位基因的非随机关联。连锁不平衡的存在可能会混淆哪个变体是“因果的”。

[0242] 变体的功能注释和/或湿实验室实验可以鉴定经由GWAS鉴定出的因果遗传变体,并且在许多情况下可能导致对致病基因的鉴定。特别地,理解因果遗传变体的功能效应(例如,蛋白质功能的丧失、蛋白质功能的获得、基因表达的增加或基因表达的减少)可以允许此变体用作靶基因的治疗调节的代表,或深入了解调节此靶标的治疗剂的潜在治疗功效和安全性。

[0243] 此类基因-疾病关联的鉴定已经提供了对疾病生物学的见解,并可以用于鉴定制药行业的新型治疗靶标。为了转化源自人类遗传学的治疗见解,可以将患者中的疾病生物学外源地“编程”为复制来自人类遗传学的观察结果。在将经由人类遗传学鉴定的治疗靶标转化为新型药物中存在若干种可以利用的潜在治疗方式选择。这些可以包括良好确立的治疗方式,诸如小分子和单克隆抗体;成熟方式,诸如寡核苷酸;以及新兴的方式,诸如基因疗法和基因编辑。治疗方式的选择可以取决于若干种因素,包括靶标的位置(例如,细胞内、细胞外或分泌的)、相关组织(例如,肝脏)和相关适应症。这类研究可被用于鉴定特定与肝脏病症相关的靶点,以供通过本文描述的组成物或化合物进行siRNA或ASO的抑制。

[0244] 一些实施方案包括使用本文公开的方法制备寡核苷酸或siRNA的方法。例如,可以使用本文实施例中包括合成步骤的任何方面。一些实施方案包括制备GalNAc部分,或制备具有GalNAc部分的寡核苷酸。

[0245] 1. siRNA

[0246] 在一些实施方案中,该组合物包含与靶寡核苷酸(例如mRNA)结合的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含小干扰RNA(siRNA)。在一些实施方案中,该组合物包含与靶寡核苷酸(例如mRNA)结合的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA。在一些实施方案中,有义链包含RNA。在一些实施方案中,反义链包含RNA。

[0247] 在一些实施方案中,有义链的长度为12至30个核苷。在一些实施方案中,有义链的长度为14至30个核苷。在一些实施方案中,有义链的长度至少为约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。在一些实施方案中,有义链的长度至少为12个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为14个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为16个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为18个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为20个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为22个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为24个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为26个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为28个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度至少为30个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核

苷。在一些实施方案中,有义链的长度不超过12个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过14个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过16个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过18个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过20个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过22个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过24个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过26个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过28个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度不超过30个核苷酸。

[0248] 在一些实施方案中,反义链的长度为12至30个核苷。在一些实施方案中,反义链的长度为14至30个核苷。在一些实施方案中,反义链的长度至少为约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。在一些实施方案中,反义链的长度至少为12个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为14个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为16个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为18个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为20个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为22个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为24个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为26个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为28个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度至少为30个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。在一些实施方案中,反义链的长度不超过12个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过14个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过16个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过18个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过20个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过22个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过24个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过26个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过28个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度不超过30个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度与有义链相同。

[0249] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶寡核苷酸(例如mRNA)表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,其中有义链的长度为12至30个核苷。在一些实施方案中,组合物包含长度为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷的有义链,或由上述任意两个数字定义的范围。在一些实施方案中,组合物包含长度为12至30个核苷的反义链。在一些实施方案中,组合物包含长度为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷的反义链,或由上述任意两个数字定义的范围。

[0250] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶寡核苷酸(例如mRNA)表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,每条链的长度独立为约14至30个核苷,并且有义链和反义链中至少有一条包含含有全长人类靶mRNA序列的约12至30个连续核苷的核苷序列。在一些实施方案中,有义链和反义链中至少有一条包含含有全长人类靶mRNA序列之一的至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多连续核苷的核苷序列。

[0251] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶蛋白表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,其中有义链和反义链形成双链RNA双链体。在一些实施方案

中,双链RNA双链体的第一碱基对是AU碱基对。

[0252] 在一些实施方案中,有义链进一步包括3' 突出端。在一些实施方案中,3' 突出端包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷,或由上述任意两个数字定义的核苷酸的范围。在一些实施方案中,3' 突出端包含1、2个或更多核苷。在一些实施方案中,3' 突出端包含2个核苷。在一些实施方案中,有义链进一步包括5' 突出端。在一些实施方案中,5' 突出端包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷,或由上述任意两个数字定义的核苷酸的范围。在一些实施方案中,5' 突出端包含1、2个或更多核苷。在一些实施方案中,5' 突出端包含2个核苷。

[0253] 在一些实施方案中,反义链进一步包括3' 突出端。在一些实施方案中,3' 突出端包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷,或者由上述任意两个数字定义的核苷酸的范围。在一些实施方案中,3' 突出端包含1、2或更多个核苷。在一些实施方案中,3' 突出端包含2个核苷。在一些实施方案中,反义链进一步包括5' 突出端。在一些实施方案中,5' 突出端包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷,或者由上述任意两个数字定义的核苷酸的范围。在一些实施方案中,5' 突出端包含1、2或更多个核苷。在一些实施方案中,5' 突出端包含2个核苷。

[0254] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶蛋白的表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,其中siRNA与编码靶蛋白的人类靶mRNA中的19聚体结合。在一些实施方案中,siRNA与人类靶mRNA中的12聚体、13聚体、14聚体、15聚体、16聚体、17聚体、18聚体、19聚体、20聚体、21聚体、22聚体、23聚体、24聚体或25聚体结合。

[0255] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶蛋白的表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,其中siRNA与编码靶蛋白的非人灵长动物靶mRNA中的17聚体结合。在一些实施方案中,siRNA与非人灵长动物靶mRNA中的12聚体、13聚体、14聚体、15聚体、16聚体、17聚体、18聚体、19聚体、20聚体、21聚体、22聚体、23聚体、24聚体或25聚体结合。

[0256] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶蛋白的表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,其中siRNA与编码靶蛋白的人类靶mRNA中的19聚体结合,或其组合。在一些实施方案中,siRNA与人类靶mRNA中的12聚体、13聚体、14聚体、15聚体、16聚体、17聚体、18聚体、19聚体、20聚体、21聚体、22聚体、23聚体、24聚体或25聚体结合。

[0257] 2.ASO

[0258] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶寡核苷酸(例如mRNA)表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包含反义寡核苷酸(ASO)。在一些实施方案中,ASO的长度为12-30个核苷。在一些实施方案中,ASO的长度为14-30个核苷。在一些实施方案中,ASO的长度为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷,或由上述任何两个数字定义的范围。在一些实施方案中,ASO的长度为15-25个核苷。在一些实施方案中,ASO的长度为20个核苷。在一些实施方案中,ASO包含DNA。

[0259] 在一些实施方案中,ASO的长度为12-30个核苷。在一些实施方案中,ASO的长度为14-30个核苷。在一些实施方案中,ASO的长度至少为约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。在一些实施方案中,ASO的长度至少为12个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度至少为14个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度至少为16个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度至少为18个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度至少为20个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度至少为22个核苷酸。在一些实

实施方案中,ASO的长度至少为24个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度至少为26个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度至少为28个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度至少为30个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。在一些实施方案中,ASO的长度不超过12个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过14个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过16个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过18个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过20个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过22个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过24个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过26个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过28个核苷酸。在一些实施方案中,ASO的长度不超过30个核苷酸。

[0260] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶蛋白的表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包含长度约为12-30个核苷的ASO,并包含与编码靶蛋白的人类全长前mRNA靶序列的约12-30个连续核苷互补的核苷序列;其中(i)寡核苷酸包含修饰,该修饰包括经修饰的核苷和/或经修饰的核苷间键联,并且/或者(ii)组合物包含药学上可接受的载剂。

[0261] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶蛋白的表达的寡核苷酸,其中寡核苷酸包含长度约为12-30个核苷的ASO,并包含与编码靶蛋白的人类全长靶mRNA序列中的约12-30个连续核苷互补的核苷序列;其中(i)寡核苷酸包含修饰,该修饰包括经修饰的核苷和/或经修饰的核苷间键联,并且/或者(ii)组合物包含药学上可接受的载剂。

[0262] 1.寡核苷酸修饰模式

[0263] 在一些实施方案中,该组合物包含与靶寡核苷酸结合的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含修饰,该修饰包括经修饰的核苷和/或经修饰的核苷间键联,并且/或者(ii)该组合物包含药学上可接受的载剂。在一些实施方案中,寡核苷酸包含修饰,该修饰包括经修饰的核苷和/或经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,经修饰的核苷间键联包括烷基膦酸酯、硫代膦酸酯、甲基膦酸酯、二硫代膦酸酯、烷基硫代膦酸酯、氨基膦酸酯、氨基甲酸酯、碳酸酯、磷酸三酯、乙酰亚胺酯或羧甲基酯,或其组合。在一些实施方案中,经修饰的核苷间键联包括一个或多个硫代膦酸酯键联。经修饰的核苷间键联的益处可以包括降低的毒性或改善的药代动力学。

[0264] 在一些实施方案中,该组合物包含与靶寡核苷酸结合的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含经修饰的核苷间键联,其中该寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个经修饰的核苷间键联,或由任何两个前述数字定义的范围。在一些实施方案中,寡核苷酸包含不超过18个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含不超过20个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含2个或更多个经修饰的核苷间键联、3个或更多个经修饰的核苷间键联、4个或更多个经修饰的核苷间键联、5个或更多个经修饰的核苷间键联、6个或更多个经修饰的核苷间键联、7个或更多个经修饰的核苷间键联、8个或更多个经修饰的核苷间键联、9个或更多个经修饰的核苷间键联、10个或更多个经修饰的核苷间键联、11个或更多个经修饰的核苷间键联、12个或更多个经修饰的核苷间键联、13个或更多个经修饰的核苷间键联、14个或更多个经修饰的核苷间键联、15个或更多个经修饰的核苷间键联、16个或更多个经修饰的核苷间键联、17个或更多个经修饰的核苷间键联、18个或更多个经修饰的核苷间键联、19个或更多个经

修饰的核苷间键联或20个或更多个经修饰的核苷间键联。

[0265] 在一些实施方案中,该组合物包含与靶寡核苷酸结合的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含经修饰的核苷。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括锁核酸(LNA)、己糖醇核酸(HLA)、环己烯核酸(CeNA)、2'-甲氧基乙基、2'-O-烷基、2'-O-烯丙基、2'-氟或2'-脱氧,或其组合。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括LNA。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2',4'受约束乙基核酸。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括HLA。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括CeNA。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-甲氧基乙基。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-O-烷基。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-O-烯丙基。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-氟基。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-脱氧基。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-O-甲基核苷、2'-脱氧氟核苷、2'-O-N-甲基乙酰氨基(2'-O-NMA)核苷、2'-O-二甲基氨基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)核苷、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)核苷或2'-ara-F,或其组合。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-O-甲基核苷。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-脱氧氟核苷。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-O-NMA核苷。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-O-DMAEOE核苷。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)核苷。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-ara-F。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括一个或多个2'氟修饰的核苷。在一些实施方案中,经修饰的核苷包括2'-O-烷基修饰的核苷。经修饰的核苷的益处可以包括降低的毒性或改善的药代动力学。

[0266] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或21个经修饰的核苷,或由任何两个前述数字定义的核苷范围。在一些实施方案中,寡核苷酸包含不超过19个经修饰的核苷。在一些实施方案中,寡核苷酸包含不超过21个经修饰的核苷。在一些实施方案中,寡核苷酸包含2个或更多个经修饰的核苷、3个或更多个经修饰的核苷、4个或更多个经修饰的核苷、5个或更多个经修饰的核苷、6个或更多个经修饰的核苷、7个或更多个经修饰的核苷、8个或更多个经修饰的核苷、9个或更多个经修饰的核苷、10个或更多个经修饰的核苷、11个或更多个经修饰的核苷、12个或更多个经修饰的核苷、13个或更多个经修饰的核苷、14个或更多个经修饰的核苷、15个或更多个经修饰的核苷、16个或更多个经修饰的核苷、17个或更多个经修饰的核苷、18个或更多个经修饰的核苷、19个或更多个经修饰的核苷、20个或更多个经修饰的核苷或21个或更多个经修饰的核苷。

[0267] 在一些实施方案中,组合物包含与靶寡核苷酸结合的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含在所述寡核苷酸的3'端或5'末端处附接的脂质。在一些实施方案中,脂质包括胆固醇、肉豆蔻酰、棕榈酰、硬脂酰、石胆酰、二十二烷酰、二十二碳六烯酸酰、肉豆蔻基、棕榈基、硬脂基或 α -生育酚,或其组合。

[0268] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶mRNA的表达的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含糖部分。糖部分可以包括N-乙酰半乳糖部分(例如N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)部分)、N-乙酰葡萄糖部分(例如N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)部分)、岩藻糖部分或甘露糖部分。糖部分可以包含1、2、3或更多糖分子。糖部分可以附接在寡核苷酸的3'端或5'末端。糖部分可以包含N-乙酰半乳糖部分。糖部分可以包含N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)部分。糖部分可以包含N-乙酰葡萄糖部分。糖部分可以包含N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)部分。糖部分可以包含岩藻糖

部分。糖部分可以包含甘露糖部分。N-乙酰葡萄糖、GlcNAc、岩藻糖或甘露糖可用于靶向巨噬细胞,因为它们可靶向或结合甘露糖受体,如CD206。

[0269] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶mRNA的表达的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)部分。GalNAc可用于靶向肝细胞。在一些实施方案中,组合物包含GalNAc。在一些实施方案中,组合物包含GalNAc衍生物。GalNAc部分可以包括1、2、3或更多个GalNAc分子。GalNAc部分可以包含双价或三价的分支接头。寡核苷酸可以通过双价或三价的分支接头与1、2或3个GalNAc附接。GalNAc部分可以附接在寡核苷酸的3'或5'末端。

[0270] 寡核苷酸可以包括嘌呤。嘌呤的实例包括腺嘌呤(A)或鸟嘌呤(G)或其修饰形式。寡核苷酸可以包括嘧啶。嘧啶的实例包括胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)或尿嘧啶(U)或其修饰形式。

[0271] 在一些实施方案中,寡核苷酸的嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘌呤包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘌呤包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,2' -0-甲基包括2' 0-甲基。

[0272] 在一些实施方案中,寡核苷酸的嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘧啶包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘧啶包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘧啶的混合物。

[0273] 在一些实施方案中,寡核苷酸的嘌呤包括2' -氟修饰的嘌呤,并且寡核苷酸的嘧啶包括2' -氟和2' -0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤,并且寡核苷酸的嘧啶包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤,并且寡核苷酸的嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤,并且寡核苷酸的嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶,并且寡核苷酸的嘌呤包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶,并且寡核苷酸的嘌呤包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶,并且寡核苷酸的嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,寡核苷酸的嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶,并且寡核苷酸的嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤。

[0274] 在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤,并且寡核苷酸的所有嘧啶包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤,并且寡核苷酸的所有嘧啶包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤,并且寡核苷酸的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤,并且寡核苷酸的所有嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,寡

核苷酸的所有嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶,并且寡核苷酸的所有嘌呤包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶,并且寡核苷酸的所有嘌呤包括2' 氟和2' -0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶,并且寡核苷酸的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶,并且寡核苷酸的所有嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤。

[0275] 2.siRNA修饰模式

[0276] 在一些实施方案中,有义链包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或29个经修饰的核苷间键联,或由上述任意两个整数定义的范围内的经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,有义链包含1-11个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,有义链包含2-6个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,有义链包含5个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,有义链包含4个经修饰的核苷间键联。

[0277] 在一些实施方案中,反义链包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或29个经修饰的核苷间键联,或由上述任意两个整数定义的范围内的经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,反义链包含1-11个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,反义链包含2-6个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,反义链包含5个经修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,反义链包含4个经修饰的核苷间键联。

[0278] 在一些实施方案中,有义链包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个经修饰的核苷,或由上述任意两个整数定义的范围内的经修饰的核苷。在一些实施方案中,有义链包含12-19个经修饰的核苷。在一些实施方案中,有义链包含12-21个经修饰的核苷。在一些实施方案中,有义链包含19个经修饰的核苷。在一些实施方案中,有义链包含21个经修饰的核苷。

[0279] 在一些实施方案中,反义链包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个经修饰的核苷,或由上述任意两个整数定义的范围内的经修饰的核苷。在一些实施方案中,反义链包含12-19个经修饰的核苷。在一些实施方案中,反义链包含12-21个经修饰的核苷。在一些实施方案中,反义链包含19个经修饰的核苷。在一些实施方案中,反义链包含21个经修饰的核苷。

[0280] 在一些实施方案中,有义链或反义链进一步包括至少2个附加的核苷,其附接在有义链或反义链的3' 末端。在一些实施方案中,有义链或反义链包括2个附加的核苷,其附接在有义链或反义链的3' 末端。作为有义链的一部分,这些附加的核苷可能与靶mRNA互补,也可能不互补。反义链的附加核苷可包括尿嘧啶。反义链的2个附加核苷可都包括尿嘧啶。

[0281] 在一些实施方案中,有义链或有义链进一步包括至少2个附加的核苷,其附接在有义链或有义链的3' 末端。在一些实施方案中,有义链或有义链包括2个附加的核苷,其附接在有义链或有义链的3' 末端。有义链的附加核苷可包括尿嘧啶。有义链的2个附加核苷可都包括尿嘧啶。

[0282] 在一些实施方案中,组合物包含与靶寡核苷酸结合的寡核苷酸,其中寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,其中有义链包含修饰模式。在一些实施方案中,有义链包

含修饰模式1S:5'-NfsnsNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,并且"s"是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S#2:5'-NfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,并且"s"是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式2S:5'-nsnsnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,并且"s"是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式2S#2:5'-nnnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,并且"s"是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S:5'-nsnsnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,并且"s"是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S#2:5'-nnnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,并且"s"是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式4S:5'-NfsnsNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,"s"是硫代磷酸酯键联,并且N包含一个或多个核苷。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式4S#2:5'-NfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,"s"是硫代磷酸酯键联,并且N包含一个或多个核苷。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式5S:5'-nsnsnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,"s"是硫代磷酸酯键联,并且N包含一个或多个核苷。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式5S#2:5'-nnnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,"s"是硫代磷酸酯键联,并且N包含一个或多个核苷。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S:5'-NfsnsNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,"s"是硫代磷酸酯键联,并且N包含一个或多个核苷。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S#2:5'-NfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,"s"是硫代磷酸酯键联,并且N包含一个或多个核苷。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S、2S、3S、4S、5S或6S中的任意一个。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S#2、2S#2、3S#2、4S#2、5S#2或6S#2中的任意一个。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S、3S、4S或6S中的任意一个。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S#2、3S#2、4S#2或6S#2中的任意一个。任意一个修饰模式1S-6S可以包含附接在3'端的GalNAc配体。任意一个修饰模式1S-6S可以包含附接在5'端的GalNAc配体。任意一个修饰模式1S-6S#2可以包含附接在3'端的GalNAc配体。任意一个修饰模式1S-6S#2可以包含附接在5'端的GalNAc配体。

[0283] 在一些实施方案中,组合物包含与靶寡核苷酸结合的寡核苷酸,其中寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,其中反义链包含修饰模式。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式1AS:5'-nsNfsnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,并且"s"是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式2AS:5'-nsNfsnnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,"n"是2'-0-甲基修饰的核苷,并且"s"是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式3AS:5'-nsNfsnnnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfsnsn-3',其中"Nf"是2'-氟修饰的核苷,

“n”是2'-O-甲基修饰的核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式4AS:5'-nsNfsnNfnNfnnnnnnnNfnNfnnnnsnsn-3',其中“Nf”是2'-氟修饰的核苷,“n”是2'-O-甲基修饰的核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式5AS:5'-nsNfsnnnNfnNfnnnnnnnNfnNfnnnnsnsn-3',其中“Nf”是2'-氟修饰的核苷,“n”是2'-O-甲基修饰的核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式6AS:5'-nsNfsnNfnNfnNfnNfnNfnNfnNfnnsnsn-3',其中“Nf”是2'-氟修饰的核苷,“n”是2'-O-甲基修饰的核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式7AS:5'-nsNfsnNfnNfnNfnNfnnnnnNfnNfnnnnsnsn-3',其中“Nf”是2'-氟修饰的核苷,“n”是2'-O-甲基修饰的核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式8AS:5'-nsNfsnnnnnnnnnnnnNfnnnnnnsnsn-3',其中“Nf”是2'-氟修饰的核苷,“n”是2'-O-甲基修饰的核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式9AS:5'-nsNfsnnnNfnnnnnnnnnNfnNfnNfnnsnsn-3',其中“Nf”是2'-氟修饰的核苷,“n”是2'-O-甲基修饰的核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。修饰模式1AS-9AS中的任意一种可以包括附接在3'端的GalNAc配体。修饰模式1AS-9AS中的任意一种可以包括附接在5'端的GalNAc配体。

[0284] 在任何修饰模式中的修饰可以是任选的。例如,修饰模式1S-6S、1S#2-6S#2或1AS-9AS的任一个中的1、2、3个或更多的硫代磷酸酯键联可以被未修饰的键联或不同的修饰的键联替代。在一些情况下,修饰模式1S-6S或1AS-9AS的任一个中的1、2、3个或更多个经修饰的核苷可以被未经修饰的核苷或不同的经修饰的核苷替代。

[0285] 在一些实施方案中,组合物包含抑制靶mRNA的表达的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包括包含有义链和反义链的siRNA,其中有义链包含修饰模式1S,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式2S,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式4S,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式5S,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S#2,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式2S#2,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S#2,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式4S#2,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式5S#2,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S#2,并且反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,反义链包含修饰模式1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。在一些实施方案中,有义链或反义链包含修饰模式AS01。

[0286] 可以使用有义和反义修饰模式的任意组合。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S,并且反义链包含修饰模式1AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式2S,并且反义链包含修饰模式2AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式2S,并且反义链包含修饰模式3AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S,并且反义链包含修饰模式1AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S,并且反义链包含修饰模式4AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S,并且反义链包含修饰模式5AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S,并且反义链包含修饰模式6AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S,并且反义链包含修饰模式7AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S,并且反义链包含修饰模式8AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S,并且反义链包含修饰模式1AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S,并且反义链包含修饰模式4AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S,并且反义链包含修饰模式5AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S,并且反义链包含修饰模式6AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S,并且反义链包含修饰模式7AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S,并且反义链包含修饰模式8AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式1S#2,并且反义链包含修饰模式1AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式2S#2,并且反义链包含修饰模式2AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式2S#2,并且反义链包含修饰模式3AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S#2,并且反义链包含修饰模式1AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S#2,并且反义链包含修饰模式4AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S#2,并且反义链包含修饰模式5AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S#2,并且反义链包含修饰模式6AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S#2,并且反义链包含修饰模式7AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式3S#2,并且反义链包含修饰模式8AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S#2,并且反义链包含修饰模式1AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S#2,并且反义链包含修饰模式4AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S#2,并且反义链包含修饰模式5AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S#2,并且反义链包含修饰模式6AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S#2,并且反义链包含修饰模式7AS。在一些实施方案中,有义链包含修饰模式6S#2,并且反义链包含修饰模式8AS。

[0287] 在一些实施方案中,有义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,有义链的嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,有义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,有义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,有义链的所有嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,有义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。

[0288] 在一些实施方案中,有义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,有义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的所有嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。

[0289] 在一些实施方案中,有义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤,并且有义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,有义链的嘌呤包

含2'-0-甲基修饰的嘌呤,并且有义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,有义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤,并且有义链的嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤,并且有义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶,并且有义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,有义链的嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶,并且有义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,有义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶,并且有义链的嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,有义链的嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶,并且有义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤。

[0290] 在一些实施方案中,有义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤,并且有义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,有义链的所有嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤,并且有义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,有义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤,并且有义链的所有嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的所有嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤,并且有义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶,并且有义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,有义链的所有嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶,并且有义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,有义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶,并且有义链的所有嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,有义链的所有嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶,并且有义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤。

[0291] 在一些实施方案中,反义链的嘌呤包含2'-氟修饰嘌呤。在一些实施方案中,反义链的嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,反义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,反义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,反义链的所有嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,反义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。

[0292] 在一些实施方案中,反义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,反义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的所有嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。

[0293] 在一些实施方案中,反义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤,并且反义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,反义链的嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤,并且反义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-0-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,反义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤,并且反义链的嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的嘌呤包含2'-0-甲基修饰的嘌呤,并且反义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶,并且反义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤和2'-0-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,反义链的嘧啶包含2'-0-甲基修饰的嘧啶,并且反义链的嘌呤包含2'-氟

修饰的嘌呤和2'-O-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,反义链的嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶,并且反义链的嘌呤包含2'-O-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,反义链的嘧啶包含2'-O-甲基修饰的嘧啶,并且反义链的嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤。

[0294] 在一些实施方案中,反义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤,并且反义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-O-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,反义链的所有嘌呤包含2'-O-甲基修饰的嘌呤,并且反义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-O-甲基修饰的嘧啶的混合物。在一些实施方案中,反义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤,并且反义链的所有嘧啶包含2'-O-甲基修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的所有嘌呤包含2'-O-甲基修饰的嘌呤,并且反义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶,并且反义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-O-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,反义链的所有嘧啶包含2'-O-甲基修饰的嘧啶,并且反义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘧啶和2'-O-甲基修饰的嘌呤的混合物。在一些实施方案中,反义链的所有嘧啶包含2'-氟修饰的嘧啶,并且反义链的所有嘌呤包含2'-O-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,反义链的所有嘧啶包含2'-O-甲基修饰的嘧啶,并且反义链的所有嘌呤包含2'-氟修饰的嘌呤。

[0295] 在一些情况下,寡核苷酸包含特定修饰模式。在一些实施方案中,从寡核苷酸链的5'端开始计数的位置9可以具有2' F修饰。在一些实施方案中,当寡核苷酸链的位置9是嘧啶时,则寡核苷酸链中的所有嘌呤都具有2' OMe修饰。在一些实施方案中,当位置9是在有义链的位置5与11之间的唯一嘧啶时,则位置9是寡核苷酸链中唯一具有2' F修饰的位置。在一些实施方案中,当寡核苷酸链的位置9和位置5与11之间的仅另一个碱基是嘧啶时,则这两个嘧啶是寡核苷酸链中仅有的两个具有2' F修饰的位置。在一些实施方案中,当寡核苷酸链的位置9和位置5与11之间的仅另外两个碱基是嘧啶,并且这另外两个嘧啶在相邻位置,使得不存在连续三个2' F修饰时,则可以进行总计产生三个2' F修饰的任何2' F修饰的组合。在一些实施方案中,当寡核苷酸链的位置5与11之间存在超过2个嘧啶时,则允许具有2' F修饰的嘧啶的所有组合具有总计3至5个2' F修饰,前提是寡核苷酸链不具有连续3个2' F修饰。在一些情况下,任何siRNA的寡核苷酸链包含符合任何或所有这些寡核苷酸链规则的修饰模式。

[0296] 在一些实施方案中,当寡核苷酸链的位置9是嘌呤时,则寡核苷酸链中的所有嘌呤都具有2' OMe修饰。在一些实施方案中,当位置9是在有义链的位置5与11之间的唯一嘌呤时,则位置9是寡核苷酸链中唯一具有2' F修饰的位置。在一些实施方案中,当寡核苷酸链的位置9和位置5与11之间的仅另一个碱基是嘌呤时,则这两个嘌呤是寡核苷酸链中仅有的两个具有2' F修饰的位置。在一些实施方案中,当寡核苷酸链的位置9和位置5与11之间的仅另外两个碱基是嘌呤,并且这另外两个嘌呤在相邻位置,使得不存在连续三个2' F修饰时,则可以进行总计产生三个2' F修饰的任何2' F修饰的组合。在一些实施方案中,当寡核苷酸链的位置5与11之间存在超过2个嘌呤时,则允许具有2' F修饰的嘌呤的所有组合具有总计3至5个2' F修饰,前提是寡核苷酸链不具有连续3个2' F修饰。在一些情况下,任何siRNA的寡核苷酸链包含符合任何或所有这些寡核苷酸链规则的修饰模式。

[0297] 在一些情况下,寡核苷酸链的位置9可以是2' 脱氧。在这些情况下,2' F和2' OMe修饰可以发生在寡核苷酸链的其他位置。在一些情况下,任何siRNA的寡核苷酸链包含符合这些寡核苷酸链规则的修饰模式。

[0298] 在一些实施方案中,有义链的位置9包括2' 氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,有义链的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,位置5与11之间的1、2、3、4或5个嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶,前提是不存在连续三个2' 氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的奇数位置包括2' -0-甲基修饰的核苷酸。在一些实施方案中,反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸、2' -0-甲基修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,有义链的位置9包括2' 氟修饰的嘧啶;有义链的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤;位置5与11之间的1、2、3、4或5个嘧啶包括2' 氟修饰的嘧啶,前提是不存在连续三个2' 氟修饰的嘧啶;反义链的奇数位置包括2' -0-甲基修饰的核苷酸;并且反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。

[0299] 在一些实施方案中,有义链的位置9包括2' 氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,有义链的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘌呤。在一些实施方案中,位置5与11之间的1、2、3、4或5个嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤,前提是不存在连续三个2' 氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,反义链的奇数位置包括2' -0-甲基修饰的核苷酸。在一些实施方案中,反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸、2' -0-甲基修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,有义链的位置9包括2' 氟修饰的嘌呤;有义链的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶;位置5与11之间的1、2、3、4或5个嘌呤包括2' 氟修饰的嘌呤,前提是不存在连续三个2' 氟修饰的嘌呤;反义链的奇数位置包括2' -0-甲基修饰的核苷酸;并且反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,不存在连续三个2' 氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,不存在连续三个2' 氟修饰的嘧啶。

[0300] 在一些实施方案中,有义链的位置9包括未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,有义链的位置5、7和8包括2' 氟修饰的核苷酸。在一些实施方案中,有义链的位置10至21的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶,并且有义链的位置10至21的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤或2' 氟修饰的嘌呤。在一些实施方案中,反义链的奇数位置包括2' -0-甲基修饰的核苷酸。在一些实施方案中,反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸、2' -0-甲基修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,有义链的位置9包括未经修饰的脱氧核糖核苷酸;有义链的位置5、7和8包括2' 氟修饰的核苷酸;有义链的位置10至21的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶,并且位置10至21的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤或2' 氟修饰的嘌呤;反义链的奇数位置包括2' -0-甲基修饰的核苷酸;并且反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。

[0301] 在一些实施方案中,有义链的位置9包括未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,有义链的位置5、7和8包括2' 氟修饰的核苷酸。在一些实施方案中,有义链的位置10至21的所有嘌呤包括2' -0-甲基修饰的嘌呤,并且有义链的位置10至21的所有嘧啶包括2' -0-甲基修饰的嘧啶或2' 氟修饰的嘧啶。在一些实施方案中,反义链的奇数位置包括2' -0-甲基修饰的核苷酸。在一些实施方案中,反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸、2' -0-甲基修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,有义链的位置9包

括未经修饰的脱氧核糖核苷酸；有义链的位置5、7和8包括2' 氟修饰的核苷酸；有义链的位置10至21的所有嘌呤包括2' -O-甲基修饰的嘌呤，并且位置10至21的所有嘧啶包括2' -O-甲基修饰的嘧啶或2' 氟修饰的嘧啶；反义链的奇数位置包括2' -O-甲基修饰的核苷酸；并且反义链的偶数位置包括2' 氟修饰的核苷酸和未经修饰的脱氧核糖核苷酸。

[0302] 3.AS0修饰模式

[0303] 在一些实施方案中，组合物包含与靶寡核苷酸结合的寡核苷酸，其中该寡核苷酸包含反义寡核苷酸 (ASO)。在一些实施方案中，ASO包含修饰模式ASO1：

[0304] 5' -nsnsnsnsnsdNsdNsdNsdNsdNsdNsdNsdNsdNsdNsdNsdNsdNsn-3'，其中“dN”是任意脱氧核苷酸，“n”是2' O-甲基或2' O-甲氧基乙基修饰的核苷，并且“s”是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中，ASO包含修饰模式1S、2S、3S、4S、5S、6S、1AS、2AS、3AS、4AS、5AS、6AS、7AS、8AS或9AS。

[0305] 在一些实施方案中，ASO与GalNAc部分缀合。GalNAc部分可以在5' 末端或3' 末端缀合至ASO。在一些实施方案中，GalNAc部分缀合至ASO的5' 末端。在一些实施方案中，GalNAc部分缀合至ASO的3' 末端。

[0306] C.制剂

[0307] 在一些实施方案中，组合物是药物组合物。在一些实施方案中，组合物是无菌的。在一些实施方案中，组合物还包含药学上可接受的载剂。该制剂可以包括诸如GalNAc部分的化合物，以及与本文所述的GalNAc部分缀合的寡核苷酸。

[0308] 在一些实施方案中，药学上可接受的载剂包括水。在一些实施方案中，药学上可接受的载剂包括缓冲剂。在一些实施方案中，药学上可接受的载剂包括盐水溶液。在一些实施方案中，药学上可接受的载剂包括水、缓冲剂或盐水溶液。在一些实施例中，组合物包含脂质体。在一些实施方案中，药学上可接受的载剂包括脂质体、脂质、纳米颗粒、蛋白质、蛋白质-抗体复合物、肽、纤维素、纳米凝胶，或其组合。

[0309] II.方法和用途

[0310] 在一些实施方案中，本文公开了向对象施用本文所述的组合物的方法。一些实施方案涉及使用本文所述的组合物，诸如将组合物施用于对象。

[0311] 一些实施方案涉及一种治疗有需要的对象的病症的方法。一些实施方案涉及本文所述的组合物在治疗方法中的用途。一些实施方案包括将本文所述的组合物施用于患有病症的对象。在一些实施方案中，施用治疗对象的病症。在一些实施方案中，组合物治疗对象的病症。

[0312] 在一些实施方案中，治疗包括预防、抑制或逆转对象的病症。一些实施方案涉及本文所述的组合物在预防、抑制或逆转病症的方法中的用途。一些实施方案涉及一种预防、抑制或逆转有需要的对象的病症的方法。一些实施方案包括将本文所述的组合物施用于患有病症的对象。在一些实施方案中，施用预防、抑制或逆转对象的病症。在一些实施方案中，组合物预防、抑制或逆转对象的病症。

[0313] 一些实施方案涉及一种预防有需要的对象的病症的方法。一些实施方案涉及本文所述的组合物在预防病症的方法中的用途。一些实施方案包括将本文所述的组合物施用于患有病症的对象。在一些实施方案中，施用预防对象的病症。在一些实施方案中，组合物预防对象的病症。

[0314] 一些实施方案涉及一种抑制有需要的对象的病症的方法。一些实施方案涉及本文所述的组合物在抑制病症的方法中的用途。一些实施方案包括将本文所述的组合物施用于患有病症的对象。在一些实施方案中,施用抑制对象的病症。在一些实施方案中,组合物抑制对象的病症。

[0315] 一些实施方案涉及一种逆转有需要的对象的病症的方法。一些实施方案涉及本文所述的组合物在逆转病症的方法中的用途。一些实施方案包括将本文所述的组合物施用于患有病症的对象。在一些实施方案中,施用逆转对象的病症。在一些实施方案中,组合物逆转对象的病症。

[0316] A. 病症

[0317] 本文描述的方法的一些实施方案包括治疗有需要的对象的病症。在一些实施方案中,病症是肝脏病症。肝脏病症的非限制性实例包括肝炎、肝癌、肝纤维化、胆汁淤积、胆囊疾病、胆道疾病、酒精性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、肝脏感染或遗传性肝脏病症。在一些实施方案中,肝脏病症包括肝炎。在一些实施方案中,肝脏病症包括肝癌。在一些实施方案中,肝脏病症包括肝纤维化。在一些实施方案中,肝脏病症包括胆汁淤积。在一些实施方案中,肝脏病症包括胆囊疾病。在一些实施方案中,肝脏病症包括胆道疾病。在一些实施方案中,肝脏病症包括酒精性肝病。在一些实施方案中,肝脏病症包括非酒精性脂肪性肝炎。

[0318] 在一些实施方案中,肝脏病症包括肝脏感染。在一些实施方案中,肝脏感染包括甲型肝炎。在一些实施方案中,肝脏感染包括乙型肝炎。在一些实施方案中,肝脏感染包括丙型肝炎。

[0319] 在一些实施方案中,肝脏病症包括遗传性肝脏病症。在一些实施方案中,遗传性肝脏病症包括血色素沉着症。在一些实施方案中,遗传性肝脏病症包括威尔逊病。

[0320] B. 对象

[0321] 本文所述的方法的一些实施方案包括对象的治疗。对象的非限制性示例包括脊椎动物、动物、哺乳动物、狗、猫、牛、啮齿动物、小鼠、大鼠、灵长类动物、猴和人。在一些实施方案中,对象是脊椎动物。在一些实施方案中,对象是动物。在一些实施方案中,对象是哺乳动物。在一些实施方案中,对象是狗。在一些实施方案中,对象是猫。在一些实施方案中,对象是牛。在一些实施方案中,对象是小鼠。在一些实施方案中,对象是大鼠。在一些实施方案中,对象是灵长类动物。在一些实施方案中,对象是猴。在一些实施方案中,对象是动物、哺乳动物、狗、猫、牛、啮齿动物、小鼠、大鼠、灵长类动物或猴。在一些实施方案中,对象是人。

[0322] 在一些实施方案中,对象是男性。在一些实施方案中,对象是女性。

[0323] 在一些实施方案中,对象的体重指数(BMI)为25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50或更高,或由上述任意两个整数定义的范围。在一些实施方案中,对象超重。在一些实施方案中,对象的BMI为25或更高。在一些实施方案中,对象的BMI为25-29。在一些实施方案中,对象为肥胖。在一些实施方案中,对象的BMI为30或更高。在一些实施方案中,对象的BMI为30-39。在一些实施方案中,对象的BMI为40-50。在一些实施方案中,对象的BMI为25-50。

[0324] 在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 90 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 85 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 80 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 70 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 60 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 50 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 40

岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 30 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 20 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 10 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 1 岁。在一些实施方案中,对象年龄 ≥ 0 岁。

[0325] 在一些实施方案中,对象 ≤ 100 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 90 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 85 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 80 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 70 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 60 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 50 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 40 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 30 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 20 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 10 岁。在一些实施方案中,对象 ≤ 1 岁。

[0326] 在一些实施方案中,对象的年龄在0与100岁之间。在一些实施方案中,对象的年龄在20与90岁之间。在一些实施方案中,对象的年龄在30与80岁之间。在一些实施方案中,对象的年龄在40与75岁之间。在一些实施方案中,对象的年龄在50与70岁之间。在一些实施方案中,对象的年龄在40与85岁之间。

[0327] C. 基线测量值

[0328] 本文所述的方法的一些实施方案包括从对象获取基线测量值。例如,在一些实施方案中,在治疗对象之前从对象处获取基线测量值。基线测量值的非限制性示例包括基线症状(例如,肝脏病症症状)测量、基线保护性表型测量值、基线靶寡核苷酸(例如,mRNA)测量值或基线靶蛋白质测量值。

[0329] 在一些实施方案中,基线测量值是直接从对象获得的。在一些实施方案中,基线测量值是通过观察获得的,例如通过观察对象或对象的组织。在一些实施方案中,基线测量值是以非侵入性方式使用成像装置获得的。在一些实施方案中,基线测量值是在来自对象的样品中获得的。在一些实施方案中,基线测量值是在一个或多个组织学组织切片中获得的。在一些实施方案中,基线测量值是通过从对象获得的样品进行诸如免疫测定、比色测定或荧光测定的测定而获得的。在一些实施方案中,基线测量值是通过免疫测定、比色法测定或荧光测定获得的。在一些实施方案中,基线测量值是通过PCR获得的。

[0330] 在一些实施方案中,基线测量值为基线症状测量值。该症状可以是与靶标寡核苷酸相关的病症的症状。该病症可以是肝脏病症。

[0331] 在一些实施方案中,基线测量值为基线保护性表型测量值。保护性表型可以保护对象免于患上与靶寡核苷酸相关的病症。该保护性表型可以与病症的发生率呈负相关。

[0332] 在一些实施方案中,基线测量值为基线靶蛋白质测量值。在一些实施方案中,基线靶蛋白质测量值包括基线靶蛋白质水平。在一些实施方案中,基线靶蛋白质水平表示为每样品重量的靶蛋白质的质量或百分比。在一些实施方案中,基线靶蛋白质水平表示为每样品体积的靶蛋白质的质量或百分比。在一些实施方案中,基线靶蛋白质水平表示为样品中每总蛋白质的靶蛋白质的质量或百分比。在一些实施方案中,基线靶蛋白质测量值为基线肝脏或肝细胞靶蛋白质测量值。在一些实施方案中,基线靶蛋白质测量值为基线循环靶蛋白质测量值。在一些实施方案中,基线靶蛋白质测量值通过测定如免疫测定、比色法测定或荧光测定获得。

[0333] 在一些实施方案中,基线测量值是基线靶mRNA测量值。在一些实施方案中,基线靶mRNA测量值包括基线靶mRNA水平。在一些实施方案中,基线靶mRNA水平以每样品重量的靶mRNA质量或百分比表示。在一些实施方案中,基线靶mRNA水平以每样品体积的靶mRNA质量

或百分比表示。在一些实施方案中,基线靶mRNA水平以样品中每总mRNA的靶mRNA的质量或百分比表示。在一些实施方案中,基线靶mRNA水平以样品中总核酸的靶mRNA的质量或百分比表示。在一些实施方案中,基线靶mRNA水平相对于样品中另一mRNA水平(如管家基因的mRNA水平)进行表示。在一些实施方案中,基线靶mRNA测量值是基线肝脏或肝细胞靶mRNA测量值。在一些实施方案中,基线靶mRNA测量值通过测定如聚合酶链反应(PCR)测定获得。在一些实施方案中,PCR包括定量PCR(qPCR)。在一些实施方案中,PCR包括对靶mRNA的逆转录。

[0334] 本文所描述的方法的一些实施方案包括从对象获得样品。在一些实施方案中,基线测量值是在从对象获得的样品中获得的。在一些实施方案中,在施用本文所述的组合物或用本文所述的组合物治疗对象之前,从对象获得样品。在一些实施方案中,在向对象施用组合物之前从对象获得的样品中获得基线测量值。在一些实施方案中,样品是从禁食状态的对象获得的。在一些实施方案中,样品是在过夜禁食后从对象获得的。在一些实施方案中,样品是从进食状态的对象获得的。

[0335] 在一些实施方案中,样品包括液体。在一些实施方案中,样品是液体样品。在一些实施方案中,样品是血液、血浆或血清样品。在一些实施方案中,样品包含血液。在一些实施方案中,样品是血液样品。在一些实施方案中,样品是全血样品。在一些实施方案中,血液被分级分离或离心。在一些实施方案中,样品包含血浆。在一些实施方案中,样品是血浆样品。在一些实施方案中,样品包含血清。在一些实施方案中,样品是血清样品。

[0336] 在一些实施方案中,样品包括组织。在一些实施方案中,样品是组织样品。在一些实施方案中,样品包括肝组织。在一些实施方案中,样品是肝脏样品。在一些实施方案中,样品包括肝细胞。在一些实施方案中,样品由肝细胞组成。例如,基线靶mRNA测量或基线靶蛋白质测量可以在来自患者的肝脏或肝细胞样品中获得。在一些实施方案中,样品包括脂肪组织。在一些实施方案中,样品是脂肪样品。脂肪样品可以包括白色脂肪组织或由白色脂肪组织组成。脂肪样品可以包括棕色脂肪组织或由棕色脂肪组织组成。在一些实施方案中,样品包括肾组织。在一些实施方案中,样品是肾脏样品。在一些实施方案中,样品包括心脏组织,如心室或心房组织。在一些实施方案中,样品是心脏样品。在一些实施方案中,样品包括肠道组织,如小肠组织。在一些实施方案中,样品是小肠样品。在一些实施方案中,样品包括淋巴组织,如肠系膜淋巴组织。在一些实施方案中,样品是肠系膜淋巴组织样品。在一些实施方案中,样品包括肌肉组织。在一些实施方案中,样品是肌肉样品。在一些实施方案中,组织样品包括肝脏、脂肪、肾脏或心脏组织。在一些实施方案中,组织样品包括棕色脂肪组织、白色脂肪组织、肾脏组织、肠道组织、肠系膜淋巴组织或肌肉组织。

[0337] D. 疗效

[0338] 在一些实施方案中,相对于基线测量值,组合物或组合物的施用影响测量值如症状(例如肝脏病症症状)测量值、保护性表型测量值、靶寡核苷酸(例如mRNA)测量值或靶蛋白质测量值(例如肝组织靶蛋白质水平)。

[0339] 本文所述的方法的一些实施方案包括从对象获得测量值。例如,测量值可以在治疗对象之后从对象获得。在一些实施方案中,在将组合物施用至对象之后,在从对象获得的第二样品(诸如本文所述的流体或组织样品)中获得测量值。在一些实施方案中,测量值是病症已得到治疗的指示。

[0340] 在一些实施方案中,测量值是直接从对象获得的。在一些实施方案中,测量值是以

非侵入性方式使用成像装置获得的。在一些实施方案中,测量值是在来自对象的第二样品中获得的。在一些实施方案中,测量值是在一个或多个组织学组织切片中获得的。在一些实施方案中,测量值是通过从对象获得的第二样品进行测定而获得的。在一些实施方案中,测量值是通过测定(诸如本文所述的测定)获得的。在一些实施方案中,测定为免疫测定、比色法测定、荧光测定或PCR测定。在一些实施方案中,测量值是通过测定如免疫测定、比色法测定或荧光测定获得的。在一些实施方案中,测量值是通过PCR获得的。在一些实施方案中,测量值是通过组织学获得的。在一些实施方案中,测量值是通过观察获得的。在一些实施方案中,进行额外的测量,诸如在第3样品、第4样品或第5样品中。

[0341] 在一些实施方案中,测量值是在施用组合物之后的1小时内、2小时内、3小时内、4小时内、5小时内、6小时内、12小时内、18小时内或24小时内获得的。在一些实施方案中,测量值是在施用组合物之后的1天内、2天内、3天内、4天内、5天内、6天内或7天内获得的。在一些实施方案中,测量值是在施用组合物之后的1周内、2周内、3周内、1个月内、2个月内、3个月内、6个月内、1年内、2年内、3年内、4年内或5年内获得的。在一些实施方案中,测量值是在施用组合物之后的1小时之后、2小时之后、3小时之后、4小时之后、5小时之后、6小时之后、12小时之后、18小时之后或24小时之后获得的。在一些实施方案中,测量值是在施用组合物之后的1天之后、2天之后、3天之后、4天之后、5天之后、6天之后或7天之后获得的。在一些实施方案中,测量值是在施用组合物之后的1周之后、2周之后、3周之后、1个月之后、2个月之后、3个月之后、6个月之后、1年之后、2年之后、3年之后、4年之后或5年之后获得的。

[0342] 在一些实施方案中,对象的症状或与病症相关的参数的测量值相较于基线测量值在较长时间段内减少或受影响。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续施用后的至少约为1天、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约7天、约8天、约9天、约10天、约11天、约12天、约13天、约14天、约15天、约16天、约17天、约18天、约19天、约20天、约21天、约22天、约23天、约24天、约25天、约26天、约27天、约28天、约29天、约30天、约35天、约40天、约45天、约50天、约55天、约60天、约65天、约70天、约75天、约80天、约85天、约90天、约95天、约100天、约105天、约110天、约115天或约120天,或持续包括由上述任意两个天数定义的范围的施用后时间范围。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续施用后的至少1天、至少2天、至少3天、至少4天、至少5天、至少6天、至少7天、至少8天、至少9天、至少10天、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天、至少15天、至少16天、至少17天、至少18天、至少19天、至少20天、至少21天、至少22天、至少23天、至少24天、至少25天、至少26天、至少27天、至少28天、至少29天、至少30天、至少35天、至少40天、至少45天、至少50天、至少55天、至少60天、至少65天、至少70天、至少75天、至少80天、至少85天、至少90天、至少95天、至少100天、至少105天、至少110天、至少115天或至少120天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续施用后的不超过1天、不超过2天、不超过3天、不超过4天、不超过5天、不超过6天、不超过7天、不超过8天、不超过9天、不超过10天、不超过11天、不超过12天、不超过13天、不超过14天、不超过15天、不超过16天、不超过17天、不超过18天、不超过19天、不超过20天、不超过21天、不超过22天、不超过23天、不超过24天、不超过25天、不超过26天、不超过27天、不超过28天、不超过29天、不超过30天、不超过35天、不超过40天、不超过45天、不超过50天、不超过55天、不超过60天、不超过65天、不超过70天、不超过75天、不超过80天、不超过85天、不超过90天、不超过95天、不超过100天、不超过105天、不超过110天、不超过115天或不超过120天。在一些实施方

案中,测量值减少或受影响持续至少约5天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约10天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约15天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约20天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约25天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约30天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约40天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约50天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约60天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约70天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约80天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约90天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约100天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约110天。在一些实施方案中,测量值减少或受影响持续至少约120天。与病症相关的症状或参数的测量值的实例可以包括靶mRNA测量值、靶蛋白质测量值、生物标志物测量值或生理测量值。该测量值可以在组织(例如肝脏)中或生物流体(例如血液、血清或血浆)中。

[0343] 在一些实施方案中,组合物使症状测量值相对于基线症状测量值降低。在一些实施方案中,在向对象施用组合物后,在从对象获得的第二组织样品中测量降低。在一些实施方案中,在向对象施用组合物后直接在对象中测量降低。在一些实施方案中,症状测量值相对于基线症状测量值降低约2.5%或更多、约5%或更多、或约7.5%或更多。在一些实施方案中,症状测量值相对于基线症状测量值减少约10%或更多。在一些实施方案中,症状测量值相对于基线症状测量值减少约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多。在一些实施方案中,症状测量值相对于基线症状测量值减少不超过约2.5%、不超过约5%、或不超过约7.5%。在一些实施方案中,症状测量值相对于基线症状测量值减少不超过约10%。在一些实施方案中,症状测量值相对于基线症状测量值减少不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%、或不超过约100%。在一些实施方案中,症状测量值减少2.5%、5%、7.5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%,或由任意两个上述百分比定义的范围。

[0344] 在一些实施方案中,组合物使保护表型测量值相对于基线保护表型测量值增加。在一些实施方案中,增加是在将该组合物施用于对象后在从对象获得的第二组织样品中测量的。在一些实施方案中,增加是在将组合物施用于对象后直接从对象中测量的。在一些实施方案中,保护表型测量值相对于基线保护表型测量值增加约2.5%或更多、约5%或更多、或约7.5%或更多。在一些实施方案中,保护表型测量值相对于基线保护表型测量值增加约10%或更多。在一些实施方案中,保护表型测量值相对于基线保护表型测量值增加约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多。在一些实施方案中,保护表型测量值相对于基线保护表型测量值增加约100%或更多、约250%或更多、约500%或更多、约750%或更多、或约1000%或更多。在一些实施方案中,保护表型测量值相对于基线保护表型测量值增加不超过约2.5%、不超过约5%、或不超过约7.5%。在一些实施方案中,保护表型测量值相对于基线保护表型测量值增加不超过约10%。在一些实施方案中,保护表型测量值相对于基线保护表型测量值增加不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%、或不超过约100%。在一些实施方案中,保护表型测

量值相对于基线保护表型测量值增加不超过约100%、增加不超过约250%、增加不超过约500%、增加不超过约750%，或增加不超过约1000%。在一些实施方案中，保护表型测量值增加2.5%、5%、7.5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、250%、500%、750%或1000%，或由任意两个上述百分比定义的范围。

[0345] 在一些实施方案中，测量值为靶蛋白质测量值。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值包括靶蛋白质水平。在一些实施方案中，靶蛋白质水平以每样品重量的靶蛋白质的质量或百分比表示。在一些实施方案中，靶蛋白质水平以每样品体积的靶蛋白质的质量或百分比表示。在一些实施方案中，靶蛋白质水平以样品中每总蛋白质的靶蛋白质的质量或百分比表示。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值为细胞（例如肝细胞）靶蛋白质测量值。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值为组织（例如肝组织）靶蛋白质测量值。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值为循环靶蛋白质测量值。在一些实施方案中，基线靶蛋白质测量值通过测定如免疫测定法、比色测定法或荧光测定法获得。

[0346] 在一些实施方案中，组合物使靶蛋白质测量值相对于基线靶蛋白质测量值降低。在一些实施方案中，组合物使组织靶蛋白质水平（诸如但不限于肝组织靶蛋白质水平）相对于基线靶蛋白质测量值降低。在一些实施方案中，组合物使细胞靶蛋白质水平（诸如但不限于肝细胞靶蛋白质水平）相对于基线靶蛋白质测量值降低。在一些实施方案中，组合物使循环靶蛋白质水平相对于基线靶蛋白质测量值降低。在一些实施方案中，降低的靶蛋白质水平是在将该组合物施用于对象后从对象获得的第二样品中测量的。

[0347] 在一些实施方案中，靶蛋白质测量值相对于基线靶蛋白质测量值降低约2.5%或更多、约5%或更多，或约7.5%或更多。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值相对于基线靶蛋白质测量值降低约10%或更多。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值相对于基线靶蛋白质测量值降低约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多，或约100%。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值相对于基线靶蛋白质测量值降低不超过约2.5%、不超过约5%，或不超过约7.5%。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值相对于基线靶蛋白质测量值降低不超过约10%。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值相对于基线靶蛋白质测量值降低不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%，或约100%。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值降低2.5%、5%、7.5%、19%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%，或由任意两个上述百分比定义的范围。靶蛋白质测量值可以在较长时间段内降低。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值下降7天、14天、28天、42天、56天、70天、77天、84天、91天、98天、105天，或在其间的范围。在一些实施方案中，靶蛋白质测量值下降约7天、约14天、约28天、约42天、约56天、约70天、约77天、约84天、约91天、约98天、约105天，或在其间的范围。

[0348] 在一些实施方案中，测量值为靶mRNA测量值。在一些实施方案中，靶mRNA测量值包括靶mRNA水平。在一些实施方案中，靶mRNA水平以每样品重量的靶mRNA质量或百分比表示。在一些实施方案中，靶mRNA水平以每样品体积的靶mRNA质量或百分比表示。在一些实施方案中，靶mRNA水平以样品内每总mRNA的靶mRNA质量或百分比表示。在一些实施方案中，靶mRNA水平以样品内每总核酸的靶mRNA质量或百分比表示。在一些实施方案中，靶mRNA水平相对于样品中另一mRNA水平（如管家基因的mRNA水平）表示。在一些实施方案中，靶mRNA测

量值通过测定如PCR测定获得。在一些实施方案中,PCR包括qPCR。在一些实施方案中,PCR包括靶mRNA的逆转录。

[0349] 在一些实施方案中,组合物使靶mRNA测量值相对于基线靶mRNA测量值降低。在一些实施方案中,靶mRNA测量值是在向对象施用组合物后从对象获得的第二样品中获得的。在一些实施方案中,组合物使靶mRNA水平相对于基线靶mRNA水平降低。在一些实施方案中,降低的靶mRNA水平是在向对象施用组合物后从对象获得的第二样品中测量的。在一些实施方案中,第二样品是第二肝脏样品。在一些实施方案中,第二样品是第二肝细胞样品。

[0350] 在一些实施方案中,靶mRNA测量值相对于基线靶mRNA测量值降低约2.5%或更多、约5%或更多、或约7.5%或更多。在一些实施方案中,靶mRNA测量值相对于基线靶mRNA测量值降低约10%或更多。在一些实施方案中,靶mRNA测量值相对于基线靶mRNA测量值降低约20%或更多、约30%或更多、约40%或更多、约50%或更多、约60%或更多、约70%或更多、约80%或更多、约90%或更多、或约100%。在一些实施方案中,靶mRNA测量值相对于基线靶mRNA测量值降低不超过约2.5%、不超过约5%、或不超过约7.5%。在一些实施方案中,靶mRNA测量值相对于基线靶mRNA测量值降低不超过约10%。在一些实施方案中,靶mRNA测量值相对于基线靶mRNA测量值降低不超过约20%、不超过约30%、不超过约40%、不超过约50%、不超过约60%、不超过约70%、不超过约80%、不超过约90%、或不超过约100%。在一些实施方案中,靶mRNA测量值降低2.5%、5%、7.5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%,或由任意两个上述百分比定义的范围。靶mRNA测量值可以在较长时间段内降低。在一些实施方案中,靶mRNA测量值降低7天、14天、28天、42天、56天、70天、77天、84天、91天、98天、105天或其间的范围。在一些实施方案中,靶蛋白质测量值降低约7天、约14天、约28天、约42天、约56天、约70天、约77天、约84天、约91天、约98天、约105天或其间的范围。一些实施方案包括降低mRNA测量值以外的RNA测量值。

[0351] III. 定义

[0352] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语、符号以及其他技术和科学术语或专业术语旨在具有与所要求保护的主体所属领域的普通技术人员通常所理解的含义。在一些情况下,为了清楚和/或为了便于参考而在本文中定义具有通常理解的含义的术语,并且本文中包含的此类定义不一定应当被解释为表示与本领域通常所理解的含义有实质性差异。

[0353] 贯穿本申请,各种实施方案可以以范围形式呈现。应当理解,范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁,而不应当被解释为对本公开范围的硬性限制。因此,范围的描述应当被视为具有确切公开的所有可能的子范围以及此范围内的单独数值。例如,范围诸如1至6的描述应当被视为具有确切公开的子范围,诸如1至3、1至4、1至5、2至4、2至6、3至6等,以及此范围内的单独数字,例如1、2、3、4、5和6。无论范围的宽度如何,这都适用。

[0354] 除非上下文另外明确指示,否则如说明书和权利要求中所用,单数形式“一个/种”和“该/所述”包括复数个指示物。例如,术语“样品”包括多个样品,包括其混合物。

[0355] 某些实例涉及序列。若序列与说明书中的公开内容相冲突,则以说明书为准。

[0356] 术语“确定”、“测量”、“评价”、“评估”、“测定”和“分析”在本文中通常可互换使用以指测量形式。该术语包括确定要素是否存在(例如,检测)。这些术语可以包括定量、定性或定量和定性确定。评估可以是相对的或绝对的。除了根据背景确定某物是存在还是不存

在之外,“检测……的存在”还可以包括确定存在的某物的量。

[0357] 术语“对象”和“患者”在本文中可互换使用。“对象”可以是含有所表达的遗传物质的生物实体。生物实体可以是植物、动物或微生物,包括例如细菌、病毒、真菌和原生动物。对象可以是哺乳动物。哺乳动物可以是人。对象可能被诊断或怀疑处于疾病的高风险中。在一些情况下,对象不一定被诊断或怀疑处于疾病的高风险中。

[0358] 如本文所用,术语“约”某数字是指所述数字加或减所述数字的10%。术语“约”某范围是指所述范围减其最低值的10%且加其最大值的10%。

[0359] 如本文所用,术语“治疗”用于指用于在受者中获得有益或所需结果的药物或其他干预方案。有益或所需结果包括但不限于治疗性益处和/或预防性益处。治疗性益处可以是指根除或改善正在进行治疗的基础病症或其症状。另外,治疗性益处可以通过根除或改善与基础病症相关联的一种或多种生理症状以使得在对象中观察到改善来实现,尽管对象仍可能被基础病症困扰。预防性效应包括延缓、防止或消除疾病或病况的出现,延缓或消除疾病或病况的症状发作,减缓、终止或逆转疾病或病况的进展,或其任何组合。对于预防性益处,可以对有发生特定疾病风险的对象或对报告疾病的一种或多种生理症状的对象(即使可能还未作出此疾病的诊断)进行治疗。

[0360] “治疗”或“处理”可包括针对疾病、病症或医学状况的获得有益或期望结果(包括但不限于治疗性益处和/或预防性益处)的措施。治疗性益处可以包括,例如,正在治疗的潜在病症的根除或改善。此外,治疗性益处还可以包括,例如,根除或改善与潜在病症相关的一个或多个生理症状,使得在对象中观察到改善,即使对象可能仍患有该潜在病症。在某些实施方案中,对于预防性益处,将组合物施用于有发展特定疾病风险的对象或者报告一种或多种疾病生理症状的对象,即使该疾病尚未被诊断出来。通过施用本文描述的化合物进行治疗并不一定需要医疗专业人员的参与。

[0361] 本文中使用的章节标题仅用于组织目的,不应被解释为对所描述主题的限制。

[0362] 当术语“C_{x-y}”或“C_x-C_y”与化学部分(如烷基、烯基或炔基)一起使用时,意指包含x到y个碳的链式基团。例如,术语“C₁₋₆烷基”指代取代或未取代的饱和烃基,包括包含1到6个碳的直链烷基和支链烷基基团。术语“C_{x-y}”或“C_x-C_y”并不限制在化学部分被第二化学基团取代时可附接到化学部分的碳原子数。例如,术语“C₁₋₆烷基”或“C₁到C₆烷基”指的是饱和的、取代或未取代的烃基,其包括包含1、2、3、4、5或6个碳原子的直链烷基基团(例如线性烷基基团)和支链烷基,以及C₁₋₆烷基的任何取代基中可存在的碳原子有多少。例如,如果C₁₋₆烷基被任选地用包含两个碳原子的第二化学基团取代,则可以理解该C₁₋₆烷基可以包含1到8个碳原子。

[0363] 术语“C_{x-y}烯基”和“C_{x-y}炔基”指代取代或未取代的不饱和脂肪族基团,长度和可能的取代与上文描述的烷基类似,但分别包含至少一个双键或三键。

[0364] “氨基”指代-NH₂部分。

[0365] “氰基”指代-CN部分。

[0366] “硝基”指代-NO₂部分。

[0367] “氧杂”指代-O-部分。

[0368] “氧代”指代=O部分。

[0369] “硫代”指代=S部分。

[0370] “亚氨基”指代=N-H部分。

[0371] “肟基”指代=N-OH部分。

[0372] “胼基”指代=N-NH₂部分。

[0373] “烷基”指代完全饱和的仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃部分。在一些实施方案中，“烷基”包含一个到十五个碳原子(例如,C₁-C₁₅烷基)。在一些实施方案中,烷基包含一个到十三个碳原子(例如,C₁-C₁₃烷基)。在一些实施方案中,烷基包含一个到八个碳原子(例如,C₁-C₈烷基)。在一些实施方案中,烷基包含一个到六个碳原子(例如,C₁-C₆烷基)。在其他实施方案中,烷基包含一个到五个碳原子(例如,C₁-C₅烷基)。在其他实施方案中,烷基包含一个到四个碳原子(例如,C₁-C₄烷基)。在其他实施方案中,烷基包含一个到三个碳原子(例如,C₁-C₃烷基)。在其他实施方案中,烷基包含一个到两个碳原子(例如,C₁-C₂烷基)。在其他实施方案中,烷基包含一个碳原子(例如,C₁烷基,例如,甲基)。在其他实施方案中,烷基包含五到十五个碳原子(例如,C₅-C₁₅烷基)。在其他实施方案中,烷基包含五到八个碳原子(例如,C₅-C₈烷基)。在其他实施方案中,烷基包含二到五个碳原子(例如,C₂-C₅烷基)。在其他实施方案中,烷基包含三到五个碳原子(例如,C₃-C₅烷基)。在其他实施方案中,烷基基团从以下选择:甲基、乙基、1-丙基(正丙基)、1-甲基乙基(2-丙基,异丙基)、1-丁基(正丁基)、1-甲基丙基(仲丁基)、2-甲基丙基(异丁基)、1,1-二甲基乙基(叔丁基)和1-戊基(正戊基)。烷基通过单键附接到分子的其余部分。

[0374] “氨基烷基”指的是通过氮原子键合的部分,形式为-N(H)(烷基)或N(烷基)(烷基),其中当该部分为N(烷基)(烷基)时,键合到氮上的两个烷基基团可以是相同的烷基基团或不同的烷基基团。

[0375] “烷氧基”指的是通过氧原子键合的式-O-烷基的部分,其中烷基是如上定义的烷基链。

[0376] “烯基”指的是仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃基,至少包含一个碳-碳双键。在一些实施方案中,烯基包含两个到十二个碳原子。在一些实施方案中,烯基包含两个到八个碳原子。在其他实施方案中,烯基包含两个到四个碳原子。烯基通过单键附接到分子其他部分,例如乙烯基(即乙烯)、丙-1-烯基(即烯丙基)、丁-1-烯基、戊-1-烯基、戊-1,4-二烯基等。

[0377] “炔基”指的是仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃基,至少包含一个碳-碳三键,具有两个到十二个碳原子,并且任选地还包含至少一个碳-碳双键。在一些实施方案中,炔基包含两个到八个碳原子。在其他实施方案中,炔基包含两个到六个碳原子。在其他实施方案中,炔基包含两个到四个碳原子。炔基通过单键附接到分子其他部分,例如乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基等。

[0378] “亚烷基”或“亚烷基链”指的是线性(例如,直链)或支链的二价烃基。“亚烷基”或“亚烷基链”可以将分子的某一部分与第二部分连接。“亚烷基”或“亚烷基链”仅由碳和氢原子组成(可以指定亚烷基被包含氢以外原子如氮、氧和硫的一个或多个取代基取代)。“亚烷基”或“亚烷基链”可不含不饱和度(尽管亚烷基与分子其他部分有附接点)。在一些实施方案中,“亚烷基”或“亚烷基链”包含一到十二个碳原子,例如亚甲基、亚乙基、亚丙基、正丁烷基等。亚烷基链可以通过单键附接到分子的某一部分,并通过单键附接到第二部分。亚烷基链与分子的其余部分和第二部分的附接点可以通过亚烷基链中的一个碳或通过亚烷基

内的任何两个碳。在一些实施方案中,亚烷基包含一到八个碳原子(例如, C_1 - C_8 亚烷基)。在其他实施方案中,亚烷基包含一到五个碳原子(例如, C_1 - C_5 亚烷基)。在其他实施方案中,亚烷基包含一到四个碳原子(例如, C_1 - C_4 亚烷基)。在其他实施方案中,亚烷基包含一到三个碳原子(例如, C_1 - C_3 亚烷基)。在其他实施方案中,亚烷基包含一到两个碳原子(例如, C_1 - C_2 亚烷基)。在其他实施方案中,亚烷基包含一个碳原子(例如, C_1 亚烷基)。在其他实施方案中,亚烷基包含五到八个碳原子(例如, C_5 - C_8 亚烷基)。在其他实施方案中,亚烷基包含二到五个碳原子(例如, C_2 - C_5 亚烷基)。在其他实施方案中,亚烷基包含三到五个碳原子(例如, C_3 - C_5 亚烷基)。

[0379] “亚烯基”或“亚烯基链”指的是线性(例如,直链)或支链的二价烃部分。“亚烯基”或“亚烯基链”可以将分子的一部分连接到第二部分。“亚烯基”或“亚烯基链”仅由碳和氢原子组成(可指定亚烯基被一个或多个包含除氢以外原子如氮、氧和硫的取代基取代)。“亚烯基”或“亚烯基链”包含至少一个碳-碳双键。在某些实施方案中,“亚烯基”或“亚烯基链”包含二到十二个碳原子。亚烯基链可以通过单键附接到分子的部分,并通过单键附接到第二部分。亚烯基链与分子的其他部分及第二部分的附接点可以通过亚烯基链中的一个碳或亚烯基链中的任意两个碳。在某些实施方案中,亚烯基包含二到八个碳原子(如, C_2 - C_8 亚烯基)。在其他实施方案中,亚烯基包含二到五个碳原子(如, C_2 - C_5 亚烯基)。在其他实施方案中,亚烯基包含二到四个碳原子(如, C_2 - C_4 亚烯基)。在其他实施方案中,亚烯基包含二到三个碳原子(如, C_2 - C_3 亚烯基)。在其他实施方案中,亚烯基包含五到八个碳原子(如, C_5 - C_8 亚烯基)。在其他实施方案中,亚烯基包含二到五个碳原子(如, C_2 - C_5 亚烯基)。在其他实施方案中,亚烯基包含三到五个碳原子(如, C_3 - C_5 亚烯基)。

[0380] “亚炔基”或“亚炔基链”是指线性(例如,直链)或支链的二价烃部分。“亚炔基”或“亚炔基链”可以将分子的部分与第二部分连接。“亚炔基”或“亚炔基链”仅由碳和氢组成(可指定亚炔基被一个或多个包含除氢以外原子如氮、氧和硫的取代基取代)。“亚炔基”或“亚炔基链”包含至少一个碳-碳三键。在某些实施方案中,“亚炔基”或“亚炔基链”包含两个到十二个碳原子。亚炔基链可以通过单键附接到分子的部分,并通过单键附接到第二部分。亚炔基链与分子其余部分和第二部分的附接点可以通过亚炔基链中的一个碳原子或通过亚炔基链中的任意两个碳原子。在某些实施方案中,亚炔基包含二至八个碳原子(例如, C_2 - C_8 亚炔基)。在其他实施方案中,亚炔基包含二至五个碳原子(例如, C_2 - C_5 亚炔基)。在其他实施方案中,亚炔基包含二至四个碳原子(例如, C_2 - C_4 亚炔基)。在其他实施方案中,亚炔基包含二至三个碳原子(例如, C_2 - C_3 亚炔基)。在其他实施方案中,亚炔基包含两个碳原子(例如, C_2 亚炔基)。在其他实施方案中,亚炔基包含五至八个碳原子(例如, C_5 - C_8 亚炔基)。在其他实施方案中,亚炔基包含三至五个碳原子(例如, C_3 - C_5 亚炔基)。

[0381] 如本文所用,术语“碳环”是指饱和环、不饱和环或芳族环,其中环的每个原子都是碳。碳环包括3元至10元单环、5元至12元双环、5元至12元螺双环和5元至12元桥环。双环碳环的每个环可以选自饱和环、不饱和环和芳族环。在一个示例性实施方案中,芳族环,例如苯基,可以与饱和或不饱和环,例如环己烷、环戊烷或环己烯稠合。在价态允许的情况下,双环碳环包括饱和双环、不饱和双环和芳族双环的任何组合。双环碳环还包括螺双环,例如螺戊烷。双环碳环包括环大小的任何组合,诸如3-3螺环系统、4-4螺环系统、4-5稠环系统、5-5稠环系统、5-6稠环系统、6-6稠环体系、5-7稠环系统、6-7稠环系统、5-8稠环系统和6-8稠环

系统。示例性碳环包括环戊基、环己基、环己烯基、金刚烷基、苯基、茛基、萘基和双环[1.1.1]戊烷基。“碳环”可以包括“芳基”和“环烷基”。

[0382] 术语“芳基”是指芳族单环或芳族多环烃环系统。芳族单环或芳族多环烃环系统仅含有氢和碳并且含有5至18个碳原子,其中环系统中的至少一个环是芳族的,即,根据Hückel理论,它含有环状的、离域的 $(4n+2)\pi$ -电子系统。衍生出芳基基团的环系包括但不限于诸如苯、茛、茛满、茛、四氢化萘和萘等基团。在一些实施方案中,芳基取代基带有正电荷或负电荷。在一些实施方案中,芳基取代基是中性的。在一些实施方案中,芳基取代基是两性离子的;替代地或者附加地,在一些实施方案中,芳基取代基不带电荷。在一些实施方案中,芳基取代基不带电荷。在一些实施方案中,芳基取代基不带净电荷。在一些实施方案中,芳基取代基不带净电荷并且不是两性离子。

[0383] 术语“环烷基”是指饱和环,其中环的每个原子都是碳。环烷基可以包括单环和多环,诸如3元至10元单环、5元至12元双环、5元至12元螺双环和5元至12元桥环。在某些实施方案中,环烷基包含3至10个碳原子。在其他实施方案中,环烷基包含5至7个碳原子。环烷基可以通过单键附接至分子的剩余部分。单环环烷基的实例包括例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。多环环烷基基团包括例如金刚烷基、螺戊烷、冰片基(即,双环[2.2.1]庚基)、十氢萘基、7,7-二甲基双环[2.2.1]庚基、双环[1.1.1]戊基等。

[0384] 术语“环烯基”是指饱和环,其中环的每个原子都是碳,并且两个环碳之间具有至少一个双键。环烯基可以包括单环和多环,诸如3元至10元单环、6元至12元双环和5元至12元桥环。在其他实施方案中,环烯基包含5至7个碳原子。环烯基可以通过单键附接至分子的剩余部分。单环环烯基的实例包括例如环戊烯基、环己烯基、环庚烯基和环辛烯基。

[0385] 术语“卤基”或可替代地“卤素”或“卤化物”意指氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中,卤基是氟、氯或溴。

[0386] 术语“卤代烷基”是指如上定义的烷基基团,其被一个或多个卤基基团取代,例如三氟甲基、二氯甲基、溴甲基、2,2,2-三氟乙基、1-氯甲基、2-氟乙基等。在一些实施方案中,卤代烷基的烷基部分如本文所述任选地被进一步取代。

[0387] 如本文所用,术语“杂环”是指包含一个或多个杂原子的饱和环、不饱和环或芳族环。示例性杂原子包括N、O、Si、P、B和S原子。杂环包括3元至10元单环、6元至12元双环、5元至12元螺双环和5元至12元桥环。在价态允许的情况下,双环杂环包括饱和双环、不饱和双环和芳族双环的任何组合。在一个示例性实施方案中,芳族环,例如吡啶基,可以与饱和或不饱和环,例如环己烷、环戊烷、吗啉、哌啶或环己烯稠和。双环杂环包括环大小的任何组合,诸如4-5稠环系统、5-5稠环系统、5-6稠环系统、6-6稠环体系、5-7稠环系统、6-7稠环系统、5-8稠环系统和6-8稠环系统。双环杂环还包括螺双环,例如5元至12元螺双环,诸如2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷。“杂环”可以包括“杂芳基”和“杂环烷基”。

[0388] 术语“杂芳基”是指衍生自5元至18元芳族环基团的基团,其包含2至17个碳原子和1至6个选自氮、氧和硫的杂原子。如本文所用,杂芳基基团是单环、双环、三环或四环系统,其中环系统中的至少一个环是芳族的,即,根据Hückel理论,它含有环状的、离域的 $(4n+2)\pi$ -电子系统。杂芳基包括稠环或桥环系统。杂芳基中的一个或多个杂原子任选地被氧化。一个或多个氮原子(如果存在的话)任选地被季铵化。杂芳基通过环的任何原子附接至分子的剩余部分。杂芳基的实例包括但不限于氮杂环庚三烯基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并吡啶基、

1,3苯并二氧杂环戊烯基、苯并呋喃基、苯并噁唑基、苯并[d]噻唑基、苯并噻二唑基、苯并[b][1,4]二氧杂环庚烯基、苯并[b][1,4]噁嗪基、1,4苯并二氧杂环己基、苯并萘并呋喃基、苯并噁唑基、苯并二氧杂环戊烯基、苯并二氧杂环己二烯基、苯并吡喃基、苯并吡喃酮基、苯并呋喃基、苯并呋喃酮基、苯并噻吩基、苯并噻吩并[3,2-d]嘧啶基、苯并三唑基、苯并[4,6]咪唑并[1,2-a]吡啶基、𠵽唑基、噌啉基、环戊二烯并[d]嘧啶基、6,7-二氢5H环戊二烯并[4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶基、5,6二氢苯并[h]喹唑啉基、5,6二氢苯并[h]噌啉基、6,7-二氢-5H-苯并[6,7]环戊二烯并[1,2-c]哒嗪基、二苯并呋喃基、二苯并噻吩基、呋喃基、呋喃酮基、呋喃并[3,2-c]吡啶基、5,6,7,8,9,10-六氢环辛四烯并[d]嘧啶基、5,6,7,8,9,10-六氢环辛四烯并[d]哒嗪基、5,6,7,8,9,10-六氢环辛四烯并[d]吡啶基、异噻唑基、咪唑基、𠵽唑基、𠵽唞基、𠵽唑基、异𠵽唞基、𠵽唞啉基、异𠵽唞啉基、异喹啉基、𠵽唞基、异噁唑基、5,8-桥亚甲基-5,6,7,8-四氢喹唑啉基、萘啶基、1,6萘啶酮基、噁二唑基、2氧代氮杂环庚三烯基、噁唑基、环氧乙烷基、5,6,6a,7,8,9,10,10a-八氢苯并[h]喹唑啉基、1苯基1H吡咯基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁嗪基、酞嗪基、蝶啶基、嘌呤基、吡咯基、吡唑基、吡唑并[3,4-d]嘧啶基、吡啶基、吡啶并[3,2-d]嘧啶基、吡啶并[3,4-d]嘧啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、吡咯基、喹唑啉基、喹噁啉基、喹啉基、异喹啉基、四氢喹啉基、5,6,7,8四氢喹唑啉基、5,6,7,8四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶基、6,7,8,9四氢5H环戊二烯并[4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶基、5,6,7,8四氢吡啶并[4,5-c]哒嗪基、噻唑基、噻二唑基、三唑基、四唑基、三嗪基、噻吩并[2,3d]嘧啶基、噻吩并[3,2-d]嘧啶基、噻吩并[2,3-c]吡啶基和噻吩基。

[0389] 如果存在一个或多个氮原子,它们可以选择性地季铵化。在一些实施方案中,杂环取代基带有正电荷或负电荷。在一些实施方案中,杂环取代基是中性的。在一些实施方案中,杂环取代基是两性离子的;替代地或附加地,在一些实施方案中,杂环取代基不带电荷。在一些实施方案中,杂环取代基不带电荷。在一些实施方案中,杂环取代基不带净电荷。在一些实施方案中,杂环取代基不带净电荷且不是两性离子。

[0390] 术语“杂环烷基”是指具有碳原子和至少一个杂原子的饱和环。示例性杂原子包括N、O、Si、P、B和S原子。杂环烷基可以包括单环和多环,诸如3元至10元单环、6元至12元双环、5元至12元螺双环和5元至12元桥环。杂环烷基基团中的杂原子任选地被氧化。一个或多个氮原子(如果存在的话)任选地被季铵化。在价态允许的情况下,杂环烷基通过杂环烷基的任何原子(诸如杂环烷基的任何碳或氮原子)附接至分子的剩余部分。杂环烷基基团的实例包括但不限于二氧杂环戊烷基、噻吩基[1,3]二噻烷基、十氢异喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、八氢吲哚基、八氢异吲哚基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、噁唑烷基、哌啶基、哌嗪基、4-哌啶酮基、吡咯烷基、吡唑烷基、奎宁环基、噻唑烷基、四氢呋喃基、三噻烷基、四氢吡喃基、硫代吗啉基(thiomorpholinyl)、硫吗啉基(thiamorpholinyl)、1-氧代硫代吗啉基、2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷和1,1-二氧化硫代吗啉基。在一些实施方案中,杂环烷基包含一个杂原子。在一些实施方案中,杂环烷基包含选自N、O和S的一个杂原子。在一些实施方案中,杂环烷基包含多个杂原子。在一些实施方案中,杂环烷基包含选自N、O和S的多个杂原子。

[0391] 术语“杂环烯基”是指具有碳原子和至少一个杂原子的不饱和环,并且两个环碳之间具有至少一个双键。杂环烯基不包括杂芳基环。示例性杂原子包括N、O、Si、P、B和S原子。杂环烯基可以包括单环和多环,诸如3元至10元单环、6元至12元双环和5元至12元桥环。在

其他实施方案中,杂环烯基包含5至7个环原子。杂环烯基可以通过单键附接至分子的剩余部分。单环烯基的实例包括例如吡咯啉(二氢吡咯)、吡唑啉(二氢吡唑)、咪唑啉(二氢咪唑)、三唑啉(二氢三唑)、二氢呋喃、二氢噻吩、噁唑啉(二氢噁唑)、异噁唑啉(二氢异噁唑)、噻唑啉(二氢噻唑)、异噻唑啉(二氢异噻唑)、噁二唑啉(二氢噁二唑)、噻二唑啉(二氢噻二唑)、二氢吡啶、四氢吡啶、二氢哒嗪、四氢哒嗪、二氢嘧啶、四氢嘧啶、二氢吡嗪、四氢吡嗪、吡喃、二氢吡喃、噻喃、二氢噻喃、二氧杂环二己烯、二氢二氧杂环己二烯、噁嗪、二氢噁嗪、噻嗪和二氢噻嗪。

[0392] 术语“取代的”是指具有替换一个或多个碳上的氢或可取代杂原子(例如,化合物的NH或NH₂)的取代基的部分。应理解,“取代”或“被……取代”包括隐含的前提条件,即这种取代符合被取代原子和取代基的允许价态,并且该取代产生稳定的化合物,即不会自发地发生诸如重排、环化、消除等转化的化合物。在某些实施方案中,取代的是指具有取代基的部分,该取代基替换同一碳原子上的两个氢原子,诸如用氧代基、亚氨基或硫代基取代单个碳上的两个氢原子。如本文所用,设想术语“取代的”包括有机化合物的所有允许的取代基。在广泛的方面,允许的取代基包括有机化合物的无环和环状、支链和非支链、碳环和杂环、芳族和非芳族取代基。对于适当的有机化合物,允许的取代基可以是一个或多个并且是相同的或不同的。

[0393] 在一些实施方案中,取代基可以包括本文所述的任何取代基,例如:卤素、羟基、氧代基(=O)、硫代基(=S)、氰基(-CN)、硝基(-NO₂)、亚氨基(=N-H)、胍基(=N-OH)、肼基(=N-NH₂)、-R^b-OR^a、-R^b-OC(O)-R^a、-R^b-OC(O)-OR^a、-R^b-OC(O)-N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)₂、-R^b-C(O)R^a、-R^b-C(O)OR^a、-R^b-C(O)N(R^a)₂、-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)C(O)OR^a、-R^b-N(R^a)C(O)R^a、-R^b-N(R^a)S(O)_tR^a(其中t为1或2)、-R^b-S(O)_tR^a(其中t为1或2)、-R^b-S(O)_tOR^a(其中t为1或2)以及-R^b-S(O)_tN(R^a)₂(其中t为1或2);以及烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳烯基、芳炔基、环烷基、环烷基烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基和杂芳基烷基,其中的每一个可以任选地被烷基、烯基、炔基、卤素、卤代烷基、卤代烯基、卤代炔基、氧代基(=O)、硫代基(=S)、氰基(-CN)、硝基(-NO₂)、亚氨基(=N-H)、胍基(=N-OH)、肼基(=N-NH₂)、-R^b-OR^a、-R^b-OC(O)-R^a、-R^b-OC(O)-OR^a、-R^b-OC(O)-N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)₂、-R^b-C(O)R^a、-R^b-C(O)OR^a、-R^b-C(O)N(R^a)₂、-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)C(O)OR^a、-R^b-N(R^a)C(O)R^a、-R^b-N(R^a)S(O)_tR^a(其中t为1或2)、-R^b-S(O)_tR^a(其中t为1或2)、-R^b-S(O)_tOR^a(其中t为1或2)以及-R^b-S(O)_tN(R^a)₂(其中t为1或2)取代;其中每个R^a独立地选自氢、烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基,其中在价态允许的情况下,每个R^a可以任选地被烷基、烯基、炔基、卤素、卤代烷基、卤代烯基、卤代炔基、氧代(=O)、硫代(=S)、氰基(-CN)、硝基(-NO₂)、亚氨基(=N-H)、胍基(=N-OH)、肼基(=N-NH₂)、-R^b-OR^a、-R^b-OC(O)-R^a、-R^b-OC(O)-OR^a、-R^b-OC(O)-N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)₂、-R^b-C(O)R^a、-R^b-C(O)OR^a、-R^b-C(O)N(R^a)₂、-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)C(O)OR^a、-R^b-N(R^a)C(O)R^a、-R^b-N(R^a)S(O)_tR^a(其中t为1或2)、-R^b-S(O)_tR^a(其中t为1或2)、-R^b-S(O)_tOR^a(其中t为1或2)以及-R^b-S(O)_tN(R^a)₂(其中t为1或2)取代;并且其中每个R^b独立地选自直接键或直链或支链亚烷基、亚烯基或亚炔基链,并且每个R^c是直链或支链亚烷基、亚烯基或亚炔基链。

[0394] 与氧原子的双键,诸如氧代基,在本文中表示为“=O”和“(O)”两者。与氮原子的双键表示为“=NR”和“(NR)”两者。与硫原子的双键表示为“=S”和“(S)”两者。

[0395] 如本文所用的短语“胃肠外施用”和“以胃肠外方式施用”意指除经肠和表面施用以外的通常通过注射进行的施用模式,并且包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内和胸骨内注射和输注。

[0396] 本文所用的短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内,适用于与人和动物的组织接触而没有过度毒性、刺激性、过敏反应或者其他问题或并发症,且相称有合理收益/风险比的化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0397] 如本文所用的短语“药学上可接受的赋形剂”或“药学上可接受的载剂”意指药学上可接受的材料、组合物或媒介物,诸如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。每种载体必须与制剂的其他成分相容的意义上是可接受的,并且不会对患者有害。可充当药学上可接受的载剂的材料的一些实例包括:(1)糖,诸如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,诸如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素和它的衍生物,诸如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;(4)粉状黄蓍胶;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂,诸如可可脂和栓剂蜡;(9)油,诸如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10)二醇,诸如丙二醇;(11)多元醇,诸如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇;(12)酯,诸如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,诸如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原水;(17)等张盐水;(18)林格氏溶液(Ringer's solution);(19)乙醇;(20)磷酸盐缓冲溶液;和(21)用于药物制剂中的其他无毒可相容物质。

[0398] 术语“盐”或“药学上可接受的盐”是指由本领域中熟知的多种有机和无机反离子衍生的盐。药学上可接受的酸加成盐可用无机酸和有机酸形成。盐可由其衍生的无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。盐可由其衍生的有机酸包括例如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、顺丁烯二酸、丙二酸、丁二酸、反丁烯二酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等。药学上可接受的碱加成盐可用无机和有机碱形成。盐可由其衍生的无机碱包括例如钠、钾、锂、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰、铝等。盐可由其衍生的有机碱包括例如伯胺、仲胺和叔胺、被取代的胺(包括天然存在的被取代的胺)、环胺、碱性离子交换树脂等,特别是诸如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺和乙醇胺。在一些实施方案中,药学上可接受的碱加成盐选自铵盐、钾盐、钠盐、钙盐和镁盐。

[0399] VI. 实施例

[0400] 实施例1:鉴定靶寡核苷酸中与病症风险增加或减少相关的变体

[0401] 将分析来自生物库队列的约375,000个个体的约30,000,000个推定变体,以研究其与肝脏病症如非酒精性脂肪性肝炎的关联。

[0402] 在许多靶基因的特定等位基因变体与肝脏病症之间观察到保护性或适应不良的关联。这些关联将表明,在一些情况下,由任何靶基因编码的靶蛋白的治疗性抑制或调节可能是治疗任何肝脏病症的有效基因信息指导方法。

[0403] 实施例2:生物信息学选择序列以鉴定下调靶mRNA的表达的治疗性siRNA

[0404] 将会基于生物信息学分析定义筛选集合。治疗性siRNA被设计为结合人靶mRNA以及至少一种毒理学相关物种(如非人灵长类动物(NHP)物种(例如恒河猴或食蟹猴))的靶mRNA序列。筛选集合设计的驱动因素是siRNA对相关物种的转录物组的预测特异性以及物

种之间的交叉反应性。确定了有义链(S)和反义链(AS)在人、恒河猴、食蟹猴、小鼠和大鼠中的预测特异性。这些被分配“特异性得分”,该特异性得分考虑了通过siRNA链的完全或部分互补性(位置2-18内的至多4个错配)以及错配的数量和位置而意外下调任何其他转录物的可能性。因此,鉴定了每种siRNA的反义链和有义链的脱靶。此外,可能的脱靶的数量用作特异性得分中的附加特异性因素。如所鉴定的,具有高特异性和少量预测脱靶的siRNA提供了增加的靶向特异性的益处。

[0405] 除了选择对靶mRNA具有高序列特异性的siRNA序列外,还分析了种子区内的siRNA序列与已知miRNA的种子区的相似性。siRNA可以经由与mRNA分子的3'-UTR内的互补序列进行碱基配对来以miRNA样方式发挥作用。互补性通常涵盖miRNA的位置2-7(种子区)处的5'-碱基。为了规避siRNA经由功能性miRNA结合位点起作用,避免了含有天然miRNA种子区的siRNA链。在来自人、小鼠、大鼠、恒河猴、狗、兔和猪的miRNA中鉴定出的种子区被称为“保守的”。将“特异性得分”与miRNA种子分析相组合产生了“特异性类别”。这分为类别1-4,其中1具有最高特异性,并且4具有最低特异性。siRNA的每条链都被分配到特异性类别。

[0406] 评估了人、食蟹猴、恒河猴、小鼠和大鼠的物种交叉反应性。该分析基于使用19个碱基和17个碱基(不考虑位置1和19)以用于交叉反应性的经典siRNA设计。包括完全匹配分析以及单一错配分析。

[0407] 还进行了用于鉴定具有已知SNP的siRNA靶向区域的人单核苷酸多态性(SNP)数据库(NCBI-DB-SNP)分析,以鉴定在含有SNP的个体中可能没有功能的siRNA。在此分析中获得了关于SNP在靶序列内的位置以及病例数据中的次要等位基因频率(MAF)的信息。

[0408] 上述方法可用于鉴定下调靶mRNA表达的治疗性siRNA。生物信息学方法还可用于鉴定结合并下调靶mRNA表达的ASO。

[0409] 实施例3:化学修饰的siRNA

[0410] 结合靶mRNA的siRNA可以合成有化学修饰,其中有义链具有修饰如修饰模式1S,而反义链具有修饰如修饰模式1AS。此外,腺苷可以位于有义链的第19位,而尿苷可以位于反义链的第1位。

[0411] 结合靶mRNA的siRNA还可以合成有化学修饰,其中有义链具有修饰模式2S,而反义链具有修饰模式3AS。此外,腺苷可以位于有义链的第19位,而尿苷位于反义链的第1位。

[0412] 结合靶mRNA的siRNA还可以合成有化学修饰,其中有义链具有修饰模式2S,而反义链具有修饰模式9AS。此外,腺苷可以位于有义链的第19位,而尿苷位于反义链的第1位。

[0413] 结合靶mRNA的siRNA靶向还可以合成有化学修饰,其中有义链具有修饰模式3S,而反义链具有修饰模式3AS。此外,腺苷可以位于有义链的第19位,而尿苷位于反义链的第1位。

[0414] 结合靶mRNA的siRNA靶向还可以合成有化学修饰,其中有义链具有以下任一项:包含2' 氟修饰的嘌呤的所有嘌呤,以及包含2' 氟修饰的嘧啶和2'-O-甲基修饰的嘧啶的混合物的所有嘧啶;包含2'-O-甲基修饰的嘌呤的所有嘌呤,以及包含2' 氟修饰的嘧啶和2'-O-甲基修饰的嘧啶的混合物的所有嘧啶;包含2' 氟修饰的嘌呤的所有嘌呤,以及包含2'-O-甲基修饰的嘧啶的所有嘧啶;包含2' 氟修饰的嘧啶的所有嘧啶,以及包含2' 氟修饰的嘌呤和2'-O-甲基修饰的嘧啶的混合物的所有嘌呤;包含2'-O-甲基修饰的嘧啶的所有嘧啶,以及包含2' 氟修饰的嘌呤和2'-O-甲基修饰的嘌呤的混合物的所有嘌呤;或包含2' 氟修饰的嘧

嘧啶的所有嘧啶,以及包含2'-O-甲基修饰的嘌呤的所有嘌呤;并且进一步其中反义链具有以下任一项:包含2' 氟修饰的嘌呤的所有嘌呤,以及包含2' 氟修饰的嘧啶和2'-O-甲基修饰的嘧啶的混合物的所有嘧啶;包含2'-O-甲基修饰的嘌呤的所有嘌呤,以及包含2' 氟修饰的嘧啶和2'-O-甲基修饰的嘧啶的混合物的所有嘧啶;包含2'-O-甲基修饰的嘌呤的所有嘌呤,以及包含2' 氟修饰的嘧啶的所有嘧啶;包含2' 氟修饰的嘧啶的所有嘧啶,以及包含2' 氟修饰的嘌呤和2'-O-甲基修饰的嘌呤的混合物的所有嘌呤;包含2'-O-甲基修饰的嘧啶的所有嘧啶,以及包含2' 氟修饰的嘌呤和2'-O-甲基修饰的嘌呤的混合物的所有嘌呤;或包含2'-O-甲基修饰的嘧啶的所有嘧啶,以及包含2' 氟修饰的嘌呤的所有嘌呤。

[0415] 实施例4:筛选siRNA在培养中的细胞中的活性

[0416] 将测定从先前实施例中的序列衍生的经化学修饰的siRNA在培养中的细胞中的靶mRNA敲低活性。将表达靶mRNA的细胞系以10,000个细胞/孔的细胞密度接种在96孔组织培养板中的补充有10%胎牛血清的DMEM中,并且在由空气加5%二氧化碳构成的气氛中在37°C的水套加湿培养箱中温育过夜。使用0.3μL Lipofectamine RNAiMax (Fisher)/孔,将siRNA以10nM最终浓度单独转染至一式两份孔中的细胞中。将Silencer Select阴性对照#1 (ThermoFisher,目录号4390843)和阳性对照siRNA以10nM最终浓度转染作为对照。在37°C下温育48小时之后,从每个孔中收获总RNA,并且根据制造商的说明书使用TaqMan® Fast Advanced Cells-to-CT™试剂盒(ThermoFisher,目录号A35374)制备cDNA。使用用于人靶mRNA的TaqMan基因表达测定,在Applied Biosystems 7500快速实时PCR仪器上通过实时qPCR一式三份地测量每个孔中的靶mRNA的水平。使用TaqMan基因表达测定(ThermoFisher)测量PPIA mRNA的水平,并且将其用于使用 $\Delta - \Delta C_t$ 方法确定每个孔中的相对靶mRNA水平。将数据针对未处理的细胞中的相对靶mRNA水平进行归一化。

[0417] 在10nM下显示出最高靶mRNA敲低程度的siRNA将使用上述转染程序在1nM浓度下在第二此活性筛选中进行测试。类似的实验可以使用ASO进行。因此,最有效下调靶mRNA表达的siRNA和ASO可以被鉴定。

[0418] 实施例5:用于寡核苷酸的肝细胞靶向的GalNAc配体

[0419] 本公开不限于这些个体方法,至少有两种一般性方法用于将多价N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)配体附接到寡核苷酸:固相或溶液相缀合。GalNAc配体可以附接到固相树脂进行3' 缀合,也可以使用GalNAc亚磷酰胺试剂在5' 端附接。GalNAc亚磷酰胺可以像寡核苷酸序列中的其他核苷一样,在序列中的任意位置在固相上偶联。表1中显示了亚磷酰胺试剂的非限制性实例,用于将GalNAc缀合至5' 末端寡核苷酸。

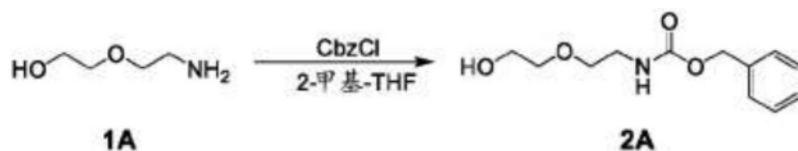
[0420] 表1.GalNAc缀合试剂

缓合类型	结构
固相5'衔接 亚磷酸胺	

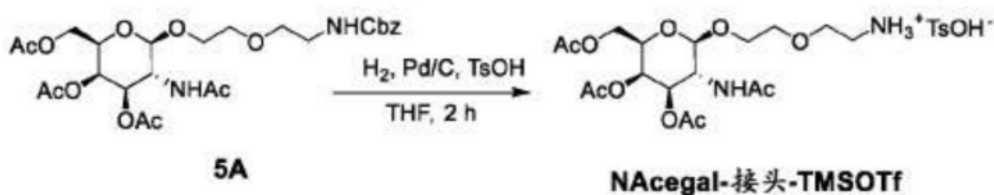
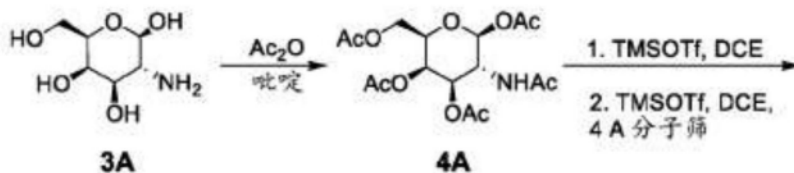
[0421]

[0422] 实施例6:GalNAc配体的合成

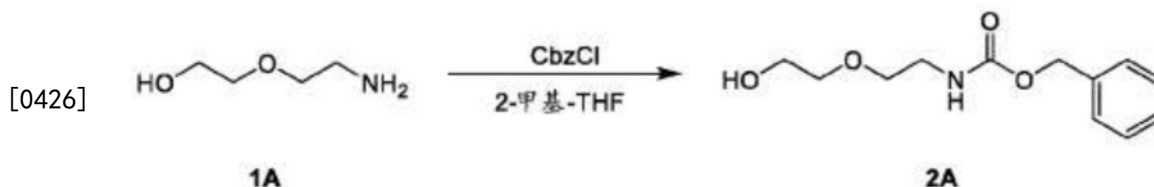
[0423] NAcegal-接头-TMSOTf的制备方案



[0424]



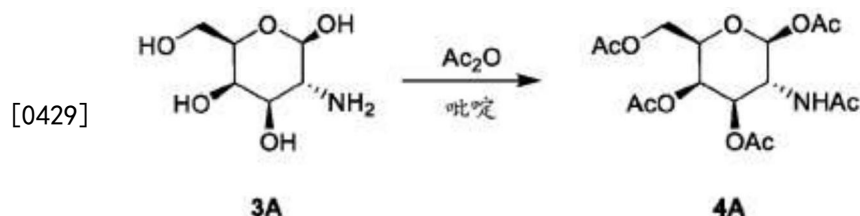
[0425] 制备化合物2A的一般程序



[0427] 在0℃下,向化合物1A(500g,4.76mol,476mL)在2-甲基-THF(2.00L)中的溶液逐滴添加在2-甲基-THF(750mL)中的CbzCl(406g,2.38mol,338mL)。该混合物在N₂气氛下于25℃搅拌2小时。TLC(DCM:MeOH=20:1,PMA)显示CbzCl已完全消耗,并形成一个新斑点(R_f=

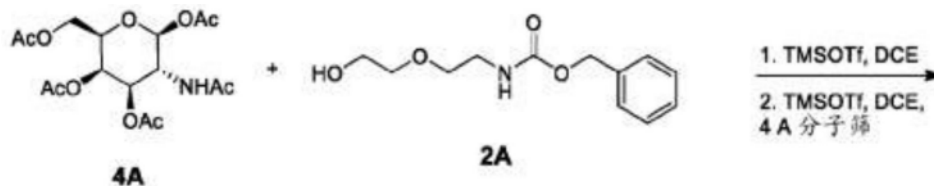
0.43)。向反应混合物中加入HCl/EtOAc (1N, 180mL), 并搅拌30分钟, 通过硅藻土过滤除去白色固体, 将滤液在真空下浓缩, 得到化合物2A (540g, 2.26mol, 47.5%产率), 为淡黄色油状物, 直接用于下一步反应, 无需进一步纯化。¹H NMR: δ 7.28-7.41 (m, 5H), 5.55 (br s, 1H), 5.01-5.22 (m, 2H), 3.63-3.80 (m, 2H), 3.46-3.59 (m, 4H), 3.29-3.44 (m, 2H), 2.83-3.02 (m, 1H)。

[0428] 制备化合物4A的一般程序

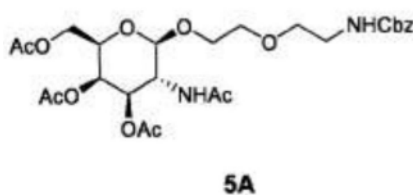


[0430] 在N₂气氛下, 在0℃下向化合物3A (1.00kg, 4.64mol, HCl) 在吡啶 (5.00L) 中的溶液逐滴加入乙酸乙酯 (4.73kg, 46.4mol, 4.34L)。在N₂气氛下, 在25℃下搅拌混合物16小时。TLC (DCM:MeOH=20:1, PMA) 指示化合物3A已完全消耗, 并形成两个新斑点 (R_f =0.35)。将反应混合物加入冷水 (30.0L) 中并在0℃下搅拌0.5小时, 形成白色固体, 过滤并干燥以得到化合物4A (1.55kg, 3.98mol, 85.8%产率), 为白色固体, 直接用于下一步反应, 无需进一步纯化。¹H NMR: δ 7.90 (d, J=9.29Hz, 1H), 5.64 (d, J=8.78Hz, 1H), 5.26 (d, J=3.01Hz, 1H), 5.06 (dd, J=11.29, 3.26Hz, 1H), 4.22 (t, J=6.15Hz, 1H), 3.95-4.16 (m, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.90 (s, 3H), 1.78 (s, 3H)。

[0431] 制备化合物5A的一般程序



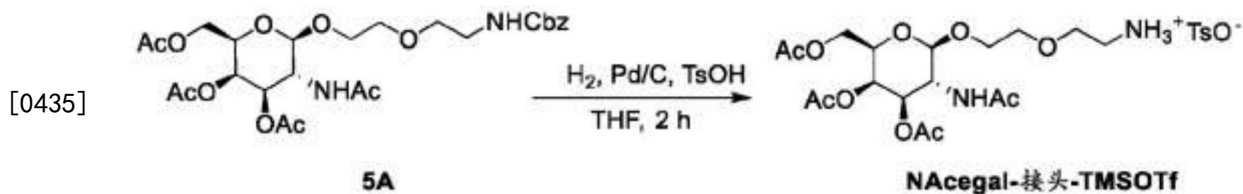
[0432]



[0433] 向化合物4A (300g, 771mmol) 在DCE (1.50L) 中的溶液添加TMSOTf (257g, 1.16mol, 209mL), 并在60℃下搅拌2小时, 然后在25℃下搅拌1小时。将化合物2A (203g, 848mmol) 溶解在DCE (1.50L) 中, 并在N₂气氛下添加4Å粉末分子筛 (150g), 搅拌30分钟。然后在0℃下将化合物4A的DCE溶液逐滴添加至混合物。在N₂气氛下, 在25℃下搅拌混合物16小时。TLC (DCM:MeOH=25:1, PMA) 指示化合物4A已完全消耗, 并形成新的斑点 (R_f =0.24)。将反应混合物过滤并用饱和NaHCO₃ (2.00L)、水 (2.00L) 和饱和盐水 (2.00L) 洗涤。有机层经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩以得到残留物。将残留物与2-Me-THF/庚烷 (5/3, v/v, 1.80L) 一起研磨2小时, 过滤并干燥以得到化合物5A (225g, 389mmol, 50.3%产率, 98.4%纯度), 为白色固

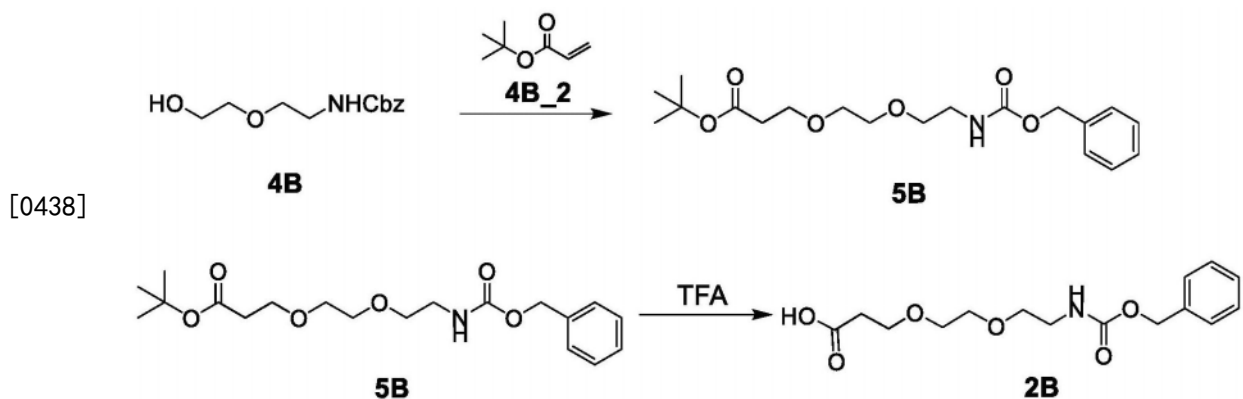
体。¹H NMR: δ 7.81 (d, $J=9.29$ Hz, 1H), 7.20-7.42 (m, 6H), 5.21 (d, $J=3.26$ Hz, 1H), 4.92-5.05 (m, 3H), 4.55 (d, $J=8.28$ Hz, 1H), 3.98-4.07 (m, 3H), 3.82-3.93 (m, 1H), 3.71-3.81 (m, 1H), 3.55-3.62 (m, 1H), 3.43-3.53 (m, 2H), 3.37-3.43 (m, 2H), 3.14 (q, $J=5.77$ Hz, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.89 (s, 3H), 1.77 (s, 3H)。

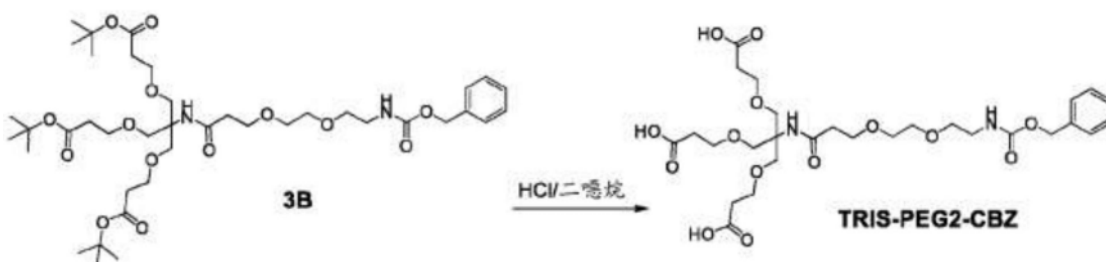
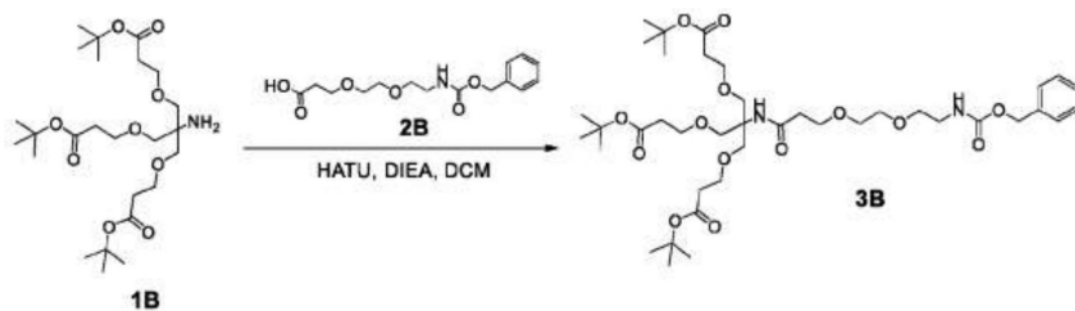
[0434] 制备NAcegal-接头-甲苯磺酸盐的一般程序



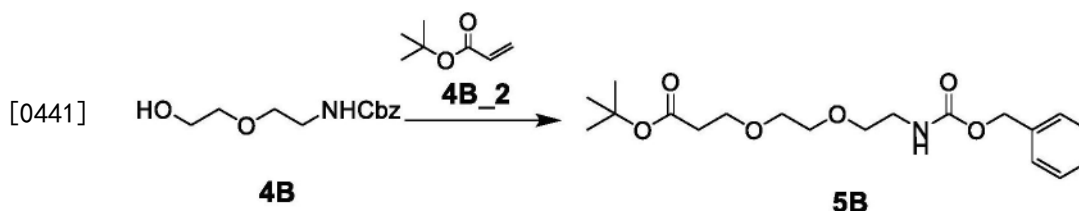
[0436] 在N₂气氛下,向化合物5A (200g, 352mmol) 在THF (1.0L) 中的溶液添加干燥Pd/C (15.0g, 10%纯度) 和TsOH (60.6g, 352mmol)。悬浮液在真空下脱气并用H₂吹扫数次。在H₂ (45psi) 气氛下,将混合物在25℃下搅拌3小时。TLC (DCM:MeOH=10:1, PMA) 指示化合物5A已完全消耗,并形成一个新斑点 ($R_f=0.04$)。过滤反应混合物并在减压下浓缩 ($\leq 40^\circ\text{C}$) 以得到残留物。用无水DCM (500mL, 用4Å分子筛干燥过夜 (在300℃下干燥12小时)) 稀释并浓缩得到残留物,然后进行卡尔费休法 (KF) 检查水含量。用无水DCM (500mL) 稀释并浓缩重复3次,得到NAcegal-接头-TMSOTf (205g, 95.8%产率, TsOH盐), 为泡沫状白色固体。¹H NMR: δ 7.91 (d, $J=9.03$ Hz, 1H), 7.53-7.86 (m, 2H), 7.49 (d, $J=8.03$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J=8.03$ Hz, 2H), 5.22 (d, $J=3.26$ Hz, 1H), 4.98 (dd, $J=11.29, 3.26$ Hz, 1H), 4.57 (d, $J=8.53$ Hz, 1H), 3.99-4.05 (m, 3H), 3.87-3.94 (m, 1H), 3.79-3.85 (m, 1H), 3.51-3.62 (m, 5H), 2.96 (br t, $J=5.14$ Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.89 (s, 3H), 1.78 (s, 3H)。

[0437] TRIS-PEG2-CBZ的制备方案



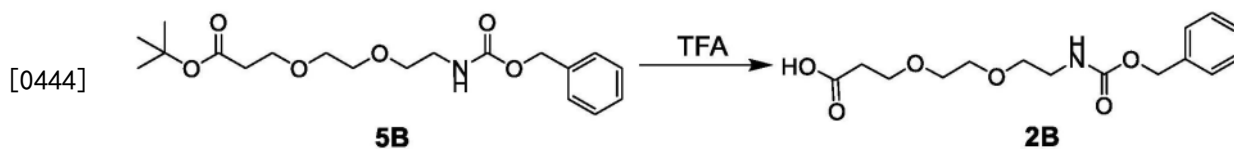


[0440] 制备化合物5B的一般程序



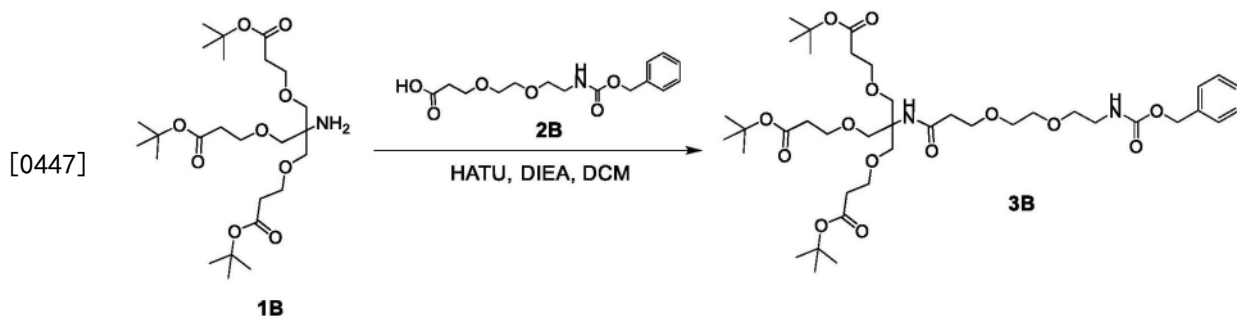
[0442] 向化合物4B(400g, 1.67mol, 1.00eq)和NaOH(10M, 16.7mL, 0.10eq)在THF(2.00L)中的溶液添加化合物4B_2(1.07kg, 8.36mol, 1.20L, 5.00eq),将混合物在30℃下搅拌2小时。LCMS显示得到所需的MS。将五批溶液合并为一批,然后将混合物用水(6.00L)稀释,用乙酸乙酯(3.00L*3)萃取,将合并的有机层用盐水(3.00L)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在真空下浓缩。粗品经柱层析纯化(SiO₂,石油醚:乙酸乙酯=100:1-10:1, R_f=0.5),得到化合物5B(2.36kg, 6.43mol, 76.9%产率),为淡黄色油状物。¹H NMR: δ 7.31-7.36(m, 5H), 5.38(s, 1H), 5.11-5.16(m, 2H), 3.75(t, J=6.4Hz), 3.54-3.62(m, 6H), 3.39(d, J=5.2Hz), 2.61(t, J=6.0Hz)。

[0443] 制备3-氧代-1-苯基-2,7,10-三氧杂-4-氮杂十三烷-13-酸(以下简称2B化合物)的一般程序



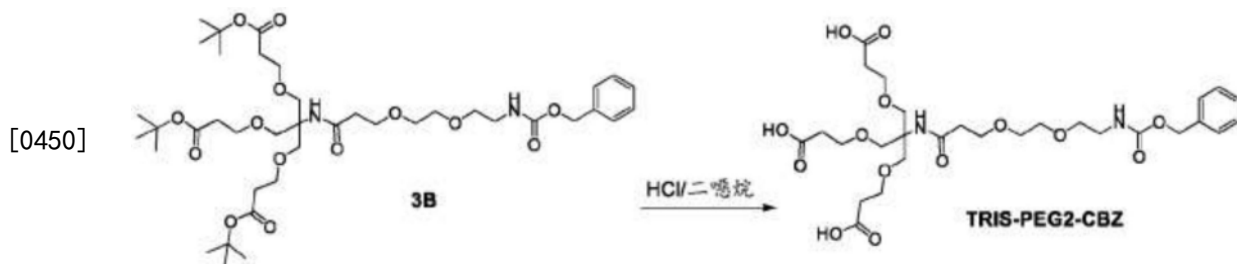
[0445] 向化合物5B(741g, 2.02mol, 1.00eq)在DCM(2.80L)中的溶液添加TFA(1.43kg, 12.5mol, 928mL, 6.22eq),将混合物在25℃下搅拌3小时。LCMS显示得到所需的MS。混合物用DCM(5.00L)稀释,用水(3.00L*3)、盐水(2.00L)洗涤,将合并的有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并在真空下浓缩,得到化合物2B(1800g, 粗品),为浅黄色油状物。¹H NMR: δ 9.46(s, 5H), 7.27-7.34(m, 5H), 6.50-6.65(m, 1H), 5.71(s, 1H), 5.10-5.15(m, 2H), 3.68-3.70(m, 14H), 3.58-3.61(m, 6H), 3.39(s, 2H), 2.55(s, 6H), 2.44(s, 2H)。

[0446] 制备化合物3B的一般程序



[0448] 在0℃下向化合物2B(375g,999mmol,83.0%纯度,1.00eq)在DCM(1.80L)中的溶液添加HATU(570g,1.50mol,1.50eq)和DIEA(258g,2.00mol,348mL,2.00eq),将混合物在0℃下搅拌30分钟,然后添加化合物1B(606g,1.20mol,1.20eq),将混合物在25℃下搅拌1小时。LCMS显示得到所需MS。将混合物合并为一个批次,然后混合物用DCM(5.00L)稀释,用1N HCl水溶液(2.00L*2)洗涤,然后用饱和Na₂CO₃水溶液(2.00L*2)和盐水(2.00L)洗涤有机层,有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并在真空下浓缩以得到化合物3B(3.88kg,粗品),为黄色油状物。

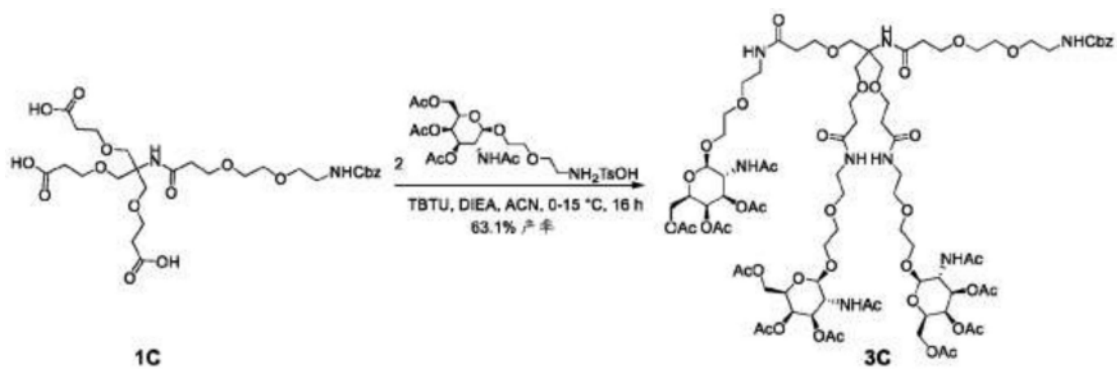
[0449] 制备TRIS-PEG2-CBZ的一般程序



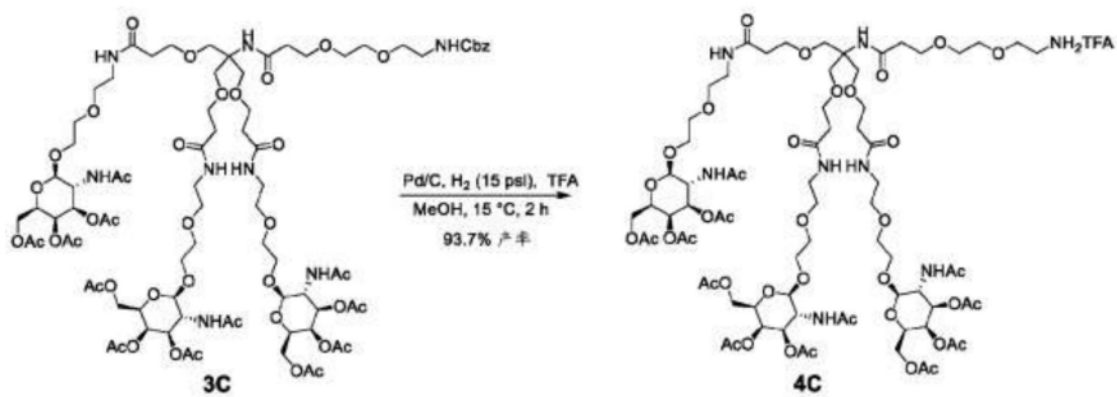
[0451] 将化合物3B(775g,487mmol,纯度50.3%,1.00eq)在HCl/二噁烷(4M,2.91L,23.8eq)中的溶液在25℃下搅拌2小时。LCMS显示得到所需MS。在真空下浓缩混合物得到残留物。然后用DCM(5.00L)稀释合并的残留物,用2.5M NaOH水溶液调节至pH=8,并分离。再次用DCM(3.00L)萃取水相,然后用1N HCl水溶液调节水溶液至pH=3,然后用DCM(5.00L*2)萃取,用盐水(3.00L)洗涤合并的有机层,经Na₂SO₄干燥,过滤并真空浓缩。粗品通过柱层析纯化(SiO₂,DCM:MeOH=0:1-12:1,0.1% HOAc,R_f=0.4)。残留物用DCM(5.00L)稀释,用2.5M NaOH水溶液调节至pH=8,分离,水溶液再次用DCM(3.00L)萃取,然后用6N HCl水溶液调节水溶液至pH=3,用DCM:MeOH=10:1(5.00L*2)萃取,合并的有机层用盐水(2.00L)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并真空浓缩得到残留物。然后用MeCN(5.00L)稀释残留物,真空浓缩,重复此程序两次以除去水,得到TRIS-PEG2-CBZ(1.25kg,1.91mol,78.1%产率,95.8%纯度),为淡黄色油状物。¹HNMR:400MHz,MeOD,δ

[0452] 7.30-7.35(5H),5.07(s,2H),3.65-3.70(m,16H),3.59(s,4H),3.45(t,J=5.6Hz),2.51(t,J=6.0Hz),2.43(t,6.4Hz)。

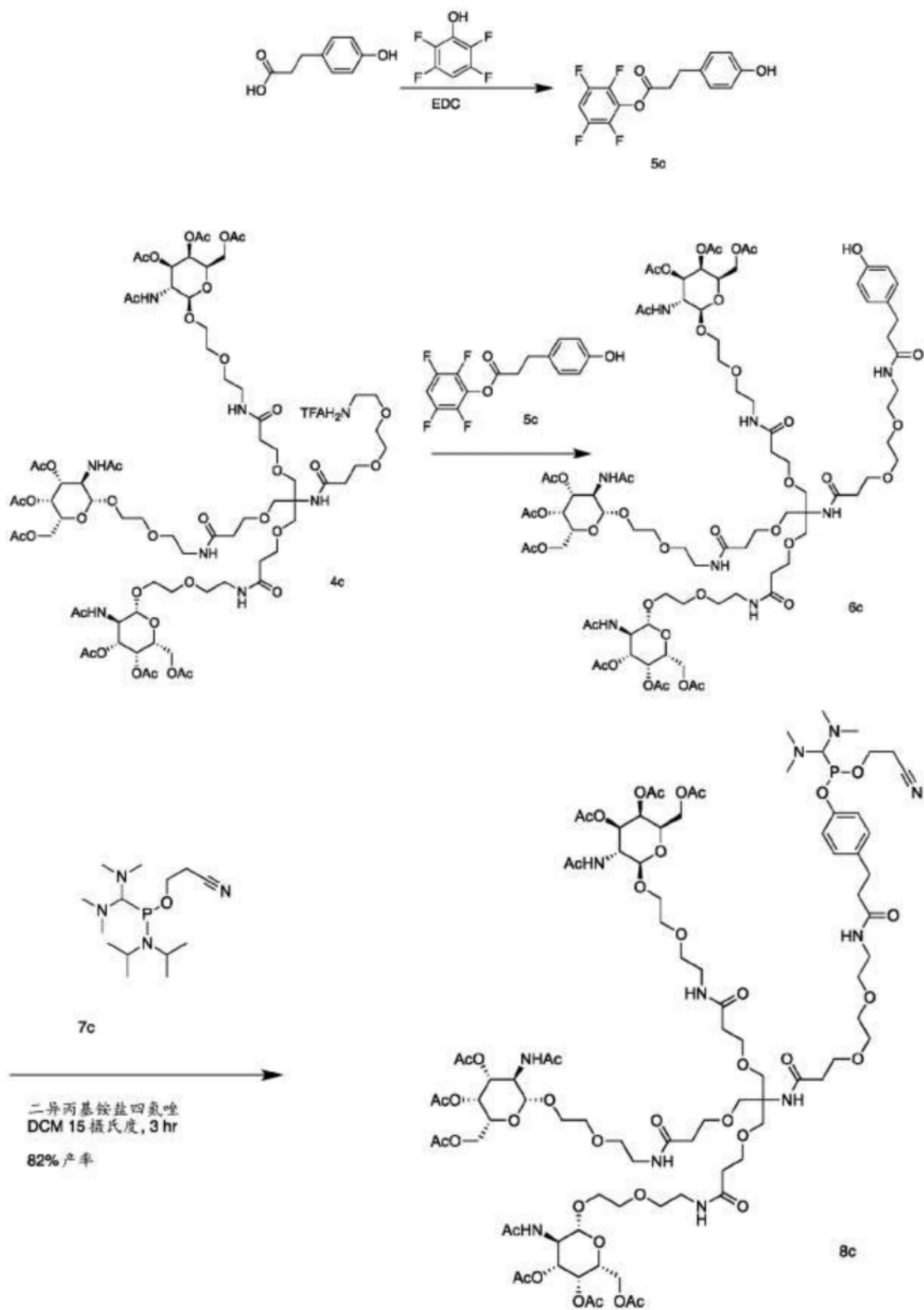
[0453] TriGal-TRIS-Peg2-Phosph8c的制备方案



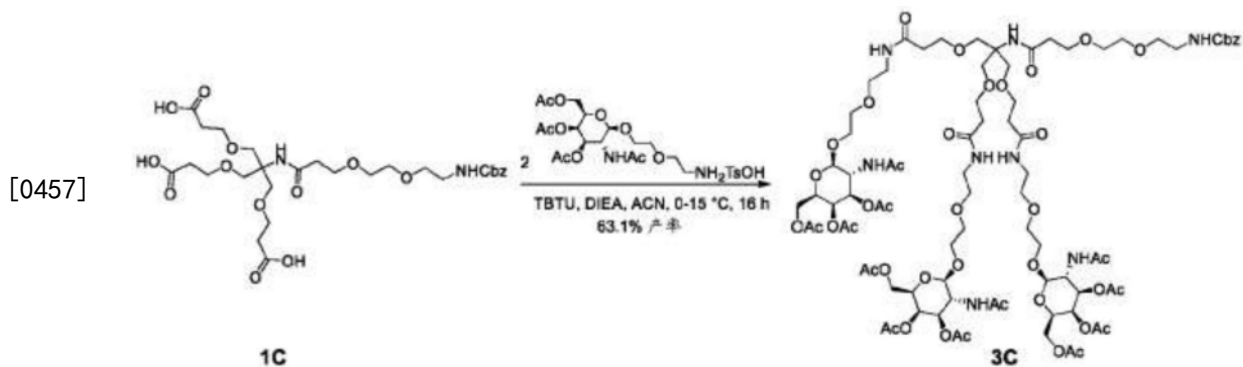
[0454]



[0455]

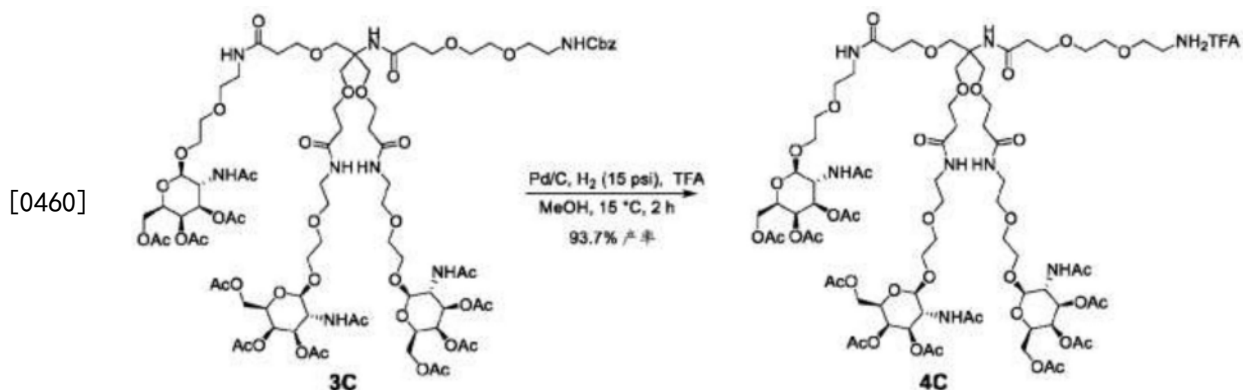


[0456] TriGNa1-TRIS-Peg2-Phosph 8c制备化合物3C的一般程序



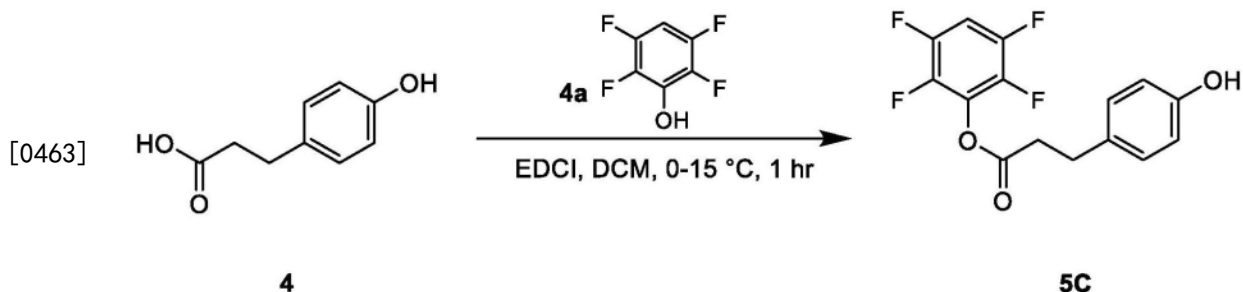
[0458] 在0℃下向化合物1C (155g, 245mmol, 1.00eq) 在ACN (1500mL) 中的溶液添加TBTU (260g, 811mmol, 3.30eq)、DIEA (209g, 1.62mol, 282mL, 6.60eq) 和化合物2C (492g, 811mmol, 3.30eq, TsOH), 将混合物在15℃下搅拌16小时。LCMS显示得到所需的MS。将混合物在真空下浓缩以得到残留物, 然后将混合物用DCM (2000mL) 稀释, 用1N HCl水溶液 (700mL*2) 洗涤, 然后用饱和NaHCO₃水溶液 (700mL*2) 洗涤并在真空下浓缩。通过柱层析纯化粗品以提供化合物3C (304g, 155mmol, 63.1%产率, 96.0%纯度), 为黄色固体。

[0459] 制备化合物4C的一般程序



[0461] 向化合物3C (55.0g, 29.2mmol, 1.00eq) 在MeOH (1600mL) 中的两批溶液添加Pd/C (6.60g, 19.1mmol, 10.0%纯度) 和TFA (3.34g, 29.2mmol, 2.17mL, 1.00当量), 将混合物真空脱气并用H₂吹扫。将混合物在H₂ (15psi) 下在15℃下搅拌2小时。LCMS显示得到所需的MS。过滤混合物并在真空下浓缩滤液以得到化合物4C (106g, 54.8mmol, 93.7%产率, 96.2%纯度, TFA), 为白色固体。

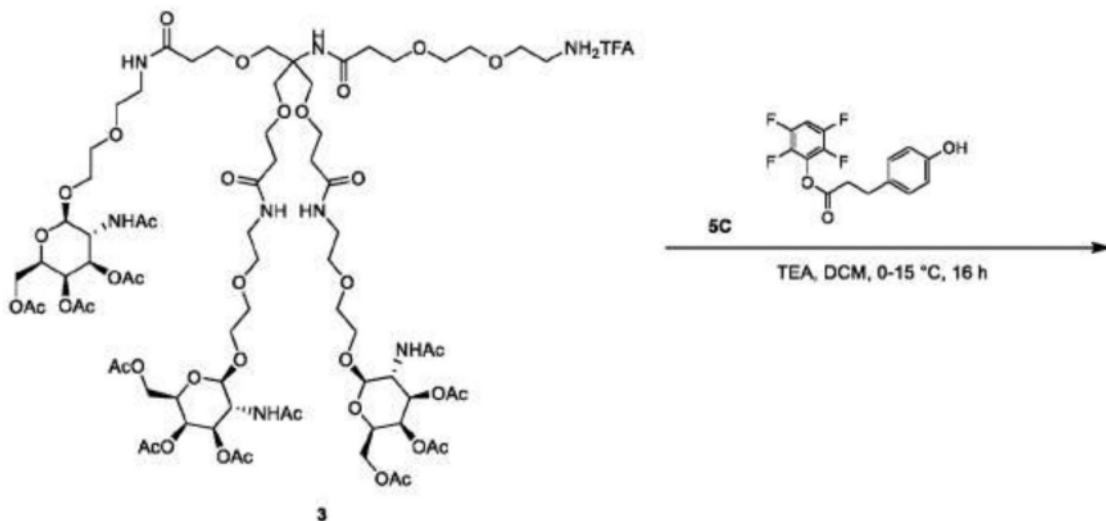
[0462] 制备化合物5C的一般程序



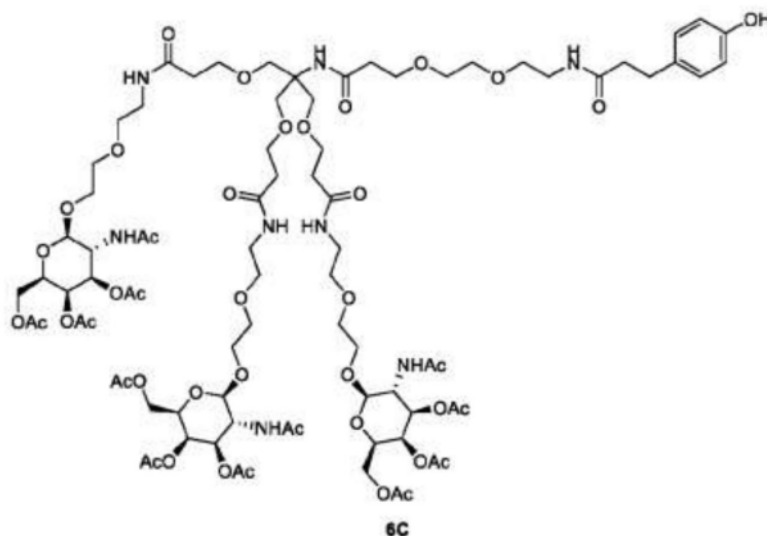
[0464] 两个批次平行进行。在0℃下向EDCI (28.8g, 150mmol, 1.00eq) 在DCM (125mL) 中的溶液逐滴添加化合物4a (25.0g, 150mmol, 1.00eq), 然后在0℃下将混合物添加在DCM (125mL) 中的化合物4 (25.0g, 150mmol, 1.00eq), 然后在25℃下搅拌混合物1小时。TLC (石油

醚:乙酸乙酯=3:1, $R_f=0.45$) 显示反应物已消耗, 并形成一个新斑点。将反应混合物用DCM (100mL) 稀释, 然后用 NaHCO_3 水溶液 (250mL*1) 和盐水 (250mL) 洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并减压浓缩得到残留物。残留物通过柱层析法 (SiO_2 , 石油醚:乙酸乙酯=100:1至3:1), TLC (SiO_2 , 石油醚:乙酸乙酯=3:1), $R_f=0.45$ 纯化, 然后减压浓缩得到残留物。获得无色油状物的化合物5C (57.0g, 176mmol, 58.4%产率, 96.9%纯度) 并经 ^1H NMR确认: EW33072-2-P1A, 400MHz, DMSO δ 9.21 (s, 1H), 7.07-7.09 (m, 2H), 6.67-6.70 (m, 2H), 3.02-3.04 (m, 2H), 2.86-2.90 (m, 2H)。

[0465] 制备化合物6的一般程序



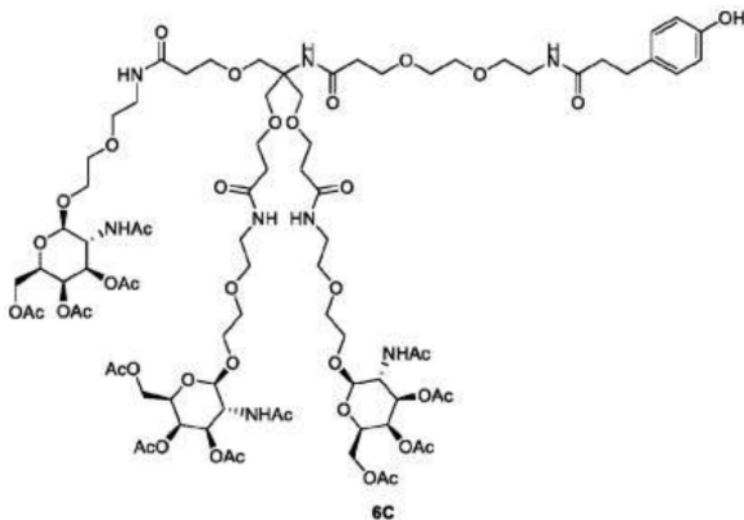
[0466]



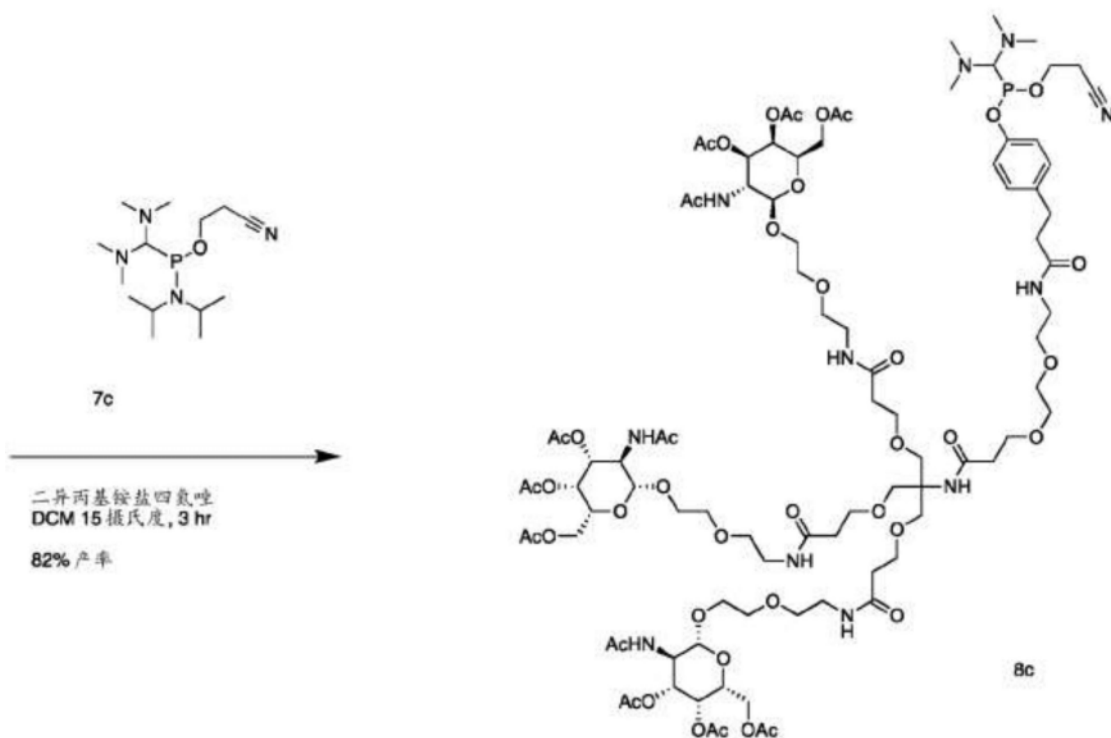
[0467] 在0℃下向化合物3 (79.0g, 41.0mmol, 96.4%纯度, 1.00eq, TFA) 和化合物6C (14.2g, 43.8mmol, 96.9%纯度, 1.07eq) 在DCM (800mL) 中的混合物逐滴添加TEA (16.6g, 164mmol, 22.8mL, 4.00eq), 将混合物在15℃下搅拌16小时。LCMS (EW33072-12-P1B, $R_t=0.844\text{min}$) 显示检测到所需质量。将反应混合物用DCM (400mL) 稀释并用 NaHCO_3 水溶液 (400mL*1) 和盐水 (400mL*1) 洗涤, 然后将混合物用DCM (2.00L) 稀释并用0.7M Na_2CO_3 (1000mL*3) 和盐水 (800mL*3) 洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在减压下浓缩以得到残留物。残留物无需纯化即直接用于下一步。得到白色固体的化合物6 (80.0g, 粗品) 并通过 ^1H NMR确认:

EW33072-12-P1A, 400MHz, MeOD δ 7.02-7.04 (m, 2H), 6.68-6.70 (m, 2H), 5.34-5.35 (s, 3H), 5.07-5.08 (d, $J=4.00$ Hz, 3H), 4.62-4.64 (d, $J=8.00$ Hz, 3H), 3.71-4.16 (m, 16H), 3.31-3.70 (m, 44H), 2.80-2.83 (m, 2H), 2.68 (m, 2H), 2.46-2.47 (m, 10H), 2.14 (s, 9H), 2.03 (s, 9H), 1.94-1.95 (d, $J=4.00$ Hz, 18H)。

[0468] 制备TriGNal-TRIS-Peg2-Phosph 8c的一般程序



[0469]



[0470] 平行合成两个批次。向化合物6c(40.0g, 21.1mmol, 1.00eq在DCM(600mL)中的溶液逐滴添加在DCM(8.00mL)中的二异丙基铵盐四氮唑(3.62g, 21.1mmol, 1.00eq)和化合物7c(6.37g, 21.1mmol, 6.71mL, 1.00eq),将混合物在30℃下搅拌1小时,然后逐滴添加在DCM(8.00mL)中的化合物7c(3.18g, 10.6mmol, 3.35mL, 0.50eq),将混合物在30℃下搅拌30分钟,然后逐滴添加在DCM(8.00mL)中的化合物7c(3.18g, 10.6mmol, 3.35mL, 0.50eq),混合物在30℃下搅拌1.5小时。LCMS(EW33072-17-P1C1, $R_t=0.921$ 分钟)显示检测到所需的MS+1。LCMS(EW33072-17-P1C2, $R_t=0.919$ 分钟)显示检测到所需的MS+1。将两个批次合并进行后

处理。混合物用DCM(1.20L)稀释,用饱和NaHCO₃水溶液(1.60L*2)、3%DMF水溶液(1.60L*2)、H₂O(1.60L*3)、盐水(1.60L)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩以得到残留物。残留物通过柱层析法(SiO₂,DCM:MeOH:TEA=100:3:2)TLC(SiO₂,DCM:MeOH=10:1,Rf=0.45)纯化,然后减压浓缩得到残留物。得到白色固体的化合物8C(76.0g,34.8mmol,82.5%产率,96.0%纯度)并且经¹HNMR确认:EW33072-19-P1C,400MHz,MeOD

[0471] 87.13-7.15(d,J=8.50Hz,2H),6.95-6.97(dd,J=8.38,1.13Hz,2H),5.34(d,J=2.88Hz,3H),.09(dd,J=11.26,3.38Hz,3H),4.64(d,J

[0472] =8.50Hz,3H),3.99-4.20(m,12H),3.88-3.98(m,5H),3.66-3.83(m,20H),3.51-3.65(m,17H),3.33-3.50(m,9H),2.87(t,J=7.63Hz,2H),2.76(t,J=5.94Hz,2H),2.42-2.50(m,10H),2.14(s,9H),2.03(s,9H),1.94-1.95(d,J=6.13Hz,18H),1.24-1.26(d,J=6.75Hz,6H),1.18-1.20(d,J=6.75Hz,6H)。

[0473] 实施例7:使用GalNAc缀合的siRNA和ASO的体外肝细胞靶向

[0474] 在本实验中,与GalNAc部分缀合的抗GFP siRNA或ASO对表达脱唾液酸糖蛋白受体和GFP的肝细胞系进行处理,相比之下,在对照实验中用未缀合GalNAc部分的抗GFP siRNA或ASO处理肝细胞系。测量GFP mRNA和蛋白质的表达,并将用GalNAc缀合的siRNA或ASO处理的细胞中的GFP mRNA或蛋白质表达量相对于用未缀合GalNAc的siRNA或ASO处理的细胞中的GFP mRNA或蛋白质表达量进行归一化和比较。这可有助于确定GalNAc部分的肝细胞靶向能力。可以将多个GalNAc部分缀合到siRNA或ASO并进行比较,以确定哪个GalNAc部分在肝细胞靶向方面最佳。在这些实验中测试的GalNAc部分可以是本文中描述的GalNAc部分。

[0475] 类似的实验可以在用缀合或未缀合GalNAc部分的siRNA或ASO处理的原代肝细胞中进行,并可以在原代肝细胞中评估GFP以外的靶mRNA或靶蛋白。

[0476] 实施例8:使用GalNAc缀合的siRNA和ASO的体内肝细胞靶向

[0477] 在本实验中,靶向靶mRNA的siRNA或ASO将与GalNAc部分缀合,并施用于小鼠(n=5/组),相比之下,对照实验中小鼠施用未缀合GalNAc的siRNA或ASO。2天后,小鼠被处死,并且肝脏被冷冻,随后被匀浆化,并测试靶mRNA和蛋白质的表达。将用GalNAc缀合的siRNA或ASO处理的小鼠的肝脏中的靶mRNA或蛋白质表达量相对于用未缀合GalNAc的siRNA或ASO处理的小鼠的肝脏中的GFP mRNA或蛋白质表达量进行归一化和比较。这可有助于确定GalNAc部分的肝靶向能力。可以将多个GalNAc部分缀合到siRNA或ASO并进行比较,以确定哪个GalNAc部分在肝靶向方面最佳。本实验中包含的GalNAc部分可以是显示出最强肝细胞靶向程度的那些。这些实验中测试的GalNAc部分可以是本文描述的GalNAc部分。

[0478] 实施例9:使用GalNAc缀合的siRNA和ASO在小鼠肝病模型中抑制靶mRNA

[0479] 在本实验中,将使用鼠肝病模型(在本例中为脂肪肝疾病)来评估siRNA或ASO抑制靶mRNA的效果。靶mRNA可编码任何在肝病中过表达或过度激活有病理学作用的靶蛋白。在鼠模型中,通过给小鼠喂食西方饮食(WD)12周来诱发脂肪肝疾病,按重量计其含有21.1%的脂肪、41%的蔗糖和1.25%的胆固醇(Teklad饮食,TD.120528)和高糖溶液(23.1g/L d-果糖(Sigma-Aldrich,G8270)和18.9g/L d-葡萄糖(Sigma-Aldrich,F0127))。4周大的C57BL/6J小鼠被喂食西方饮食而不是常规食物,持续12周。本实验中使用的GalNAc部分可以是本文描述的GalNAc部分。

[0480] 简而言之,小鼠被分为五组:第1组:脂肪肝疾病组,用非靶向对照siRNA治疗;第2

组:脂肪肝疾病组,用非靶向对照ASO治疗;第3组:脂肪肝疾病组,用靶向靶mRNA的siRNA治疗;第4组:脂肪肝疾病组,用靶向靶mRNA的ASO治疗;第5组:正常饲料喂养的对照组小鼠。每组包含8只小鼠(4只雄性,4只雌性)。第1-4组的siRNA和ASO均包含附接到siRNA或ASO的GalNAc部分。

[0481] 在西方饮食喂养第12周时,应在第一次治疗之前从每组采集血液样品。

[0482] siRNA或ASO的施用通过皮下注射200 μ L以10 μ M浓度重悬于PBS中的裸siRNA或ASO进行。在研究的第0天,第1组小鼠将接受非靶向对照siRNA的皮下注射,第2组小鼠将接受非靶向对照ASO的皮下注射,第3组小鼠将接受靶向小鼠靶mRNA的siRNA1的皮下注射,第4组小鼠将接受靶向小鼠靶mRNA的ASO1的皮下注射,而第5组小鼠将接受媒介物的皮下注射。从第14天开始之后的每隔一周对来自每组的小鼠按第0天的方式进行给药,总共进行5次注射。

[0483] 每周将进行血液采集,并分离血清和血浆。使用VITROS 5,1FS(Ortho Clinical Diagnostics)测量血清ALT、AST、总胆固醇和甘油三酯水平。根据制造商的说明,用超敏小鼠胰岛素ELISA试剂盒(Crystal Chem,90080)测量非空腹血浆胰岛素。使用One Touch Ultra(Life Scan)测定非空腹血糖。计算HOMA-IR和QUICKI。

[0484] 在12周的西方饮食和siRNA/ASO治疗结束时,通过颈脱位法处死小鼠,然后腹膜内注射0.3ml戊巴比妥(5mg/ml)。通过心脏穿刺采集终末血清样品,并测量最终的血清ALT、AST、总胆固醇和甘油三酯水平,以及非空腹血浆胰岛素和血糖。肝脏被取出并分为三部分:一部分置于RNAlater中用于mRNA分离,一部分快速冷冻用于蛋白质分离,另一部分固定在福尔马林中并随后进行石蜡包埋。

[0485] 使用PureLink试剂盒(ThermoFisher批号12183020)根据制造商的方案从置于RNAlater溶液中的组织分离mRNA。逆转录酶反应按照制造商的方案进行。样品存储于-80 $^{\circ}$ C下,直到使用TaqMan基因表达测定(Applied Biosystems FAM探针,使用BioRad iCycler)进行一式三份的实时qPCR。与用非特异性对照siRNA和ASO给药的小鼠的肝组织中的靶mRNA水平相比,用siRNA和ASO给药的小鼠的肝组织中靶mRNA的表达下降。预期接受siRNA和ASO的小鼠的肝组织中SDF-1的量会低于接受非特异性对照siRNA或ASO的小鼠的肝组织中SDF-1的量。这些结果表明,siRNA和ASO在肝组织中造成靶mRNA和靶蛋白的敲低,并且靶mRNA和靶蛋白表达的减少与SDF-1生成的减少相关联。

[0486] 福尔马林固定并石蜡包埋的肝组织切片被苏木精-伊红(H&E)染色以评估肝组织学,被天狼星红(Sigma,365548-5G)/快绿(Sigma,F258)染色以评估纤维化,被过碘酸-希夫(PAS)染色以评估糖原积累。NAFLD活动评分(NAS)和纤维化分期由病理学专家根据NASH CRN评分系统13进行评估。组织学评分是在盲法下进行的,病理学家对所接受的治疗不知情。这些结果表明,siRNA和ASO在肝组织中造成靶mRNA和靶蛋白的敲低,并且靶mRNA和靶蛋白表达的降低与NAS和NASH CRN的下降相关联。

[0487] 实施例10:抑制小鼠肝病模型

[0488] 本实验中将使用鼠肝病模型(在本例中为高甘油三酯血症)评估siRNA或ASO抑制肝脏中表达的靶蛋白的效果,并将其与抗小鼠靶蛋白抗体进行比较。小鼠品系C57B1/6Apoetm1Unc小鼠将保持高脂肪的西方饮食(Research Diets,D12492;60%的热量来自脂肪)。靶蛋白可以是任何在肝病中过表达或过度激活起病理作用的蛋白质。本实验中使用的GalNAc部分可以是本文描述的GalNAc部分。

[0489] 本研究将使用四组小鼠(每组 $n=16$)。研究期间,动物将保持高脂肪饮食。在首次注射前的第-4天,移除食物,禁食一夜。在首次注射前的第-3天,将对所有动物进行麻醉,并通过下颌静脉采集300 μ L血液至血清分离管中,以评估基线甘油三酯、血清葡萄糖、胰岛素敏感性、总胆固醇水平、HDL胆固醇水平、肝功能和靶蛋白的血清水平。在实验第0天,第1组小鼠将腹腔注射600 μ L生理盐水,第2组小鼠将腹腔注射600 μ g抗小鼠靶蛋白抗体(600 μ L),第3组小鼠将皮下注射在200 μ L生理盐水中150 μ g的靶向编码小鼠的靶蛋白的mRNA的GalNAc-siRNA,第4组小鼠将皮下注射在200 μ L生理盐水中150 μ g的靶向编码靶蛋白的mRNA的GalNAc-ASO。在第3天的下午,所有组将移除食物,禁食一夜。在第4天,将所有组的动物麻醉,并通过下颌静脉采集150 μ L血液至血清分离管中,以评估血清甘油三酯、葡萄糖、总胆固醇、HDL胆固醇及靶蛋白的水平。之后,所有组的动物将进行口服葡萄糖耐量测试和胰岛素耐量测试,以评估胰岛素敏感性。在进行了采血及胰岛素敏感性测试后,将如常重新提供食物。此后自第7天起每一周,第2组的动物如第0天一样进行给药,共进行15次注射。此后从第14天起每隔一周,第3组和第4组的动物如第0天一样进行给药,共进行8次注射。从第10天起每隔一周,对所有组的小鼠进行禁食(过夜),并采血(150 μ L,至血清分离管中)以评估血清甘油三酯、葡萄糖、总胆固醇、HDL胆固醇及靶蛋白水平,并进行胰岛素敏感性测试。在最后一次注射后的第三天,将从所有组移除食物,禁食一夜。在最后一次注射后的第四天,将对所有组别的动物进行麻醉、安乐死,并通过心脏穿刺采集500 μ L血液至血清分离管中,以评估甘油三酯、血清葡萄糖、胰岛素敏感性、总胆固醇水平、HDL胆固醇水平、肝功能及靶蛋白的血清水平。从所有动物中采集肝脏、小肠和肠系膜淋巴结组织,并将其浸入10%中性缓冲福尔马林中以进行组织病理学分析。还从所有动物采集肝脏样品,并放入RNAlater中保存。针对小鼠靶蛋白及小鼠管家基因PPIA使用TaqMan测定通过RT-qPCR评估靶mRNA水平。

[0490] 与第1组(盐水)的小鼠相比,用抗体治疗的动物(第2组)、用GalNAc-siRNA治疗的小鼠(第3组)和用GalNAc-ASO治疗的小鼠(第4组)预计甘油三酯、血清总胆固醇、血清葡萄糖水平以及血清靶蛋白水平会降低,而HDL胆固醇和胰岛素敏感性会增加。预计第2组和第3组的动物的肝脏样品中的靶mRNA也会降低。

[0491] 实施例11:使用GalNAc-siRNA和GalNAc-ASO抑制非人类灵长类动物中的靶mRNA

[0492] 在本实验中,使用高甘油三酯血症的NHP模型来评估siRNA或ASO抑制肝脏中表达的靶mRNA的效果。靶蛋白可以是任何在肝病中过度表达或过度激活起病理作用的靶蛋白。将使用三组食蟹猴($n=5$ /组),在研究开始前将其置于高脂肪饮食(西方灵长类动物饮食,5S2T)中。或者,将使用三组恒河猴($n=5$ /组),在研究开始前将其置于高果糖饮食中。将给予动物7次的每两周皮下注射的盐水(第1组)、GalNAc-siRNA(第2组)或GalNAc-ASO(第3组)。修饰的GalNAc-siRNA序列可以包括本文所述的任何修饰模式。在本实验中使用的GalNAc部分可以是本文所述的GalNAc部分。在研究基线和第4、8和14周收集用于脂质和血糖测量的血液样品,并分析脂质含量、血清葡萄糖、胰岛素敏感性和靶蛋白。每组的所有动物在最后一次采血后2周进行尸检。从所有动物收集来自肝脏、小肠和肠系膜淋巴结的组织,并浸入10%中性缓冲福尔马林中进行组织病理学分析。还将从所有动物收集肝脏样品并放入RNAlater中。针对食蟹猴或恒河猴靶蛋白和食蟹猴或恒河猴管家基因PPIA,使用TaqMan测定通过RT-qPCR评估靶mRNA水平。

[0493] 预计与第1组(盐水)的动物相比,用GalNAc-siRNA治疗的动物(第2组)和用

GalNAc-ASO治疗的动物(第3组)将表现出甘油三酯、血清总胆固醇和血清葡萄糖降低以及血清靶蛋白水平降低,且HDL胆固醇和胰岛素敏感性增加。还预计第1组和第3组中的动物在肝脏样品中将显示靶mRNA降低。

[0494] 实施例12:在临床试验中使用GalNAc-siRNA和GalNAc-ASO抑制靶mRNA

[0495] 在本研究中,使用患有高甘油三酯血症的人类对象来评估siRNA或ASO抑制肝脏中表达的靶mRNA的效果。靶蛋白可以是任何在肝病中过表达或过度激活起病理作用的靶蛋白质。纳入研究的选择标准是年龄40-90岁、BMI ≥ 30 和血清甘油三酯 $\geq 250\text{mg/dL}$ 。研究中将包括三组对象($n=15/\text{组}$)。对象将被给予共5次的每周皮下注射的盐水(第1组)、GalNAc-siRNA(第2组)或GalNAc-ASO(第3组)。这些实验中要使用的GalNAc部分可以包括本文所述的GalNAc部分。

[0496] siRNA或ASO序列应来自在培养的细胞中或在其他实施例中描述的实验中表现出高活性的选择集。将在研究的基线和3、6和12周收集用于脂质和血糖测量的血液样品,并分析脂质含量、血清葡萄糖、胰岛素敏感性、靶蛋白以及肝肾功能。

[0497] 预计与第1组(盐水)的对象相比,用GalNAc-siRNA治疗的对象(第2组)和用GalNAc-ASO治疗的对象(第3组)的甘油三酯、血清总胆固醇和血清葡萄糖会降低,血清靶蛋白水平会降低,而HDL胆固醇和胰岛素敏感性会增加。

[0498] 实施例13:寡核苷酸合成

[0499] 根据在寡核苷酸合成中使用的固相上的亚磷酰胺技术合成RNAi试剂(例如siRNA)。使用K&A寡核苷酸合成仪。合成在由可控孔径玻璃(CPG, $500\text{\AA}$ 或 $600\text{\AA}$,获得自AM Chemicals, Oceanside, CA, USA)制成的固体支持物上进行。所有2'-OMe和2'-F亚磷酰胺均从Hongene Biotech(Union City, CA, USA)购买。将所有亚磷酰胺溶解在无水乙腈(100mM)中,并添加分子筛($3\text{\AA}$)。5-苄硫基-1H-四唑(BTT, 250mM, 乙腈中)或5-乙硫基-1H-四唑(ETT, 250mM, 乙腈中)用作活化剂溶液。偶联时间为9-18分钟(EmpGalNAc)、6分钟(2' OMe和2' F)。为了引入硫代磷酸酯键联,使用100mM 3-苯基1,2,4-二噻唑啉-5-酮(POS,获得自PolyOrg, Inc., Leominster, Mass., USA)在无水乙腈中的溶液。

[0500] 固相合成后,干燥的固体支持物用40wt.%甲胺水溶液和28%氢氧化铵溶液(Aldrich)的1:1体积比溶液在30℃处理2小时。蒸发溶液,并将固体残留物在水中重构,并使用TKSgel SuperQ-5PW 13u柱通过阴离子交换HPLC纯化。缓冲剂A为20mM Tris、5mM EDTA、pH 9.0,且含有20%乙腈,缓冲剂B与缓冲剂A相同,但添加了1M氯化钠。记录260nm处的紫外光谱。适当的级分被合并,然后使用Sephadex G-25介质脱盐。

[0501] 将等摩尔量的有义链和反义链合并以制备双链体。在 $0.1\times\text{PBS}$ (磷酸盐缓冲盐水, $1\times$, Gibco)中制备双链体溶液。双链体溶液在95℃下退火5分钟,然后缓慢冷却至室温。通过在 $0.1\times\text{PBS}$ 中测量260nm处的紫外可见光谱仪上的溶液吸光度来确定双链体浓度。对于一些实验,从实验确定的消光系数计算出转换因子。

[0502] 实施例14:使用GalNAc缀合的siRNA和ASO进行体内肝细胞靶向

[0503] 在该实验中,靶向靶mRNA的siRNA或ASO将与GalNAc部分缀合且施用于小鼠($n=5/\text{组}$),相比之下,对照实验中小鼠被施用未与GalNAc缀合的siRNA或ASO。2天后处死小鼠,并将肝脏冷冻,随后匀浆,并测试靶mRNA和蛋白质表达。将用GalNAc缀合的siRNA或ASO处理的小鼠的肝脏中的靶mRNA或蛋白质表达量相对于用未缀合GalNAc的siRNA或ASO处理的小鼠

的肝脏中的GFP mRNA或蛋白质表达量进行归一化和比较。这可有助于确定GalNAc部分的肝靶向能力。可以将多个GalNAc部分缀合到siRNA或ASO并进行比较,以确定哪个GalNAc部分在肝靶向方面最佳。GalNAc部分可以是实施例6中表现出最大程度肝细胞靶向的那些。这些实验中要测试的GalNAc部分可以是本文所述的GalNAc部分,例如化合物1或化合物2。

[0504] 实施例15:通过GalNAc缀合的siRNA敲低小鼠中的PLIN1

[0505] 将示例GalNAc部分ETL17缀合到靶向示例靶mRNA的siRNA。序列如表2所示。表中, Nf (例如Af、Cf、Gf、Tf或Uf) 是2' 氟修饰的核苷, n (例如a、c、g、t或u) 是2' 0-甲基修饰的核苷, 而“s”是硫代磷酸酯键联。对siRNA在小鼠中的活性进行了测试。

[0506] 在第-14天,通过眼眶后途径向6至8周龄雌性小鼠 (C57B1/6) 注射10uL重组腺相关病毒8 (AAV8) 载体 (1.7×10^{13} 个基因组拷贝/mL)。重组AAV8包含人类PLIN1 (NM_002666.5) 序列,受包装在AAV8衣壳中的AAV2骨架中的人类甲状腺素结合球蛋白启动子 (AAV8-TBG-h-PLIN1) 控制。在第0天,对受感染的小鼠 (n=4) 进行单次100ug剂量的GalNAc缀合siRNA或作为媒介物对照的PBS的皮下注射。

[0507] 在皮下注射后第10天对小鼠实施安乐死,收集每只小鼠的肝脏样品,并放入RNAlater (ThermoFisher目录号AM7020) 中,直至处理。通过使用设定转速为5000rpm、进行两个10秒循环的Perccellys 24组织匀浆器 (Bertin Instruments) 将肝脏组织在匀浆缓冲剂 (Maxwell RSC simplyRNA组织试剂盒) 中匀浆,从而制备总肝脏RNA。根据制造商的建议,在Maxwell RSC 48平台 (Promega Corporation) 上纯化裂解物中的总RNA。根据制造商的说明,使用Quanta qScript cDNA SuperMix (VWR,目录号95048-500) 制备cDNA。使用针对人类PLIN1 (ThermoFisher,检测编号Hs01106925_m1) 和小鼠管家基因PPIA (ThermoFisher,检测编号Mm02342430_g1) 的TaqMan测定和PerfeCTa®qPCRFastMix®、Low ROX™ (VWR,目录编号101419-222) 在QuantStudio™6 Pro实时PCR系统上通过RT-qPCR一式三份评估肝脏PLIN1 mRNA的相对水平。数据相对于接受PBS的动物中的平均PLIN1 mRNA水平归一化。结果如表3中所示。与接受PBS的小鼠相比,所有测试的siRNA在第10天都导致平均肝脏PLIN1 mRNA降低。这些数据表明,与GalNAc部分如ETL17缀合的siRNA可用于敲低肝脏中的靶mRNA。

[0508] 表2. 示例siRNA序列

siRNA 名称	SEQ ID NO	带有GalNAc部分的有义链 序列(5'-3')	SEQ ID NO	反义链序列(5'-3')
ETD01899	1	[ETL17]scaguuuuuAfaGfggacaccasusu	8	usGfsgUfgUfcCfcUfuAfaAfaAfcUfgsusu
ETD01900	2	[ETL17]suuuuuAfaGfGfgAfcaccagaasusu	9	usUfscUfgGfuGfuCfcCfuUfaAfaAfasusu
ETD01901	3	[ETL17]suuuugaCfaCfaUfucuuagcasusu	10	usGfscUfaAfgAfaUfgUfgUfcAfaAfasusu
ETD01902	4	[ETL17]suugaCfaCfaUfuCfuagcacasusu	11	usGfsuGfcUfaAfgAfaUfgUfgUfcAfasusu
ETD01903	5	[ETL17]sacauucuuAfgfcacugaacasusu	12	usGfsuUfcAfgUfgCfuAfaGfaAfuGfususu
ETD01904	6	[ETL17]sugcaUfagUfCfaCfucuuugasusu	13	usCfsaAfaAfgAfgUfgAfcUfaUfgCfasusu
ETD01905	7	[ETL17]saacuaCfUfgCfaUfaauuggasusu	14	usCfscAfuAfuUfaUfgCfaGfuAfgUfususu

[0510] 表3. 小鼠肝脏中的相对人类PLIN1 mRNA水平

[0511]

组	n	处理	剂量 (ug)	PLIN1 mRNA平均值(相对于第1组 归一化, 第10天)
1	4	PBS	0	1.00
2	4	ETD01899	100	0.79
3	4	ETD01900	100	0.30
4	4	ETD01901	100	0.37
5	4	ETD01902	100	0.24
6	4	ETD01903	100	0.83
7	4	ETD01904	100	0.58

[0512] 实施例16:通过GalNAc缀合的siRNA敲低小鼠中的MST1

[0513] ETL17与靶向另一示例靶mRNA的siRNA缀合。siRNA附接于GalNAc配体ETL17,随后在有义链的5'端有硫代磷酸酯键联。该siRNA描述于表6中。在表中,Nf(例如Af、Cf、Gf、Tf或Uf)是2' 氟修饰的核苷,dN(例如dA、dC、dG、dT或dU)是2' 脱氧修饰的核苷,n(例如a、c、g、t或u)是2' 0-甲基修饰的核苷,而“s”是硫代磷酸酯键联。

[0514] 六至八周龄雌性小鼠(C57Bl/6)通过眼眶后途径注射5uL重组腺相关病毒8(AAV8)载体(2.7×10^{13} 个基因组拷贝/mL)。重组AAV8包含开放阅读框和人类MST1序列(NM_020998.4)的3' UTR的大部分,受包装在AAV8衣壳中的AAV2骨架中的人类甲状腺素结合球蛋白启动子(AAV8-TBG-h-MST1)的控制。感染后第13天,收集血清,并使用来自R&D的人类MSP/MST1 DuoSet ELISA(目录号DY352)测量每只小鼠的人类MSP的水平。遵循制造商关于缓冲剂和溶液的所有试剂制备的说明。所有测试样品均采用1:50的血清样品稀释度。使用试剂盒中包含的重组MSP来创建10,000pg/mL至0pg/mL的标准曲线。使用PerkinElmer Envision多模式读板仪在450nm处读取平板的光密度。使用最小二乘拟合(Prism版本9,Software MacKiev)通过插值法从标准曲线计算出每个小鼠血清样品中的MSP浓度。

[0515] 将小鼠分配到各组(n=3)中,使得各组具有相似的血清MSP水平,然后皮下注射单剂量60ug的GalNAc缀合的siRNA或作为媒介物对照的PBS。在注射后的第0、4和12天,收集血清,使用上述方法通过ELISA评估血清MSP浓度。每个时间点的MSP血清浓度是相对于每一只小鼠第0天样品中的MSP水平得出的。结果显示在表4中。这些数据表明,与GalNAc部分如ETL17缀合的siRNA可用于敲低肝脏中由其他靶mRNA分泌的蛋白质。

[0516] 在第12天处死小鼠,收集每只小鼠的肝脏样品,并将其放入RNA later(ThermoFisher Cat#AM7020)中直至处理。通过使用设定转速为5000rpm、进行两个10秒循环的Percellys 24组织匀浆器(Bertin Instruments)将肝脏组织在匀浆缓冲剂(Maxwell RSC simplyRNA组织试剂盒)中匀浆,从而制备总肝脏RNA。根据制造商的建议,在Maxwell RSC 48平台(Promega Corporation)上纯化裂解物中的总RNA。根据制造商的说明,使用Quanta qScript cDNA SuperMix(VWR,目录号95048-500)制备cDNA。使用针对人类MST1(ThermoFisher,检测编号Hs00360684_m1)和小鼠管家基因PPIA(ThermoFisher,检测编号Mm02342430_g1)的TaqMan测定和PerfeCTa®qPCR FastMix®、Low ROX™(VWR,目录编号101419-222)在QuantStudio™6 Pro实时PCR系统上通过RT-qPCR一式三份评估肝脏MST1 mRNA的相对水平。数据相对于接受PBS的动物中的水平归一化。结果如表5中所示。这些数据表明,与GalNAc部分如ETL17缀合的siRNA可用于敲低肝脏中的其他靶mRNA。

[0517] 表4.AAV8-TBG-h-MST1小鼠中的相对平均血清人类MSP水平

[0518]

组	n	处理	剂量 (ug)	血清人类MSP平均值(相对于第0天)		
				第0天	第4天	第12天
1	3	PBS		1.00	1.12	1.54
2	3	ETD01867	60	1.00	0.35	0.24
3	3	ETD01963	60	1.00	0.46	0.42
4	3	ETD01964	60	1.00	0.35	0.15
5	3	ETD01965	60	1.00	0.32	0.26
6	3	ETD01966	60	1.00	0.30	0.16
7	3	ETD01868	60	1.00	0.67	ND
8	3	ETD01967	60	1.00	0.41	0.27
9	3	ETD01968	60	1.00	0.53	0.30
10	3	ETD01969	60	1.00	0.68	0.45
11	3	ETD01970	60	1.00	0.51	0.59
12	3	ETD01971	60	1.00	0.60	0.42
13	3	ETD01972	60	1.00	0.24	0.17

[0519] ND,未测定

[0520] 表5.AAV8-TBG-h-MST1小鼠肝脏中的相对人类MST1 mRNA水平

[0521]

组	n	处理	剂量 (ug)	人类MST1 mRNA平均值 (相对于第1组, 第12天)
1	3	PBS		1.00
2	3	ETD01867	60	0.40
3	3	ETD01963	60	0.76
4	3	ETD01964	60	0.60
5	3	ETD01965	60	0.25
6	3	ETD01966	60	0.33
7	3	ETD01868	60	0.28
8	3	ETD01967	60	0.07
9	3	ETD01968	60	0.32
10	3	ETD01969	60	0.15
11	3	ETD01970	60	0.24
12	3	ETD01971	60	0.31
13	3	ETD01972	60	0.08

[0522] 表6.在AAV8-TBG-h-MST1小鼠中筛选活性的siRNA

[0523]

siRNA 名称	SEQ ID NO	带有GalNAc部分的有义链 序列(5'-3')	SEQ ID NO.	反义链序列 (5'-3')
ETD01867	43	[ETL17]sucuuGfucAfGfacau aaagcasusu	54	usGfscUfuUfaUfgUfcUfgAfcAfa Gfasusu
ETD01963	44	[ETL17]sucuuGfucAfGfacau aaagcasusu	55	usGfscuuUfaUfgUfcUfgAfcAfaG fasusu
ETD01964	45	[ETL17]sucuuGfucAfGfacau aaagcasusu	56	usGfscuuUfaugUfcUfgAfcAfaGf asusu
ETD01965	46	[ETL17]sucuuGfucAfGfacau aaagcasusu	57	usGfscUfuUfaUfgucUfgAfcAfaG fasusu
ETD01966	47	[ETL17]sucuuGfucAfGfacau aaagcasusu	58	usGfscUfuUafugUfcUfgAfcAfa Gfasusu
ETD01967	48	[ETL17]suuguCfadGaCfaUfa agccaasusu	59	usUfsgGfcUfuUfaUfgUfcUfgAfc Afasusu
ETD01968	49	[ETL17]suugucagaCfdAUfaa agccaasusu	60	usUfsgGfcUfuUfaUfgUfcUfgAfc Afasusu
ETD01969	50	[ETL17]suuguCfagaCfaUfaa agccaasusu	61	usUfsggcUfuUfaUfgUfcUfgAfc Afasusu
ETD01970	51	[ETL17]suuguCfagaCfaUfaa agccaasusu	62	usUfsgGfcUfuUfaugUfcUfgAfc Afasusu
ETD01971	52	[ETL17]suuguCfagaCfaUfaa agccaasusu	63	usUfsggcUfuUfaugUfcUfgAfcAf asusu
ETD01972	53	[ETL17]suuguCfagaCfaUfaa agccaasusu	64	usUfsggCfuuuUfgUfcUfgAfcAf asusu

[0524] 实施例17:通过GalNAc缀合的siRNA敲低小鼠中的额外靶mRNA

[0525] 在研究中使用了三组 (n=4/组) 8周龄雄性ICR小鼠 (Invigo)。在研究第0天,第1组小鼠皮下注射100uL无菌PBS,第2组小鼠皮下注射100uL无菌PBS中的60ug siRNA 1811,且第3组小鼠皮下注射100uL无菌PBS中的200ug siRNA 1818。在研究第14天,所有组的动物均被麻醉,然后安乐死。从所有动物中采集肝脏样品并放入RNAlater™稳定溶液 (Thermo Fisher, 目录号AM7020) 中。使用软组织匀浆试剂盒CK14 (Bertin Instruments, 产品目录号P000933-LYSK0-A) 在设定转速为5000rpm、进行两个10秒循环的Perccellys 24组织匀浆器 (Bertin Instruments) 中在匀浆缓冲剂 (Maxwell RSC simplyRNA组织试剂盒) 中处理肝脏样品。根据制造商的建议,在Maxwell RSC 48平台 (Promega Corporation) 上纯化来自肝脏裂解物的总RNA。使用针对小鼠基因A和小鼠管家基因PPIA的TaqMan测定在QuantStudio 6Pro仪器 (Applied Biosystems) 上通过RT-qPCR评估每个肝脏样品中基因A mRNA的相对水平,然后使用 $\Delta - \Delta Ct$ 法将其相对于对照小鼠 (第1组) 的平均值归一化。

[0526] 在本实施例中,将另外的GalNAc部分 (ETL1) 与ETL17进行比较。肝脏mRNA分析的结果显示在表7中。与注射PBS的小鼠 (第1组) 相比,用ETL1靶向siRNA (ETD01811,第2组) 处理的动物的肝脏基因A mRNA水平相对敲低78%,而用ETL17靶向siRNA处理的动物 (siRNA 1818,第3组) 的肝脏基因A mRNA水平相对敲低83%。因此,在敲低靶标如靶mRNA方面,本文所述的具有GalNAc部分的化合物可优于另一GalNAc部分或至少与另一GalNAc部分一样有效。

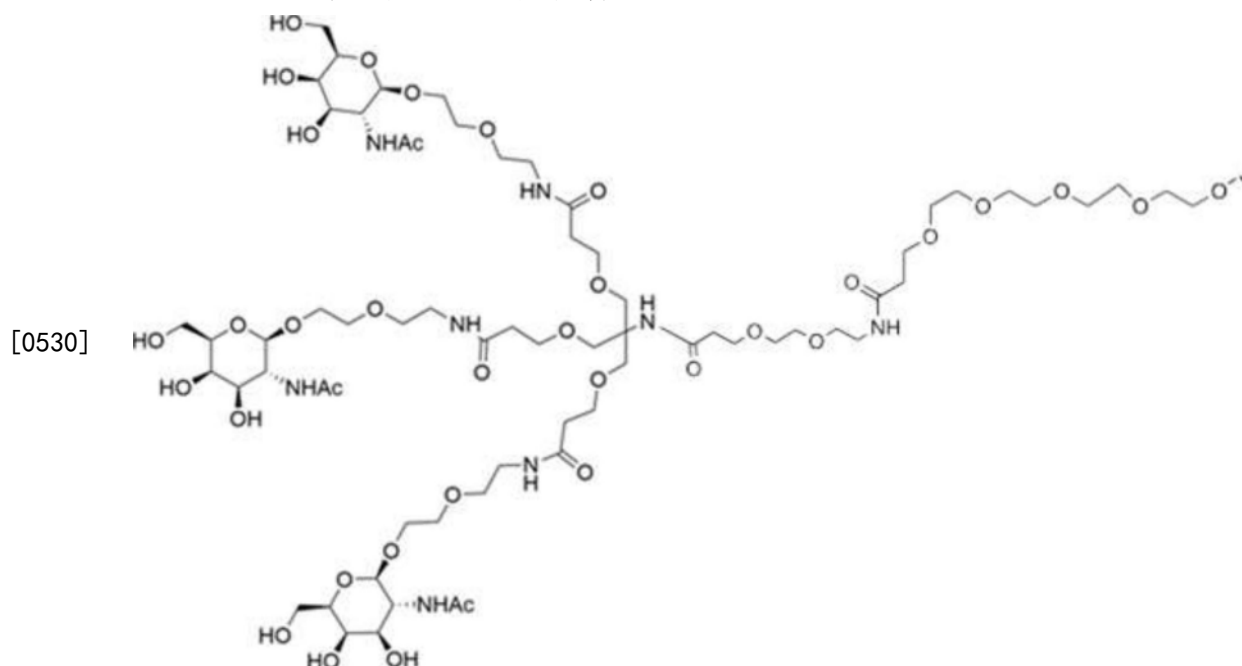
[0527] 表7:用靶向基因A的siRNA治疗的小鼠的第14天肝脏基因A mRNA水平

[0528]

组#	处理	平均值
1	PBS	1.00
2	siRNA 1811 (带有对照GalNAc ETL1)	0.22

3	siRNA 1818(带有ETL17)	0.17
---	---------------------	------

[0529] ETL1如下所示,其中J表示与寡核苷酸的附接:



[0531] 实施例18.在非人类灵长类动物中测试MST1 siRNA ETD01821、ETD01822、ETD01823和ETD01826的活性

[0532] 本研究采用四组 (n=3/组) 3-6kg的雄性食蟹猴(肇庆创耀生物科技有限公司和广州祥冠生物科技有限公司)。

[0533] 在研究第0天,第1组食蟹猴皮下注射单剂量5mg/kg (0.2mL剂量体积/kg体重)的ETD01821,其siRNA浓度为25mg/mL,配制于PBS中;第2组食蟹猴皮下注射单剂量5mg/kg (0.2mL剂量体积/kg体重)的ETD01822,其siRNA浓度为25mg/mL,配制于PBS中;第3组食蟹猴皮下注射单剂量5mg/kg (0.2mL剂量体积/kg体重)的ETD01823,其siRNA浓度为25mg/mL,配制于PBS中;第4组食蟹猴皮下注射单剂量5mg/kg (0.2mL剂量体积/kg体重)的ETD01826,其siRNA浓度为25mg/mL,配制于PBS中,siRNA序列如表8所示,其中“Nf”是2' 氟修饰的核苷,“n”是2' O-甲基修饰的核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。如根据临床症状衡量的,注射大体上耐受性良好。

[0534] 在研究期间,除动物编号101在给药后第65天被发现死亡外,所有食蟹猴均未出现异常临床症状。尸检显示严重的胃穿孔可能是死亡原因。这可能在食蟹猴中自发发生。

[0535] 在研究第-8、-1、7、14、21和28天记录体重。结果如表9所示。数据表明第1至4组动物的体重没有有意义的变化。

[0536] 在研究第-8、-2、7、14和28天,将血液收集到不含抗凝剂的管中,并收集血清。分析了包含ALT、AST、ALP、TBIL、DBIL、GLU、GGT、TP、TG、CHOL、HDL、LDL、BUN和CREA的临床化学参数。与治疗前研究第-8天和研究第-2天相比,用ETD01821、ETD01822、ETD01823或ETD01826治疗的动物在研究第7天至研究第28天的ALT、AST、ALP、TBIL、DBIL、GLU、GGT、TP、TG、CHOL、HDL、LDL、BUN和CREA中没有表现出有意义的变化。临床化学结果表明,所有siRNA大体上耐受性良好。结果显示在表10-14中。

[0537] 在研究第-8天、第-2天、第7天、第14天和第28天,将约1mL全血收集到以EDTA-K2为

抗凝剂的管中。分析了血液学参数,包括WBC、NEUT、LYMP、MONO、EOS、BASO、RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、MCHC、RDW、PLT、MPV、PCT和PDW。与治疗前的研究第-8天和研究第-2天相比,用ETD01821、ETD01822、ETD01823或ETD01926治疗的动物从研究第7天到研究第28天的这些血液学参数没有有意义的变化。血液学分析的结果表明,所有siRNA大体上耐受性良好。结果显示在表15-19中。

[0538] 在研究第-8、-2、7、14、28、42、56、70、77、84、91、98和105天,将血液收集到不含抗凝剂的管中,并收集血清以测定血清巨噬细胞刺激蛋白(MSP)水平。在稍后的时间点,即第42、56、70、77、84、91、98和105天,采集额外的血清样品。使用定制AlphaLISA测定(PerkinElmer)评估猴血清样品中的个体巨噬细胞刺激蛋白(MSP)浓度。简而言之,将以1:50稀释在1×AlphaLISA HiBlock中的5uL血清样品放入96孔板的孔中,然后添加5uL 4×抗MSP受体珠溶液。在室温下温育30分钟后,添加5uL 4×生物素化抗MSP抗体溶液,并将板在室温下温育60分钟。接下来,添加5uL 4×链霉亲和素供体珠溶液,并将板在室温下再温育30分钟。用Envision 2105多模式读板仪(PerkinElmer)对板进行分析。使用重组人MSP(R&D Systems)生成标准曲线。每个个体在每个时间点的MSP血清浓度是相对于该个体在第-2天和第-8天的MSP血清浓度平均值得出的。组平均值的结果如表20所示,且个体值如表21所示。从第7天开始用测试品治疗后,所有动物的血清MSP水平均下降,并且保持下降至少到第28天。与给药前水平相比,用ETD01821治疗的猴的血清MSP水平下降幅度最大,与给药前水平相比,平均血清MSP水平直到第105天都有下降。

[0539] 在研究第-8天和第28天,用Zoletil (1.5-5.0mg/kg,肌肉注射)和赛拉嗪(0.5-2.0mg/kg,肌肉注射)对动物进行麻醉,并收集3-4mg肝活检。然后将活检在20秒内放入10v/v RNAlater中并在4℃下储存24小时,然后移除RNAlater™稳定溶液(Thermo Fisher,目录号AM7020),并将肝组织储存在冰箱中,直到它们被运送到Empirico。在第-2天或第28天采集肝活检收集物后,所有动物均未出现异常临床观察结果。使用软组织匀浆试剂盒CK14(Bertin Instruments,产品目录号P000933-LYSK0-A)在设定转速为5000rpm、进行两个10秒循环的Percellys 24组织匀浆器(Bertin Instruments)中在匀浆缓冲剂(Maxwell RSC simplyRNA组织试剂盒)中处理肝脏样品。根据制造商的建议,在Maxwell RSC 48平台(Promega Corporation)上纯化来自肝脏裂解物的总RNA。根据制造商的说明,使用Quanta qScript cDNA SuperMix (VWR,目录号95048-500)制备cDNA。使用针对Macaca fascicularis MST1(ThermoFisher,检测编号Mf01117426_g1)和Macaca fascicularis管家基因GAPDH(ThermoFisher,检测编号Mf04392546_g1)的TaqMan测定在PerfeCTa qPCR FastMix Reaction Mix (VWR)中通过RT-qPCR在双重反应中一式三份评估肝脏MST1 mRNA的相对水平。在QuantStudio™6Pro实时PCR系统上评估样品。使用 $\Delta - \Delta Ct$ 法计算MST1 mRNA的相对量。表22显示了相对于第-8天的组平均相对MST1 mRNA水平。与通过AlphaLISA测量的血清MSP水平下降一致,用5mg/kg测试品ETD01821、ETD01822、ETD01823或ETD01826治疗导致第28天肝脏MST1 mRNA水平与给药前第-8天的水平相比下降。

[0540] 表8. 示例siRNA序列

[0541]

siRNA 名称	有义链 SEQ ID NO:	带有GalNAc部分的有义 链序列(5'-3')	反义链 SEQ ID NO:	反义链序列 (5'-3')
ETD01821	15	[ETL17]sgguccuGfGfAfAfGfg aaauauasusu	19	usAfsuAfaUfuCfcUfuCfcAfg GfaCfcsusu
ETD01822	16	[ETL17]sAfaCfuUfcUfudGuCf agaCfaUfaasusu	20	usUfsaUfgUfcUfgAfcAfaGfa AfgUfususu
ETD01823	17	[ETL17]scuucUfUfgUfCfagaca uaaaasusu	21	usUfsuUfaUfgUfcUfgAfcAfa GfaAfgsusu
ETD01826	18	[ETL17]scaaccAfGfGfAfGfug uaacauasusu	22	usAfsuGfuUfaCfaCfuCfcUfg GfuUfgsusu

[0542] 表9. 体重 (kg)

[0543]

处理组	动物 编号	性别	给药前和给药后的天数						
			-8	-1	0	7	14	21	28
G1: ETD01821	101	雄性	5.6	5.5	5.6	5.7	5.7	5.8	5.6
	102	雄性	6.0	6.0	6.0	5.9	6.1	6.2	6.1
	103	雄性	4.5	4.6	4.5	4.6	4.6	4.7	4.5
G2: ETD01822	201	雄性	6.5	6.5	6.5	6.6	6.5	6.5	6.5
	202	雄性	4.3	4.3	4.4	4.4	4.5	4.6	4.4
	203	雄性	5.5	5.5	5.6	5.6	5.6	5.4	5.6
G3: ETD01823	301	雄性	4.7	4.5	4.6	4.7	4.8	4.7	4.9
	302	雄性	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6	4.7	4.5
	303	雄性	3.8	3.8	3.7	3.8	3.7	3.6	3.7
G4: ETD01826	401	雄性	3.7	3.6	3.7	3.8	3.7	3.8	3.7
	402	雄性	5.9	5.9	6.0	5.9	6.0	6.1	6.0
	403	雄性	4.5	4.6	4.6	4.6	4.5	4.5	4.6

[0544] 表10. 给药前 (第-8天) 的个体和平均临床化学参数结果

[0545]

处理组		G1: ETD01821					G2: ETD01822				
动物编号		101	102	103	平均值	SD	201	202	203	平均值	SD
性别		雄性	雄性	雄性			雄性	雄性	雄性		
动物 ID		SC1702037	SC1509029	175151C			SC1508015	SC1704115	SC1703011		
参数 (单位)	ALT (U/L)	27.5	15.2	27.0	23.2	6.96	15.0	29.0	31.4	25.1	8.86
	AST (U/L)	29.9	22.8	29.6	27.4	4.02	20.6	42.3	29.2	30.7	10.9
	ALP (U/L)	530	228↓	667	475	224	209↓	473	675	453	234
	TBIL (μmol/L)	1.54	1.37	1.28	1.40	0.13	1.04	1.68	2.06	1.59	0.52
	DBIL (μmol/L)	0.11	0.53	0.46	0.37	0.23	0.17	0.38	0.36	0.30	0.12
	GLU (mmol/L)	3.92	3.38	3.03	3.44	0.45	2.88	2.92	3.54	3.11	0.37
	GGT (U/L)	102	76.2	91.4	89.8	12.8	71.0	69.4	64.2	68.2	3.57
	TP (g/L)	73.4	68.2	70.2	70.6	2.60	64.4	69.1	67.8	67.1	2.40
	TG (mmol/L)	0.96	0.37	0.78	0.70	0.30	0.31	0.22	0.55	0.36	0.17
	BUN (mmol/L)	14.3	10.9	13.6	13.0	1.78	17.4	10.7	15.3	14.5	3.44
处理组		75.2	64.9	71.5	70.5	5.22	76.9	67.2	76.7	73.6	5.54
处理组		G3: ETD01823					G4: ETD01826				
动物编号		301	302	303	平均值	SD	401	402	403	平均值	SD
性别		雄性	雄性	雄性			雄性	雄性	雄性		
动物 ID		177695C	SC1704077	176313C			SC1708089	SC1604087	SC1703023		
参数 (单位)	ALT (U/L)	41.2	35.4	26.5	34.4	7.40	19.6	32.4	12.0	21.3	10.31
	AST (U/L)	33.4	32.5	29.2	31.7	2.21	28.2	28.0	28.7	28.3	0.36
	ALP (U/L)	735	837	585	719	127	775	346	492	538	218
	TBIL (μmol/L)	2.03	2.71	1.47	2.07	0.62	1.80	3.67	1.49	2.32	1.18

[0546]

	DBIL (μmol/L)	0.49	1.00	0.29	0.59	0.37	0.89	2.40	0.70	1.33	0.93
	GLU (mmol/L)	4.13	3.17	3.82	3.71	0.49	2.93	4.14	3.49	3.52	0.61
	GGT (U/L)	119	100	91.1	104	14.2	84.1	69.5	47.2	66.9	18.6
	TP (g/L)	64.5	60.5	67.3	64.1	3.41	62.5	61.2	50.3	58.0	6.68
	TG (mmol/L)	0.31	0.19	0.70	0.40	0.27	0.45	0.22	0.53	0.40	0.16
	BUN (mmol/L)	13.4	11.5	17.2	14.0	2.93	11.5	11.9	17.9	13.7	3.59
	CREA (μmol/L)	61.0	59.3	79.4	66.6	11.1	64.3	90.2	85.5	80.0	13.8

[0547] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。

[0548] 表11. 给药前(第-2天)的个体和平均临床化学参数结果

[0549]

处理组		G1: ETD01821						G2: ETD01822				
动物编号		101	102	103	平均值	SD		201	202	203	平均值	SD
性别		雄性	雄性	雄性				雄性	雄性	雄性		
动物 ID		SC1702037	SC1509029	175151C				SC1508015	SC1704115	SC1703011		
参数 (单位)	ALT (U/L)	34.4	23.3	45.4	34.4	11.1		21.0	31.5	33.4	28.6	6.68
	AST (U/L)	20.9	20.3	44.7	28.6	13.9		20.1	30.0	34.0	28.0	7.16
	ALP (U/L)	477	251↓	634	454	192		279↓	489	630	466	177
	TBIL (μmol/L)	1.83	1.48	1.07	1.46	0.38		1.52	2.07	2.69	2.09	0.59
	DBIL (μmol/L)	0.26	0.05	0.02	0.11	0.13		0.01	0.38	0.58	0.32	0.29
	GLU (mmol/L)	3.31	3.56	3.41	3.43	0.13		4.40	3.15	3.45	3.67	0.65
	GGT (U/L)	104	79.4	97.2	93.6	12.7		98.2	70.2	68.7	79.0	16.6
	TP (g/L)	79.9	74.9	77.0	77.3	2.53		79.3	76.6	77.2	77.7	1.43
	TG (mmol/L)	0.73	0.47	1.48	0.89	0.52		0.47	0.24	0.47	0.39	0.13
	BUN (mmol/L)	13.8	11.9	13.9	13.2	1.12		14.1	11.1	15.4	13.5	2.22
处理组		85.4	70.8	66.1	74.1	10.1		86.5	63.3	81.4	77.1	12.2
		G3: ETD01823						G4: ETD01826				

[0550]

动物编号	性别		301	302	303	平均值	SD	401	402	403	平均值	SD
	动物ID	雌性	雌性	雌性	雌性			雌性	雌性	雌性		
		177695C	SC1704077	176313C	SC1703023			SC1708089	SC1604087	SC1703023		
参数 (单位)	ALT (U/L)	32.6	42.6	38.3	37.8	5.02		24.5	42.5	11.9	26.3	15.4
	AST (U/L)	28.7	30.9	33.0	30.9	2.15		25.7	31.7	24.1	27.2	4.01
	ALP (U/L)	679	821	580	693	121		762	478	427	556	180
	TBIL (μmol/L)	2.89	2.74	2.33	2.65	0.29		2.15	1.89	0.74	1.59	0.75
	DBIL (μmol/L)	0.72	0.39	0.69	0.60	0.18		0.51	0.21	----	0.36	0.21
	GLU (mmol/L)	3.50	3.76	3.85	3.70	0.18		3.98	6.44	4.04	4.82	1.40
	GGT (U/L)	116	100	96.9	104	10.0		86.4	86.3	50.6	74.4	20.6
	TP (g/L)	70.8	65.4	71.5	69.2	3.31		67.9	75.8	52.7	65.5	11.7
	TG (mmol/L)	0.32	0.24	0.39	0.32	0.08		0.48	0.32	1.08	0.63	0.40
	BUN (mmol/L)	12.7	10.3	17.5	13.5	3.66		12.6	11.9	16.0	13.5	2.16
	CREA (μmol/L)	60.1	57.7	74.6	64.1	9.14		63.0	106	69.8	79.5	22.9

[0551] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。’----’表示一些样品的DBIL因浓度低而无法检测。

[0552] 表12.给药后第7天的个体和平均临床化学参数结果

[0553]

处理组		G1: ETD01821					G2: ETD01822				
动物编号		101	102	103	平均值		SD	201	202	203	平均值
性别		雄性	雄性	雄性				雄性	雄性	雄性	
动物 ID		SC1702037	SC1509029	175151C				SC1508015	SC1704115	SC1703011	
参数 (单位)	ALT (U/L)	32.5	22.7	38.2	31.1	7.84	19.9	36.2	28.7	28.3	8.16
	AST (U/L)	22.3	20.0	32.1	24.8	6.43	16.4	34.2	25.4	25.3	8.90
	ALP (U/L)	453	276↓	749	493	239	272↓	535	628	479	185
	TBIL (μmol/L)	1.56	1.50	1.92	1.66	0.23	1.66	2.22	2.11	2.00	0.30
	DBIL (μmol/L)	0.09	---	0.30	0.20	0.15	0.58	---	0.97	0.78	0.28

[0554]

参数 (单位)	G3: ETD01823										G4: ETD01826										
	处理组																				
	动物编号																				
	性别																				
	动物ID																				
	GLU (mmol/L)	3.69	3.91	3.83	3.81	0.11	4.49	4.53	4.32	4.45	0.11	4.49	4.53	4.32	4.45	0.11	4.49	4.53	4.32	4.45	0.11
	GGT (U/L)	104	78.4	103	95.1	14.4	90.8	71.2	64.5	75.5	13.7	90.8	71.2	64.5	75.5	13.7	90.8	71.2	64.5	75.5	13.7
	TP (g/L)	82.8	78.8	82.8	81.4	2.30	76.1	80.8	76.5	77.8	2.58	76.1	80.8	76.5	77.8	2.58	76.1	80.8	76.5	77.8	2.58
	TG (mmol/L)	0.64	0.59	0.81	0.68	0.12	0.30	0.34	0.65	0.43	0.19	0.30	0.34	0.65	0.43	0.19	0.30	0.34	0.65	0.43	0.19
	BUN (mmol/L)	14.1	10.5	13.9	12.8	2.02	11.8	11.2	14.2	12.4	1.58	11.8	11.2	14.2	12.4	1.58	11.8	11.2	14.2	12.4	1.58
	CREA (μmol/L)	82.1	68.0	62.8	71.0	9.99	85.0	67.7	76.9	76.5	8.66	85.0	67.7	76.9	76.5	8.66	85.0	67.7	76.9	76.5	8.66

[0555] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。’----’表示一些样品的DBIL因浓度低而无法检测。

[0556] 表13.给药后第14天的个体和平均临床化学参数结果

[0557]

处理组 动物编号	G1: ETD01821					G2: ETD01822				
	101	102	103	平均值	SD	201	202	203	平均值	SD

[0558]

性别	动物 ID	雄性	雄性	雄性	SD	平均值	雄性	雄性	SD	平均值	雄性
		SC1702037	SC1509029	175151C			SC1508015	SC1704115			SC1703011
参数 (单位)	ALT (U/L)	37.0	25.4	66.9	43.1	21.4	20.0	30.4	26.5	5.67	
	AST (U/L)	26.0	20.5	178	74.9	89.6	18.2	26.1	23.3	4.40	
	ALP (U/L)	557	275↓	781	538	254	298↓	509	479	168	
	TBIL (μmol/L)	1.60	1.74	1.82	1.72	0.11	1.73	1.88	1.93	0.23	
	DBIL (μmol/L)	---	0.28	---	0.28	0.00	---	0.40	0.57	0.23	
	GLU (mmol/L)	3.32	3.50	5.43	4.08	1.17	4.57	3.52	4.03	0.53	
	GGT (U/L)	118	76.7	101	98.6	20.8	102	66.3	77.1	21.4	
	TP (g/L)	88.7	76.8	83.9	83.1	5.97	80.2	79.4	78.3	2.69	
	TG (mmol/L)	1.09	0.53	0.60	0.74	0.31	0.32	0.24	0.40	0.22	
	BUN (mmol/L)	14.0	10.1	16.5	13.5	3.25	15.9	11.7	13.6	2.13	
CREA (μmol/L)	98.9	67.8	69.1	78.6	17.6	95.2	69.8	81.2	12.9		
处理组		G3: ETD01823					G4: ETD01826				
动物编号		301	302	303	SD		401	402	403	SD	
性别		雄性	雄性	雌性	平均值		雌性	雌性	雌性	平均值	
动物 ID		177695C	SC1704077	176313C			SC1708089	SC1604087	SC1703023		
参数 (单位)	ALT (U/L)	34.6	47.0	23.1	34.9	12.0	22.1	16.0	46.3	28.1	16.0
	AST (U/L)	26.3	30.7	25.0	27.3	2.99	29.1	29.6	27.9	28.9	0.87
	ALP (U/L)	782	864	569	738	153	679	467	469	538	122
	TBIL (μmol/L)	1.92	2.66	1.63	2.07	0.53	1.43	0.88	1.78	1.36	0.45
	DBIL (μmol/L)	0.37	0.65	0.46	0.49	0.14	0.27	---	0.22	0.25	0.04
	GLU (mmol/L)	3.59	3.70	4.04	3.78	0.23	3.29	4.64	4.18	4.04	0.69
	GGT (U/L)	128	101	96.4	108	17.1	75.1	54.3	83.7	71.0	15.1
	TP (g/L)	71.2	67.8	71.7	70.2	2.13	65.1	53.6	73.5	64.1	9.99
TG (mmol/L)	0.38	0.30	0.59	0.42	0.15	0.56	0.78	0.26↓	0.53	0.26	

[0559]

	BUN (mmol/L)	12.3	10.3	15.9	12.8	2.82	13.1	18.1	13.7	15.0	2.78
	CREA (μmol/L)	66.1	61.7	74.8	67.5	6.67	65.1	92.2	100	85.8	18.3

[0560] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。’----’表示一些样品的DBIL因浓度低而无法检测。

[0561] 表14. 给药后第28天的个体和平均临床化学参数结果

[0562]

处理组		G1: ETD01821					G2: ETD01822				
动物编号		101	102	103	平均值	SD	201	202	203	平均值	SD
性别		雌性	雌性	雌性			雌性	雌性	雌性		
动物 ID		SC1702037	SC1509029	175151C			SC1508015	SC1704115	SC1703011		
参数 (单位)	ALT (U/L)	34.8	22.1	45.3	34.1	11.6	33.5	45.4	48.8	42.6	8.03
	AST (U/L)	30.1	30.4	35.0	31.8	2.75	25.8	42.4	51.9	40.0	13.2
	ALP (U/L)	364	216↓	503	361	144	226↓	467	634	442	205
	TBIL (μmol/L)	1.17	1.33	1.15	1.22	0.10	1.72	1.08	1.09	1.30	0.37
	DBIL (μmol/L)	0.10	0.33	0.28	0.24	0.12	0.29	----	----	0.29	0.00
	GLU (mmol/L)	3.06	2.97	3.04	3.02	0.05	4.56	3.79	4.61	4.32	0.46
	GGT (U/L)	87.8	66.5	79.8	78.0	10.7	86.6	63.9	62.3	70.9	13.6
	TP (g/L)	72.3	72.4	71.7	72.1	0.36	82.4	74.7	72.4	76.5	5.23
	TG (mmol/L)	0.79	0.43	0.62	0.61	0.18	0.41	0.13	0.40	0.31	0.16
	BUN (mmol/L)	18.2	14.1	15.9	16.1	2.05	16.1	11.4	15.5	14.3	2.54
处理组		G3: ETD01823					G4: ETD01826				
动物编号		301	302	303	平均值	SD	401	402	403	平均值	SD
性别		雌性	雌性	雌性			雌性	雌性	雌性		
动物 ID		177695C	SC1704077	176313C			SC1708089	SC1604087	SC1703023		
参数 (单位)	ALT (U/L)	23.9	34.3	28.4	28.9	5.22	22.8	40.5	24.4	29.2	9.79
	AST (U/L)	24.5	43.1	27.1	31.6	10.1	31.5	30.3	34.6	32.1	2.22

ALP (U/L)	193	447	563	401	189	570	344	382	432	121
TBIL (μmol/L)	1.53	1.69	1.30	1.51	0.20	1.37	0.96	0.58	0.97	0.40
DBIL (μmol/L)	0.45	0.37	0.56	0.46	0.10	----	0.05	----	0.05	0.00
GLU (mmol/L)	3.83	3.21	3.30	3.45	0.34	2.97	5.57	4.58	4.37	1.31
GGT (U/L)	77.2	65.3	59.2	67.2	9.13	73.5	75.9	53.8	67.7	12.1
TP (g/L)	73.5	73.7	68.1	71.7	3.17	65.0	62.4	58.1	61.8	3.48
TG (mmol/L)	0.28	0.17	0.42	0.29	0.13	0.54	0.15	0.36	0.35	0.20
BUN (mmol/L)	16.0	11.2	14.9	14.0	2.53	14.8	16.9	16.2	16.0	1.05
CREA (μmol/L)	86.3	55.1	74.3	71.9	15.7	62.4	96.8	62.2	73.8	19.9

[0565] 表15. 给药前(第-8天)的个体和平均血液学结果

[0566]

处理组		G1: ETD01821					G2: ETD01822				
动物编号		101	102	103	平均值	SD	201	202	203	平均值	SD
性别		雌性	雌性	雌性			雌性	雌性	雌性		
动物ID		SC1702037	SC1509029	175151C			SC1508015	SC1704115	SC1703011		
参数 (单位)	WBC (x10 ⁹ /L)	10.4	7.99	8.57	8.99	1.26	6.69	10.4	17.4	11.5	5.43
	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	3.14	2.59	1.33	2.35	0.93	2.52	2.97	3.13	2.87	0.32
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	6.55	4.82	6.61	5.99	1.02	3.76	6.77	13.48	8.00	4.98
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	0.65	0.48	0.46	0.53	0.10	0.31	0.59	0.66	0.52	0.19
	abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.07	0.10	0.17	0.11	0.05	0.10	0.04	0.10	0.08	0.03
	abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	%NEUT (%)	30.1	32.4	15.6	26.0	9.11	37.6	28.6	18.0	28.1	9.81
	%LYM (%)	63.0	60.4	77.0	66.8	8.93	56.2	65.3	77.6	66.4	10.7
	%MONO (%)	6.20	6.00	5.40	5.87	0.42	4.70	5.70	3.80	4.73	0.95
	%EOS (%)	0.70	1.20	2.00	1.30	0.66	1.50	0.40	0.60	0.83	0.59

[0567]

	%BASO (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RBC (x10 ¹² /L)	5.43	5.48	5.35	5.42	0.07	5.01	5.33	5.29	5.21	0.17				
	HGB (g/L)	135	134	124	131	6.08	126	128	131	128	2.52				
	HCT (%)	45.2	43.5	40.4	43.0	2.43	41.0	42.1	42.5	41.9	0.78				
	MCV (fL)	83.3	79.5	75.6	79.5	3.85	82.0	79.1	80.4	80.5	1.45				
	MCH (pg)	24.8	24.4	23.2	24.1	0.83	25.2	24.1	24.9	24.7	0.57				
	MCHC (g/L)	298	307	307	304	5.20	308	304	309	307	2.65				
	RDW-SD (fL)	37.1	43.6	38.8	39.8	3.37	41.2	36.7	36.9	38.3	2.54				
	RDW-CV (%)	12.2	15.1	14.1	13.8	1.47	13.7	12.7	12.6	13.0	0.61				
	PLT (x10 ⁹ /L)	380	371	247↓	333	74.3	361	301	285	316	40.1				
	MPV (fL)	13.1	12.5	9.60	11.7	1.87	11.6	14.2	12.4	12.7	1.33				
	PCT (%)	0.50	0.46	0.24↓	0.40	0.14	0.42	0.43	0.36	0.40	0.04				
	PDW (fL)	15.5	15.0	15.4	15.3	0.26	14.9	15.6	15.3	15.3	0.35				
	处理组	G3: ETD01823										G4: ETD01826			
	动物编号	301	302	303	平均值		SD		401	402	403	平均值		SD	
	性别	雄性	雄性	雌性					雄性	雌性	雌性				
	动物 ID	177695C	SC1704077	176313C					SC1708089	SC1604087	SC1703023				
参数 (单位)	WBC (x10 ⁹ /L)	13.9	9.37	8.40	10.6		2.93		9.50	5.65↓	15.8	10.3		5.13	
	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	1.19	2.31	1.82	1.77		0.56		3.72	1.04↓	6.22	3.66		2.59	
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	11.3	6.45	6.09	7.96		2.93		5.09	4.13	8.76	5.99		2.44	
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	1.28	0.53	0.29	0.70		0.52		0.55	0.38	0.57	0.50		0.10	
	abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.09	0.08	0.20	0.12		0.07		0.14	0.10	0.26	0.17		0.08	
	abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00		0.00	0.00	0.01	0.00		0.01	
	%NEUT (%)	8.6	24.7	21.6	18.3		8.54		39.2	18.5	39.3	32.3		12.0	
	%LYM (%)	81.5	68.9	72.6	74.3		6.48		53.5	72.9	55.4	60.6		10.7	
	%MONO (%)	9.20	5.60	3.40	6.07		2.93		5.80	6.80	3.60	5.40		1.64	

[0568]

	%EOS (%)	0.70	0.80	2.40	1.30	0.95	1.50	1.80	1.70	1.67	0.15
	%BASO (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RBC (x10 ¹² /L)	5.36	5.61	5.07	5.35	0.27	5.29	5.09	5.39	5.26	0.15
	HGB (g/L)	130	137	114	127	11.8	129	122	133	128	5.57
	HCT (%)	43.6	43.3	37.3	41.4	3.55	42.2	40.3	43.3	41.9	1.52
	MCV (fL)	81.3	77.3	73.6	77.4	3.85	79.6	79.2	80.3	79.7	0.56
	MCH (pg)	24.2	24.5	22.6	23.8	1.02	24.3	24.1	24.6	24.3	0.25
	MCHC (g/L)	298	316	307	307	9.00	305	304	306	305	1.00
	RDW-SD (fL)	41.1	38.9	36.5	38.8	2.30	36.9	40.2	40.3	39.1	1.93
	RDW-CV (%)	13.8	13.8	13.6	13.7	0.12	12.7	14.0	13.8	13.5	0.70
	PLT (x10 ⁹ /L)	372	307	229↓	303	71.6	339	201↓	398	313	101
	MPV (fL)	11.1	11.9	14.4	12.5	1.72	13.1	14.2	10.3	12.5	2.01
	PCT (%)	0.41	0.37	0.33	0.37	0.04	0.44	0.29↓	0.41	0.38	0.08
	PDW (fL)	15.5	15.3	15.8	15.5	0.25	15.5	15.6	15.3	15.5	0.15

[0569] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。
[0570] 表16. 给药前(第-2天)的个体和平均血液学结果

[0571]

处理组		G1: ETD01821					G2: ETD01822				
动物编号		101	102	103	平均值	SD	201	202	203	平均值	SD
性别		雄性	雄性	雄性			雄性	雄性	雄性		
动物 ID		SC1702037	SC1509029	175151C			SC1508015	SC1704115	SC1703011		
参数 (单位)	WBC (x10 ⁹ /L)	8.98	14.8	15.4	13.1	3.55	7.48	13.5	19.3	13.4	5.90
	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	3.44	6.07	5.05	4.85	1.33	3.20	4.94	4.64	4.26	0.93
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	4.69	7.74	9.41	7.28	2.39	3.80	7.46	13.62	8.29	4.96
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	0.76	0.76	0.75	0.76	0.01	0.41	0.99	0.96	0.79	0.33
	abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.09	0.20	0.22	0.17	0.07	0.07	0.08	0.05	0.07	0.02

[0572]

	abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	%NEUT (%)	38.3	41.1	32.7	37.4	4.28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	34.5	9.54
	%LYM (%)	52.3	52.4	61.1	55.3	5.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	58.9	10.3
	%MONO (%)	8.40	5.20	4.80	6.13	1.97	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.93	1.29
	%EOS (%)	1.00	1.30	1.40	1.23	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.60	0.30
	%BASO (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RBC (x10 ¹² /L)	5.63	5.70	5.95	5.76	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.66	0.11
	HGB (g/L)	142	144	140	142	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	143	2.00
	HCT (%)	47.1	46.1	45.4	46.2	0.85	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	46.0	1.15
	MCV (fL)	83.7	80.8	76.3	80.3	3.73	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	81.3	1.66
	MCH (pg)	25.2	25.2	23.5	24.6	0.98	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	25.2	0.38
	MCHC (g/L)	301	312	308	307	5.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	310	3.06
	RDW-SD (fL)	36.7	43.3	38.8	39.6	3.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	38.4	2.37
	RDW-CV (%)	12.1	14.7	13.9	13.6	1.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	13.0	0.55
	PLT (x10 ⁹ /L)	468	258	292	339	113	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	348	5.7
	MPV (fL)	11.0	13.5	11.0	11.8	1.44	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	12.2	0.82
	PCT (%)	0.51	0.35	0.32	0.39	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.43	0.04
	PDW (fL)	15.1	15.6	15.4	15.4	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	15.6	0.15
处理组		G3: ETD01823										G4: ETD01826				
动物编号		301	302	303	平均值		SD		401	402	403	平均值		SD		
性别		雄性	雄性	雌性	SD		SD		雄性	雌性	雌性	SD		SD		
动物ID		177695C	SC1704077	176313C	SD		SD		SC1708089	SC1604087	SC1703023	SD		SD		
参数 (单位)	WBC (x10 ⁹ /L)	10.9	12.0	12.1	11.7	0.70	0.70		11.4	9.31	19.0	13.2		5.13		
	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	1.34	2.94	3.64	2.64	1.18	1.18		3.68	1.59	7.33	4.20		2.91		
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	8.59	8.05	7.86	8.17	0.38	0.38		6.76	6.87	10.76	8.13		2.28		
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	0.86	0.87	0.38	0.70	0.28	0.28		0.66	0.70	0.51	0.62		0.10		

[0573]

abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.06	0.12	0.25	0.14	0.10	0.27	0.14	0.44	0.28	0.15
abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
%NEUT (%)	12.3	24.6	30.0	22.3	9.07	32.4	17.1	38.5	29.3	11.0
%LYM (%)	79.2	67.2	64.8	70.4	7.71	59.4	73.8	56.5	63.2	9.27
%MONO (%)	7.90	7.20	3.20	6.10	2.54	5.80	7.50	2.70	5.33	2.43
%EOS (%)	0.60	1.00	2.00	1.20	0.72	2.40	1.50	2.30	2.07	0.49
%BASO (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.03	0.06
RBC (x10 ¹² /L)	5.41	5.86	5.34	5.54	0.28	5.69	5.76	5.19	5.55	0.31
HGB (g/L)	132	144	122	133	11.0	140	141	126	136	8.39
HCT (%)	44.1	45.4	39.6	43.0	3.04	45.5	46.0	41.6	44.4	2.41
MCV (fL)	81.5	77.5	74.2	77.7	3.66	80.0	79.9	80.1	80.0	0.10
MCH (pg)	24.5	24.5	22.9	24.0	0.92	24.6	24.5	24.2	24.4	0.21
MCHC (g/L)	300	317	309	309	8.50	308	306	302	305	3.06
RDW-SD (fL)	41.5	39.1	37.7	39.4	1.92	36.7	40.2	38.9	38.6	1.77
RDW-CV (%)	14.0	13.9	13.9	13.9	0.06	12.6	13.9	13.4	13.3	0.66
PLT (x10 ⁹ /L)	379	349	237↓	322	74.8	445	302	393	380	72.4
MPV (fL)	11.4	11.6	15.4	12.8	2.25	11.9	15.5	11.0	12.8	2.38
PCT (%)	0.43	0.41	0.37	0.40	0.03	0.53	0.47	0.43	0.48	0.05
PDW (fL)	16.0	15.1	15.9	15.7	0.49	15.7	15.5	15.9	15.7	0.20

[0574] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。
[0575] 表17. 给药后第7天的个体和平均血液学结果

[0576]

处理组	G1: ETD01821						G2: ETD01822			
动物编号	101	102	103	平均值		SD	201	202	203	平均值
性别	雄性	雄性	雄性				雄性	雄性	雄性	
动物ID	SC1702037	SC1509029	175151C				SC1508015	SC1704115	SC1703011	SD

[0577]

参数 (单位)	WBC (x10 ⁹ /L)	8.52	13.8	11.5	11.3	2.67	8.62	12.3	17.4	12.8	4.43
	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	2.00	4.12	2.54	2.89	1.10	4.27	3.44	3.85	3.85	0.42
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	5.75	8.63	8.17	7.52	1.55	3.88	8.07	12.64	8.20	4.38
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	0.64	0.70	0.61	0.65	0.05	0.43	0.68	0.87	0.66	0.22
	abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.13	0.39	0.21	0.24	0.13	0.04	0.06	0.08	0.06	0.02
	abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
	%NEUT (%)	23.4	29.7	22.1	25.1	4.06	49.5	28.1	22.1	33.2	14.4
	%LYM (%)	67.6	62.4	70.8	66.9	4.24	45.1	65.8	72.4	61.1	14.2
	%MONO (%)	7.50	5.10	5.30	5.97	1.33	5.00	5.50	5.00	5.17	0.29
	%EOS (%)	1.50	2.80	1.80	2.03	0.68	0.40	0.50	0.50	0.47	0.06
	%BASO (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.03	0.06
	RBC (x10 ¹² /L)	5.49	5.70	6.24	5.81	0.39	5.75	6.04	5.54	5.78	0.25
	HGB (g/L)	141	146	146	144	2.89	146	149	140	145	4.58
	HCT (%)	46.2	46.5	47.7	46.8	0.79	47.2	49.0	45.0	47.1	2.00
	MCV (fL)	84.0	81.5	76.4	80.6	3.87	82.2	81.1	81.3	81.5	0.59
	MCH (pg)	25.6	25.7	23.5	24.9	1.24	25.4	24.6	25.3	25.1	0.44
	MCHC (g/L)	305	315	307	309	5.29	309	303	311	308	4.16
	RDW-SD (fL)	37.8	44.4	39.3	40.5	3.46	40.4	38.4	38.3	39.0	1.18
	RDW-CV (%)	12.3	15.0	14.1	13.8	1.37	13.5	13.1	13.0	13.2	0.26
	PLT (x10 ⁹ /L)	527	390	253↓	390	137	371	283	341	332	44.7
	MPV (fL)	12.6	13.7	11.8	12.7	0.95	12.1	15.3	11.7	13.0	1.97
	PCT (%)	0.67	0.54	0.30	0.50	0.19	0.45	0.43	0.40	0.43	0.02
	PDW (fL)	15.4	15.3	15.8	15.5	0.26	15.3	15.4	15.4	15.4	0.06
处理组		G3: ETD01823					G4: ETD01826				
动物编号		301	302	303	平均值	SD	401	402	403	平均值	SD
性别		雌性	雌性	雌性			雌性	雌性		雌性	

[0578]

动物 ID	177695C	SC1704077	176313C			SC1708089	SC1604087	SC1703023		
	WBC (x10 ⁹ /L)	14.2	9.42	11.2	2.63	10.8	8.50	16.7	12.0	4.22
参 数 (单 位)	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	3.85	2.05	2.32	1.41	4.77	1.67	5.55	4.00	2.05
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	9.18	6.90	8.02	1.14	5.25	6.17	10.3	7.23	2.68
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	1.04	0.29	0.69	0.38	0.61	0.52	0.51	0.55	0.06
	abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.11	0.18	0.12	0.05	0.21	0.14	0.35	0.23	0.11
	abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	%NEUT (%)	10.8	27.1	21.7	8.30	44.0	19.6	33.3	32.3	12.2
	%LYM (%)	81.0	64.8	73.3	8.10	48.4	72.7	61.6	60.9	12.2
	%MONO (%)	7.40	7.30	3.10	2.45	5.60	6.10	3.00	4.90	1.66
	%EOS (%)	0.80	0.80	1.90	0.64	2.00	1.60	2.10	1.90	0.26
	%BASO (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RBC (x10 ¹² /L)	5.74	5.42	5.58	0.16	5.59	6.15	5.62	5.79	0.32
	HGB (g/L)	143	133	130	6.81	141	151	136	143	7.64
	HCT (%)	46.9	42.1	41.0	3.14	45.0	49.2	45.0	46.4	2.42
	MCV (fL)	81.8	77.7	73.5	4.15	80.6	80.1	80.0	80.2	0.32
	MCH (pg)	24.9	24.5	23.3	0.83	25.3	24.6	24.2	24.7	0.56
	MCHC (g/L)	304	315	317	7.00	314	307	303	308	5.57
	RDW-SD (fL)	42.9	39.3	36.4	3.26	37.9	41.3	39.3	39.5	1.71
	RDW-CV (%)	14.4	13.9	13.6	0.40	12.9	14.2	13.5	13.5	0.65
	PLT (x10 ⁹ /L)	441	317	256↓	94.3	478	258↓	369	368	110
	MPV (fL)	10.7	12.5	15.0	2.16	12.2	15.6	11.5	13.1	2.19
	PCT (%)	0.47	0.40	0.39	0.05	0.59	0.40	0.42	0.47	0.10
	PDW (fL)	15.6	15.3	15.9	0.30	15.3	15.3	15.8	15.5	0.29

[0579] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。
[0580] 表18. 给药后第14天的个体和平均血液学结果

[0581]

处理组		G1: ETD01821					G2: ETD01822				
动物编号		101	102	103	平均值	SD	201	202	203	平均值	SD
性别		雄性	雌性	雌性			雄性	雌性	雌性		
动物 ID		SC1702037	SC1509029	175151C			SC1508015	SC1704115	SC1703011		
参数 (单位)	WBC (x10 ⁹ /L)	9.93	10.4	20.7	13.7	6.08	12.0	12.1	17.9	14.0	3.39
	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	1.82	3.09	13.5↑	6.13	6.40	7.15	2.75	3.78	4.56	2.30
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	7.15	6.21	5.59	6.32	0.79	4.26	8.44	12.97	8.56	4.36
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	0.81	0.73	1.53	1.02	0.44	0.55	0.86	1.06	0.82	0.26
	abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.14	0.35	0.07	0.19	0.15	0.04	0.05	0.11	0.07	0.04
	abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
	%NEUT (%)	18.3	29.8	65.2↑	37.8	24.4	59.6	22.7	21.1	34.5	21.8
	%LYM (%)	72.1	59.7	27.1	53.0	23.2	35.5	69.8	72.4	59.2	20.6
	%MONO (%)	8.10	7.10	7.40	7.53	0.51	4.60	7.10	5.90	5.87	1.25
	%EOS (%)	1.40	3.40	0.30	1.70	1.57	0.30	0.40	0.60	0.43	0.15
	%BASO (%)	0.10	0.00	0.00	0.03	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RBC (x10 ¹² /L)	5.99	5.33	6.52	5.95	0.60	5.84	6.02	5.39	5.75	0.32
	HGB (g/L)	152	140	157	150	8.74	151	151	138	147	7.51
	HCT (%)	50.1	44.1	49.3	47.8	3.26	49.3	48.5	44.3	47.4	2.69
	MCV (fL)	83.7	82.7	75.7	80.7	4.36	84.5	80.6	82.2	82.4	1.96
	MCH (pg)	25.4	26.3	24.1	25.3	1.11	25.9	25.0	25.7	25.5	0.47
	MCHC (g/L)	304	318	318	313	8.08	307	311	312	310	2.65
	RDW-SD (fL)	37.0	44.1	38.1	39.7	3.82	41.5	37.8	39.1	39.5	1.88
	RDW-CV (%)	12.2	14.6	13.9	13.6	1.23	13.5	12.9	13.2	13.2	0.30
	PLT (x10 ⁹ /L)	570	311	192↓	358	193	279	240	322	280	41.0
	MPV (fL)	12.3	13.8	11.80	12.6	1.04	12.8	15.0	11.80	13.2	1.64

[0583]

	MPV (fL)	10.2	12.6	16.1	13.0	2.97	11.9	15.1	10.2	12.4	2.49
	PCT (%)	0.38	0.35	0.35	0.36	0.02	0.45	0.38	0.47	0.43	0.05
	PDW (fL)	15.5	15.5	15.7	15.6	0.12	15.7	15.5	15.5	15.6	0.12

[0584] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。
[0585] 表19. 给药后第28天的个体和平均血液学结果

[0586]

处理组		G1: ETD01821						G2: ETD01822					
动物编号		101	102	103	平均值	SD		201	202	203	平均值	SD	
性别		雄性	雄性	雄性				雄性	雄性	雄性			
动物 ID		SC1702037	SC1509029	175151C				SC1508015	SC1704115	SC1703011			
参数 (单位)	WBC (x10 ⁹ /L)	5.30↓	8.44	9.93	7.89	2.36		12.4	12.6	11.7	12.2	0.47	
	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	1.75	3.52	4.22	3.16	1.27		8.91	7.55	4.53	7.00	2.24	
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	3.20	4.41	5.27	4.29	1.04		2.78	4.40	6.49	4.56	1.86	
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	0.32	0.39	0.28	0.33	0.06		0.67	0.62	0.66	0.65	0.03	
	abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.03	0.12	0.16	0.10	0.07		0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	
	abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	%NEUT (%)	33.1	41.7	42.5	39.1	5.21		72.0	59.9	38.8	56.9	16.8	
	%LYM (%)	60.3	52.3	53.1	55.2	4.41		22.5	34.9	55.4	37.6	16.6	
	%MONO (%)	6.00	4.60	2.80	4.47	1.60		5.40	5.00	5.70	5.37	0.35	
	%EOS (%)	0.60	1.40	1.60	1.20	0.53		0.10	0.20	0.10	0.13	0.06	
	%BASO (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	RBC (x10 ¹² /L)	5.15	5.19	5.09	5.14	0.05		5.90	5.61	5.46	5.66	0.22	
HGB (g/L)	131	136	121	129	7.64		154	140	142	145	7.57		
HCT (%)	42.6	43.6	38.5	41.6	2.70		49.6	44.8	44.7	46.4	2.80		
MCV (fL)	82.8	84.0	75.7	80.8	4.49		84.1	79.8	82.0	82.0	2.15		
MCH (pg)	25.4	26.2	23.7	25.1	1.28		26.1	25.0	26.1	25.7	0.64		

[0587]

参数 (单位)	MCHC (g/L)	307	312	313	311	321	311	313	318	314	361
	RDW-SD (fL)	36.4	41.3	37.2	38.3	2.63	38.3	37.4	39.7	39.4	1.82
	RDW-CV (%)	12.1	13.5	13.5	13.0	0.81	13.0	12.9	13.3	13.2	0.26
	PLT (x10 ⁹ /L)	480	368	329	392	78.4	392	355	346	367	28.4
	MPV (fL)	11.2	14.2	10.4	11.9	2.00	11.9	14.0	11.5	12.4	1.42
	PCT (%)	0.54	0.53	0.34	0.47	0.11	0.46	0.50	0.40	0.45	0.05
	PDW (fL)	14.9	15.3	15.2	15.1	0.21	15.5	15.6	15.4	15.5	0.10
	处理组	G3: ETD01823						G4: ETD01826			
	动物编号	301	302	303	平均值		SD		平均值		SD
	性别	雄性	雄性	雌性							
	动物 ID	177695C	SC1704077	176313C							
	WBC (x10 ⁹ /L)	6.49↓	12.5	14.2	11.1	4.05	6.51↓	7.22	12.7	8.79	3.36
	abs_neuts (x10 ⁹ /L)	3.84	4.42	4.13	4.13	0.29	3.62	4.15	6.51	4.76	1.54
	abs_lymphs (x10 ⁹ /L)	2.27↓	7.35	9.37	6.33	3.66	2.53↓	2.62↓	5.64	3.60	1.77
	abs_monos (x10 ⁹ /L)	0.36	0.65	0.69	0.57	0.18	0.30	0.37	0.34	0.34	0.04
	abs_eos (x10 ⁹ /L)	0.02	0.05	0.03	0.03	0.02	0.06	0.08	0.15	0.10	0.05
abs_basos (x10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	
%NEUT (%)	59.2	35.5	29.0	41.2	15.9	55.6	57.5	51.5	54.9	3.07	
%LYM (%)	35.0	58.9	65.9	53.3	16.2	38.9	36.2	44.5	39.9	4.23	
%MONO (%)	5.50	5.20	4.90	5.20	0.30	4.60	5.10	2.70	4.13	1.27	
%EOS (%)	0.30	0.40	0.20	0.30	0.10	0.90	1.20	1.20	1.10	0.17	
%BASO (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.03	0.06	
RBC (x10 ¹² /L)	5.02	5.78	4.91	5.24	0.47	5.12	5.05	5.07	5.08	0.04	
HGB (g/L)	132	143	126	134	8.62	128	126	124	126	2.00	
HCT (%)	42.1	45.2	40.4	42.6	2.43	41.1	40.5	40.6	40.7	0.32	
MCV (fL)	83.8	78.2	82.4	81.5	2.91	80.3	80.2	80.0	80.2	0.15	

[0588]

	MCH (pg)	26.3	24.8	25.6	25.6	25.6	0.75	25.1	25.0	24.5	24.9	0.32
	MCHC (g/L)	314	316	311	314	314	2.52	312	312	306	310	3.46
	RDW-SD (fL)	40.5	39.1	39.9	39.8	39.8	0.70	36.0	41.3	39.5	38.9	2.70
	RDW-CV (%)	13.3	13.8	13.4	13.5	13.5	0.26	12.2	14.1	13.6	13.3	0.98
	PLT (x10 ⁹ /L)	355	384	307	349	349	38.9	402	162↓	399	321	137.7
	MPV (fL)	12.4	11.8	11.9	12.0	12.0	0.32	11.8	15.3	9.40	12.2	2.97
	PCT (%)	0.44	0.45	0.37	0.42	0.42	0.05	0.48	0.25	0.38	0.37	0.11
	PDW (fL)	15.4	15.1	15.2	15.2	15.2	0.15	15.5	15.8	15.5	15.6	0.17

[0589] 注:数值旁边的↓表示结果比其他动物略低。

[0590] 表20. 食蟹猴中的相对平均血清MSP水平

[0591]

组	n	处理	剂量 (mg/kg)	天数											
				-8	-2	7	14	28	42	56	70	77	84	91	98
				平均血清MSP水平(相对于给药前平均水平(第-2天和第-8天))											
1	3	ETD01821	5	1.09	0.91	0.22	0.06	0.04	0.07	0.15	0.18	0.18	0.31	0.42	0.45
2	3	ETD01822	5	0.99	1.01	0.71	0.32	0.42	0.37	0.76	1.24	1.16	1.48	1.34	1.34
3	3	ETD01823	5	1.01	0.99	0.44	0.08	0.34	0.10	0.20	0.45	0.39	0.52	0.59	0.91
4	3	ETD01826	5	0.78	1.22	0.37	0.20	0.30	0.58	0.88	1.01	1.63	1.32	1.86	1.98

[0592] 表21.食蟹猴中的相对个体血清MSP水平

[0593]

组	n	处理	剂量 (mg/kg)	动物 #	天数											
					-8	-2	7	14	28	42	56	70	77	84	91	98
					平均血清MSP水平(相对于给药前平均水平(第-2天和第-8天))											
1	3	ETD01821	5	101M	0.99	1.01	0.28	0.08	0.07	0.11	0.23					
				102M	1.12	0.88	0.18	0.07	0.04	0.01	0.16	0.26	0.21	0.31	0.47	0.51
																0.39

[0594]

				103M	1.16	0.84	0.19	0.02	0.01	0.08	0.07	0.09	0.15	0.31	0.37	0.38	0.52
2	3	ETD01822	5	201M	0.99	1.01	0.64	0.43	0.75	0.59	0.90	1.26	0.95	1.56	1.69	1.75	1.49
				202M	0.99	1.01	0.75	0.30	0.23	0.29	0.86	1.39	1.58	0.96	1.23	1.14	1.82
				203M	1.00	1.00	0.74	0.24	0.28	0.23	0.53	1.07	0.96	1.92	1.10	1.13	1.39
3	3	ETD01823	5	301M	0.76	1.24	0.24	0.05	0.50	0.06	0.15	0.19	0.18	0.36	0.30	0.41	0.56
				302M	1.18	0.82	0.46	0.09	0.31	0.15	0.26	0.71	0.57	0.84	0.83	1.44	1.40
				303M	1.09	0.91	0.61	0.11	0.22	0.10	0.20	0.45	0.42	0.37	0.65	0.89	1.14
4	3	ETD01826	5	401M	0.95	1.05	0.26	0.16	0.25	0.43	0.91	0.91	1.32	1.51	1.51	2.25	2.16
				402M	0.91	1.09	0.35	0.07	0.15	0.15	0.41	0.77	1.55	0.89	1.23	1.81	1.54
				403M	0.49	1.51	0.51	0.36	0.49	1.16	1.31	1.35	2.02	1.56	2.84	1.87	2.15

[0595] 表22.食蟹猴肝脏中的相对MST1 mRNA水平

[0596]

组	n	处理	剂量 (mg/kg)	平均MST1 mRNA(相对于第-8天)	
				第-8天	第28天
1	3	ETD01821	5	1.00	0.33
2	3	ETD01822	5	1.00	0.33
3	3	ETD01823	5	1.00	0.27
4	3	ETD01826	5	1.00	0.57

[0597] 实施例19:在小鼠中筛选靶向人类和小鼠MTRES1的siRNA

[0598] 以下实施例证明了本文所述的GalNAc部分在体内与靶向其他靶标(MTRES1)的寡核苷酸组合时的有用性。在小鼠中测试了几种被设计为与人、小鼠和食蟹猴MTRES1 mRNA具有交叉反应性的siRNA的活性。将siRNA附接至GalNAc配体ETL1或ETL17。siRNA序列在表23中示出,其中Nf是2' 氟修饰的核苷,n是2' O-甲基修饰的核苷,“d”是脱氧核苷,并且“s”是硫代磷酸酯键联。

[0599] 在第0天,向6至8周龄的雌性小鼠(ICR品种,n=3)皮下注射单次200ug剂量的GalNAc缀合的siRNA或作为媒介物对照的PBS。

[0600] 在第10天在注射之后对小鼠进行安乐死,并且收集来自每只小鼠的肝脏样品并将其置于RNeasy lysis buffer (Qiagen, 目录号AM7020)中,直至进行处理。通过使用设置为5000rpm、两个10秒循环的Perceptlys 24组织匀浆器(Bertin Instruments)将肝脏组织在匀浆缓冲剂(Maxwell RSC simplyRNA组织试剂盒)中匀浆化来制备总肝脏RNA。根据制造商的建议,在Maxwell RSC 48平台(Promega Corporation)上纯化来自裂解液的总RNA。根据制造商的说明书,使用Quanta qScript cDNA SuperMix (VWR, 目录号95048-500)进行cDNA的制备。使用针对小鼠MTRES1 (ThermoFisher, 测定号Mm01229834_m1) 和小鼠管家基因PPIA (ThermoFisher, 测定号Mm02342430_g1) 的TaqMan测定以及PerfeCTa® qPCR FastMix®, Low ROX™ (VWR, 目录号101419-222), 通过RT-qPCR在QuantStudio™6 Pro实时PCR系统上一式三份评估肝脏MTRES1 mRNA的相对水平。将数据针对接受PBS的动物中的平均MTRES1 mRNA水平进行归一化。结果示于表24中。在第10天,相对于接受PBS的小鼠,注射ETD01597、ETD01955、ETD01958的小鼠的平均肝脏MTRES1 mRNA水平明显更低。

[0601] 表23. 示例siRNA序列

siRNA 名称	SEQ ID NO:	带有GalNAc部分的有义链 序列(5'-3')	SEQ ID NO:	反义链序列 (5'-3')
ETD01597	23	[ETL1]sguauuccAfgAfauguu auasusu	33	usAfsuAfaCfaUfuCfuGfgAfgA fuAfcusu
ETD01954	24	[ETL17]sacuuccuGfGfAfAfuc gauacasusu	34	usGfsuAfsuCfgAfuUfcCfaGfg AfaGfususu
ETD01955	25	[ETL17]scuuccuGfGfAfAfucg auacuasusu	35	usAfsgUfaUfcGfaUfuCfcAfgG faAfgsusu
ETD01956	26	[ETL17]scuggAfAfucGfAfuac uiguasusu	36	usUfsaCfaAfgUfaUfcGfaUfuCf cAfgsusu
ETD01957	27	[ETL17]sggaaUfCfgaUfaCfu guauuasusu	37	usAfsaUfaCfaAfgUfaUfcGfaUf uCfcusu
ETD01958	28	[ETL17]sgaugCfUfuUfcfuaca aagguasusu	38	usAfscCfuUfuGfuAfgAfaAfgC faUfcusu
ETD01959	29	[ETL17]sagaaAfAfgcAfGfaac ggugaasusu	39	usUfscAfcCfGUfuCfuGfcUfuU fuCfususu
ETD01960	30	[ETL17]saagcagAfAfdCGfgu gaaaguasusu	40	usAfscUfuUfcAfcCfGUfuCfuG fcUfususu
ETD01961	31	[ETL17]sagugGfGfaGfAfuAf cauuggaasusu	41	usUfscCfaAfuGfuAfuCfuCfcCf aCfususu
ETD01962	32	[ETL17]sugggAfGfauAfcAfu uggaucasusu	42	usGfsaUfcCfaAfuGfuAfuCfuC fcCfasusu

[0602]

[0603] 表24. 小鼠肝脏中的相对MTRES1 mRNA水平

组	n	处理	剂量 (ug)	平均MTRES1 mRNA(相对于第1组 归一化, 第10天)
1	3	PBS		1.00
2	3	ETD01597	200	0.13
3	3	ETD01954	200	1.03
4	3	ETD01955	200	0.16
5	3	ETD01956	200	0.62
6	3	ETD01957	200	0.31
7	3	ETD01958	200	0.18
8	3	ETD01959	200	0.53
9	3	ETD01960	200	0.69
10	3	ETD01961	200	0.33
11	3	ETD01962	200	0.79

[0604]

[0605] 尽管本文已经示出和描述了本发明的优选实施方案,但对于本领域技术人员明显的是,此类实施方案仅通过示例的方式提供。在不脱离本发明的情况下,本领域技术人员现在将想到多种变型、改变和替代。应当理解,本文所述的本发明实施方案的各种替代方案可以用于实施本发明。所附权利要求意在限定本发明的范围并且意在由此覆盖处于这些权利要求的范围内的方法和结构及它们的等同方案。