



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202340469 A

(43) 公開日：中華民國 112 (2023) 年 10 月 16 日

(21) 申請案號：112102800

(22) 申請日：中華民國 112 (2023) 年 01 月 19 日

(51) Int. Cl. :

*C12N15/113 (2010.01)**A61K31/713 (2006.01)**A61K48/00 (2006.01)**A61P3/06 (2006.01)*

(30) 優先權：2022/01/20

中國大陸

202210064031.8

(71) 申請人：大陸商上海拓界生物醫藥科技有限公司 (中國大陸) TUOJIE BIOTECH (SHANGHAI) CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72) 發明人：王艷輝 WANG, YANHUI (CN)；李云飛 LI, YUNFEI (CN)；鄧永岩 DENG, YONGYAN (CN)；林曉燕 LIN, XIAOYAN (CN)；茅松 MAO, SONG (CN)；黃敏印 HUANG, MINYIN (CN)；周雅琴 ZHOU, YAQIN (CN)；黃龍飛 HUANG, LONGFEI (CN)

(74) 代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：21 項 圖式數：2 共 202 頁

(54) 名稱

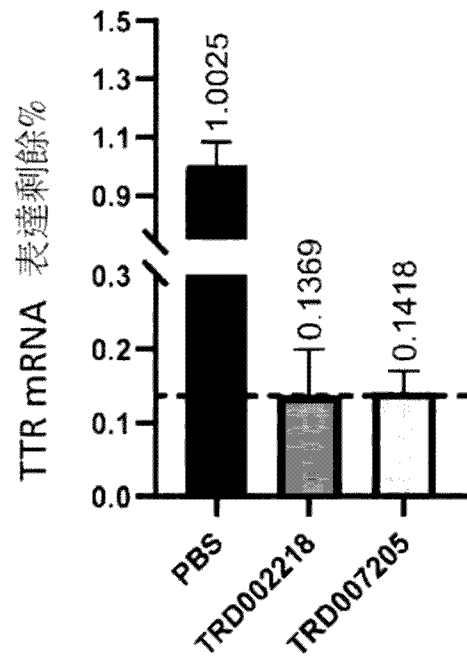
一種 D S R N A、其應用及製備方法

(57) 摘要

本揭露關於一種 dsRNA、其應用及製備方法。本揭露還關於包含該 dsRNA 的醫藥組成物、細胞或試劑盒。本揭露的 dsRNA 可以干擾 APOC3 的表達，預防和/或治療相關疾病。

The present disclosure relates to dsRNA, its application and preparation method. The present disclosure also relates to pharmaceutical compositions, cells or kits comprising the dsRNA. The dsRNA disclosed herein can interfere with the expression of APOC3 to prevent and/or treat relative diseases.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 一種DSRNA、其應用及製備方法

【英文發明名稱】 DSRNA, ITS APPLICATION AND PREPARATION
METHOD

【中文】

本揭露關於一種 dsRNA、其應用及製備方法。本揭露還關於包含該 dsRNA 的醫藥組成物、細胞或試劑盒。本揭露的 dsRNA 可以干擾 APOC3 的表達，預防和/或治療相關疾病。

【英文】

The present disclosure relates to dsRNA, its application and preparation method. The present disclosure also relates to pharmaceutical compositions, cells or kits comprising the dsRNA. The dsRNA disclosed herein can interfere with the expression of APOC3 to prevent and/or treat relative diseases.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 一種DSRNA、其應用及製備方法

【英文發明名稱】 DSRNA, ITS APPLICATION AND PREPARATION
METHOD

【0001】 本揭露要求申請日為 2022 年 01 月 20 日的中國專利申請 202210064031.8 的優先權，本揭露引用上述中國專利申請的全文。

【技術領域】

【0002】 本揭露關於利用 dsRNA 降低目的 RNA 表達以及治療相關疾病的技術領域，具體地，本揭露關於 dsRNA 的製備和應用。

【先前技術】

【0003】 RNA 干擾 (RNAi) 是一種有效的沉默基因表達的方式。據統計，在人體內的疾病相關蛋白中，大約超過 80% 的蛋白質不能被目前常規的小分子藥物以及生物大分子製劑所靶向，屬於不可成藥蛋白。利用 RNA 干擾技術，可以根據編碼這些蛋白的 mRNA，設計合適的 dsRNA，特異性靶向目標 mRNA 並降解目標 mRNA，從而達到抑制相關的蛋白生成。因此 dsRNA 具有非常重要的藥物開發前景。然而要實現體內的治療目的 RNA 干擾效應，需要向體內特定的細胞遞送。

【0004】 採用靶向配體綴合，利用靶向配體與細胞膜表面的受體分子結構，從而內吞進入到細胞內，是一種有效的藥物遞送方式。例如，去唾液酸糖蛋

白受體 (ASGPR) 是肝細胞特異性表達的受體，在肝細胞表面具有高豐度，胞內外轉換快速的特點。半乳糖、半乳糖胺、N-乙醯半乳糖胺等單糖和多糖分子對 ASGPR 有高親和性。文獻報導 (10.16476/j.pibb.2015.0028) 使用胺基半乳糖分子簇 (GalNAc) 可以有效遞送 RNA 到肝細胞，GalNAc 分子被設計成三價或四價的分子簇可以顯著提高單價或二價的 GalNAc 分子靶向肝細胞的能力。

【0005】 不同分子簇結構，和與 RNA 之間不同的連接方式會明顯的影響 dsRNA 在體內的活性，更高的活性意味著更好的治療效果，或更低的給藥劑量，在同等藥效下，更低的給藥劑量也意味著更低的毒性反應。

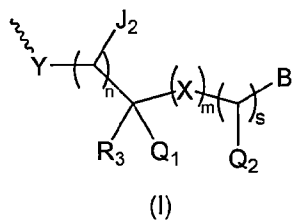
【0006】 APOC3 主要在肝臟中合成，並在富含甘油三酯的脂蛋白的產生、代謝以及從血漿的清除中發揮重要作用。肝臟中 APOC3 的表達可以促進富含甘油三酯的極低密度脂蛋白 (VLDL) 的分泌。另外，APOC3 還可以藉由抑制脂蛋白脂肪酶和肝脂肪酶的活性，來抑制富含甘油三酯的脂蛋白的分解代謝，進一步提高血清甘油三酯水平。此外，APOC3 也可以藉由干擾富含甘油三酯的脂蛋白和與肝受體的結合來抑制富含甘油三酯的脂蛋白和其殘餘顆粒的肝清除。

【0007】 升高的 APOC3 水平與升高的甘油三酯水平和諸如心血管疾病、代謝綜合症、肥胖和糖尿病之類的疾病相關聯。近年來，APOC3 已成為用於治療與高甘油三酯血症相關的疾病的有前景的靶標。升高的血清甘油三酯水平被鑑定為心血管疾病的獨立風險因素和發展為動脈粥樣硬化的促成因素。具有重度高甘油三酯血症的個體也具有發展為復發性胰腺炎的高風險。

【發明內容】

【0008】 第一方面，本揭露提供了一種雙鏈核糖核酸(dsRNA)，其包含有義鏈和反義鏈，該有義鏈和反義鏈按照 5'端到 3'端的方向包含連續的核苷酸，其中該有義鏈第 7、8 和 9 位的核苷酸為 2'-氟修飾的核苷酸，第 5 位的核苷酸獨立地為 2'-甲氧基修飾的核苷酸或 2'-氟修飾的核苷酸，其餘位置的核苷酸為 2'-甲氧基修飾的核苷酸；該反義鏈第 2 和 14 位的核苷酸為 2'-氟修飾的核苷酸，第 4、6、8、9、10、12、16 和 18 位的核苷酸獨立地為 2'-甲氧基或 2'-氟修飾的核苷酸，其餘位置的核苷酸為 2'-甲氧基修飾的核苷酸；該反義鏈中 2'-氟修飾的核苷酸的個數為 2-7 個；

【0009】 該反義鏈第 2 位至第 8 位中的至少一個核苷酸位置處包含式 (I) 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽：



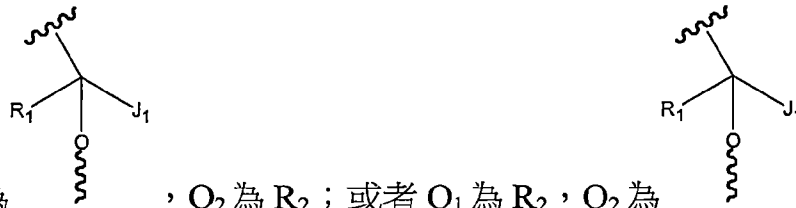
其中，Y 選自 O、NH 和 S；

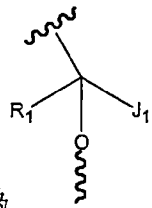
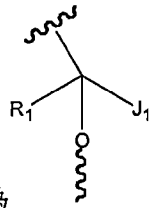
每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 NH-CO，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

J_2 為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

R_3 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、S- CH_3 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $p=1$ 、2 或 3；



【0010】 Q_1 為  , Q_2 為 R_2 ; 或者 Q_1 為 R_2 , Q_2 為  ;

其中，

R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基和 $(CH_2)_q R_7$;

其中 R_7 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $q=1$ 、2 或 3 ;

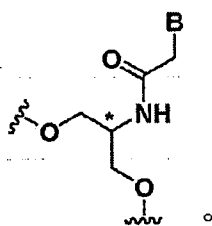
J_1 為 H 或 C_1 - C_6 烷基 ;

R_2 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_r R_8$; 其中 R_8 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $r=1$ 、2 或 3 ;

【0011】 視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環 ;

【0012】 B 是鹼基 ;

該式 (I) 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽修飾不是



【0013】 在一些實施方案中 (某些基團或特徵的定義如下，未定義的基團或特徵同其他任一方案所述，以下簡稱“在一些實施方案中”)，當 X 為 NH-CO 時， R_1 不是 H。

【0014】 在一些實施方案中，以 2'-甲氧基修飾替換式 (I) 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽。

【0015】 在一些實施方案中，該反義鏈第 2 位至第 8 位中的至少一個核苷酸為 2'-甲氧基修飾的核苷酸。

【0016】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、4、6、10、12、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0017】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、4、6、10、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0018】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、4、6、12、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0019】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、6、10、12、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0020】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、6、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0021】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、4、6、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0022】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、6、10、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

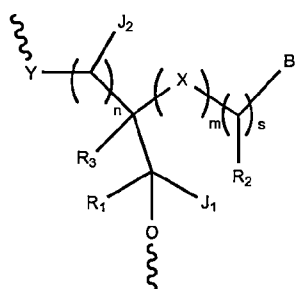
【0023】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、6、12、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0024】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 6、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0025】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、14 和 16 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0026】 在一些具體的實施方案中，該反義鏈 5'端起第 2、6 和 14 位為 2'-氟修飾的核苷酸。

【0027】 在一些實施方案中，式 (I) 所示的化學修飾選自式 (I-1) 所示的化學修飾：



(I-1)

其中，Y 選自 O、NH 和 S；

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 NH-CO，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

每個 J_1 、 J_2 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

R_3 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、S- CH_3 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $p=1$ 、2 或 3；

R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基和 $(CH_2)_qR_7$ ；其中 R_7 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $q=1$ 、2 或 3；

R_2 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_rR_8$ ；其中 R_8 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2-C_6 烯基和 C_2-C_6 炔基， $r=1、2$ 或 3 ；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

B 如式 (I) 中所定義。

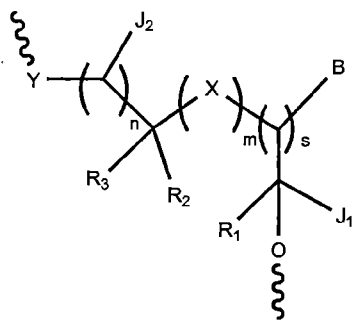
【0028】 在一些實施方案中，B 選自嘧啶鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

【0029】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

【0030】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

【0031】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0032】 在一些實施方案中，式 (I) 所示的化學修飾選自式 (I-2) 所示的化學修飾：



(I-2)

其中 Y 選自 O、NH 和 S；

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 NH-CO，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

每個 J_1 、 J_2 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

R_3 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、S- CH_3 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $p=1$ 、2 或 3；

R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基和 $(CH_2)_qR_7$ ；

其中 R_7 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $q=1$ 、2 或 3；

R_2 選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、S- CH_3 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_rR_8$ ；其中 R_8 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基； $r=1$ 、2 或 3；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

B 如式 (I) 中所定義。

【0033】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0034】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氨基嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0035】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0036】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0037】 在一些實施方案中，每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 $NH-CO$ ，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H、甲基、乙基、正丙基或異丙基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

每個 J_1 、 J_2 分別獨立地為 H 或甲基；

R_3 選自 H、OH、F、Cl、 NH_2 、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-甲基胺基、-O-乙基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $p=1$ 或 2；

R_1 選自 H、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基和 $(CH_2)_qR_7$ ；其中 R_7 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $q=1$ 或 2 ；

R_2 選自 H、OH、F、Cl、 NH_2 、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-甲基胺基、-O-乙基胺基和 $(CH_2)_rR_8$ ；其中 R_8 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $r=1$ 或 2 ；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

B 如式 (I) 中所定義。

【0038】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0039】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、6-二甲基胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0040】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、6-二甲基胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0041】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0042】 在一些實施方案中，每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 $NH-CO$ ，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H、甲基、乙基、正丙基或異丙基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

每個 J_1 、 J_2 分別獨立地為 H 或甲基；

R_3 選自 H、OH、F、Cl、 NH_2 、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-甲基胺基、-O-乙基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $p=1$ 或 2；

R_1 選自 H、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基和 $(CH_2)_qR_7$ ；其中 R_7 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $q=1$ 或 2；

R_2 選自 H、OH、F、Cl、 NH_2 、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-甲基胺基、-O-乙基胺基和 $(CH_2)_rR_8$ ；其中 R_8 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $r=1$ 或 2；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

B 如式 (I) 中所定義。

【0043】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0044】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、6-二甲基胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氨嘌呤、胞嘧啶、5-

甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0045】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0046】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0047】 在一些實施方案中，Y 為 O 或 NH；每個 X 獨立地選自 NH-CO、CH₂和 NH；

n=0 或 1；m=0 或 1；s=0 或 1；

每個 J₁、J₂ 分別獨立地為 H；

R₁ 選自 H、甲基和 CH₂OH；

R₂ 選自 H、OH、NH₂、甲基和 CH₂OH；

R₃ 選自 H、OH、NH₂、甲基和 CH₂OH；

視需要地，R₁ 和 R₂ 直接相連成環；

B 如式 (I) 中所定義。

【0048】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0049】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氮嘌呤、胞嘧啶、5-

甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0050】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0051】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0052】 在一些實施方案中，Y 為 O 或 NH；每個 X 獨立地選自 NH-CO、CH₂和 NH；

n=0 或 1；m=0 或 1；s=0 或 1；

每個 J₁、J₂ 分別獨立地為 H；

R₁ 選自 H、甲基和 CH₂OH；

R₂ 選自 H、甲基和 CH₂OH；

R₃ 選自 H、OH、NH₂、甲基和 CH₂OH；

視需要地，R₁ 和 R₂ 直接相連成環；

B 如式 (I) 中所定義。

【0053】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0054】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-

甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0055】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0056】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

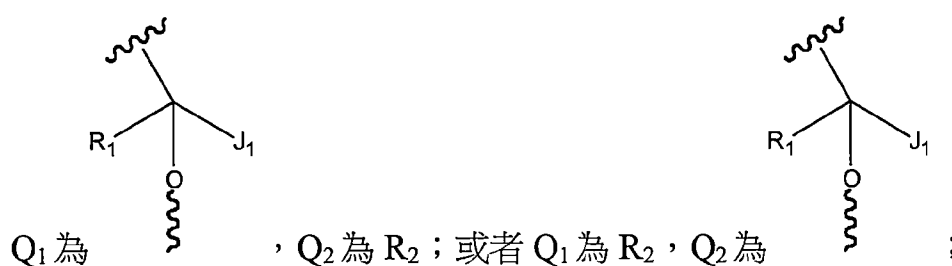
【0057】 在一些實施方案中，Y 為 O 或 NH；

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、 NR_5 和 $NH-CO$ ， R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H 或 C_1-C_6 烷基；

J_2 為 H 或 C_1-C_6 烷基；

$n=0$ 或 1； $m=0$ 或 1； $s=0$ 或 1；

R_3 選自 H、OH、 NH_2 、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基和 $(CH_2)_pR_6$ ； R_6 選自 OH、甲氧基和乙氧基， $p=1$ 、2 或 3；



R_1 選自 H、OH、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基和 $(CH_2)_qR_7$ ； R_7 選自 OH、甲氧基和乙氧基， $q=1$ 、2 或 3；

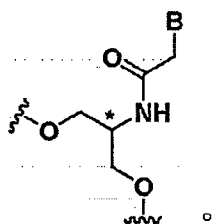
J_1 為 H 或 C_1-C_6 烷基；

R_2 選自 H、OH、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基和 $(CH_2)_r R_8$ ； R_8 選自 OH、甲氧基和乙氧基， $r=1$ 、2 或 3；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成 3-6 員環；

B 是鹼基；

該式 (I) 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽修飾不是



【0058】 在一些實施方案中，X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 和 NH-CO。

【0059】 在一些實施方案中，X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 。

【0060】 在一些實施方案中， R_3 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_p R_6$ 。

【0061】 在一些實施方案中， R_3 選自 H 和 C_1 - C_6 烷基。

【0062】 在一些實施方案中， R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_q R_7$ 。

【0063】 在一些實施方案中， R_1 選自 H 和 C_1 - C_6 烷基。

【0064】 在一些實施方案中， R_2 選自 H、OH、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_r R_8$ 。

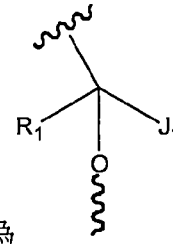
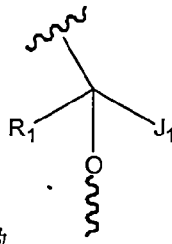
【0065】 在一些實施方案中， R_2 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_r R_8$ 。

【0066】 在一些實施方案中，Y 為 O；

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 和 NH-CO， R_4 和 R_4' 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

J_2 為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

R_3 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_p R_6$ ； R_6 選自 OH， $p=1$ 、2 或 3；



Q_1 為 , Q_2 為 R_2 ; 或者 Q_1 為 R_2 , Q_2 為 ;

R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_q R_7$; R_7 選自 OH , $q=1$ 、 2 或 3 ;

J_1 為 H 或 C_1 - C_6 烷基 ;

R_2 選自 H、OH、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_r R_8$; R_8 選自 OH , $r=1$ 、 2 或 3 ;

視需要地 , R_1 和 R_2 直接相連成 5-6 員環 ;

B 是鹼基。

【0067】 在一些實施方案中, B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

【0068】 在一些實施方案中, B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

【0069】 在一些實施方案中, B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

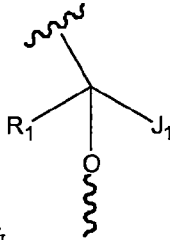
【0070】 在一些實施方案中, B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

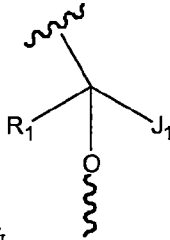
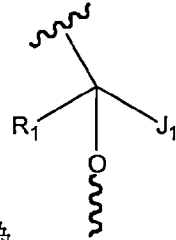
【0071】 在一些實施方案中, Y 為 O ;

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ ， R_4 和 R_4' 分別獨立地為 H 或 C_1-C_6 烷基；

J_2 為 H；

R_3 選自 H 和 C_1-C_6 烷基；



Q_1 為 ， Q_2 為 R_2 ；或者 Q_1 為 R_2 ， Q_2 為 ；

R_1 選自 H 和 C_1-C_6 烷基；

J_1 為 H 或 C_1-C_6 烷基；

R_2 選自 H、 C_1-C_6 烷基和 $(CH_2)_rR_8$ ； R_8 選自 OH， $r=1、2$ 或 3 ；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成 5-6 員環；

B 是鹼基。

【0072】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0073】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0074】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0075】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0076】 在一些實施方案中，Y 為 O。

【0077】 在一些實施方案中，X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、 NR_5 和 $NH-CO$ ， R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H、甲基、乙基、正丙基或異丙基。在一些實施方案中，X 獨立地選自 $NH-CO$ 、 CH_2 和 NH 。在一些實施方案中，X 獨立地選自 $NH-CO$ 和 CH_2 。在一些實施方案中，X 為 CH_2 。

【0078】 在一些實施方案中， J_2 為 H 或甲基。在一些實施方案中， J_2 為 H。

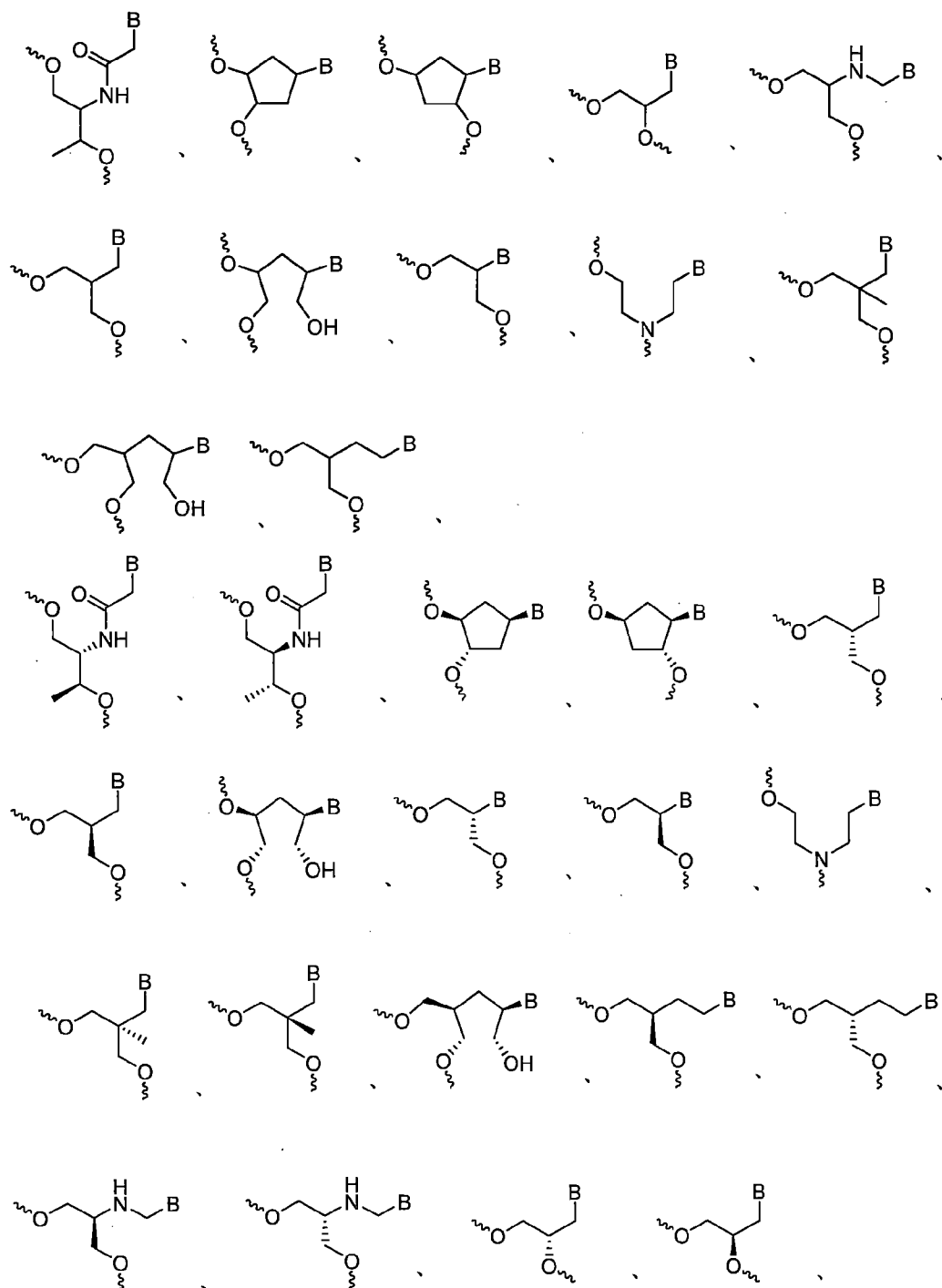
【0079】 在一些實施方案中， R_3 選自 H、OH、 NH_2 、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基和 $(CH_2)_pR_6$ ， R_6 選自 OH、甲氧基和乙氧基， $p=1$ 或 2 。在一些實施方案中， R_3 選自 H、甲基、乙基、正丙基、異丙基和 $(CH_2)_pR_6$ ， R_6 選自 OH， $p=1$ 或 2 。在一些實施方案中， R_3 選自 H 和甲基。

【0080】 在一些實施方案中， R_1 選自 H、OH、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基和 $(CH_2)_qR_7$ ， R_7 選自 OH， $q=1$ 或 2 。在一些實施方案中， R_1 選自 H、甲基、乙基、正丙基、異丙基和 $(CH_2)_qR_7$ ， R_7 選自 OH， $q=1$ 或 2 。在一些實施方案中， R_1 選自 H 和甲基。

【0081】 在一些實施方案中， R_2 選自 H、OH、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基和 $(CH_2)_rR_8$ ， R_8 選自 OH， $r=1$ 或 2 。在一些實施方案中， R_2 選自 H、OH、甲基、乙基、正丙基、異丙基和 $(CH_2)_rR_8$ ， R_8 選自 OH， $r=1$ 或 2 。在一些實施方案中， R_2 選自 H、甲基和 CH_2OH 。

【0082】 在一些實施方案中， R_1 和 R_2 直接相連成 5-6 員環。在一些實施方案中， R_1 和 R_2 直接相連形成 3-6 員環烷基。在一些實施方案中， R_1 和 R_2 直接相連形成環戊基或環己基。

【0083】 在一些實施方案中，該式(I)所示的化學修飾選自以下任一結構：



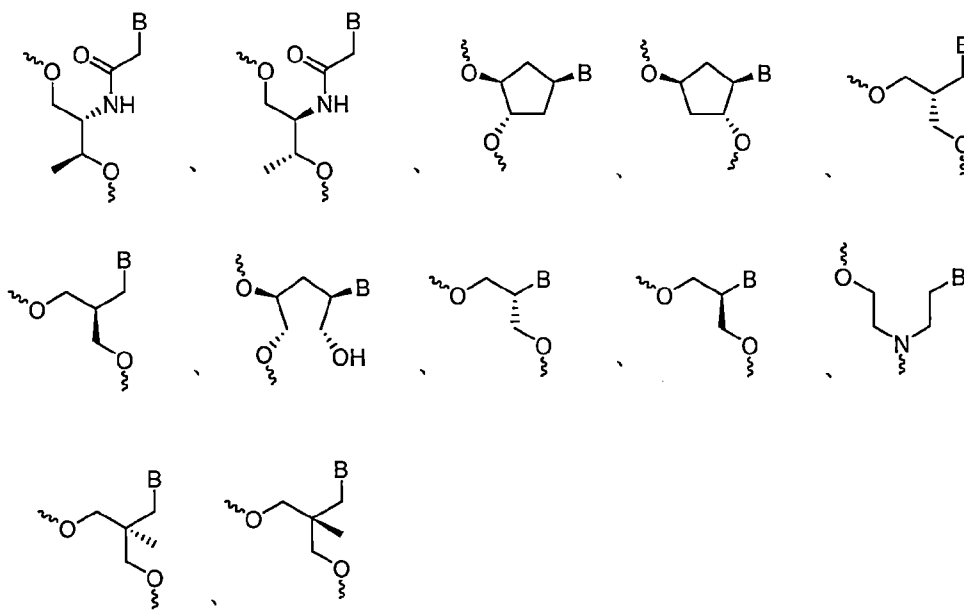
其中， B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、呋喃、5-硝基呋喃和 3-硝基吡咯中。

【0084】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氨嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0085】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0086】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0087】 在一些實施方案中，該式(I)所示的化學修飾選自以下任一結構：



其中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯中。

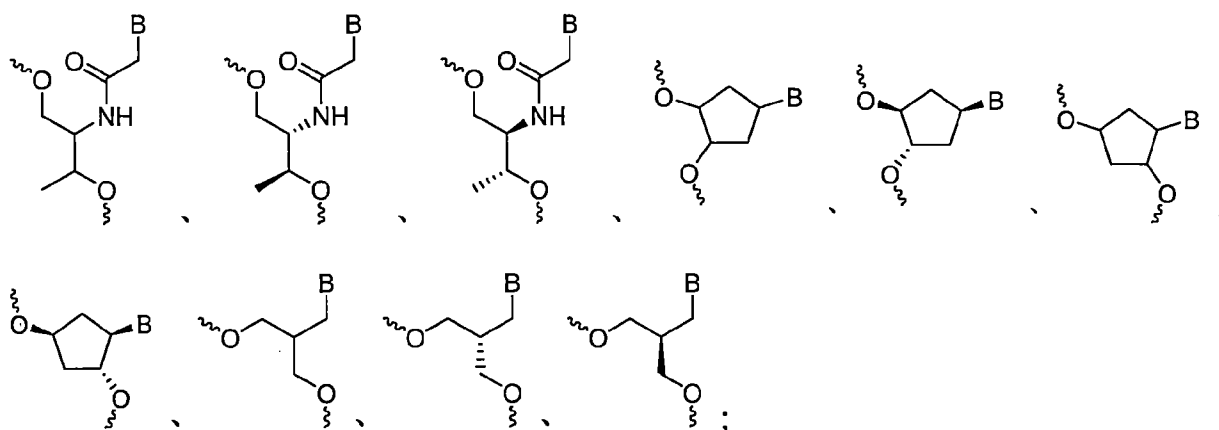
【0088】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基

嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0089】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0090】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0091】 在一些實施方案中，該式(I)所示的化學修飾選自以下任一結構：



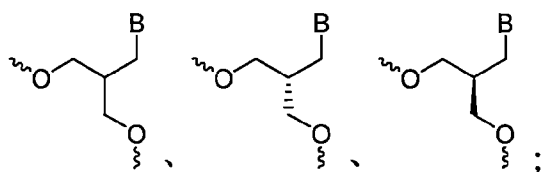
其中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯中。

【0092】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0093】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0094】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0095】 在一些實施方案中，該式(I)所示的化學修飾選自以下任一結構：



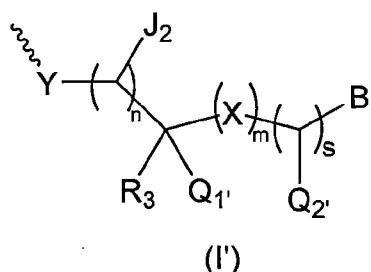
其中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯中。

【0096】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氨基嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0097】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0098】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0099】 在一些實施方案中，該包含式 (I) 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸選自包含式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸，



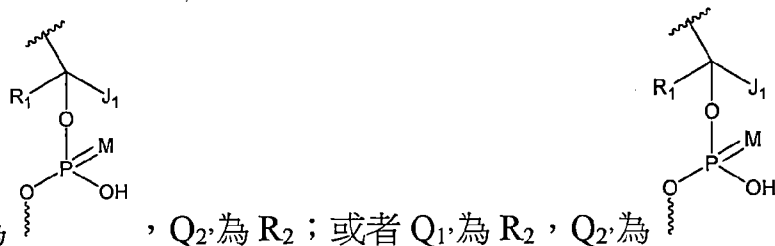
其中，Y 選自 O、NH 和 S；

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 NH-CO，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

J_2 為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

R_3 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、S- CH_3 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $p=1$ 、2 或 3；



其中，

R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基和 $(CH_2)_qR_7$ ；

其中 R_7 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $q=1$ 、2 或 3；

J_1 為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

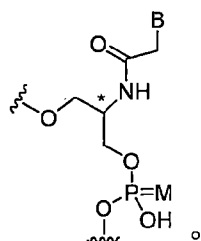
R_2 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_rR_8$ ；其中 R_8 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $r=1$ 、2 或 3；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

B 是鹼基；

M 為 O 或 S；

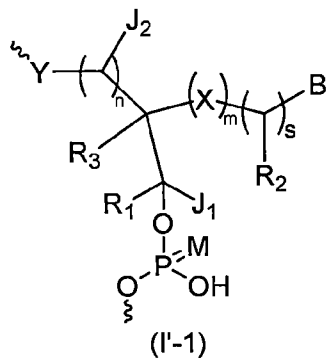
該式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽不是



【0101】 在一些實施方案中，當 X 為 $NH-CO$ 時， R_1 不是 H。

【0102】 在一些實施方案中，以 2'-甲氧基修飾替換式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽。

【0103】 在一些實施方案中，該式 (I') 所示的化學修飾選自式 (I'-1) 所示的化學修飾：



其中， Y 選自 O、NH 和 S；

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 NH-CO，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

每個 J_1 、 J_2 分別獨立地為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

R_3 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、S- CH_3 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $p=1$ 、2 或 3；

R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基和 $(CH_2)_qR_7$ ；其中 R_7 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $q=1$ 、2 或 3；

R_2 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、S- CH_3 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_rR_8$ ；其中 R_8 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $r=1$ 、2 或 3；

M 為 O 或 S；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

B 如式 (I') 中所定義。

【0104】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

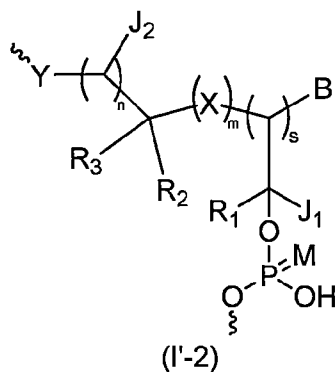
【0105】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、6-二甲基胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-

甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0106】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0107】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0108】 在一些實施方案中，式 (I') 所示的化學修飾選自式 (I'-2) 所示的化學修飾：



其中，Y 選自 O、NH 和 S；

每個 X 獨立地選自 CR₄(R₄')、S、NR₅ 和 NH-CO，其中 R₄、R₄'、R₅ 分別獨立地為 H 或 C₁-C₆ 烷基；

n=0、1 或 2；m=0、1 或 2；s=0 或 1；

每個 J₁、J₂ 分別獨立地為 H 或 C₁-C₆ 烷基；

R₃ 選自 H、OH、鹵素、NH₂、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、S-CH₃、NCH₃(CH₃)、OCH₂CH₂OCH₃、-O-烷基胺基和(CH₂)_pR₆；其中 R₆ 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、N₃、C₂-C₆ 烯基和 C₂-C₆ 炔基，p=1、2 或 3；

R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基和 $(CH_2)_q R_7$ ；其中 R_7 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基， $q=1$ 、2 或 3；

R_2 選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_r R_8$ ；其中 R_8 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基； $r=1$ 、2 或 3；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

M 為 O 或 S；

B 如式 (I') 中所定義。

【0109】 在一些實施方案中，B 選自嘔呤鹼基、嘓啖鹼基、叫哞、5-硝基叫哞和 3-硝基吡咯。

【0110】 在一些實施方案中，B 選自腺嘔呤、鳥嘔呤、異鳥嘔呤、次黃嘔呤、黃嘔呤、 C_2 修飾的嘔呤、 N_8 修飾的嘔呤、2,6-二胺基嘔呤、6-二甲基胺基嘔呤、2-胺基嘔呤、 N_6 -烷基腺嘔呤、 O_6 -烷基鳥嘔呤、7-脫氫嘔呤、胞嘓啖、5-甲基胞嘓啖、異胞嘓啖、假胞嘓啖、尿嘓啖、假尿嘓啖、2-硫代尿昔、4-硫代尿昔、 C_5 修飾的嘓啖、胸腺嘓啖、叫哞、5-硝基叫哞和 3-硝基吡咯。

【0111】 在一些實施方案中，B 選自腺嘔呤、鳥嘔呤、2,6-二胺基嘔呤、6-二甲基胺基嘔呤、2-胺基嘔呤、胞嘓啖、尿嘓啖、胸腺嘓啖、叫哞、5-硝基叫哞和 3-硝基吡咯。

【0112】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0113】 在一些實施方案中，每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 $NH-CO$ ，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H 或 C_1-C_3 烷基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

每個 J_1 、 J_2 分別獨立地為 H 或 C_1-C_3 烷基；

R_3 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 烷氧基、 C_2-C_4 烯基、 C_2-C_4 炔基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2-C_6 烯基和 C_2-C_6 炔基， $p=1$ 、2 或 3；

R_1 選自 H、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 烷氧基、 C_2-C_4 烯基、 C_2-C_4 炔基和 $(CH_2)_qR_7$ ；其中 R_7 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2-C_4 烯基和 C_2-C_4 炔基， $q=1$ 、2 或 3；

R_2 選自 H、OH、鹵素、 NH_2 、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 烷氧基、 C_2-C_4 烯基、 C_2-C_4 炔基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-烷基胺基和 $(CH_2)_rR_8$ ；其中 R_8 選自 OH、鹵素、甲氧基、乙氧基、 N_3 、 C_2-C_4 烯基和 C_2-C_4 炔基， $r=1$ 、2 或 3；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

B 如式 (I') 中所定義。

【0114】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0115】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、6-二甲基胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0116】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0117】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0118】 在一些實施方案中，每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、S、 NR_5 和 $NH-CO$ ，其中 R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H、甲基、乙基、正丙基或異丙基；

$n=0$ 、1 或 2； $m=0$ 、1 或 2； $s=0$ 或 1；

每個 J_1 、 J_2 分別獨立地為 H 或甲基；

R_3 選自 H、OH、F、Cl、 NH_2 、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-甲基胺基、-O-乙基胺基和 $(CH_2)_pR_6$ ；其中 R_6 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $p=1$ 或 2；

R_1 選自 H、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基和 $(CH_2)_qR_7$ ；其中 R_7 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $q=1$ 或 2；

R_2 選自 H、OH、F、Cl、 NH_2 、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、乙烯基、烯丙基、乙炔基、炔丙基、 $S-CH_3$ 、 $NCH_3(CH_3)$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、-O-甲基胺基、-O-乙基胺基和 $(CH_2)_rR_8$ ；其中 R_8 選自 OH、F、Cl、甲氧基、乙氧基、 N_3 、乙烯基、烯丙基、乙炔基和炔丙基， $r=1$ 或 2；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環；

B 如式 (I') 中所定義。

【0119】 在一些實施方案中，B 選自嘧啶鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

【0120】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氨基嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

【0121】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡啶。

【0122】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0123】 在式 (I')、式 (I'-1) 或式 (I'-2) 的一些實施方案中，Y 為 O 或 NH；每個 X 獨立地選自 NH-CO、CH₂ 和 NH；

n=0 或 1；m=0 或 1；s=0 或 1；

每個 J₁、J₂ 分別獨立地為 H；

R₁ 選自 H、甲基和 CH₂OH；

R₂ 選自 H、OH、NH₂、甲基和 CH₂OH；

R₃ 選自 H、OH、NH₂、甲基和 CH₂OH；

視需要地，R₁ 和 R₂ 直接相連成環；

B 如式 (I') 中所定義。

【0124】 在一些實施方案中，B 選自嘔呤鹼基、嘓啞鹼基、叫噪、5-硝基叫噪和 3-硝基吡咯。

【0125】 在一些實施方案中，B 選自腺嘔呤、鳥嘔呤、異鳥嘔呤、次黃嘔呤、黃嘔呤、C2 修飾的嘔呤、N8 修飾的嘔呤、2,6-二胺基嘔呤、6-二甲基胺基嘔呤、2-胺基嘔呤、N6-烷基腺嘔呤、O6-烷基鳥嘔呤、7-脫氮嘔呤、胞嘓啞、5-甲基胞嘓啞、異胞嘓啞、假胞嘓啞、尿嘓啞、假尿嘓啞、2-硫代尿昔、4-硫代尿昔、C5 修飾的嘓啞、胸腺嘓啞、叫噪、5-硝基叫噪和 3-硝基吡咯。

【0126】 在一些實施方案中，B 選自腺嘔呤、鳥嘔呤、2,6-二胺基嘔呤、6-二甲基胺基嘔呤、2-胺基嘔呤、胞嘓啞、尿嘓啞、胸腺嘓啞、叫噪、5-硝基叫噪和 3-硝基吡咯。

【0127】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0128】 在式 (I')、式 (I'-1) 或式 (I'-2) 的一些實施方案中，Y 為 O 或 NH；每個 X 獨立地選自 NH-CO、CH₂ 和 NH；

n=0 或 1；m=0 或 1；s=0 或 1；

每個 J₁、J₂ 分別獨立地為 H；

R₁ 選自 H、甲基和 CH₂OH；

R₂ 選自 H、甲基和 CH₂OH；

R₃ 選自 H、OH、NH₂、甲基和 CH₂OH；

視需要地，R₁ 和 R₂ 直接相連成環；

B 如式 (I') 中所定義。

【0129】 在一些實施方案中，B 選自嘔呤鹼基、嘓啶鹼基、叫哢、5-硝基叫哢和 3-硝基吡咯。

【0130】 在一些實施方案中，B 選自腺嘔呤、鳥嘔呤、異鳥嘔呤、次黃嘔呤、黃嘔呤、C2 修飾的嘔呤、N8 修飾的嘔呤、2,6-二胺基嘔呤、6-二甲基胺基嘔呤、2-胺基嘔呤、N6-烷基腺嘔呤、O6-烷基鳥嘔呤、7-脫氮嘔呤、胞嘓啶、5-甲基胞嘓啶、異胞嘓啶、假胞嘓啶、尿嘓啶、假尿嘓啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘓啶、胸腺嘓啶、叫哢、5-硝基叫哢和 3-硝基吡咯。

【0131】 在一些實施方案中，B 選自腺嘔呤、鳥嘔呤、2,6-二胺基嘔呤、6-二甲基胺基嘔呤、2-胺基嘔呤、胞嘓啶、尿嘓啶、胸腺嘓啶、叫哢、5-硝基叫哢和 3-硝基吡咯。

【0132】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

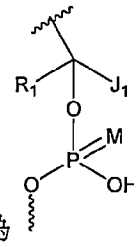
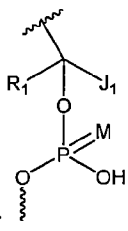
【0133】 在一些實施方案中，Y 為 O 或 NH；

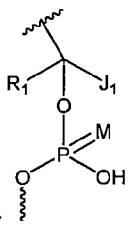
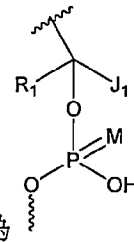
每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、 NR_5 和 $NH-CO$ ， R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H 或 C_1-C_6 烷基；

J_2 為 H 或 C_1-C_6 烷基；

$n=0$ 或 1； $m=0$ 或 1； $s=0$ 或 1；

R_3 選自 H、OH、 NH_2 、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基和 $(CH_2)_pR_6$ ； R_6 選自 OH、甲氧基和乙氧基， $p=1$ 、2 或 3；



【0134】 Q_1 為 ， Q_2 為 R_2 ；或者 Q_1 為 R_2 ， Q_2 為 ；

R_1 選自 H、OH、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基和 $(CH_2)_q R_7$ ； R_7 選自 OH、甲氧基和乙氧基， $q=1$ 、 2 或 3 ；

J_1 為 H 或 C_1 - C_6 烷基；

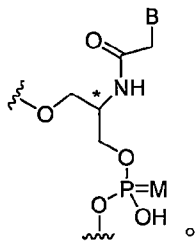
R_2 選自 H、OH、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基和 $(CH_2)_r R_8$ ； R_8 選自 OH、甲氧基和乙氧基， $r=1$ 、 2 或 3 ；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成 3-6 員環；

M 為 O 或 S；

B 是鹼基；

該式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽不是



【0135】 在一些實施方案中， X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 和 $NH-CO$ 。

【0136】 在一些實施方案中， X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 。

【0137】 在一些實施方案中， R_3 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_p R_6$ 。

【0138】 在一些實施方案中， R_3 選自 H 和 C_1 - C_6 烷基。

【0139】 在一些實施方案中， R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_q R_7$ 。

【0140】 在一些實施方案中， R_1 選自 H 和 C_1 - C_6 烷基。

【0141】 在一些實施方案中， R_2 選自 H、OH、 C_1 - C_6 烷基和 $(CH_2)_r R_8$ 。

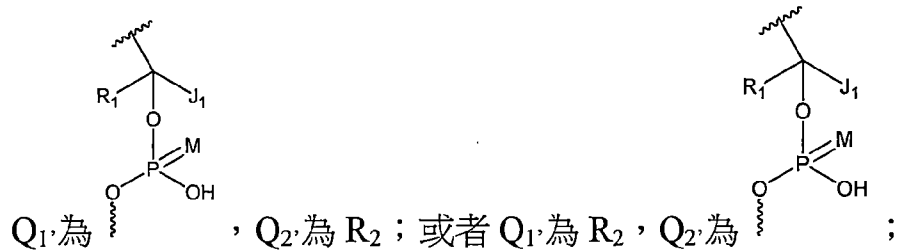
【0142】 在一些實施方案中， R_2 選自 H、 C_1-C_6 烷基和 $(CH_2)_rR_8$ 。

【0143】 在一些實施方案中，Y 為 O；

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 和 NH-CO， R_4 和 R_4' 分別獨立地為 H 或 C_1-C_6 烷基；

J_2 為 H 或 C_1-C_6 烷基；

R_3 選自 H、 C_1-C_6 烷基和 $(CH_2)_pR_6$ ； R_6 選自 OH， $p=1、2$ 或 3 ；



R_1 選自 H、 C_1-C_6 烷基和 $(CH_2)_qR_7$ ； R_7 選自 OH， $q=1、2$ 或 3 ；

J_1 為 H 或 C_1-C_6 烷基；

R_2 選自 H、OH、 C_1-C_6 烷基和 $(CH_2)_rR_8$ ； R_8 選自 OH， $r=1、2$ 或 3 ；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成 5-6 員環；

M 為 O 或 S；

B 是鹼基。

【0144】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0145】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0146】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

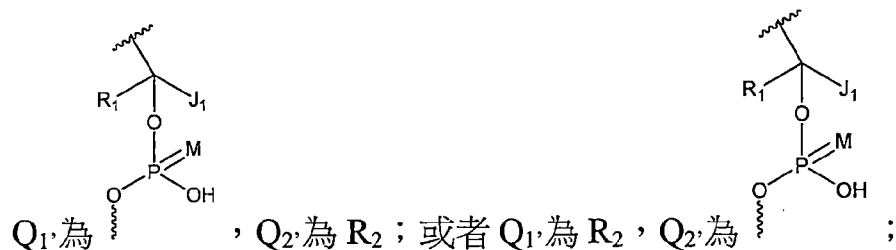
【0147】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0148】 在一些實施方案中，Y 為 O；

每個 X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ ， R_4 和 R_4' 分別獨立地為 H 或 C_1-C_6 烷基；

J_2 為 H；

R_3 選自 H 和 C_1-C_6 烷基；



R_1 選自 H 和 C_1-C_6 烷基；

J_1 為 H 或 C_1-C_6 烷基；

R_2 選自 H、 C_1-C_6 烷基和 $(CH_2)_rR_8$ ； R_8 選自 OH， $r=1、2$ 或 3 ；

視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成 5-6 員環；

M 為 O 或 S；

B 是鹼基。

【0149】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0150】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基

嘌呤、2-胺基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氮嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0151】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、6-二甲基胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0152】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0153】 在一些實施方案中，Y 為 O。

【0154】 在一些實施方案中，X 獨立地選自 $CR_4(R_4')$ 、 NR_5 和 $NH-CO$ ， R_4 、 R_4' 、 R_5 分別獨立地為 H、甲基、乙基、正丙基或異丙基。在一些實施方案中，X 獨立地選自 $NH-CO$ 、 CH_2 和 NH 。在一些實施方案中，X 獨立地選自 $NH-CO$ 和 CH_2 。在一些實施方案中，X 為 CH_2 。

【0155】 在一些實施方案中， J_2 為 H 或甲基。在一些實施方案中， J_2 為 H。

【0156】 在一些實施方案中， R_3 選自 H、OH、 NH_2 、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基和 $(CH_2)_pR_6$ ， R_6 選自 OH、甲氧基和乙氧基， $p=1$ 或 2。在一些實施方案中， R_3 選自 H、甲基、乙基、正丙基、異丙基和 $(CH_2)_pR_6$ ， R_6 選自 OH， $p=1$ 或 2。在一些實施方案中， R_3 選自 H 和甲基。

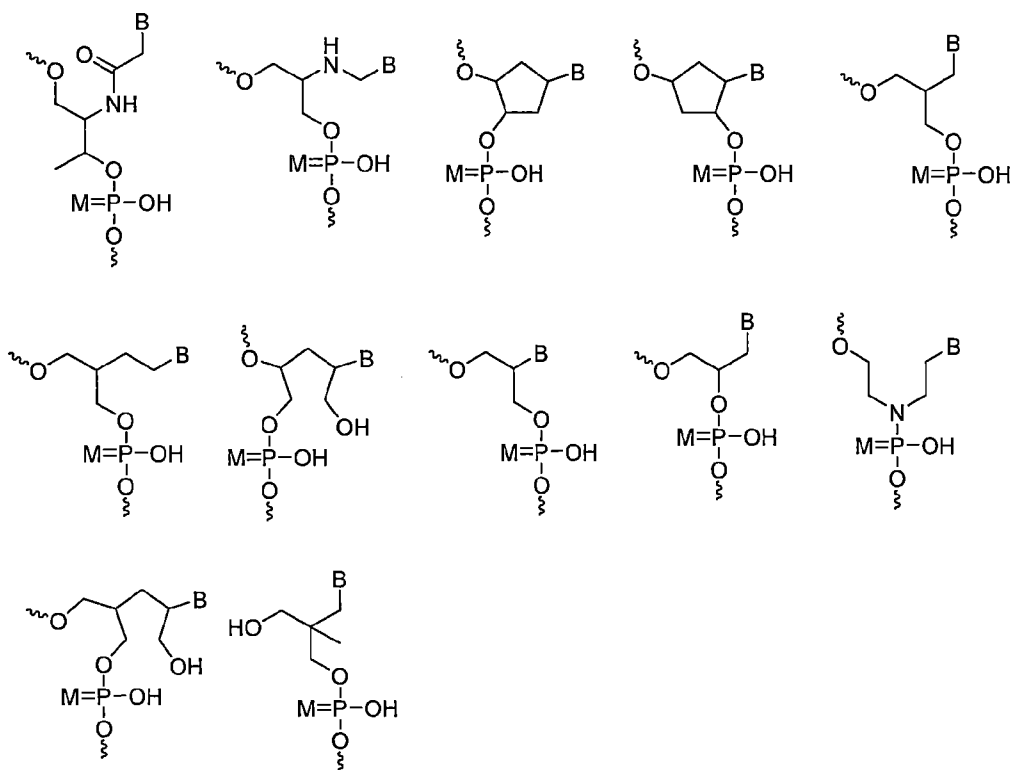
【0157】 在一些實施方案中， R_1 選自 H、OH、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基和 $(CH_2)_qR_7$ ， R_7 選自 OH， $q=1$ 或 2。

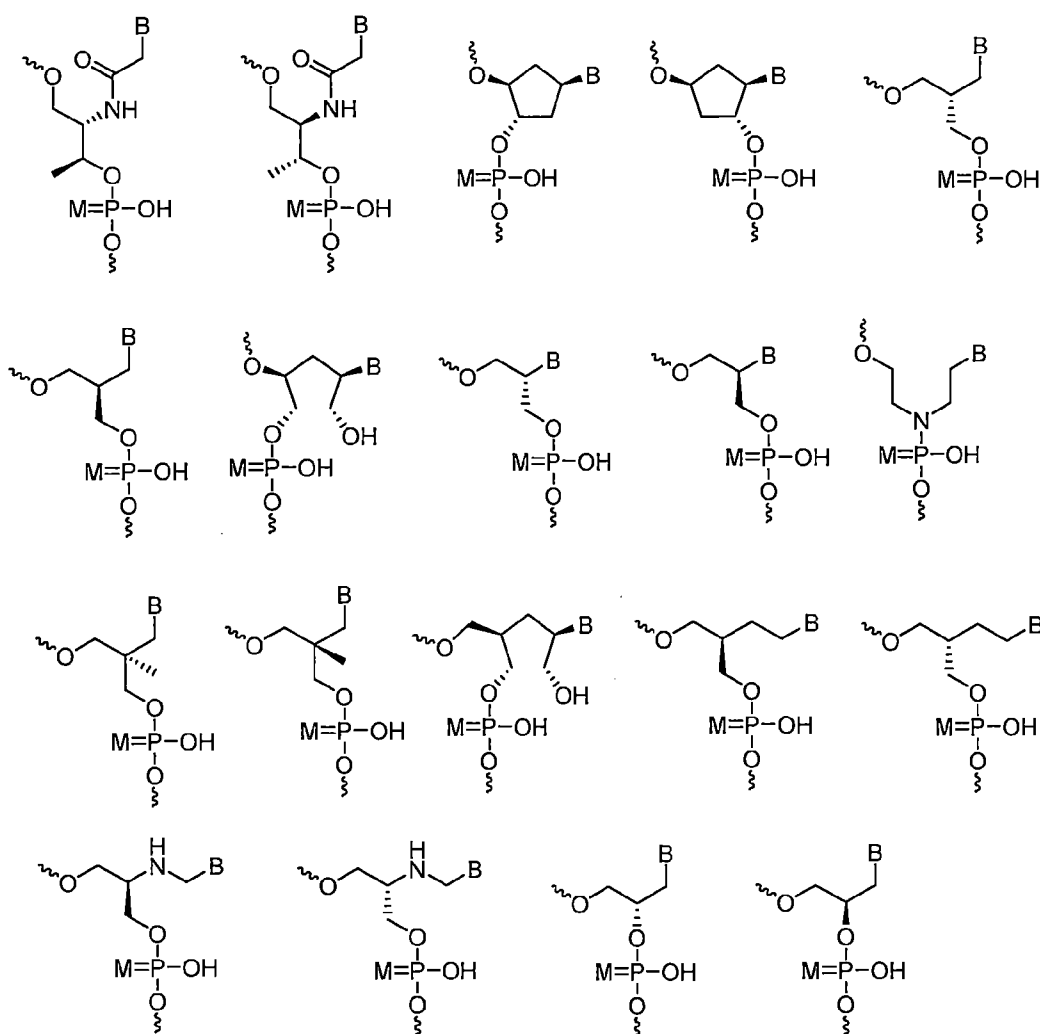
在一些實施方案中， R_1 選自 H、甲基、乙基、正丙基、異丙基和 $(CH_2)_qR_7$ ， R_7 選自 OH， $q=1$ 或 2。在一些實施方案中， R_1 選自 H 和甲基。

【0158】 在一些實施方案中， R_2 選自 H、OH、甲基、乙基、正丙基、異丙基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基和 $(CH_2)_rR_8$ ， R_8 選自 OH， $r=1$ 或 2。在一些實施方案中， R_2 選自 H、OH、甲基、乙基、正丙基、異丙基和 $(CH_2)_rR_8$ ， R_8 選自 OH， $r=1$ 或 2。在一些實施方案中， R_2 選自 H、甲基和 CH_2OH 。

【0159】 在一些實施方案中， R_1 和 R_2 直接相連成 5-6 員環。在一些實施方案中， R_1 和 R_2 直接相連形成 3-6 員環烷基。在一些實施方案中， R_1 和 R_2 直接相連形成環戊基或環己基。

【0160】 在一些實施方案中，該式 (I') 所示的化學修飾選自以下任一結構：





其中，M 為 O 或 S；

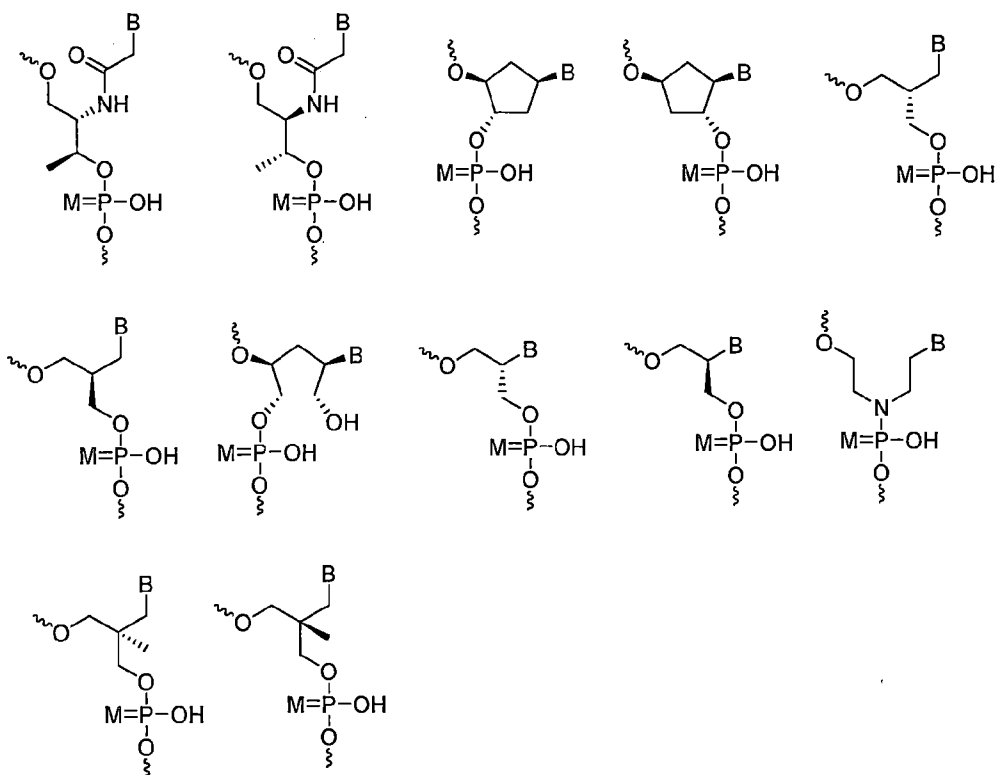
B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0161】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氨基嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0162】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、嘧啶、5-硝基嘧啶和 3-硝基吡咯。

【0163】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0164】 在一些實施方案中，該式 (I') 所示的化學修飾選自以下任一結構：



其中，M 為 O 或 S；

B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、嘧啶、5-硝基嘧啶和 3-硝基吡咯。

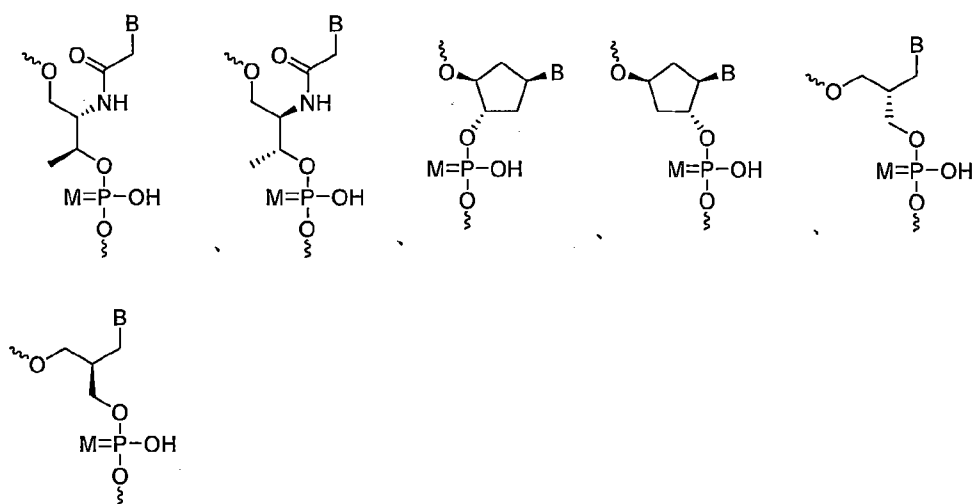
【0165】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氨基嘌呤、胞嘧啶、5-

甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、嘓啶、5-硝基嘓啶和 3-硝基吡咯。

【0166】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、6-二甲基胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、嘓啶、5-硝基嘓啶和 3-硝基吡咯。

【0167】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0168】 在一些實施方案中，該式 (I') 所示的化學修飾選自以下任一結構：



其中，M 為 O 或 S；

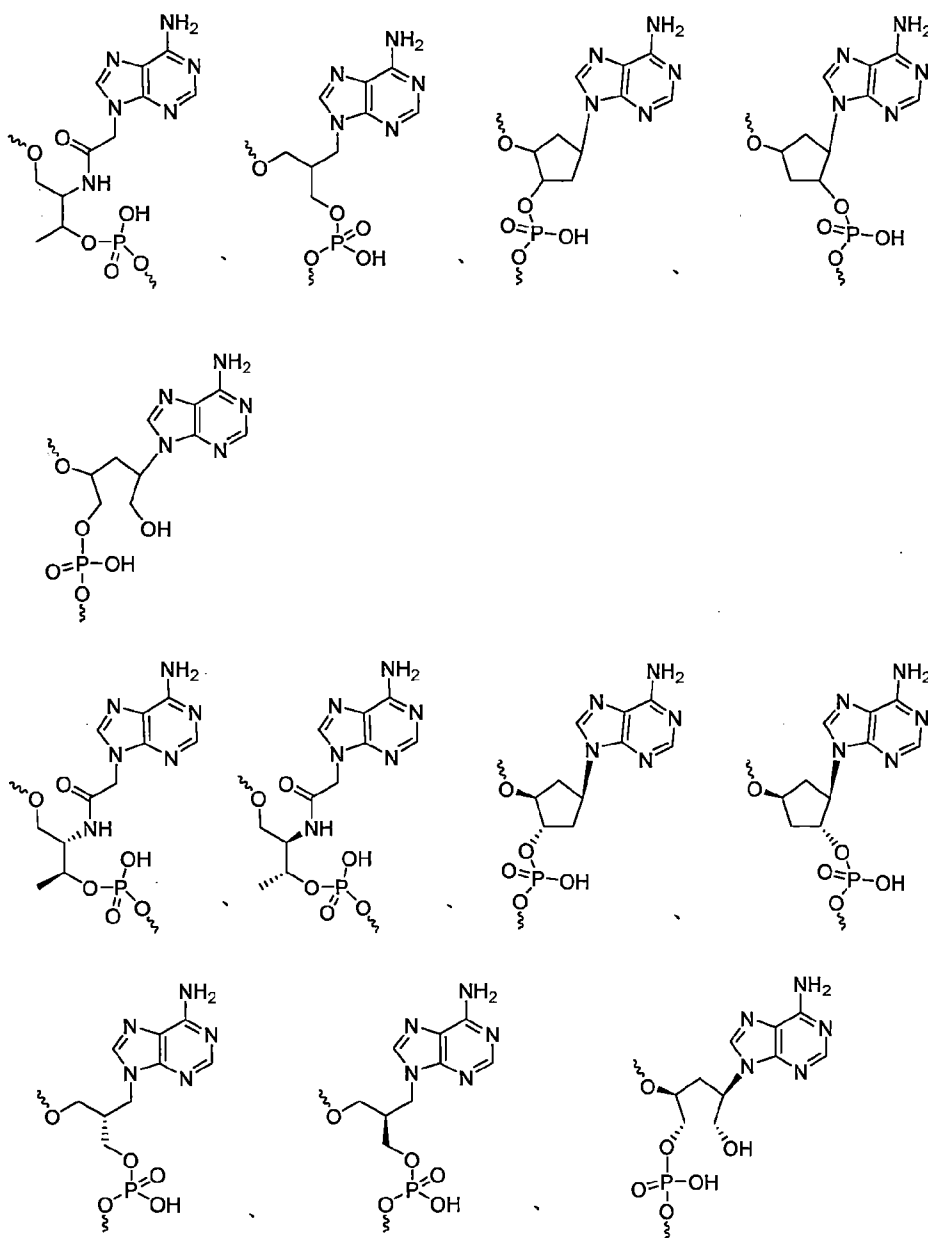
B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、嘓啶、5-硝基嘓啶和 3-硝基吡咯。

【0169】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、6-二甲基胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氨嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、嘓啶、5-硝基嘓啶和 3-硝基吡咯。

【0170】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡咯、5-硝基吡咯和 3-硝基吡咯。

【0171】 在一些實施方案中，B 與反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0172】 在一些實施方案中，該式 (I') 所示的化學修飾選自以下任一結構：



以及它們結構中的腺嘌呤被置換為鳥嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶或胸腺嘧啶的那些。

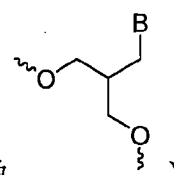
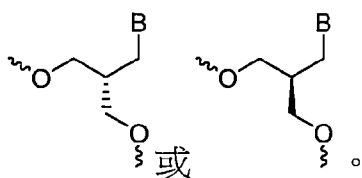
【0173】 在一些實施方案中，B 選自嘌呤鹼基、嘧啶鹼基、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0174】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、異鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、C2 修飾的嘌呤、N8 修飾的嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、N6-烷基腺嘌呤、O6-烷基鳥嘌呤、7-脫氫嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、異胞嘧啶、假胞嘧啶、尿嘧啶、假尿嘧啶、2-硫代尿苷、4-硫代尿苷、C5 修飾的嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0175】 在一些實施方案中，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0176】 在一些實施方案中，B 與該反義鏈該位置處核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0177】 在一些實施方案中，該式 (I) 所示的化學修飾為



【0178】 再一方面，本揭露提供了一種 dsRNA，其包含有義鏈和反義鏈：

【0179】 在一些實施方案中，該反義鏈與靶序列至少部分地反向互補以介導 RNA 干擾；在一些實施方案中，該反義鏈與靶序列之間存在不多於 5 個、不

多於 4 個、不多於 3 個、不多於 2 個、不多於 1 個錯配；在一些實施方案中，該反義鏈與靶序列完全反向互補。

【0180】 在一些實施方案中，該有義鏈與反義鏈至少部分地反向互補以形成雙鏈區；在一些實施方案中，該有義鏈與反義鏈之間存在不多於 5 個、不多於 4 個、不多於 3 個、不多於 2 個、不多於 1 個錯配；在一些實施方案中，該有義鏈與反義鏈完全反向互補。

【0181】 在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈各自獨立地具有 16 至 35 個、16 至 34 個、17 至 34 個、17 至 33 個、18 至 33 個、18 至 32 個、18 至 31 個、18 至 30 個、18 至 29 個、18 至 28 個、18 至 27 個、18 至 26 個、18 至 25 個、18 至 24 個、18 至 23 個、19 至 25 個、19 至 24 個、或 19 至 23 個核苷酸（例如 19、20、21、22、23 個核苷酸）。

【0182】 在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈長度相同或不同，該有義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，該反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈的長度比可以是 19/20、19/21、19/22、19/23、19/24、19/25、19/26、20/20、20/21、20/22、20/23、20/24、20/25、20/26、21/20、21/21、21/22、21/23、21/24、21/25、21/26、22/20、22/21、22/22、22/23、22/24、22/25、22/26、23/20、23/21、23/22、23/23、23/24、23/25 或 23/26。在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈的長度比為 19/21、21/23 或 23/25。在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈的長度比為 19/21。

【0183】 在一些實施方案中，該 dsRNA 包含一個或兩個平端。

【0184】 在一些實施方案中，該 dsRNA 包含具有 1 至 4 個未配對核苷酸的突出端，例如 1 個、2 個、3 個、4 個。

【0185】 在一些實施方案中，該 dsRNA 包含位於該反義鏈 3'端的突出端。

【0186】 在一些實施方案中，包含式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸位於反義鏈 5'區域的第 5 位、第 6 位或第 7 位。

【0187】 在一些實施方案中，包含式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸位於反義鏈 5'區域的位於第 7 位。

【0188】 在一些實施方案中，式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽修飾在其 5'區域的第 5 位時，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0189】 在一些實施方案中，式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽修飾在其 5'區域的第 6 位時，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0190】 在一些實施方案中，式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽修飾在其 5'區域的第 7 位時，B 選自腺嘌呤、鳥嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、6-二甲基氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、吡啶、5-硝基吡啶和 3-硝基吡咯。

【0191】 在一些實施方案中，B 與該反義鏈在其 5'區域的第 5 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0192】 在一些實施方案中，B 與該反義鏈在其 5'區域的第 6 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0193】 在一些實施方案中，B 與該反義鏈在其 5' 區域的第 7 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0194】 在一些實施方案中，該有義鏈第 5 位的核苷酸為 2'-甲氧基修飾的核苷酸。

【0195】 在一些實施方案中，該反義鏈第 7 位的核苷酸為 2'-甲氧基修飾的核苷酸。

【0196】 在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈包含或為如下式所示的核苷酸：

有義鏈：5'-N_aN_aN_aN_aXN_bN_bN_bN_aN_aN_aN_aN_aN_aN_aN_a-3'；

反義鏈：5'-N_a'N_b'N_a'X'N_a'X'W'X'X'X'N_a'X'N_a'N_b'N_a'X'N_a'X'N_a'N_a'N_a'-3'；

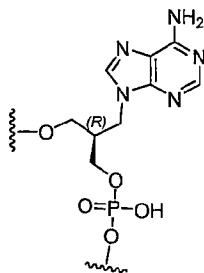
其中，每個 X 獨立地為 N_a 或 N_b，每個 X' 獨立地為 N_a' 或 N_b'；N_a 和 N_a' 為 2'-甲氧基修飾的核苷酸，N_b 和 N_b' 為 2'-氟修飾的核苷酸；

W' 表示 2'-甲氧基修飾的核苷酸或包含式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸。

【0197】 在一些實施方案中，W' 表示 2'-甲氧基修飾的核苷酸。

【0198】 在一些實施方案中，W' 表示包含式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸。

【0199】 在一些實施方案中，W' 具有以下結構：



【0200】 在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈包含或為如下式所示的核苷酸序列：

有義鏈：5'-N_aN_aN_aN_aN_aN_aN_bN_bN_bN_aN_aN_aN_aN_aN_aN_aN_aN_a-3'；

反義鏈：5'-N_a'N_b'N_a'X'N_a'X'W'X'X'X'N_a'X'N_a'N_b'N_a'X'N_a'X'N_a'N_a'N_a'-3'；

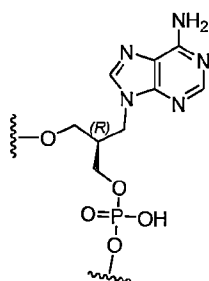
其中，每個 X'獨立地為 N_a'或 N_b'；N_a和 N_a'為 2'-甲氧基修飾的核苷酸，N_b和 N_b'為 2'-氟修飾的核苷酸；

W'表示 2'-甲氧基修飾的核苷酸或包含式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸。

【0201】 在一些實施方案中，W'表示 2'-甲氧基修飾的核苷酸。

【0202】 在一些實施方案中，W'表示包含式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸。

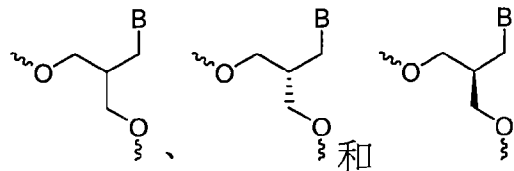
【0203】 在一些實施方案中，W'具有以下結構：



【0204】 在一些實施方案中，該有義鏈包含或為如下式所示的核苷酸序列：

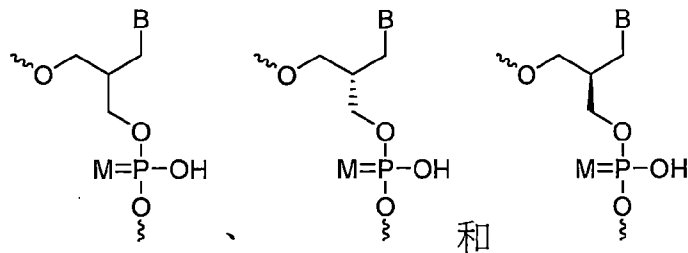
5'-N_aN_aN_aN_aN_aXN_aN_bN_bN_bN_aN_aN_aN_aN_aN_aN_aN_a-3'；

其中，X 為 N_a或 N_b；N_a為 2'-甲氧基修飾的核苷酸，N_b為 2'-氟修飾的核苷酸。



；其中，B 選自鳥嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶；在一些具體的實施方案中，B 與該反義鏈在其 5' 區域的第 7 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0211】 在一些實施方案中，式 (I) 所示的化學修飾選自：



；其中，M 為 O 或 S；其中，B 選自鳥嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶；在一些具體的實施方案中，B 與該反義鏈在其 5' 區域的第 7 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0212】 在一些具體的實施方案中，M 為 S。一些具體的實施方案中，M 為 O。

【0213】 在一些實施方案中，該反義鏈包含或為如下式所示的核苷酸序列：

5'-N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'-3'；

5'-N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_b'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'-3'；

5'-N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'-3'；

5'-N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'-3'；

5'-N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'-3'；

5'-N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_b'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'-3'；

5'-N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'-3'；

5'-N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'W'N_b'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'-3' ;

5'-N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'-3' ;

5'-N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_b'W'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'-3' ;

5'-N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'W'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'N_b'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'-3' ; 或 ,

5'-N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'W'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'N_b'N_a'N_a'N_a'N_a'N_a'-3' ;

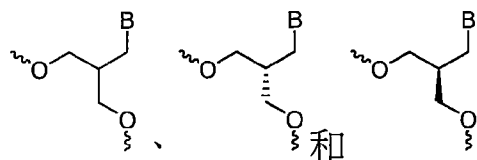
其中，N_a'為 2'-甲氧基修飾的核苷酸，N_b'為 2'-氟修飾的核苷酸；

【0214】 W'表示 2'-甲氧基修飾的核苷酸或包含式 (I) 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸。

【0215】 在一些實施方案中，W'表示 2'-甲氧基修飾的核苷酸。

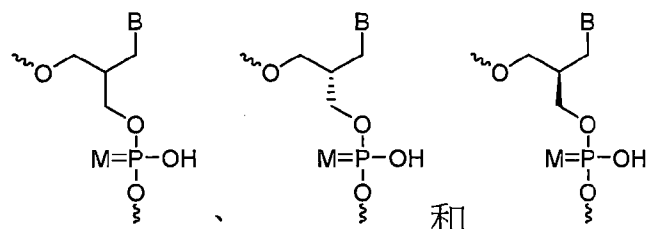
【0216】 在一些實施方案中，W'表示包含式 (I) 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸。

【0217】 在一些實施方案中，式 (I) 所示的化學修飾選自：



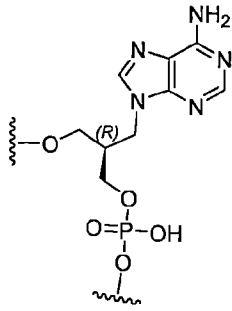
；其中，B 選自鳥嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶；在一些具體的實施方案中，B 與該反義鏈在其 5' 區域的第 7 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0218】 在一些實施方案中，式 (I) 所示的化學修飾選自：



；其中，M 為 O 或 S；其中，B 選自鳥嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶；在一些具體的實施方案中，B 與該反義鏈在其 5' 區域的第 7 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0219】 在一些實施方案中，W'具有以下的結構：



【0220】 在一些具體的實施方案中，M 為 S。一些具體的實施方案中，M 為 O。

【0221】 在一些實施方案中，該有義鏈和/或反義鏈中至少一個磷酸酯基為具有修飾基團的磷酸酯基，該修飾基團使得該 dsRNA 在生物樣品或環境中具有增加的穩定性；在一些實施方案中，該具有修飾基團的磷酸酯基為硫代磷酸酯基。在一些實施方案中，該具有修飾基團的磷酸酯基為硫代磷酸二酯基。

【0222】 在一些實施方案中，該硫代磷酸二酯基存在於以下位置中的至少一處：

該有義鏈的 5'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；

該有義鏈的 5'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；

該反義鏈的 5'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；

該反義鏈的 5'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；

該反義鏈的 3'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；以及

該反義鏈的 3'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間。

【0223】 在一些實施方案中，該有義鏈和/或反義鏈中包括多個硫代磷酸二酯基，該硫代磷酸二酯基存在於：

該有義鏈的 5'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；和，

該有義鏈的 5'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；和，
 該反義鏈的 5'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；和，
 該反義鏈的 5'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；和，
 該反義鏈的 3'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；和，
 該反義鏈的 3'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間。

【0224】 在一些實施方案中，該有義鏈包含或為如下式所示的核苷酸序列：

5'-NmsNmsNmNmNfNmNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-3'，或，
 5'-NmsNmsNmNmNmNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-3'，

其中，Nm 表示 2'-甲氧基修飾的任意核苷酸，例如 2'-甲氧基修飾的 C、G、U、A；Nf 表示 2'-氟修飾的任意核苷酸，例如 2'-氟修飾的 C、G、U、A；

小寫字母 s 表示與該字母 s 左右相鄰的兩個核苷酸之間為硫代磷酸二酯基連接；小寫字母 s 在 3'端第一個時表示與該字母 s 左側相鄰的一個核苷酸末端為硫代磷酸二酯基。

【0225】 在一些實施方案中，該有義鏈包含或為如下式所示的核苷酸序列：

5'-NmsNmsNmNmNmNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-3'，

其中，Nm 表示 2'-甲氧基修飾的任意核苷酸，例如 2'-甲氧基修飾的 C、G、U、A；Nf 表示 2'-氟修飾的任意核苷酸，例如 2'-氟修飾的 C、G、U、A；

小寫字母 s 表示與該字母 s 左右相鄰的兩個核苷酸之間為硫代磷酸二酯基連接；小寫字母 s 在 3'端第一個時表示與該字母 s 左側相鄰的一個核苷酸末端為硫代磷酸二酯基。

【0226】 在一些實施方案中，該反義鏈包含或為如下式所示的核苷酸序列：

5'-Nm'sNf'sNm'Nf'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nf'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nf'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nm'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nf'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nm'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nm'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nm'Nm'Nm'W'Nf'Nf'Nm'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nm'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nm'Nm'Nf'W'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

5'-Nm'sNf'sNm'Nm'Nm'Nm'W'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

或，

5'-Nm'sNf'sNm'Nm'Nm'Nm'W'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'Nf'Nm'Nm'Nm'Nm'Nm'sNm'sNm'-3'；

其中，Nm'表示 2'-甲氧基修飾的任意核苷酸，例如 2'-甲氧基修飾的 C、G、U、A；Nf'表示 2'-氟修飾的任意核苷酸，例如 2'-氟修飾的 C、G、U、A；

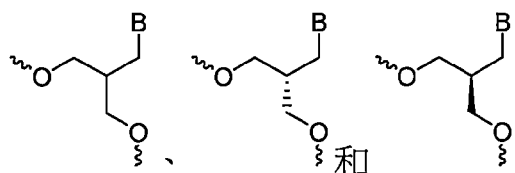
小寫字母 s 表示與該字母 s 左右相鄰的兩個核苷酸之間為硫代磷酸二酯基連接，小寫字母 s 在 3'端第一個時表示與該字母 s 左側相鄰的一個核苷酸末端為硫代磷酸二酯基；

W'表示 2'-甲氧基修飾的核苷酸或包含式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽修飾的核苷酸。

【0227】 在一些實施方案中，W'表示 2'-甲氧基修飾的核苷酸。

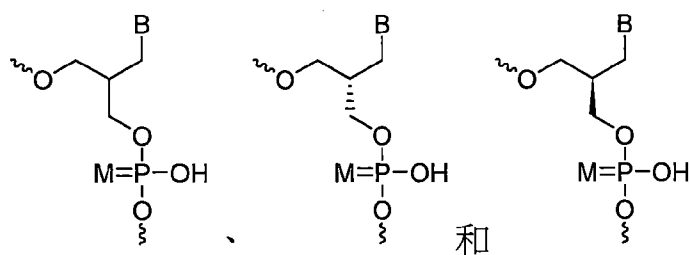
【0228】 在一些實施方案中，W'表示包含式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸。

【0229】 在一些實施方案中，式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾選自：



；其中，B 選自鳥嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶；在一些實施方案中，B 與該反義鏈在其 5' 區域的第 7 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0230】 一些實施方案中，式 (I) 或式 (I') 所示的化學修飾選自：



；其中，M 為 O 或 S；其中，B 選自鳥嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶；在一些具體的實施方案中，B 與該反義鏈在其 5' 區域的第 7 位核苷酸未被修飾時的鹼基相同。

【0231】 在一些實施方案中，M 為 S。在一些具體的實施方案中，M 為 O。

【0232】 在一些實施方案中，該 dsRNA 抑制載脂蛋白 C3 (APOC3) 的表達。

【0233】 在一些實施方案中，該有義鏈包含與 SEQ ID NO:1 的核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸的至少 15 個連續核苷酸，和/或，

該反義鏈包含與 SEQ ID NO:2 的核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸的至少 19 個連續核苷酸；

在一些實施方案中，該有義鏈包含或選自 SEQ ID NO:1 的核苷酸序列，和/或，該反義鏈包含或選自 SEQ ID NO:2 的核苷酸序列。

【0234】 在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈為以下任一方案：

有義鏈包含 5'-UAUUCUCAGUGCUCUCCUZ_{b1}-3' (SEQ ID NO: 21)，反義鏈包含 5'-UAGGAGAGCACUGAGAAUACU-3' (SEQ ID NO: 22)；

或者，有義鏈包含 5'-GCACCGUUAAGGACAAGUZ_{b2}-3' (SEQ ID NO: 23)，反義鏈包含 5'-AACUUGUCCUUAACGGUGCUC-3' (SEQ ID NO: 24)；

其中，Z_{b1} 為 A 或 G；Z_{b2} 為 C 或 U。

【0235】 在一些實施方案中，該 dsRNA 的有義鏈的核苷酸序列包含或選自 SEQ ID NO:3，反義鏈的核苷酸序列包含或選自 SEQ ID NO:5 至 SEQ ID NO:14 中任一的核苷酸序列；

【0236】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為以下任一方案：

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:5 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:6 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:7 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:8 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:9 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:10 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:11 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:12 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:13 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:3 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:14 的核苷酸序列。

【0237】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為以下任一方案：

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:5 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:6 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:7 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:8 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:9 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:10 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:11 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:12 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:13 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:14 所示的核苷酸序列組成。

【0238】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為以下任一方案：

包含 SEQ ID NO:3 所示的有義鏈和 SEQ ID NO:5 至 SEQ ID NO:14 中任一項所示的反義鏈。

【0239】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為以下任一方案：

選自 SEQ ID NO:3 所示的有義鏈和 SEQ ID NO:5 至 SEQ ID NO:14 中任一項所示的反義鏈。

【0240】 本揭露中，按照 5'-3' 方向，

【0241】 SEQ ID NO:3 是

UmsAmsUmUmCmUmCfAfGfUmGmCmUmCmUmCmCmUmAm；

【0242】 SEQ ID NO:5 是

UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUfGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm；

【0243】 SEQ ID NO:6 是

UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUmGmAfGmAfAmUfAmsCmsUm ;

【0244】 SEQ ID NO:7 是

UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUfGmAfGmAfAmUfAmsCmsUm ;

【0245】 SEQ ID NO:8 是

UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUfGmAfGmAfAmUfAmsCmsUm ;

【0246】 SEQ ID NO:9 是

UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUmGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm ;

【0247】 SEQ ID NO:10 是

UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUmGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm ;

【0248】 SEQ ID NO:11 是

UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUmGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm ;

【0249】 SEQ ID NO:12 是

UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUfGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm ;

【0250】 SEQ ID NO:13 是

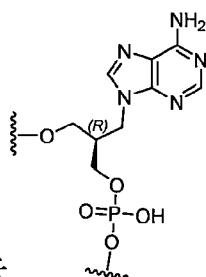
UmsAfsGmGmAmGm(-)hmpNA(A)GfCfAmCmUmGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm ;

【0251】 SEQ ID NO:14 是

UmsAfsGmGmAmGm(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUmGmAfGmAmAmUmAmsCm
sUm ;

其中，Af= 腺嘌呤2'-F核糖核苷 (adenine 2'-F ribonucleoside) ; Cf= 胞嘧啶2'-F核糖核苷 (cytosine 2'-F ribonucleoside) ; Uf= 尿嘧啶2'-F核糖核苷 (uracil 2'-F ribonucleoside) ; Gf= 鳥嘌呤2'-F核糖核苷 (guanine 2'-F ribonucleoside) ; Am = 腺嘌呤2'-OMe核糖核苷 (adenine 2'-OMe ribonucleoside) ; Cm = 胞嘧啶2'-OMe核糖核苷 (cytosine 2'-OMe ribonucleoside) ; Gm = 鳥嘌呤2'-OMe核糖核苷 (guanine 2'-OMe ribonucleoside) ; Um = 尿嘧啶2'-OMe核糖核苷 (uracil 2'-OMe ribonucleoside) ;

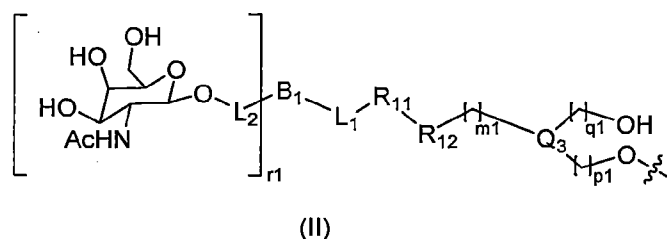
【0252】 s表示與該字母s左右相鄰的兩個核苷酸之間為硫代磷酸二酯基連接；



(-)hmpNA(A)表示

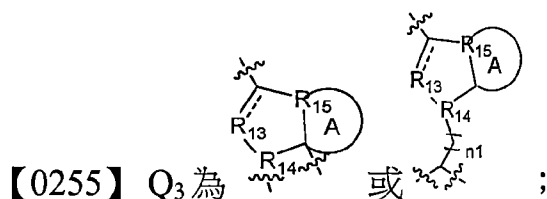
【0253】 在一些實施方案中，該 dsRNA 還包括綴合的配體，該配體選自靶向肝臟的靶向配體；在一些實施方案中，該配體結合脫唾液酸糖蛋白受體 (ASGPR)；在一些實施方案中，該配體包括半乳糖簇或半乳糖衍生物簇，該半乳糖衍生物選自 N-乙醯基-半乳糖胺、N-三氟乙醯基半乳糖胺、N-丙醯基半乳糖胺、N-正丁醯基半乳糖胺或 N-異丁醯基半乳糖胺、或其組合。

【0254】 在一些實施方案中，該 dsRNA 還包括綴合的配體，該配體為如式 (II) 所示化合物或其藥學上可接受的鹽，



其中， L_1 為 C_1 - C_{30} 烷基鏈、或包含被一個或多個氧、硫、氮原子或 $C=O$ 間斷的 C_1 - C_{30} 烷基鏈；

R_{11} 和 R_{12} 獨立地為化學鍵、 NR_{16} 、 $C=O$ 或 $-OC(=O)-$ ；



--- 為單鍵或雙鍵，且當 --- 為單鍵時， R_{13} 獨立地為 $CR_{17}R_{18}$ 、 NR_{16} 、 O 或 S ，當 = 為雙鍵時， R_{13} 獨立地為 CR_{19} 或 N ；

R_{14} 獨立地為 CR_{19} 或 N ；

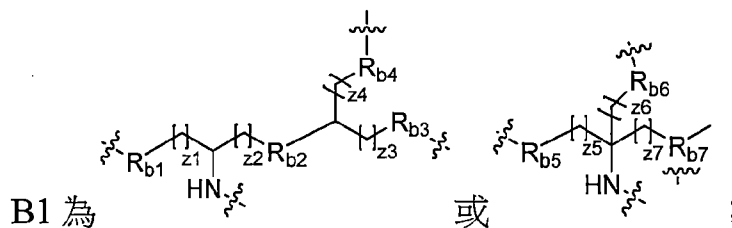
環 A 為存在或不存在的環烷基、雜環烷基、芳基或雜芳基，且當環 A 存在時， R_{15} 獨立地為 CR_{19} 或 N ，當環 A 不存在時， R_{15} 獨立地為 $CR_{17}R_{18}$ 、 NR_{16} 或 O ；

【0256】 R_{16} 和 R_{19} 獨立地為氫、氘、烷基、烷氧基、環烷基、雜環烷基、芳基、雜芳基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'(R'')$ 、 $NR'(R'')$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 或 $C(=O)NR'(R'')$ ，該烷基、烷氧基、環烷基、雜環烷基、芳基或雜芳基視需要被一個或多個選自鹵素、羥基、側氧、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-7} 環烷基、3-12 員雜環烷基、6-12 員芳基、5-12 員雜芳基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'(R'')$ 、 $NR'(R'')$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 和 $C(=O)NR'(R'')$ 中的基團所取代；

【0257】 R_{17} 和 R_{18} 獨立地為氫、氖、烷基、烷氧基、環烷基、雜環烷基、芳基、雜芳基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'(R'')$ 、 $NR'(R'')$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 或 $C(=O)NR'(R'')$ ，該烷基、烷氧基、環烷基、雜環烷基、芳基或雜芳基視需要被一個或多個選自鹵素、羥基、側氧、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-7} 環烷基、3-12 員雜環烷基、6-12 員芳基、5-12 員雜芳基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'(R'')$ 、 $NR'(R'')$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 和 $C(=O)NR'(R'')$ 中的基團所取代；

【0258】 R' 和 R'' 獨立地為氫、氖、羥基、烷基、烷氧基、環烷基、雜環烷基、芳基或雜芳基，該烷基、烷氧基、環烷基、雜環烷基、芳基或雜芳基視需要被一個或多個選自鹵素、羥基、側氧、硝基和氰基中的取代基所取代；

【0259】 m_1 、 n_1 、 p_1 和 q_1 獨立地為 0、1、2、3 或 4；



R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{b4} 、 R_{b5} 、 R_{b6} 和 R_{b7} 獨立地為 $-C(=O)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 或 $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ ；

z_1 、 z_2 、 z_3 、 z_4 、 z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 和 z_9 獨立地為 0-10 的整數；

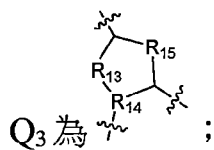
L_2 為 C_1 - C_{30} 烷基鏈、或包含被一個或多個氧、硫、氮原子或 $C=O$ 間斷的 C_1 - C_{30} 烷基鏈；

r_1 為 1-10 的整數。

【0260】 在一些實施方案中， L_1 為 C_1 - C_{30} 烷基鏈、或包含被一個或多個氧、硫、氮原子或 $C=O$ 間斷的 C_1 - C_{30} 烷基鏈；

R_{11} 和 R_{12} 獨立地為化學鍵、 NR_{16} 或 $C=O$ ；

R_{16} 為氫或 C_{1-6} 烷基；



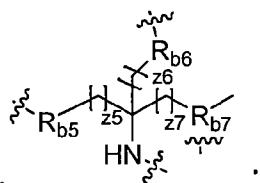
R_{13} 為 $CR_{17}R_{18}$ 、 NR_{16} 、 O 或 S ；

R_{14} 為 CR_{19} ；

R_{15} 獨立地為 $CR_{17}R_{18}$ 、 NR_{16} 或 O ；

R_{17} 至 R_{19} 獨立地為氫、氖或烷基；

m_1 、 p_1 和 q_1 獨立地為 0、1、2、3 或 4；



【0261】 B_1 為

R_{b5} 、 R_{b6} 和 R_{b7} 獨立地為 $-C(=O)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 或 $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ ；

z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 和 z_9 獨立地為 0-10 的整數；

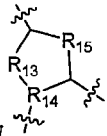
L_2 為 C_1 - C_{30} 烷基鏈、或包含被一個或多個氧、硫、氮原子或 $C=O$ 間斷的 C_1 - C_{30} 烷基鏈；

r_1 為 1-10 的整數。

【0262】 在一些實施方案中， L_1 為 $-(CH_2)_{j11}-C(=O)-(CH_2)_{j12}-$ ；

R_{11} 和 R_{12} 獨立地為化學鍵、 NR_{16} 或 $C=O$ ；

R_{16} 為氫或 C_{1-6} 烷基；



【0263】 Q_3 為

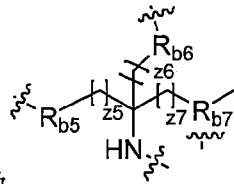
【0264】 R_{13} 為 $CR_{17}R_{18}$ 或 O ；

【0265】 R_{14} 為 CR_{19} ；

【0266】 R_{15} 獨立地為 $CR_{17}R_{18}$ 或 O ；

【0267】 R_{17} 至 R_{19} 獨立地為氫或烷基 ；

【0268】 m_1 、 p_1 和 q_1 獨立地為 0 或 1 ；



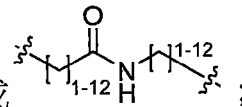
【0269】 B_1 為

【0270】 R_{b5} 、 R_{b6} 和 R_{b7} 獨立地為 $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 或 $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-$

O- ；

【0271】 z_8 和 z_9 獨立地為 0-10 的整數 ；

【0272】 L_2 為 $-(CH_2)_{j15}-(OCH_2CH_2)_{1-4}-(CH_2)_{j16}-$ 或

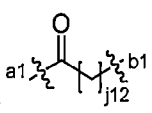


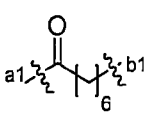
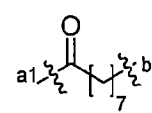
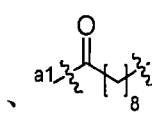
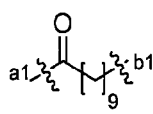
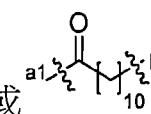
【0273】 j_{15} 和 j_{16} 獨立地為 0-4 的整數 ；

【0274】 r_1 為 3、4、5 或 6 。

【0275】 在一些實施方案中， L_1 可為 L_3 或 $L_3-R_{110}-R_{111}-L_3$ ，其中， L_3 獨立地為 C_1-C_{12} 烷基鏈、 $-(CH_2)_{j11}-C(=O)-(CH_2)_{j12}-$ 或 $-(CH_2)_{j13}-(CH_2CH_2O)_{1-4}-(CH_2)_{j14}-$ ， R_{110} 和 R_{111} 獨立地為化學鍵、 $-NR_{112}-$ 、 $-C(=O)-$ 或 $-OC(=O)-$ ， R_{112} 為氫或 C_1-C_{12} 烷基， j_{11} 、 j_{12} 、 j_{13} 和 j_{14} 獨立地為 0-10 的整數。在一些實施方案中， j_{11} 、 j_{12} 、 j_{13} 和 j_{14} 獨立地為 0-2 或 4-10 的整數。在一些實施方案中， j_{11} 、 j_{12} 、 j_{13} 和 j_{14} 獨立地為 0、1、2、6、7、8、9 或 10。

【0276】 在一些實施方案中， L_1 可為 $-(CH_2)_{j11}-C(=O)-(CH_2)_{j12}-$ ， $j11$ 和 $j12$ 的定義同前任一方案所述。

【0277】 在一些實施方案中， L_1 可為 ， $j12$ 的定義同前任一方案所述，其中， $a1$ 端與 B_1 相連， $b1$ 端與 R_{11} 相連。

【0278】 在一些實施方案中， L_1 可為 、、、 或 ，其中， $a1$ 端與 B_1 相連， $b1$ 端與 R_{11} 相連。

【0279】 在一些實施方案中， R_{11} 可為化學鍵且 R_{12} 可為 $C=O$ 。

【0280】 在一些實施方案中， R_{11} 可為化學鍵且 R_{12} 可為 NR_{16} ， R_{16} 的定義同前任一方案所述。

【0281】 在一些實施方案中， R_{11} 可為化學鍵且 R_{12} 可為 $-OC(=O)-$ 。

【0282】 在一些實施方案中， R_{11} 可為 NR_{16} 且 R_{12} 可為 $C=O$ ， R_{16} 的定義同前任一方案所述。

【0283】 在一些實施方案中， R_1 可為 NR_{16} 且 R_{12} 可為 $-OC(=O)-$ ， R_{16} 的定義同前任一方案所述。

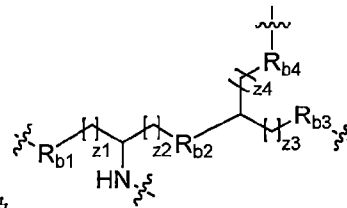
【0284】 在一些實施方案中， R_{12} 可為 NR_{16} 且 R_{11} 可為 $C=O$ ， R_{16} 的定義同前任一方案所述。

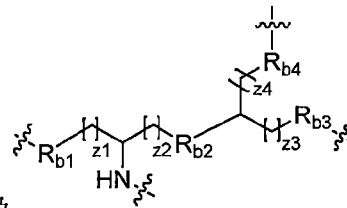
【0285】 在一些實施方案中， R_{12} 可為 NR_{16} 且 R_{11} 可為 $-OC(=O)-$ ， R_{16} 的定義同前任一方案所述。

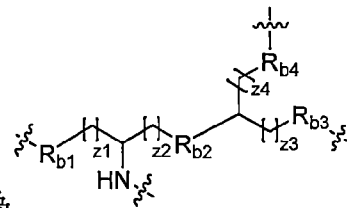
【0286】 在一些實施方案中， R_{11} 可為 NH 且 R_{12} 可為 $C=O$ 。

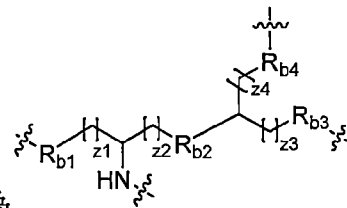
【0287】 在一些實施方案中， R_{12} 可為 NH 且 R_{11} 可為 $C=O$ 。

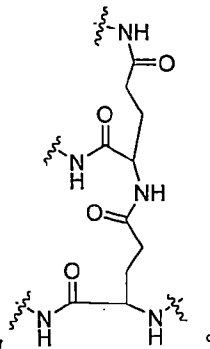
- 【0288】 在一些實施方案中， R_{16} 可為氫或 C_{1-6} 烷基。
- 【0289】 在一些實施方案中， R_{16} 可為氫、甲基、乙基、丙基或異丙基。
- 【0290】 在一些實施方案中， R_{16} 可為氫。
- 【0291】 在一些實施方案中， R_{17} 和 R_{18} 可為氫。
- 【0292】 在一些實施方案中， R_{19} 可為氫。
- 【0293】 在一些實施方案中，環 A 存在時，環 A 可為 C_{6-12} 芳基。
- 【0294】 在一些實施方案中，環 A 可為苯基。
- 【0295】 在一些實施方案中， m_1 可為 0 或 1。
- 【0296】 在一些實施方案中， m_1 可為 3。
- 【0297】 在一些實施方案中， n_1 可為 0 或 1。
- 【0298】 在一些實施方案中， p_1 和 q_1 獨立地為 0 或 1。
- 【0299】 在一些實施方案中， $p_1=1$ 且 $q_1=1$ 。
- 【0300】 在一些實施方案中， $p_1=1$ 且 $q_1=0$ 。
- 【0301】 在一些實施方案中， $p_1=0$ 且 $q_1=1$ 。
- 【0302】 在一些實施方案中， $p_1=0$ 且 $q_1=0$ 。
- 【0303】 在一些實施方案中， z_1 、 z_2 、 z_3 、 z_4 、 z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 和 z_9 可獨立地為 0-4 的整數。在一些實施方案中， z_1 、 z_2 、 z_3 、 z_4 、 z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 和 z_9 可獨立地為 0、1 或 2。

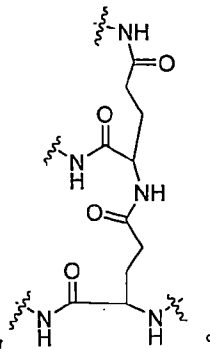


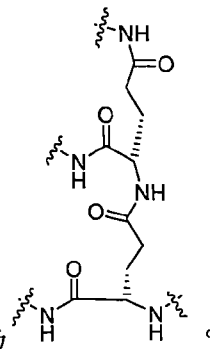
【0304】 在一些實施方案中， B_1 可為 ， R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 和 R_{b4} 獨立地為 $-C(=O)-$ 或 $-NHC(=O)-$ ，N 原子與 L_1 相連， z_1 、 z_2 、 z_3 和 z_4 的定義同前任一方案所述。

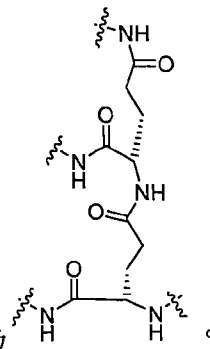


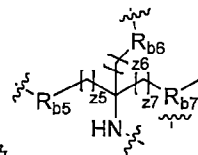
【0305】 在一些實施方案中， B_1 可為 ， R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 和 R_{b4} 獨立地為 $-C(=O)-$ 或 $-NHC(=O)-$ ，N 原子與 L_1 相連， R_{b1} 、 R_{b3} 和 R_{b4} 相同， z_1 、 z_2 、 z_3 和 z_4 的定義同前任一方案所述。

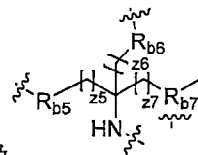


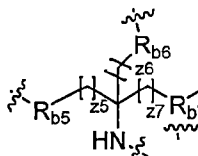
【0306】 在一些實施方案中， B_1 可為 。

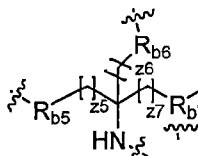


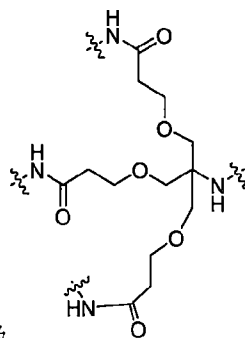
【0307】 在一些實施方案中， B_1 可為 。



【0308】 在一些實施方案中， B_1 可為 ， R_{b5} 、 R_{b6} 和 R_{b7} 獨立地為 $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 或 $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ ，N 原子與 L_1 相連， $z5$ 、 $z6$ 、 $z7$ 、 $z8$ 和 $z9$ 的定義同前任一方案所述。



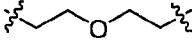
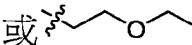
【0309】 在一些實施方案中， B_1 可為 ， R_{b5} 、 R_{b6} 和 R_{b7} 獨立地為 $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 或 $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ ，N 原子與 L_1 相連， R_{b5} 、 R_{b6} 和 R_{b7} 相同， $z5$ 、 $z6$ 、 $z7$ 、 $z8$ 和 $z9$ 的定義同前任一方案所述。

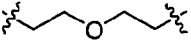


【0310】 在一些實施方案中， B_1 可為 。

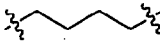
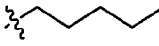
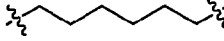
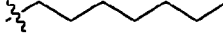
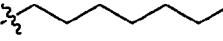
【0311】 在一些實施方案中， L_2 可為 L_4 或 $L_4-R_{13}-R_{14}-L_4$ ，其中， L_4 獨立地為 C_1-C_{12} 烷基鏈或 $-(CH_2)_{j15}-(OCH_2CH_2)_{1-4}-(CH_2)_{j16}-$ ， R_{13} 和 R_{14} 獨立地為化學鍵、 $-NR_{115}-$ 、 $-C(=O)-$ 或 $-OC(=O)-$ ， R_{115} 獨立地為氫或 C_1-C_{12} 烷基， $j15$ 和 $j16$ 獨立地為 0-10 的整數。在一些實施方案中， $j15$ 和 $j16$ 獨立地為 0-6 的整數。在一些實施方案中， $j15$ 和 $j16$ 獨立地為 0、1、2、3 或 4。

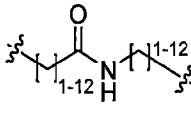
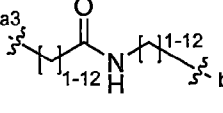
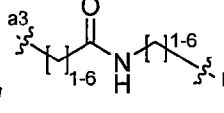
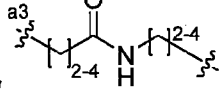
【0312】 在一些實施方案中， L_2 可為 $-(CH_2)_{j15}-(OCH_2CH_2)_{1-4}-(CH_2)_{j16}-$ ， $j15$ 和 $j16$ 的定義同前任一方案所述。

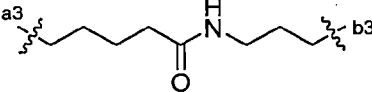
【0313】 在一些實施方案中， L_2 可為  或 。

在一些實施方案中， L_2 可為 ，其中，左側與 O 原子相連，右側與 B_1 相連。

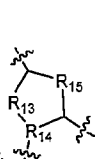
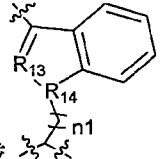
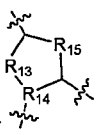
【0314】 在一些實施方案中， L_2 可為 C_1 - C_{12} 烷基鏈。

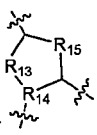
【0315】 在一些實施方案中， L_2 可為 、、、 或 。

【0316】 在一些實施方案中， L_2 可為 。在一些實施方案中， L_2 可為 。在一些實施方案中， L_2 可為 。在一些實施方案中， L_2 可為 。其中， a_3 端與 O 原子相連， b_3 端與 B_1 相連。

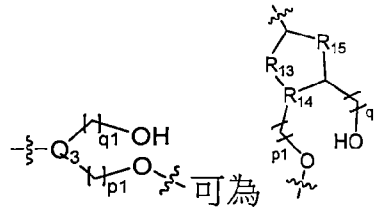
【0317】 在一些實施方案中， L_2 可為 ，其中， a_3 端與 O 原子相連， b_3 端與 B_1 相連。

【0318】 在一些實施方案中， r_1 可為 3、4、5 或 6。在一些實施方案中， r_1 可為 3。

【0319】 在一些實施方案中， Q_3 可為  或 。在一些實施方案中， Q_3 可為 。其中， R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 和 n_1 的定義同前任一方案所述。

中， Q_3 可為 。其中， R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 和 n_1 的定義同前任一方案所述。

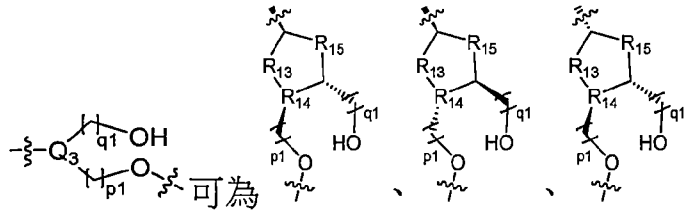
【0320】 在一些實施方案中，

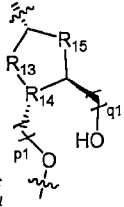


，其中，R₁₃、R₁₄、

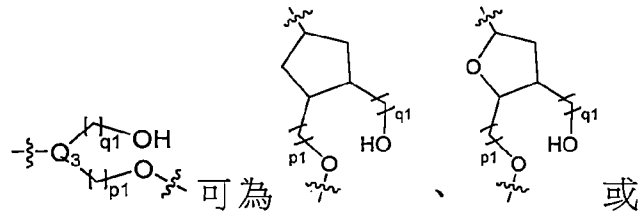
R₁₅、p1 和 q1 的定義同前任一方案所述。

【0321】 在一些實施方案中，

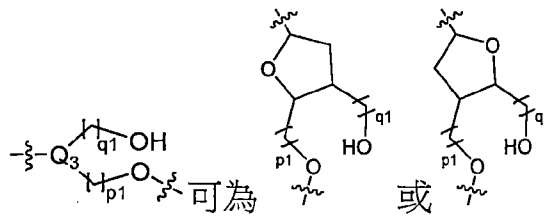


或  ，其中，R₁₃、R₁₄、R₁₅、p1 和 q1 的定義同前任一方案所述。

【0322】 在一些實施方案中，

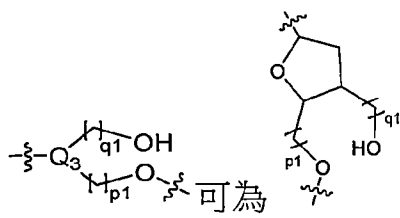


。在一些實施方案中，



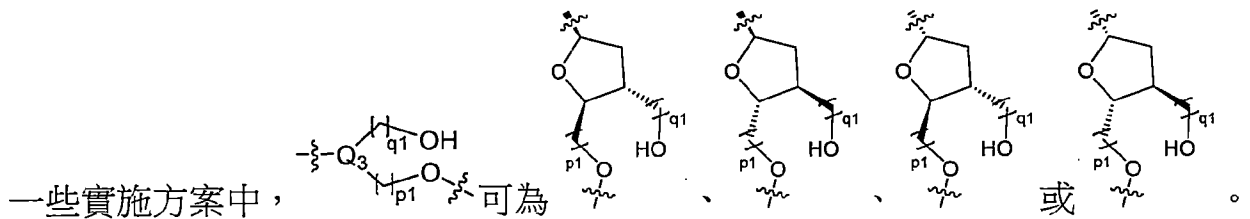
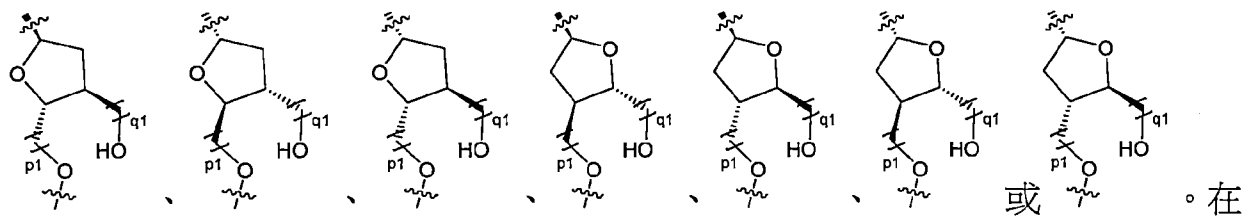
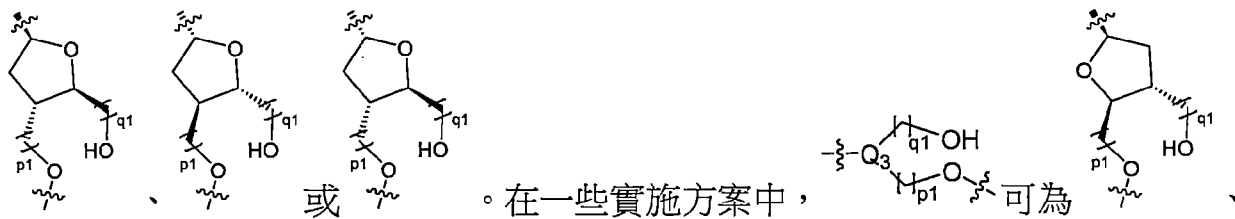
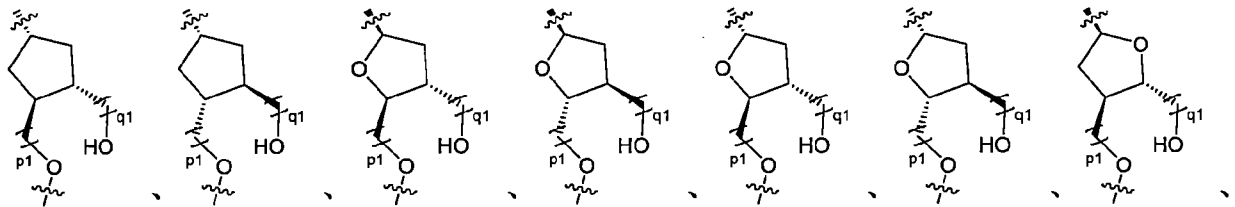
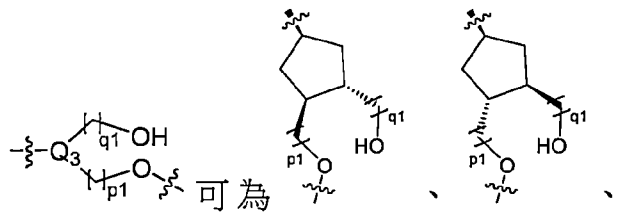
。在一些實施

方案中，



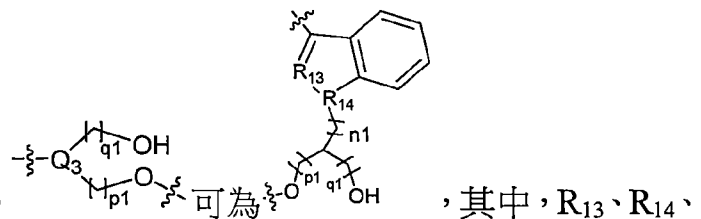
。p1 和 q1 的定義同前任一方案所述。

【0323】 在一些實施方案中，



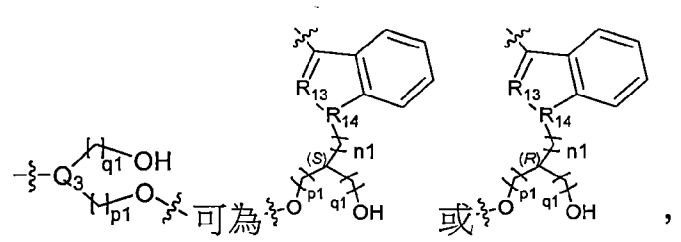
p1 和 q1 的定義同前任一方案所述。

【0324】 在一些實施方案中，



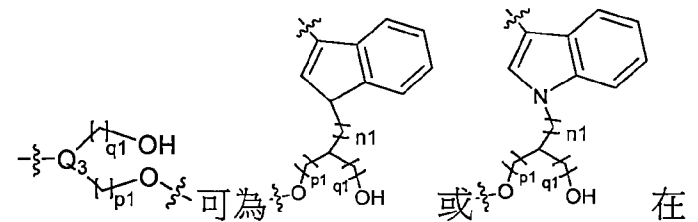
n1、p1 和 q1 的定義同前任一方案所述。

【0325】 在一些實施方案中，

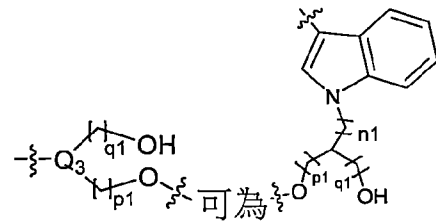


其中， R_{13} 、 R_{14} 、 n_1 、 p_1 和 q_1 的定義同前任一方案所述。

【0326】 在一些實施方案中，

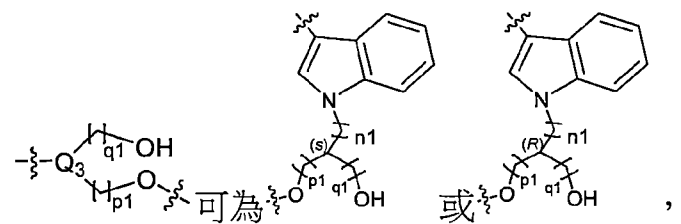


一些實施方案中，



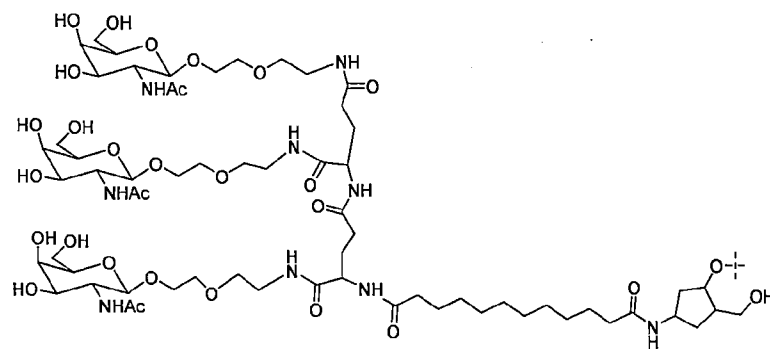
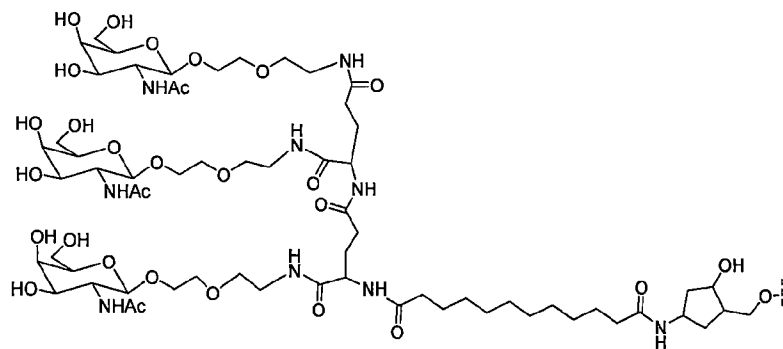
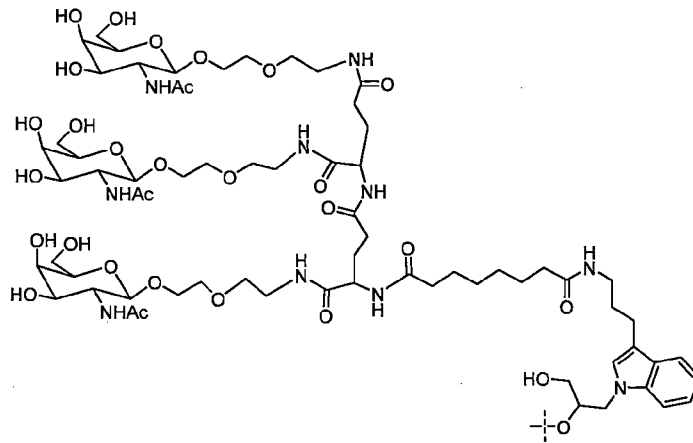
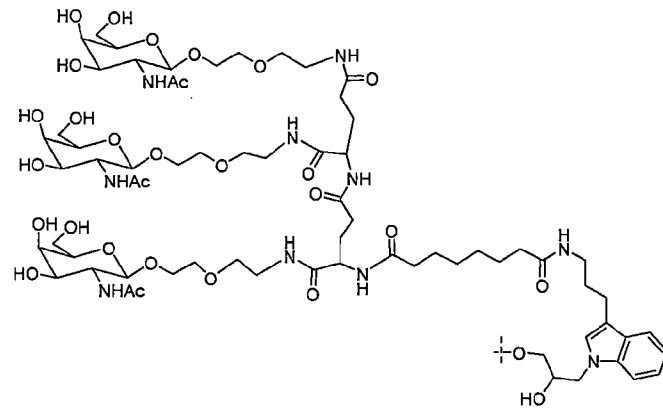
案所述。

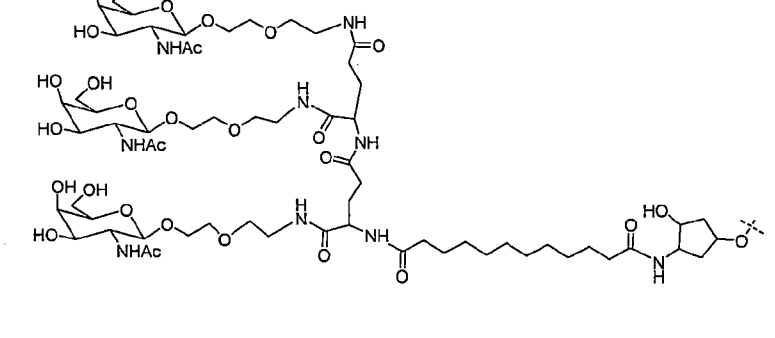
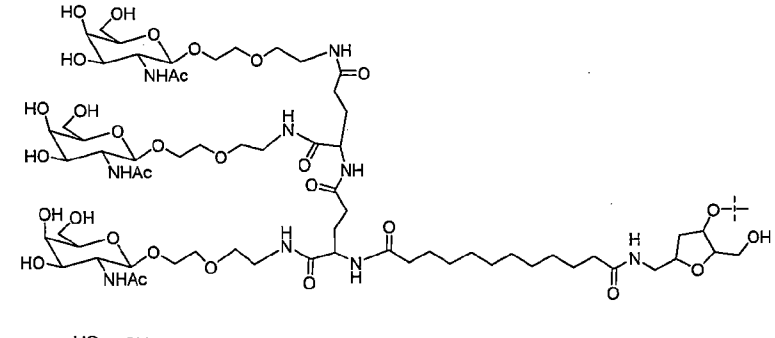
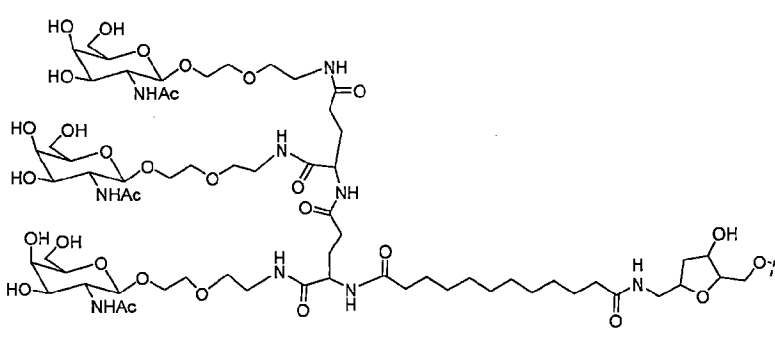
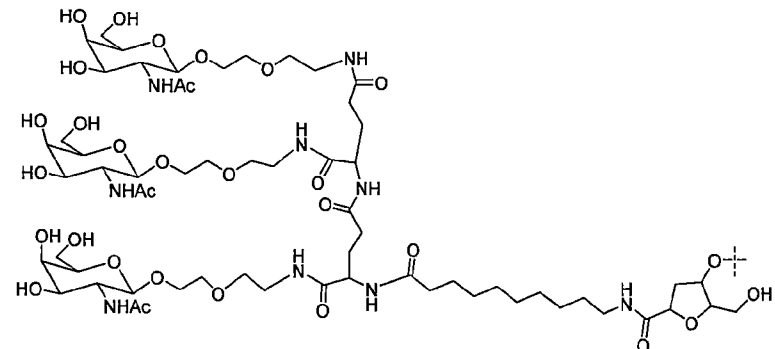
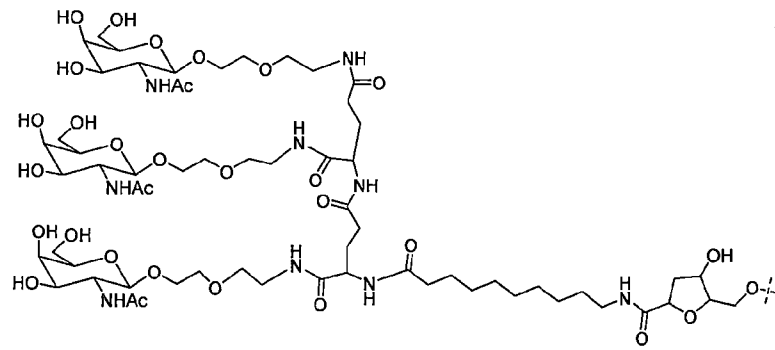
【0327】 在一些實施方案中，

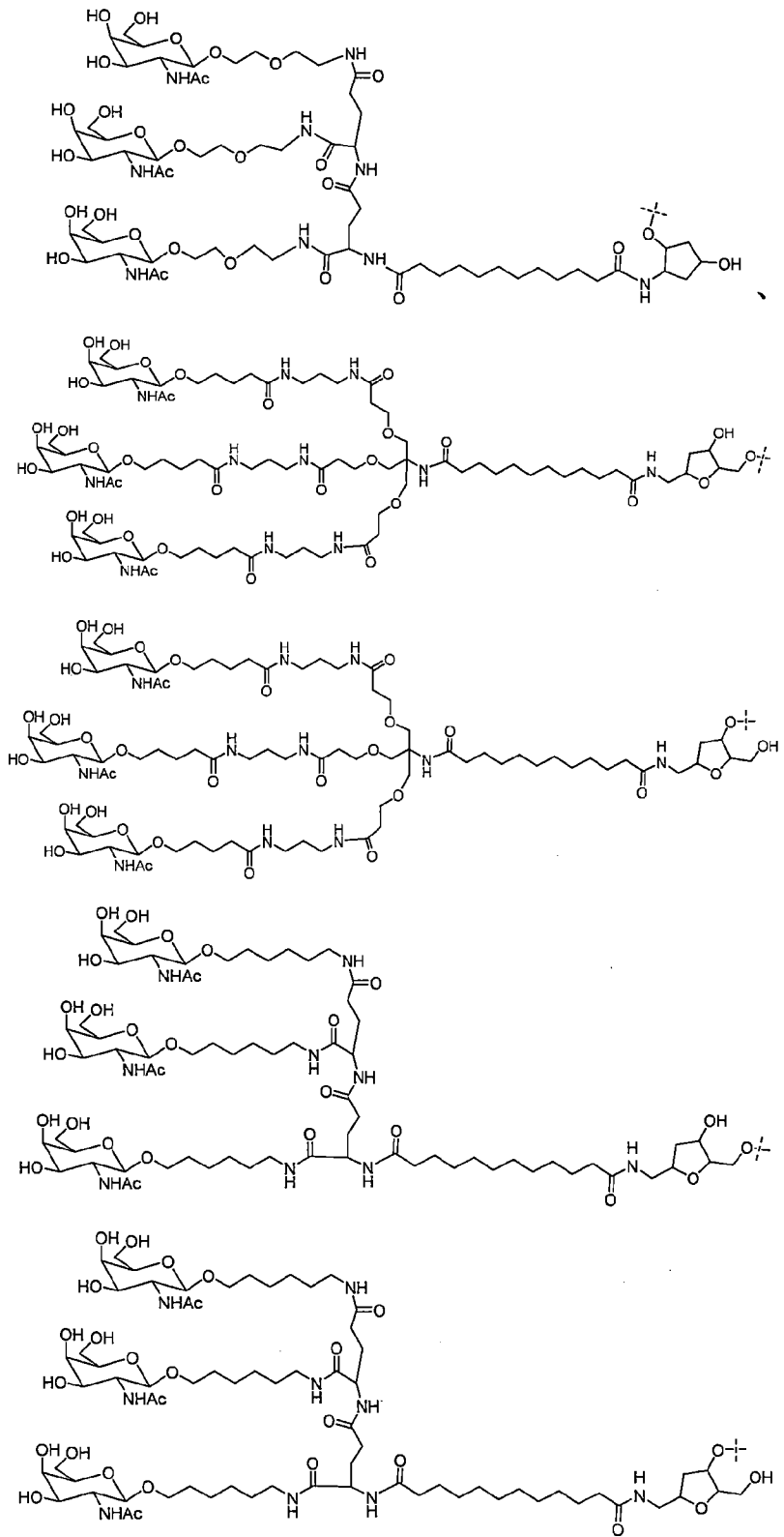


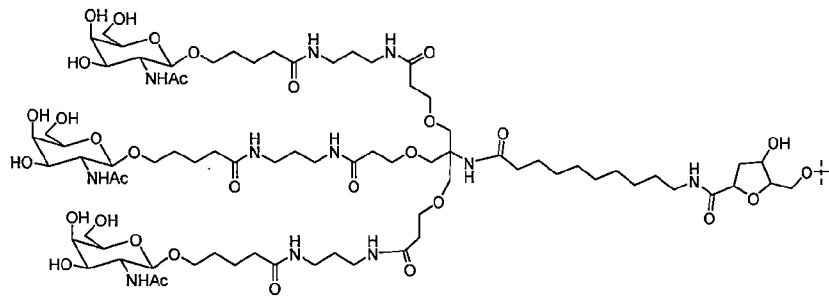
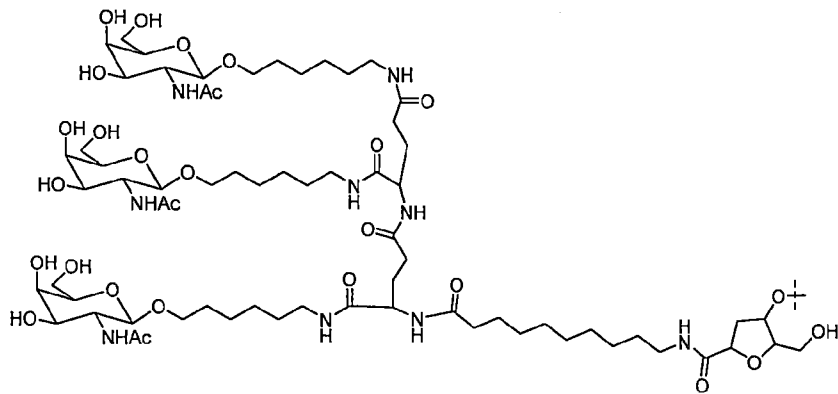
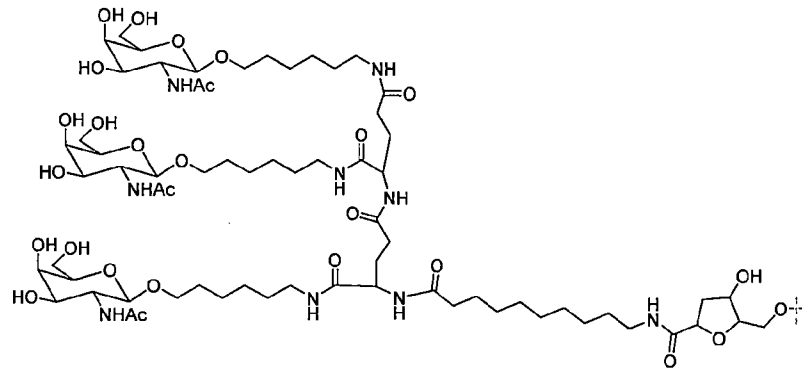
n_1 、 p_1 和 q_1 的定義同前任一方案所述。

【0328】 在一些實施方案中，該配體可為以下任一結構或其藥學上可接受的鹽，

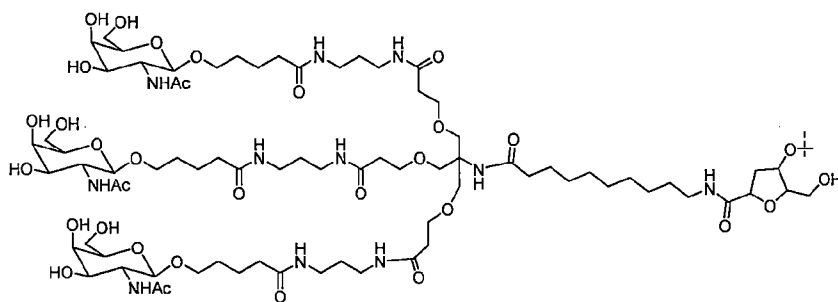




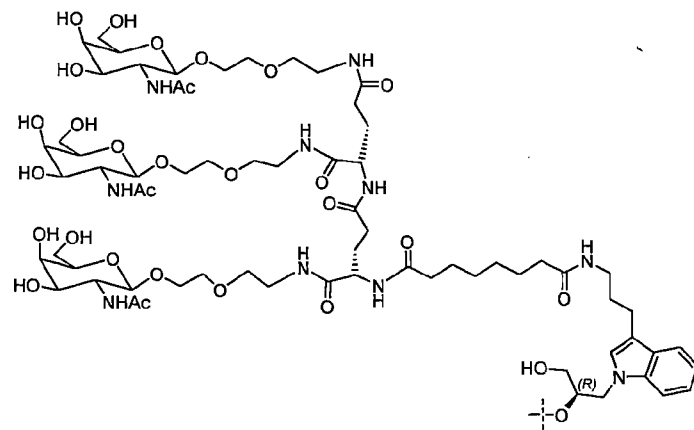
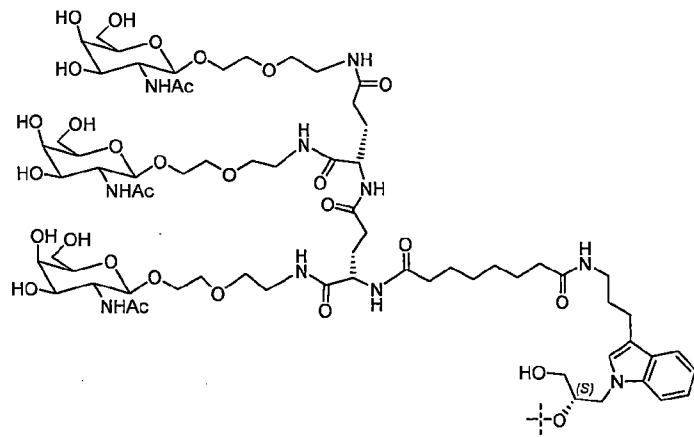
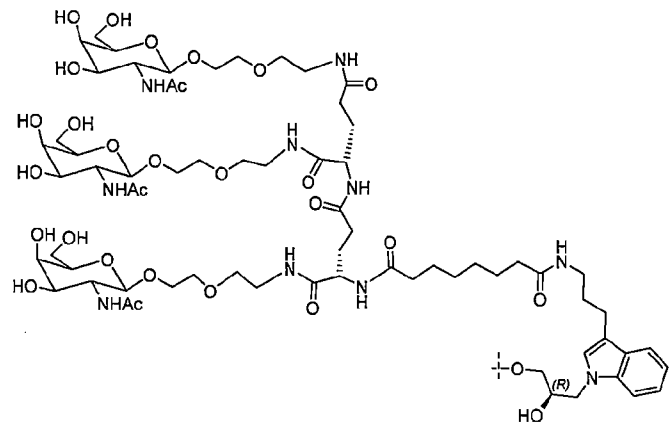
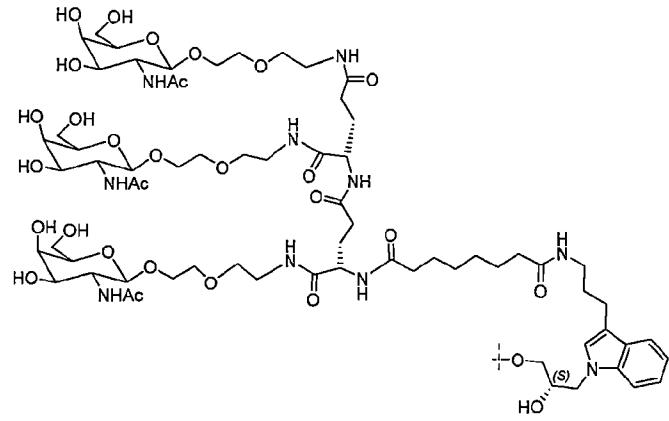


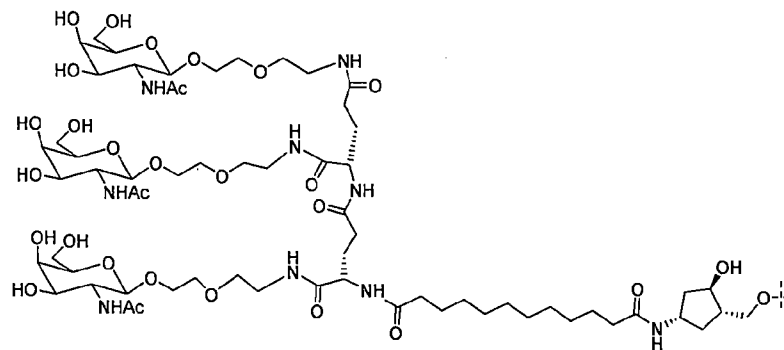
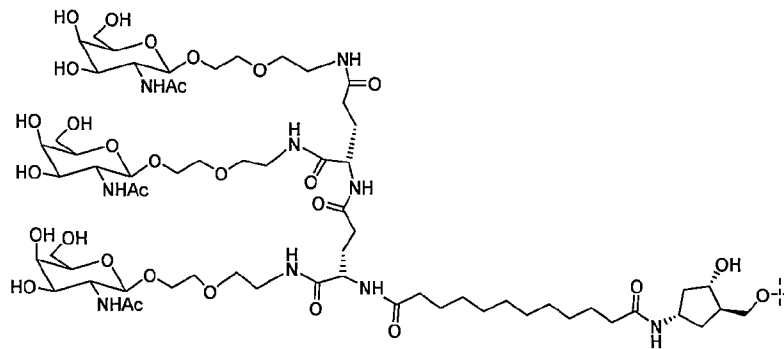
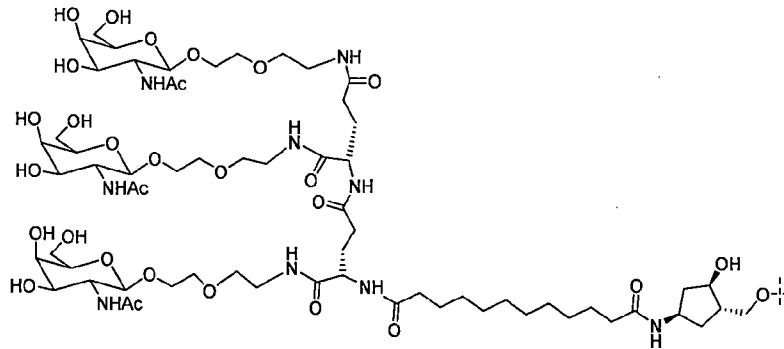
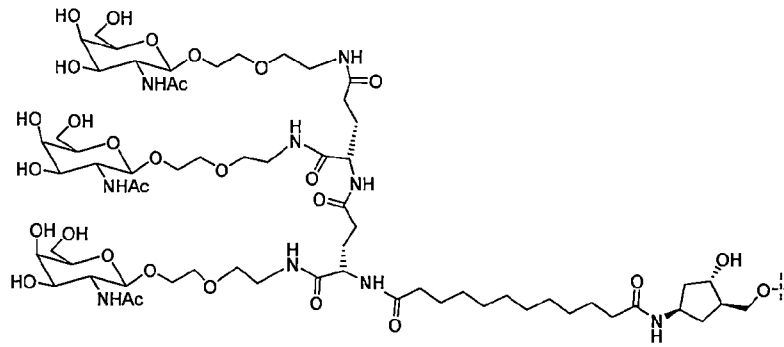


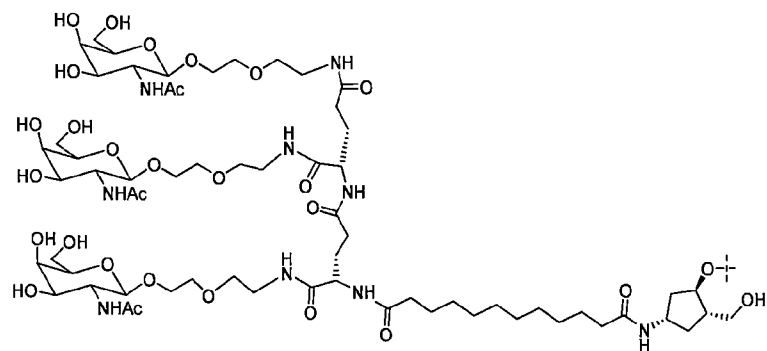
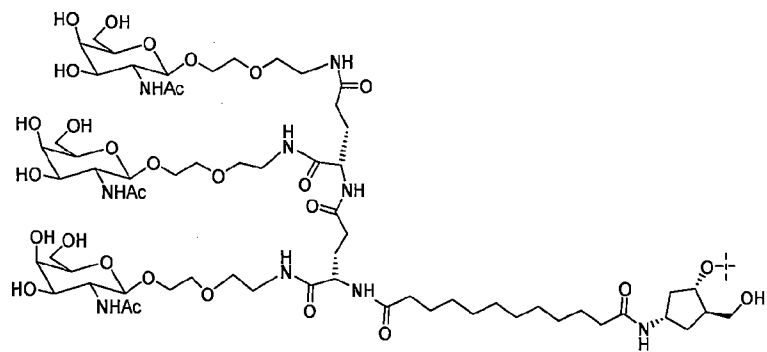
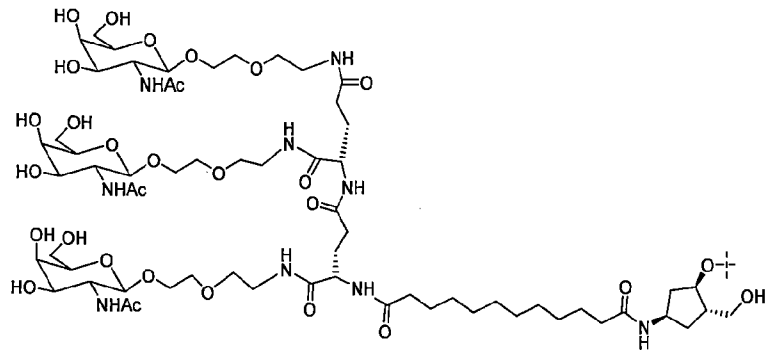
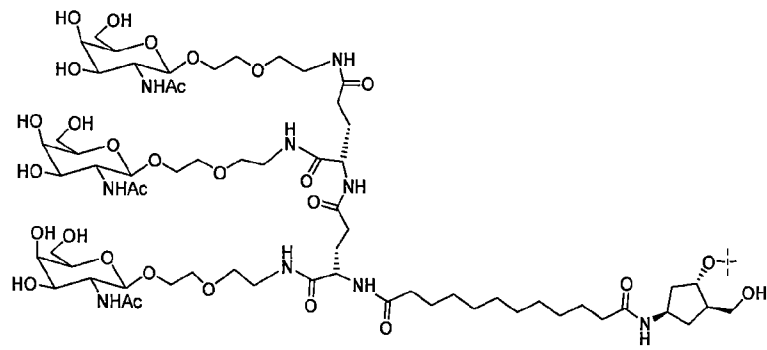
或

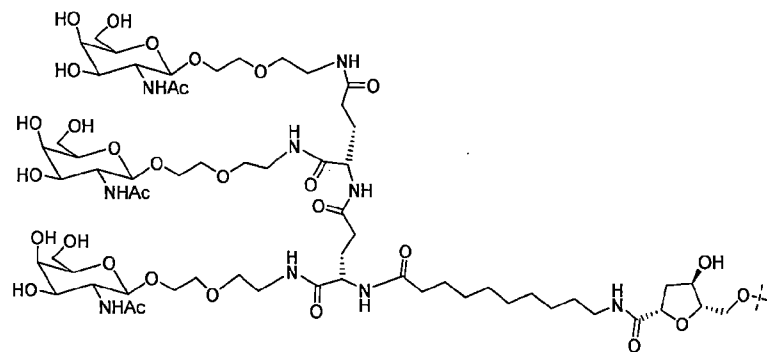
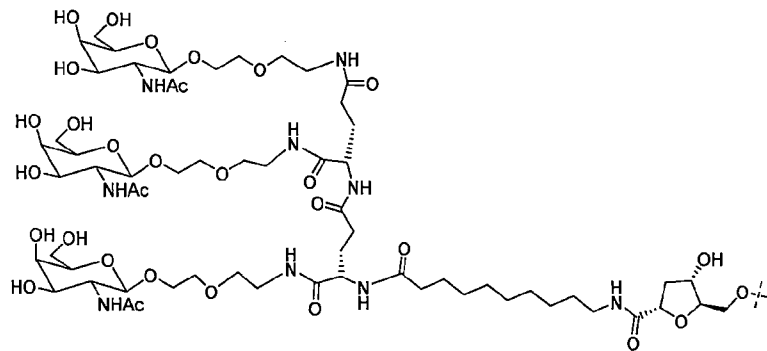
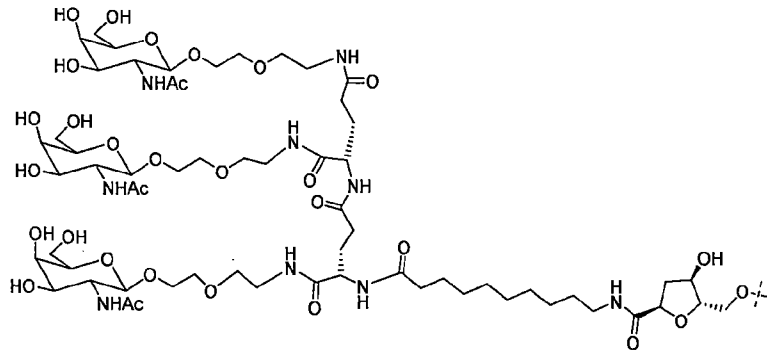
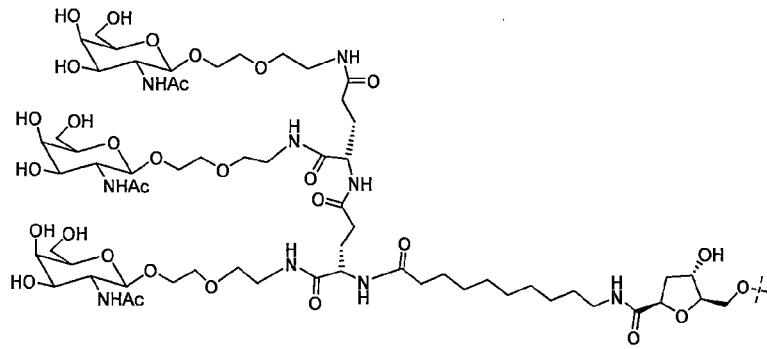


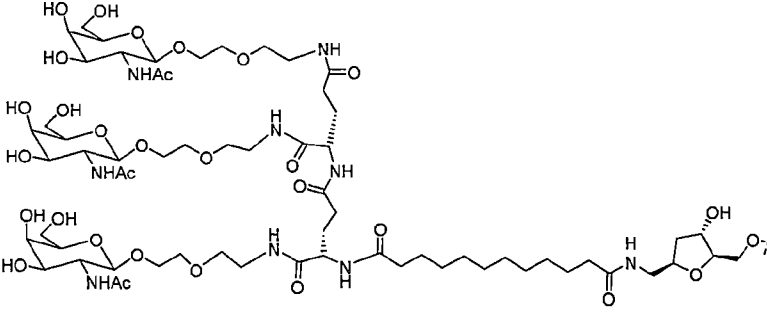
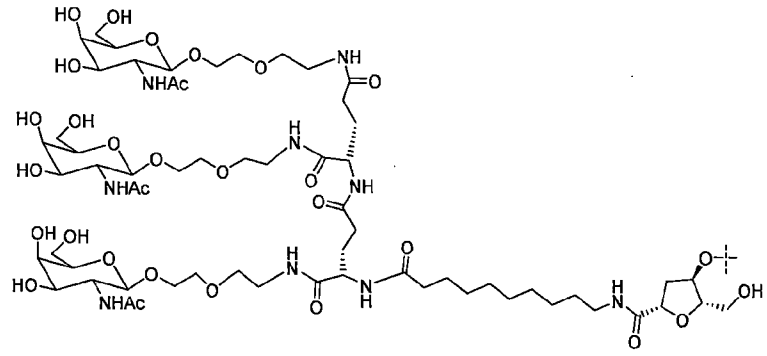
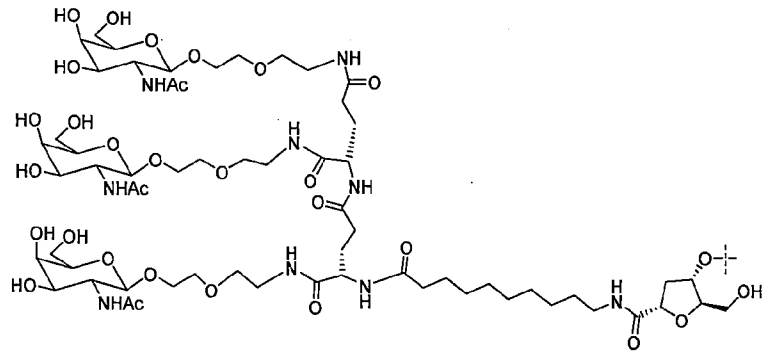
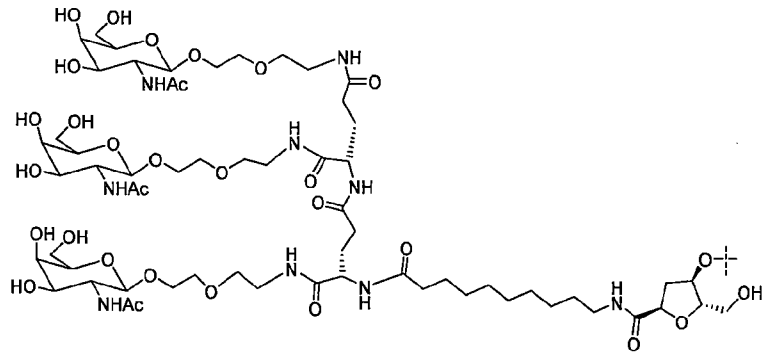
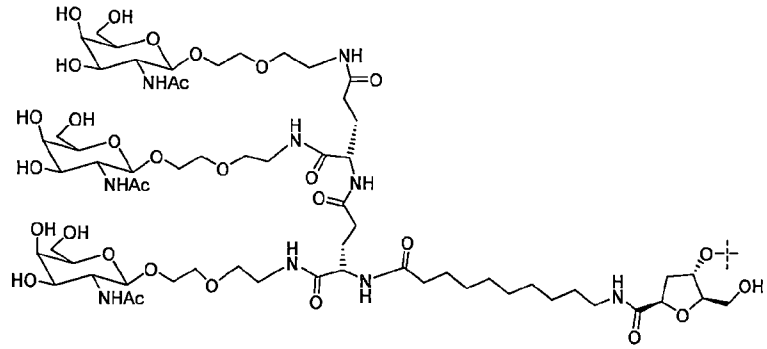
【0329】 在一些實施方案中，該配體可為以下任一結構或其藥學上可接受的鹽，

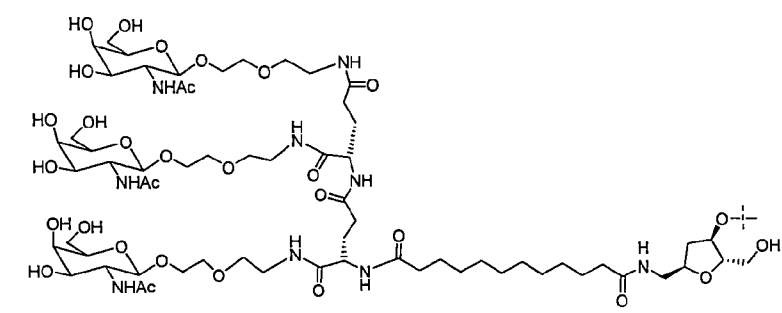
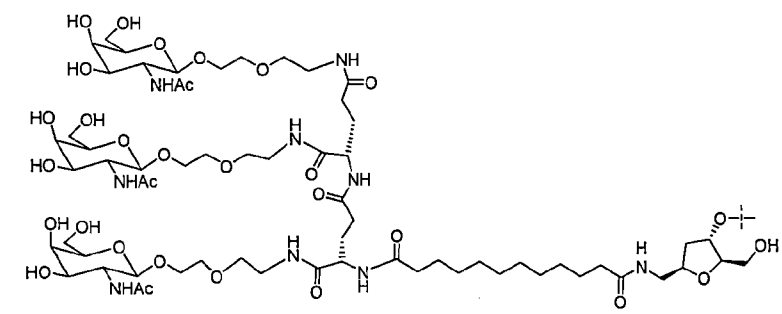
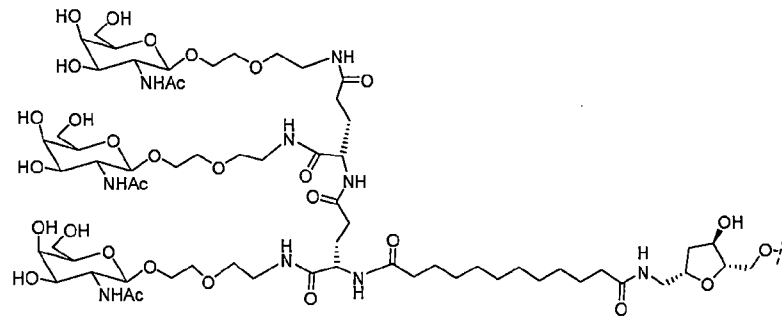
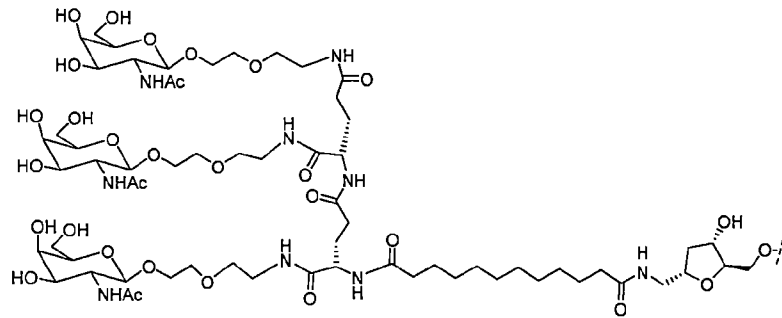
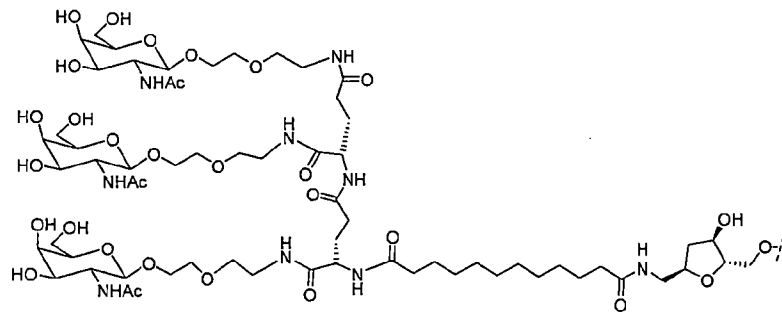


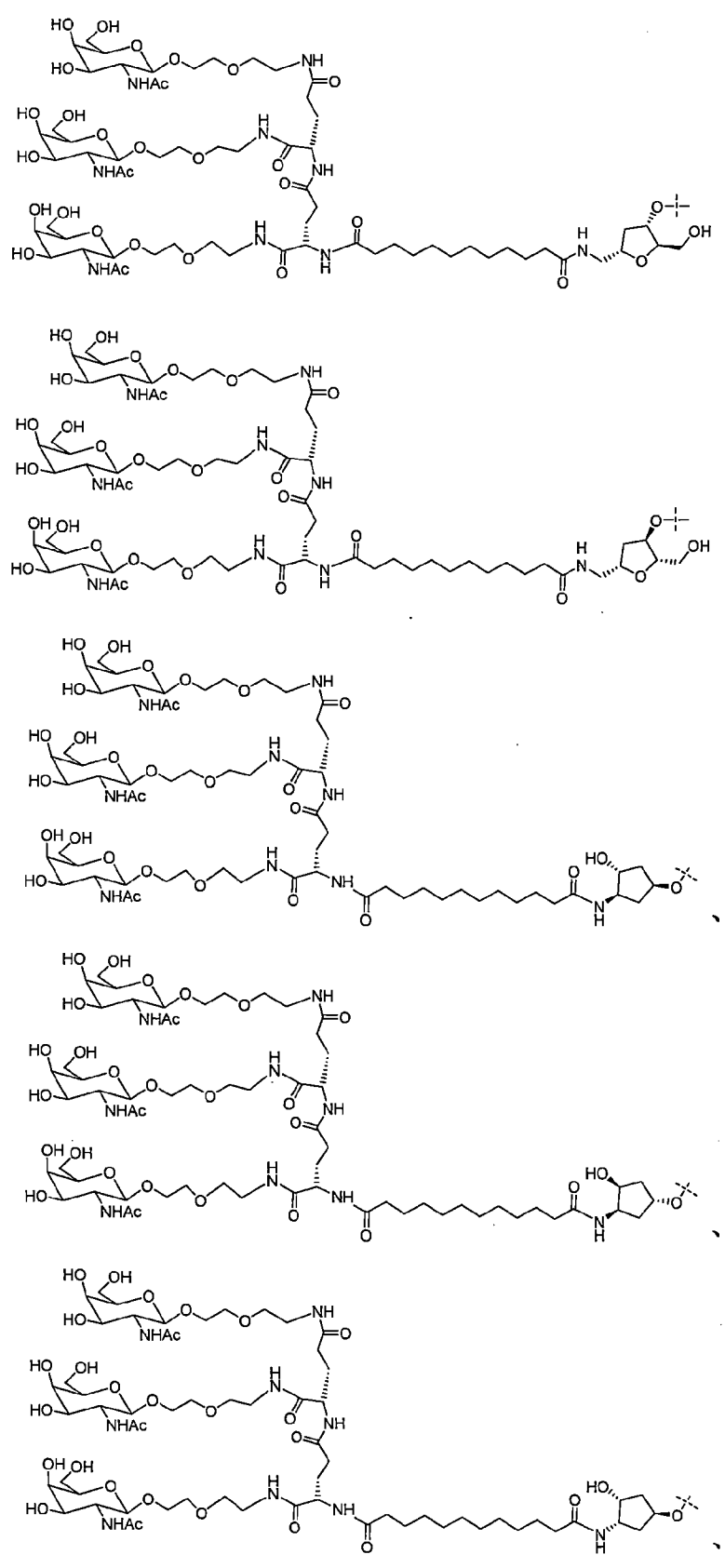


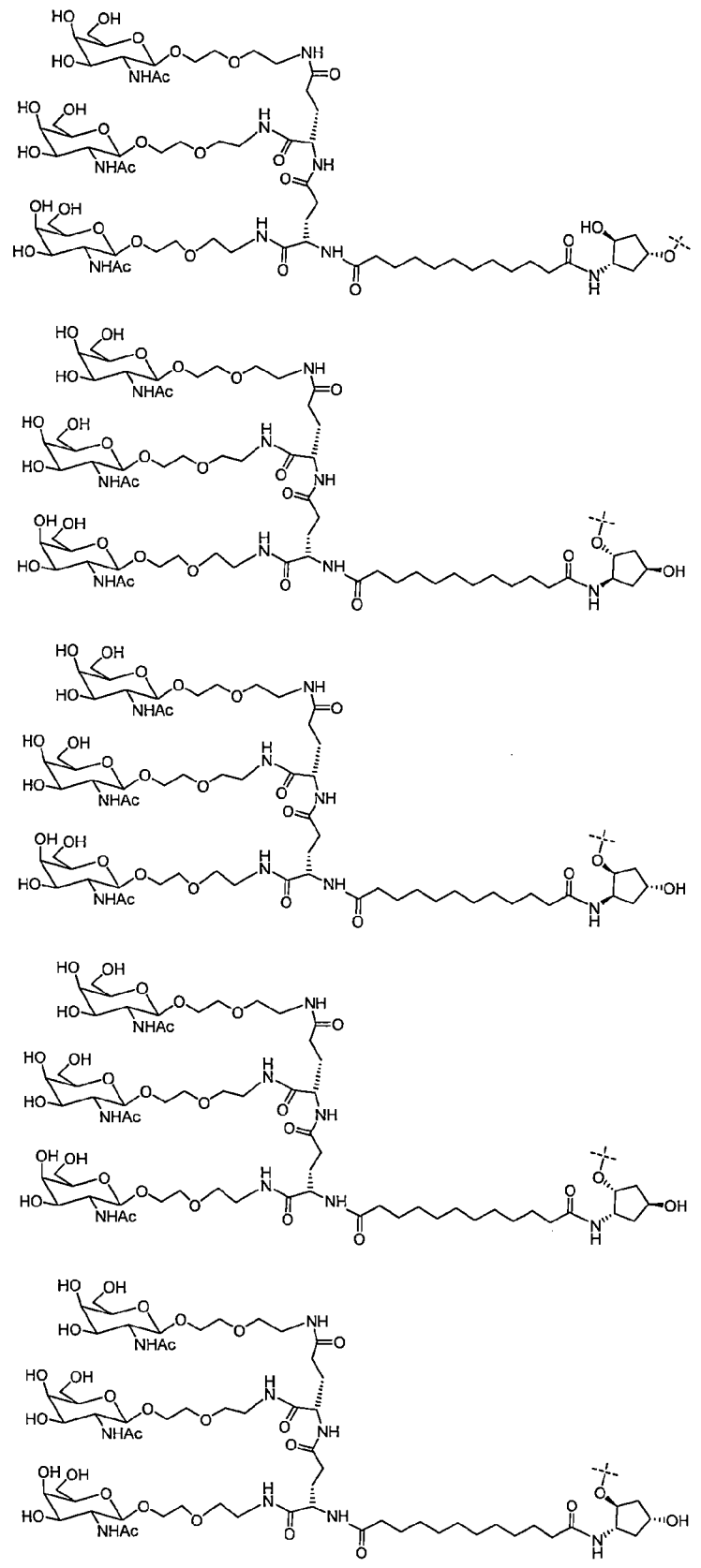


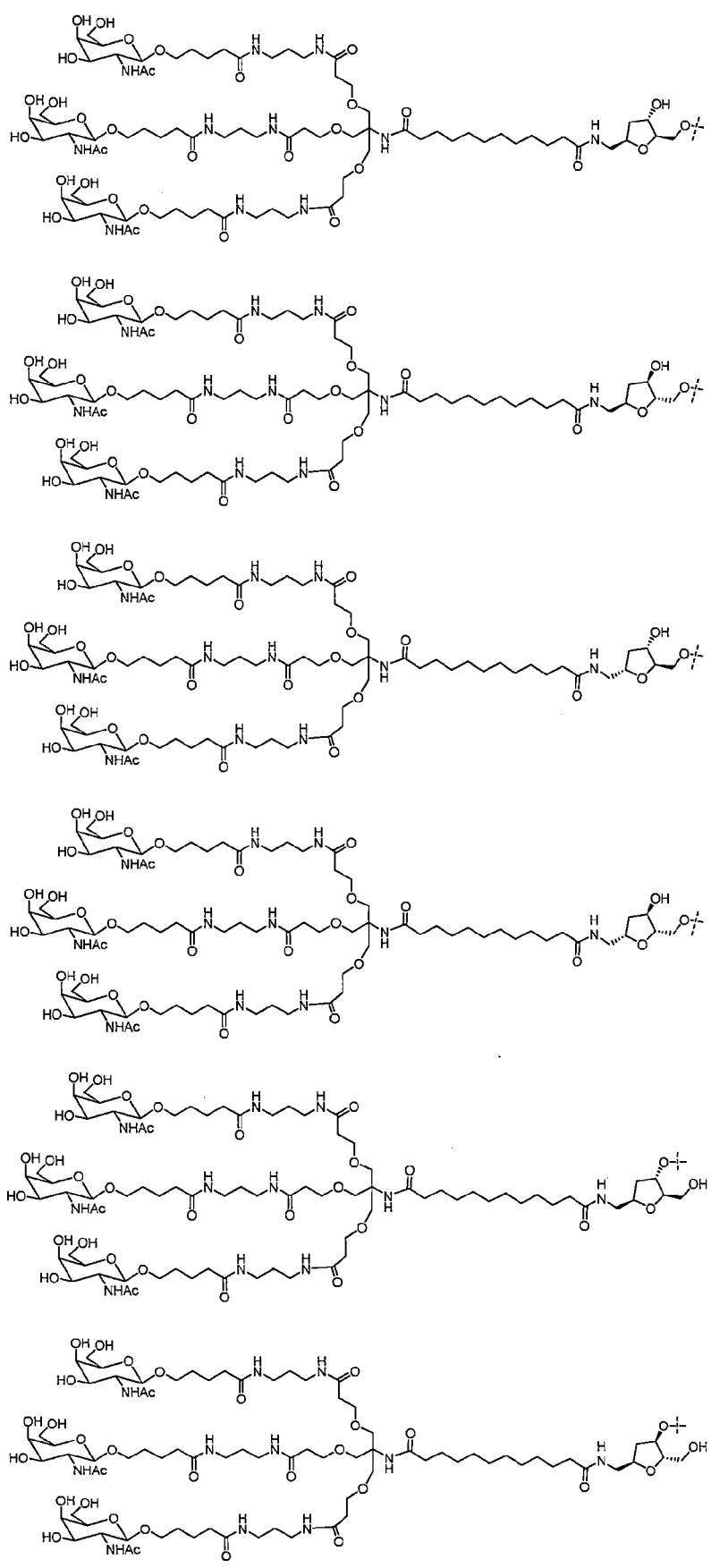


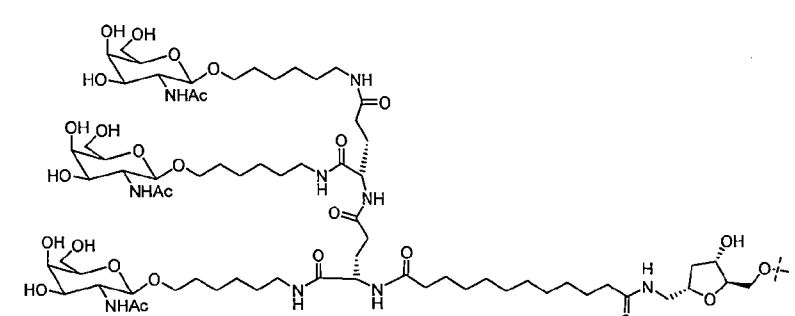
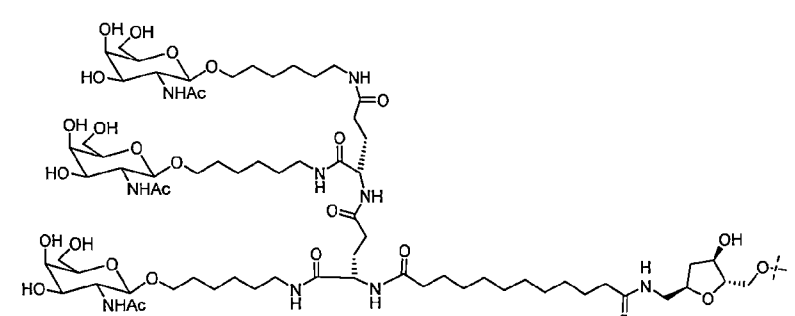
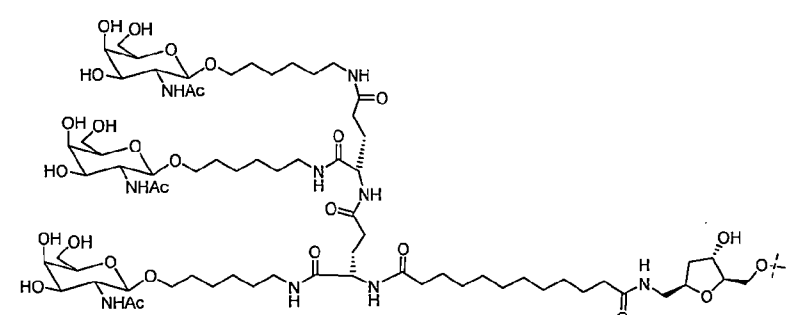
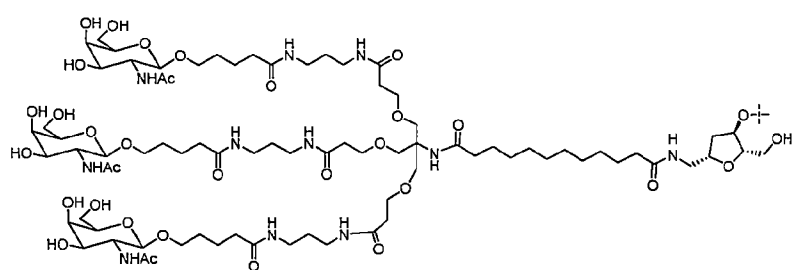
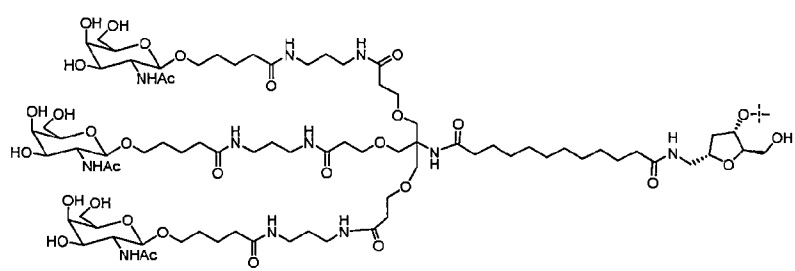


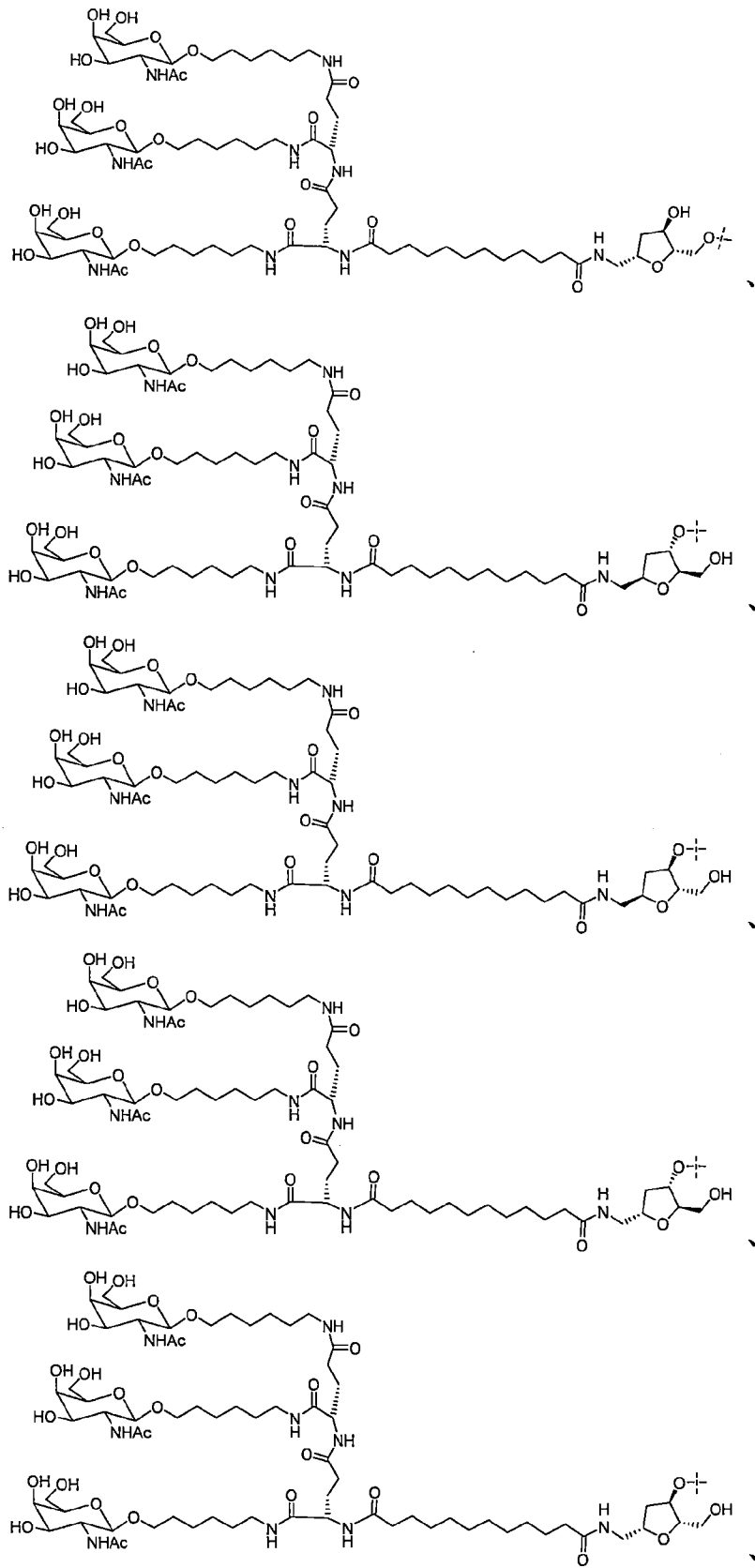


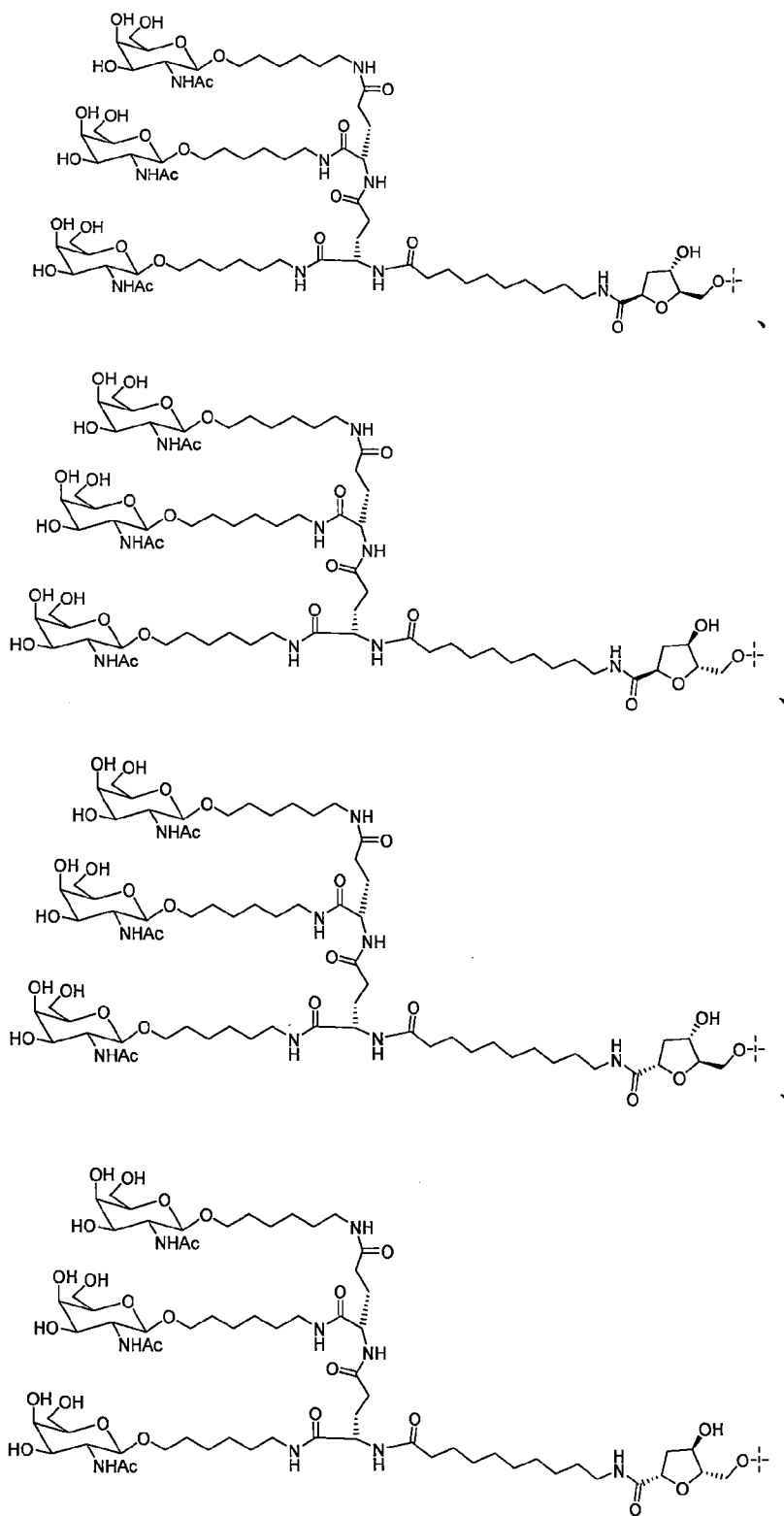


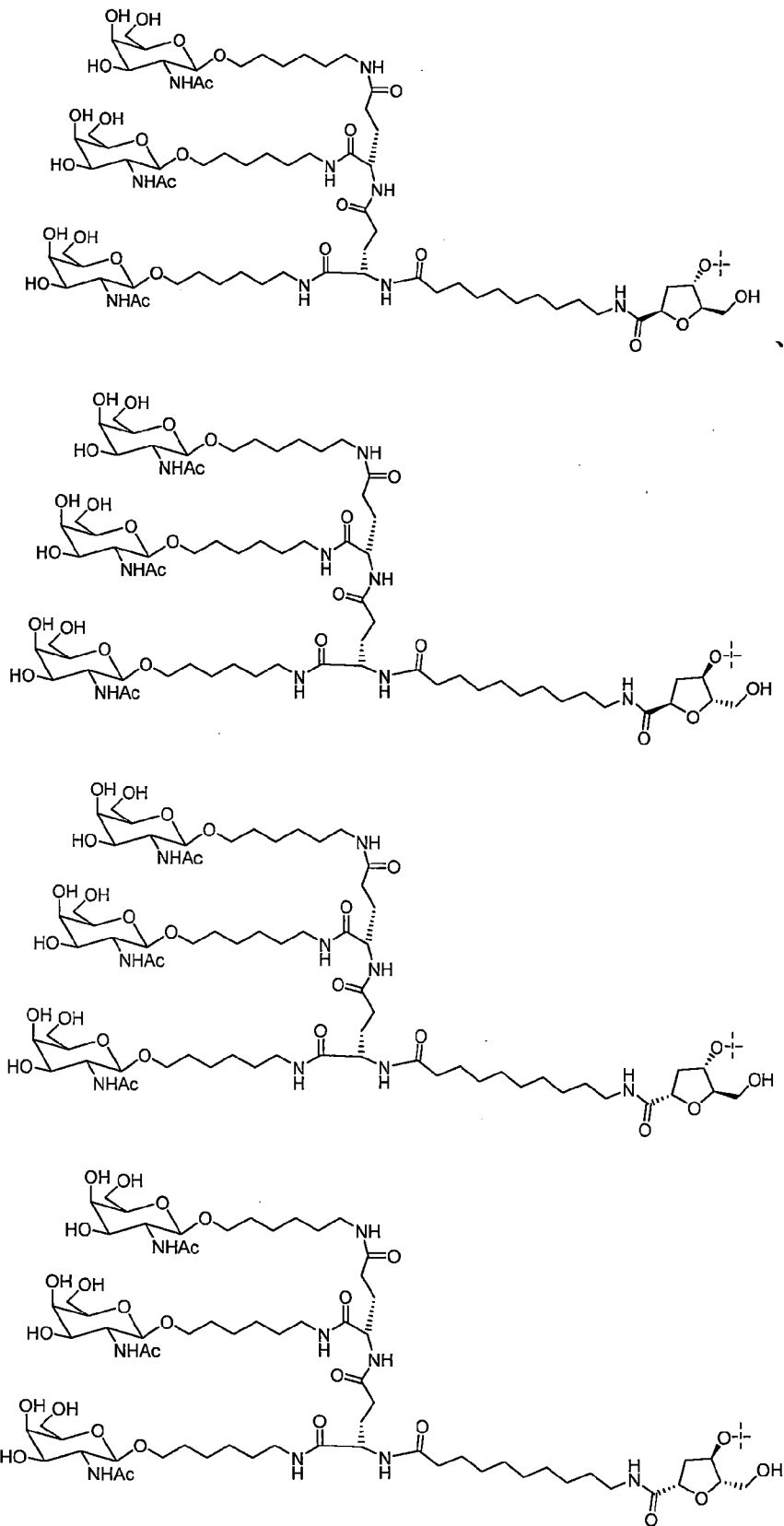


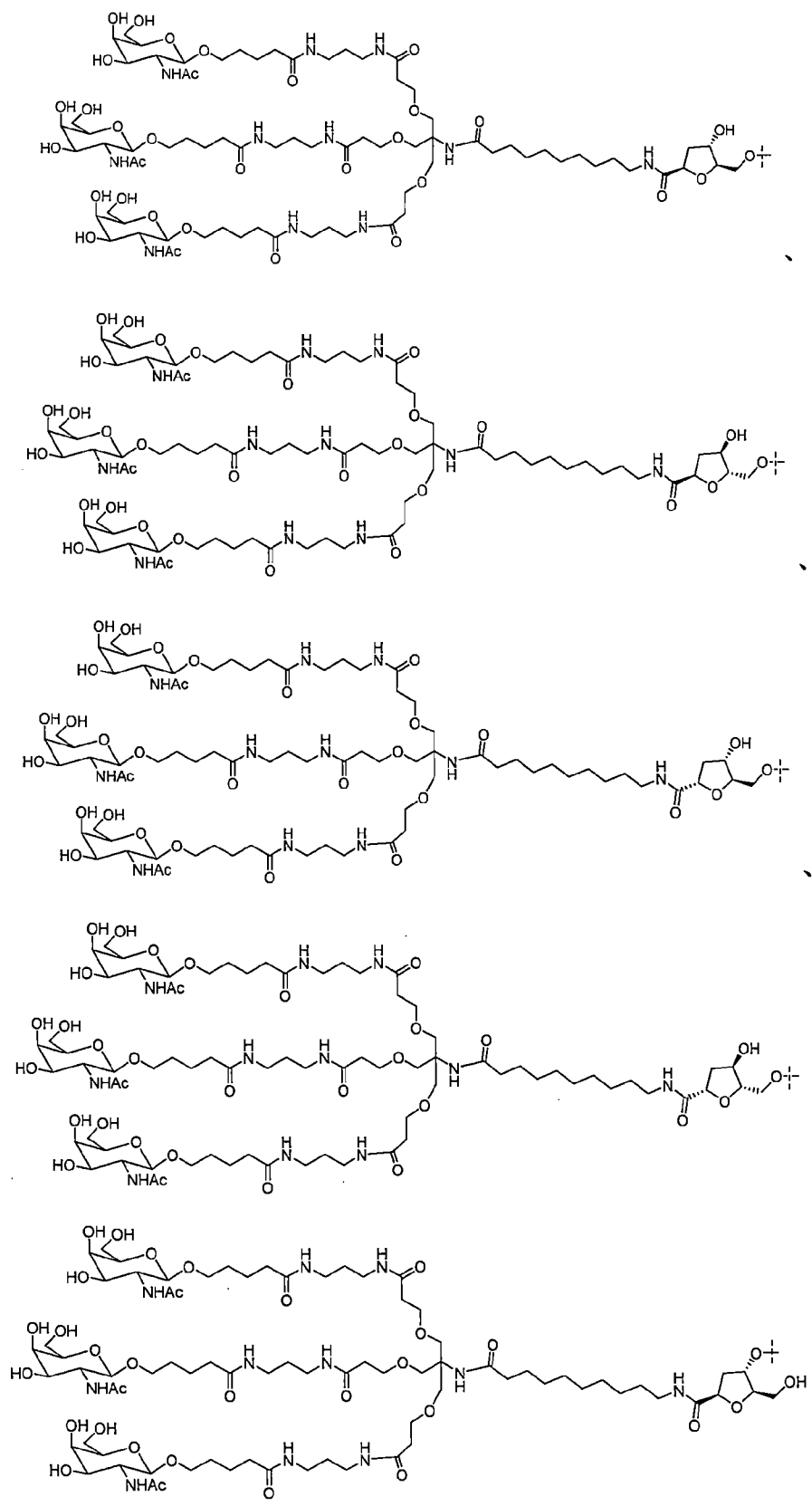


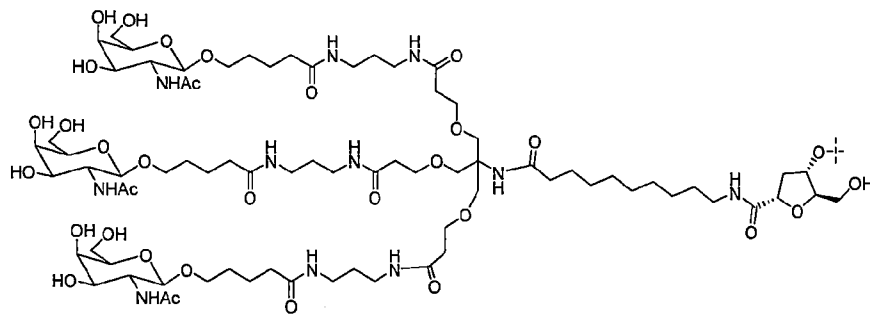
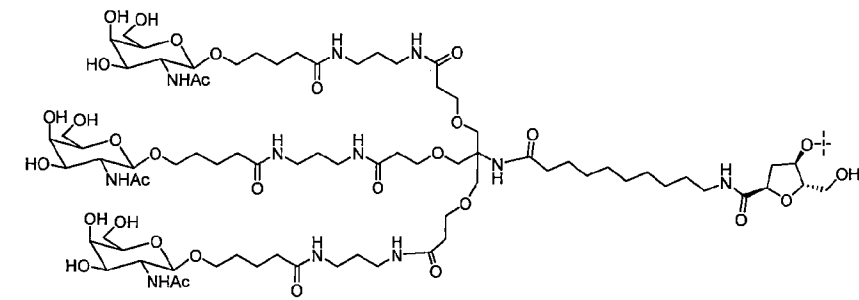




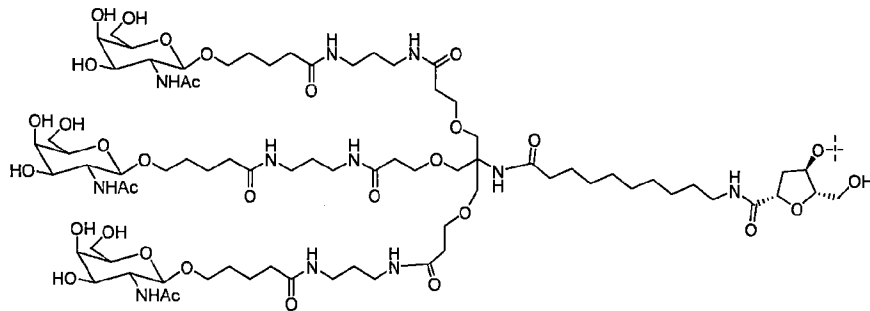






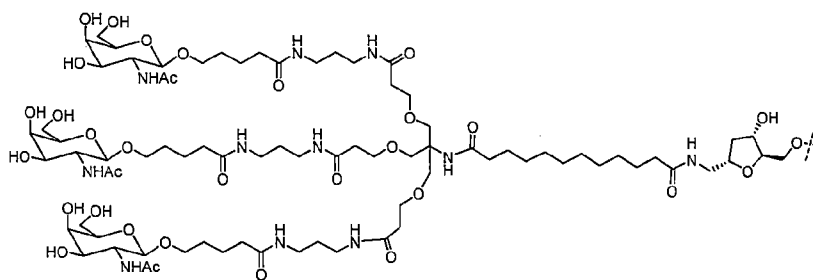


或

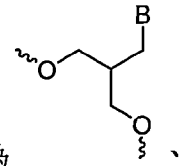


【0330】 在一些實施方案中，該配體可為以下結構或其藥學上可接受的

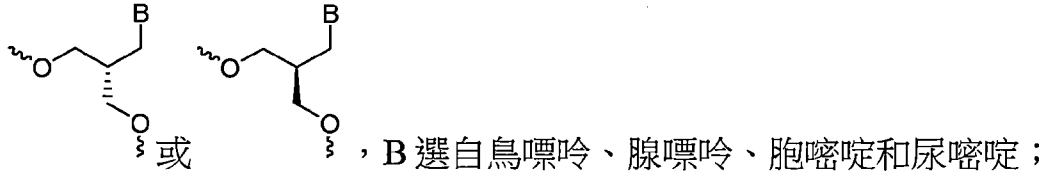
鹽，



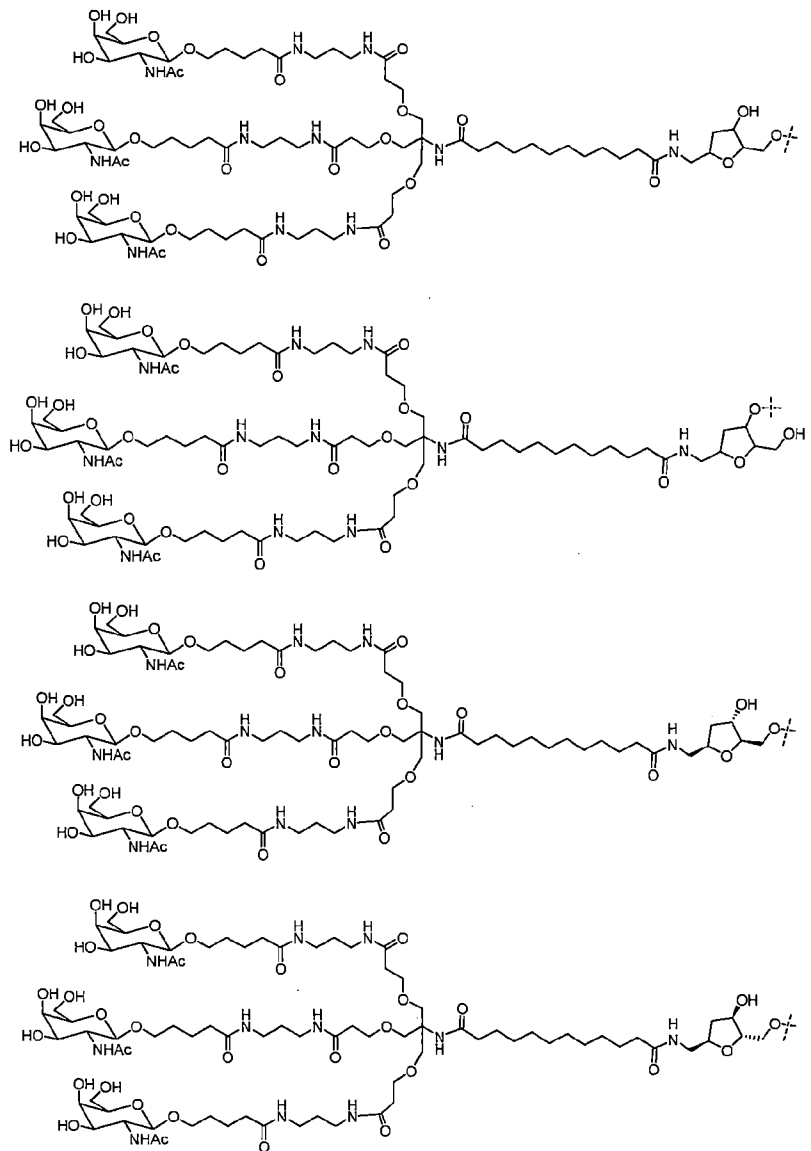
【0331】 在一些實施方案中，可以 N-三氟乙醯基半乳糖胺、N-丙醯基半乳糖胺、N-正丁醯基半乳糖胺或 N-異丁醯基半乳糖胺替換以上配體中的 N-乙醯基-半乳糖胺部分。

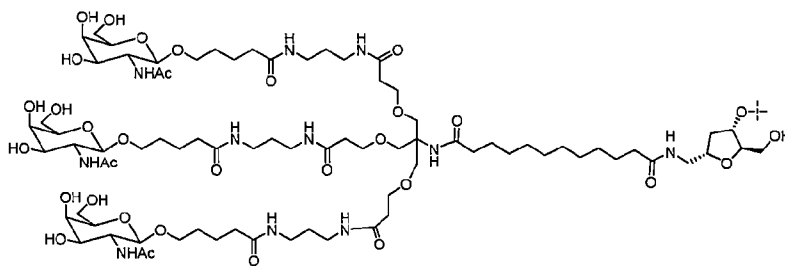
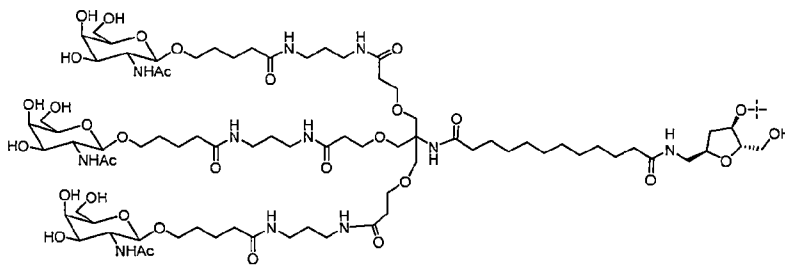
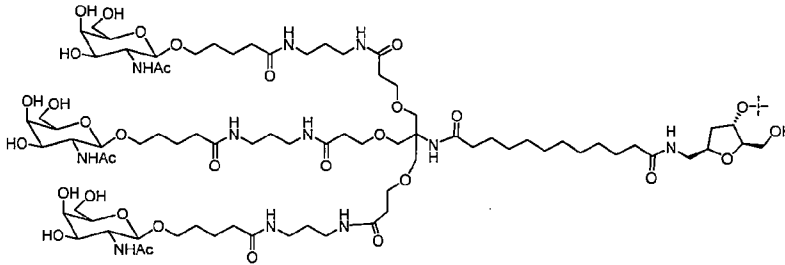
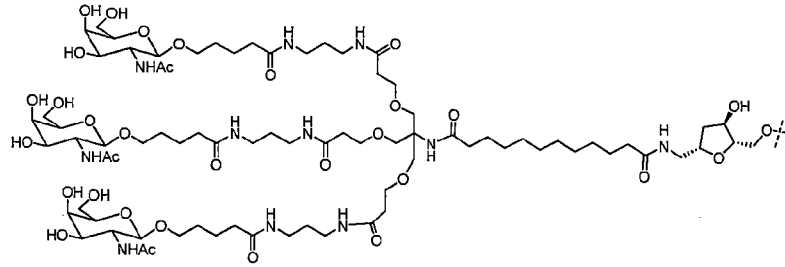
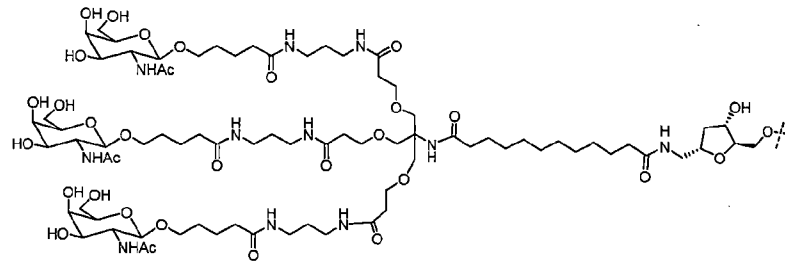


【0332】 在一些實施方案中，該式 (I) 所示的化學修飾為

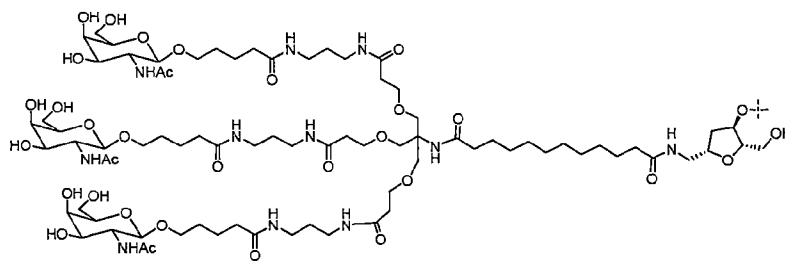


【0333】 該配體為如下任一結構或其藥學上可接受的鹽，





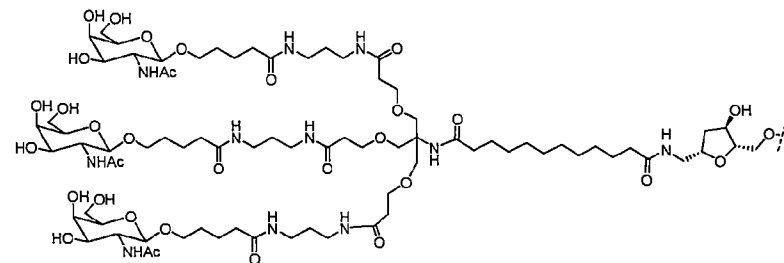
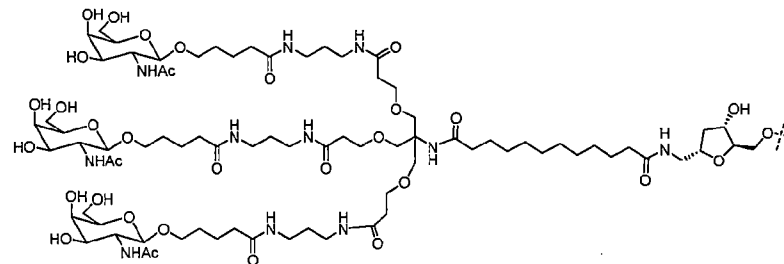
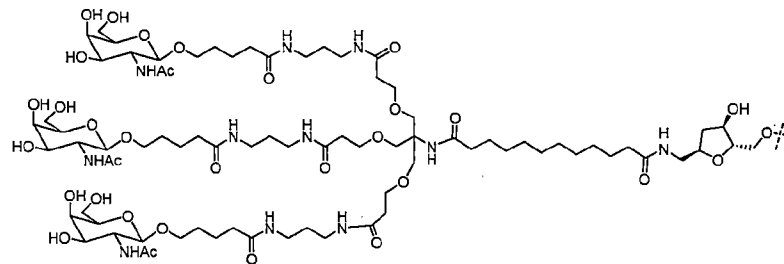
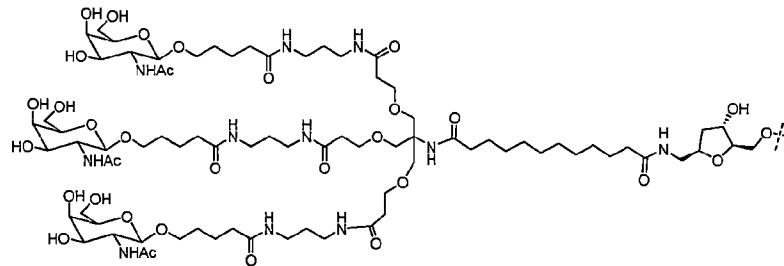
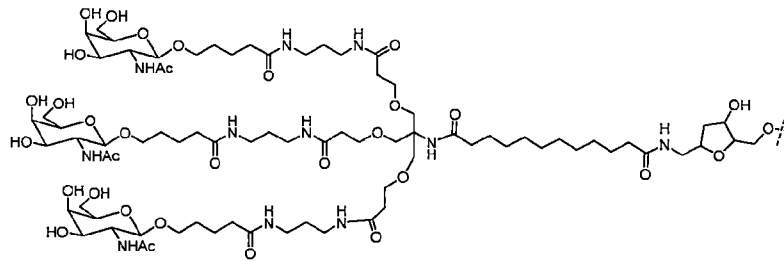
或



在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈的定義同前任一方案所述。

【0334】 在一些實施方案中，該配體為如下任一結構或其藥學上可接受的

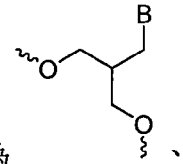
鹽，



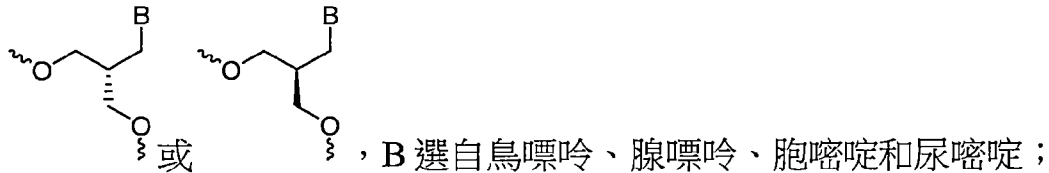
或

【0335】 在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈的定義同前任一方案所

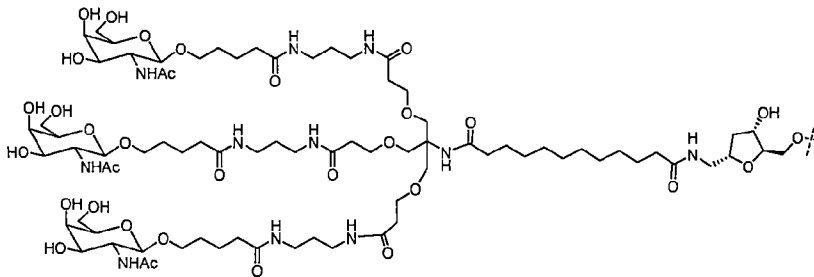
述。



【0336】 在一些實施方案中，該式 (I) 所示的化學修飾為



【0337】 該配體為如下結構或其藥學上可接受的鹽，



【0338】 在一些實施方案中，該有義鏈和反義鏈的定義同前任一方案所述。

【0339】 在一些實施方案中，該有義鏈和/或反義鏈和該配體共價或非共價連接。

【0340】 在一些實施方案中，該有義鏈的 3'端和/或 5'端與該配體綴合。

【0341】 在一些實施方案中，該有義鏈的 3'端與該配體綴合。

在一些實施方案中，該配體藉由磷酸酯基團或硫代磷酸酯基團與該有義鏈和/或反義鏈末端連接。

【0342】 在一些實施方案中，該配體藉由磷酸二酯基團或硫代磷酸二酯基團與該有義鏈和/或反義鏈末端連接。

【0343】 在一些實施方案中，該配體藉由磷酸二酯基團與該有義鏈和/或反義鏈末端連接。

【0344】 在一些實施方案中，該配體藉由磷酸酯基團或硫代磷酸酯基團與該有義鏈和/或反義鏈末端間接連接。

【0345】 在一些實施方案中，該配體藉由磷酸酯基團或硫代磷酸酯基團與該有義鏈和/或反義鏈末端直接連接。

【0346】 在一些實施方案中，該配體藉由磷酸酯基團或硫代磷酸酯基團與該有義鏈 3' 末端直接連接。

【0347】 在一些實施方案中，該磷酸酯基團為磷酸一酯基團或磷酸二酯基團。在一些實施方案中，該磷酸酯基團為磷酸二酯基團。

【0348】 在一些實施方案中，該硫代磷酸酯基團為硫代磷酸一酯基團或硫代磷酸二酯基團。在一些實施方案中，該硫代磷酸酯基團為硫代磷酸二酯基團。

【0349】 在一些實施方案中，為了促進 dsRNA 進入細胞，可以在有義鏈的末端引入膽固醇等親脂性的基團，親脂性的基團包括以共價鍵與小干擾核酸結合，如末端引入膽固醇、脂蛋白、維生素 E 等，以利於藉由由脂質雙分子層構成的細胞膜與細胞內的 mRNA 發生作用。同時，dsRNA 也可以進行非共價鍵修飾，如藉由疏水鍵或離子鍵結合磷脂分子、多肽、陽離子聚合物等增加穩定性和生物學活性。

【0350】 在一些實施方案中，該配體的個數包括但不限於：1、2、3 或 4 個。在一些實施方案中，該配體的個數為 1 個。

【0351】 在一些實施方案中，該 dsRNA 的有義鏈的核苷酸序列包含或選自 SEQ ID NO:4，反義鏈的核苷酸序列包含或選自 SEQ ID NO:5 至 SEQ ID NO:14 中任一的核苷酸序列；

【0352】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為以下任一方案：

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:5 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:6 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:7 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:8 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:9 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:10 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:11 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:12 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:13 的核苷酸序列；

有義鏈包含 SEQ ID NO:4 的核苷酸序列，反義鏈包含 SEQ ID NO:14 的核苷酸序列。

【0353】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為以下任一方案：

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:5 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:6 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:7 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:8 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:9 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:10 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:11 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:12 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:13 所示的核苷酸序列組成；

有義鏈由 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列組成，反義鏈由 SEQ ID NO:14 所示的核苷酸序列組成。

【0354】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為以下任一方案：

【0355】 包含 SEQ ID NO:4 所示的有義鏈和 SEQ ID NO:5 至 SEQ ID NO:14 中任一項所示的反義鏈。

【0356】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為以下任一方案：

選自 SEQ ID NO:4 所示的有義鏈和 SEQ ID NO:5 至 SEQ ID NO:14 中任一項所示的反義鏈。

【0357】 本揭露中，按照 5'-3' 方向，

【0358】 SEQ ID NO:4 是

UmsAmsUmUmCmUmCfAfGfUmGmCmUmCmUmCmCmUmAm-NAG0052'；

【0359】 SEQ ID NO:5 是

UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUfGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm；

【0360】 SEQ ID NO:6 是

UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUmGmAfGmAfAmUfAmsCmsUm；

【0361】 SEQ ID NO:7 是

UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUfGmAfGmAfAmUfAmsCmsUm；

【0362】 SEQ ID NO:8 是

UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUfGmAfGmAfAmUfAmsCmsUm；

【0363】 SEQ ID NO:9 是

UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUmGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm；

【0364】 SEQ ID NO:10 是

UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUmGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm；

【0365】 SEQ ID NO:11 是

UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUmGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm ;

【0366】 SEQ ID NO:12 是

UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUfGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm ;

【0367】 SEQ ID NO:13 是

UmsAfsGmGmAmGm(-)hmpNA(A)GfCfAmCmUmGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm ;

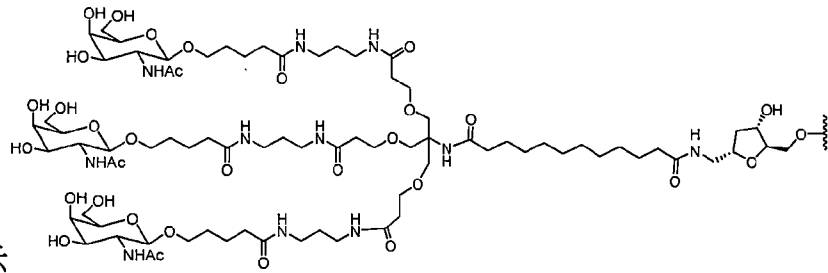
【0368】 SEQ ID NO:14 是

UmsAfsGmGmAmGm(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUmGmAfGmAmAmUmAmsCmsUm ;

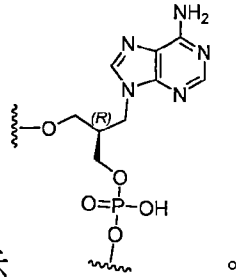
其中，Af= 腺嘌呤2'-F核糖核苷 (adenine 2'-F ribonucleoside) ; Cf= 胞嘧啶2'-F核糖核苷 (cytosine 2'-F ribonucleoside) ; Uf= 尿嘧啶2'-F核糖核苷 (uracil 2'-F ribonucleoside) ; Gf= 鳥嘌呤2'-F核糖核苷 (guanine 2'-F ribonucleoside) ; Am = 腺嘌呤2'-OMe核糖核苷 (adenine 2'-OMe ribonucleoside) ; Cm = 胞嘧啶2'-OMe核糖核苷 (cytosine 2'-OMe ribonucleoside) ; Gm = 鳥嘌呤2'-OMe核糖核苷 (guanine 2'-OMe ribonucleoside) ; Um = 尿嘧啶2'-OMe核糖核苷 (uracil 2'-OMe ribonucleoside) ;

s表示與該字母s左右相鄰的兩個核苷酸之間為硫代磷酸二酯基連接；

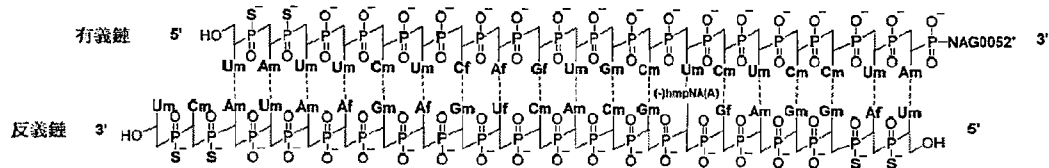
NAG0052'表示





(-)-hmpNA(A)表示



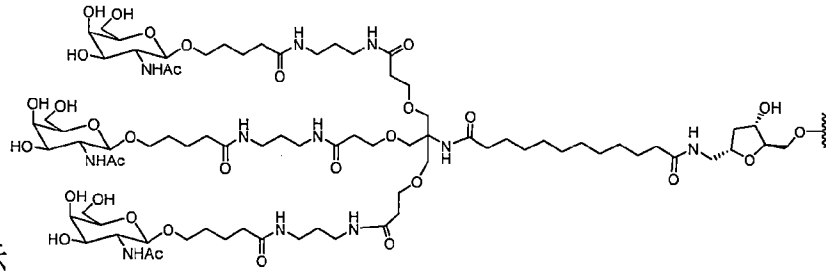
【0369】 在一些實施方案中，該 dsRNA 選自如下結構或其藥學上可接受的鹽：



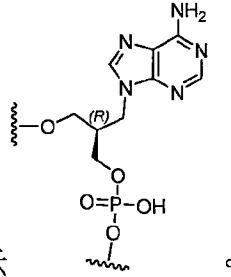
其中，Af= 腺嘌呤2'-F核糖核昔 (adenine 2'-F ribonucleoside)；Cf= 胞嘧啶2'-F核糖核昔 (cytosine 2'-F ribonucleoside)；Uf= 尿嘧啶2'-F核糖核昔 (uracil 2'-F ribonucleoside)；Am = 腺嘌呤2'-OMe核糖核昔(adenine 2'-OMe ribonucleoside)；Cm = 胞嘧啶2'-OMe核糖核昔 (cytosine 2'-OMe ribonucleoside)；Gf = 鳥嘌呤2'-F核糖核昔 (guanine 2'-F ribonucleoside)；Gm = 鳥嘌呤2'-OMe核糖核昔 (guanine 2'-OMe ribonucleoside)；Um = 尿嘧啶2'-OMe核糖核昔 (uracil 2'-OMe ribonucleoside)。

【0370】  表示硫代磷酸二酯基，  表示磷酸二酯基，

NAG0052'表示



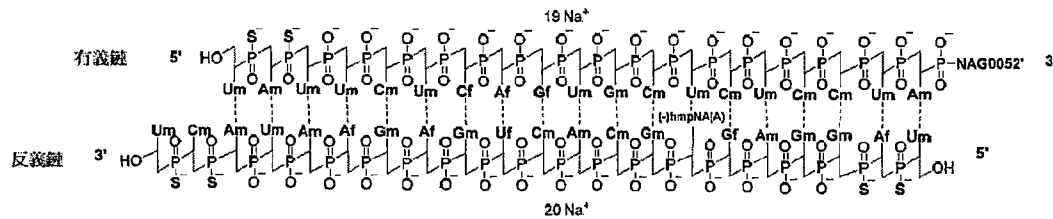
(-)-hmpNA(A)表示



【0371】 在一些實施方案中，該藥學上可接受的鹽可為本領域常規的鹽，包括但不限於：鈉鹽、鉀鹽、銨鹽、胺鹽等。



【0372】 在一些實施方案中，該 dsRNA 選自 TRD008043、TRD008069、TRD008042、TRD008070、TRD008071、TRD008072、TRD008073、TRD008074、TRD008075、TRD008076 中的任一項。

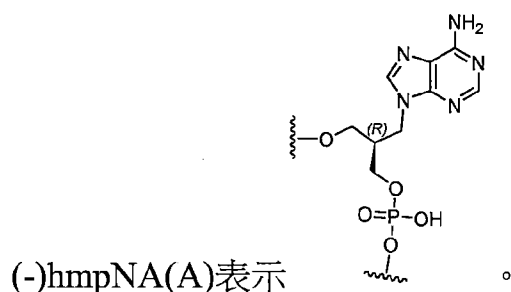
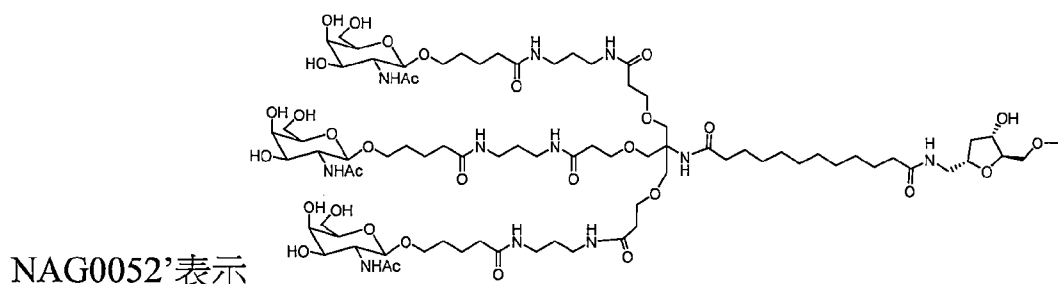
【0373】 在一些實施方案中，該 dsRNA 為 TRD008043，其為如下結構



【0374】 其中，Af = 腺嘌呤2'-F核糖核苷 (adenine 2'-F ribonucleoside)；
Cf = 胞嘧啶2'-F核糖核苷 (cytosine 2'-F ribonucleoside)；Uf = 尿嘧啶2'-F核糖核
苷 (uracil 2'-F ribonucleoside)；Am = 腺嘌呤2'-OMe核糖核苷 (adenine 2'-OMe
ribonucleoside)；Cm = 胞嘧啶2'-OMe核糖核苷 (cytosine 2'-OMe ribonucleoside)；
Gf = 鳥嘌呤2'-F核糖核苷 (guanine 2'-F ribonucleoside)；Gm = 鳥嘌呤2'-OMe核

糖核苷 (guanine 2'-OMe ribonucleoside) ; Um = 尿嘧啶2'-OMe核糖核苷 (uracil 2'-OMe ribonucleoside) 。

【0375】  表示硫代磷酸二酯基，  表示磷酸二酯基，



【0376】 另一方面，本揭露提供了一種醫藥組成物，其包含上述的 dsRNA。

【0377】 在一些實施方案中，該醫藥組成物還包含一種或多種藥學上可接受的賦形劑。各種遞藥系統是已知的並且可以用於本揭露的 dsRNA 或醫藥組成物，例如封裝在脂質體中、微粒、微囊、能夠表達該化合物的重組細胞、受體介導的細胞內吞作用、構建核酸作為逆轉錄病毒或其他載體的一部分。

【0378】 在一些實施方案中，本揭露的 dsRNA 或醫藥組成物的給藥方式是常規的，可藉由局部給藥（例如，直接注射或植入）或全身給藥，也可藉由口服、直腸或胃腸外途徑進行給藥，該腸胃外途徑包括但不限於皮下注射、靜脈注射、肌肉注射、腹腔注射、透皮給藥、吸入給藥（如氣溶膠）、黏膜給藥（如舌下、鼻內給藥）、顱內給藥等。

【0379】 在一些實施方案中，本揭露提供的 dsRNA 或醫藥組成物可以藉由注射給予，例如，靜脈內、肌內、皮內、皮下、十二指腸內或腹膜內注射。

【0380】 在一些實施方案中，本揭露提供的 dsRNA 或醫藥組成物可被包裝在試劑盒中。

【0381】 在一些實施方案中，該 dsRNA 或醫藥組成物的有效量或有效劑量為約 0.001mg/kg 體重至約 200mg/kg 體重、約 0.01mg/kg 體重至約 100mg/kg 體重或約 0.5mg/kg 體重至約 50mg/kg 體重。

【0382】 本揭露提供了一種上述的 dsRNA 或上述的醫藥組成物在製備藥物中的應用。

【0383】 在一些實施方案中，該藥物可用於降低受試者中的低密度脂蛋白水平，或用於預防和/或治療由升高的甘油三酯水平或升高的膽固醇水平介導的疾病。在一些實施方案中，該疾病選自高甘油三酯血症、肥胖症、高脂血症、脂質和/或膽固醇代謝異常、動脈粥樣硬化、心血管疾病、冠狀動脈疾病、高甘油三酯血症誘導的胰腺炎、代謝綜合症、II 型糖尿病、家族性乳糜微粒血症綜合症或家族性部分脂質營養不良。

【0384】 在一些實施方案中，該藥物可用於預防和/或治療與 APOC3 基因表達相關的疾病。在一些實施方案中，該疾病選自高甘油三酯血症、肥胖症、高脂血症、脂質和/或膽固醇代謝異常、動脈粥樣硬化、心血管疾病、冠狀動脈疾病、高甘油三酯血症誘導的胰腺炎、代謝綜合症、II 型糖尿病、家族性乳糜微粒血症綜合症或家族性部分脂質營養不良。

【0385】 本揭露提供了一種預防和/或治療疾病的方法，其包括向受試者給予有效量或有效劑量的上述的 dsRNA 或上述的醫藥組成物。

【0386】 在一些實施方案中，該疾病可為由升高的甘油三酯水平或升高的膽固醇水平介導的疾病。在一些實施方案中，該疾病選自高甘油三酯血症、肥胖症、高脂血症、脂質和/或膽固醇代謝異常、動脈粥樣硬化、心血管疾病、冠狀動脈疾病、高甘油三酯血症誘導的胰腺炎、代謝綜合症、II型糖尿病、家族性乳糜微粒血症綜合症或家族性部分脂質營養不良。

【0387】 在一些實施方案中，該疾病可為與 APOC3 基因表達相關的疾病。在一些實施方案中，該疾病選自高甘油三酯血症、肥胖症、高脂血症、脂質和/或膽固醇代謝異常、動脈粥樣硬化、心血管疾病、冠狀動脈疾病、高甘油三酯血症誘導的胰腺炎、代謝綜合症、II型糖尿病、家族性乳糜微粒血症綜合症或家族性部分脂質營養不良。

【0388】 本揭露提供了一種用於在體內或在體外沉默細胞中 APOC3 基因或其 mRNA 的方法，其包括將上述的 dsRNA 或上述的醫藥組成物引入該細胞中的步驟。

【0389】 本揭露提供了一種抑制 APOC3 基因或其 mRNA 表達的方法，其包括向受試者給予有效量或有效劑量的上述的 dsRNA 或上述的醫藥組成物。

【0390】 在一些實施方案中，該 dsRNA 或醫藥組成物的有效量或有效劑量為約 0.001mg/kg 體重至約 200mg/kg 體重、約 0.01mg/kg 體重至約 100mg/kg 體重或約 0.5mg/kg 體重至約 50mg/kg 體重。

【0391】 本揭露的 dsRNA 或醫藥組成物可以在細胞、細胞群、組織或受試者等對象中降低靶基因或其 mRNA 的表達水平，包括：向對象給予治療有效量的本文所述的 dsRNA 或醫藥組成物，從而抑制靶基因或其 mRNA 在對象中的表達。

【0392】 在一些實施方式中，該對象已在先前被鑑定為在靶向的細胞、細胞群、組織或受試者中具有靶基因或其 mRNA 的病理性上調。

【0393】 本揭露提供了一種遞送寡核苷酸至肝臟的方法，其包括向受試者給予有效量或有效劑量的上述的 dsRNA 或上述的醫藥組成物。

【0394】 本揭露提供了一種 RNA 干擾(RNAi)試劑，其包含上述的 dsRNA 或上述的醫藥組成物。

【0395】 另一方面，本揭露還提供了一種細胞，其包含上述的 dsRNA 或上述的醫藥組成物。

【0396】 另一方面，本揭露還提供了一種試劑盒，其包含上述的 dsRNA 或上述的醫藥組成物。

【0397】 一些實施方案中，本揭露的 dsRNA 選自 siRNA。

【0398】 本揭露中，上述 dsRNA 或醫藥組成物當接觸到表達靶基因的細胞時，由例如：psiCHECK 活性篩選和螢光素酶報告基因檢測法，其他如 PCR 或基於分支 DNA(bDNA)的方法、或基於蛋白質的方法，如免疫螢光分析法，例如 Western Blot 或流式細胞術測定的，上述 dsRNA 或醫藥組成物會抑制靶基因的表達至少 5%、至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、或至少 99%。

【0399】 本揭露中，上述 dsRNA 或醫藥組成物當接觸到表達靶基因的細胞時，由例如：psiCHECK 活性篩選和螢光素酶報告基因檢測法，其他如 PCR 或

基於分支 DNA(bDNA)的方法、或基於蛋白質的方法，如免疫螢光分析法，例如 Western Blot 或流式細胞術測定的，上述 dsRNA 或醫藥組成物引起的靶基因 mRNA 剩餘表達百分比為不高於 99%、不高於 95%、不高於 90%、不高於 85%、不高於 80%、不高於 75%、不高於 70%、不高於 65%、不高於 60%、不高於 55%、不高於 50%、不高於 45%、不高於 40%、不高於 35%、不高於 30%、不高於 25%、不高於 20%、不高於 15%、或不高於 10%。

【0400】本揭露中，上述 dsRNA 或醫藥組成物當接觸到表達靶基因的細胞時，由例如：psiCHECK 活性篩選和螢光素酶報告基因檢測法，其他如 PCR 或基於分支 DNA(bDNA)的方法、或基於蛋白質的方法，如免疫螢光分析法，例如 Western Blot、或流式細胞術測定的，dsRNA 在保持在靶活性的同時，將脫靶活性減少了至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%或至少 75%。

【0401】本揭露中，上述 dsRNA 或醫藥組成物當接觸到表達靶基因的細胞時，由例如：psiCHECK 活性篩選和螢光素酶報告基因檢測法，其他如 PCR 或基於分支 DNA(bDNA)的方法、或基於蛋白質的方法，如免疫螢光分析法，例如 Western Blot、或流式細胞術測定的，dsRNA 使在靶活性降低至多 20%、至多 19%、至多 15%、至多 10%、至多 5%或超過 1%的同時，將脫靶活性減少了至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%或至少 75%。

【0402】本揭露中，上述 dsRNA 或醫藥組成物當接觸到表達靶基因的細胞時，由例如：psiCHECK 活性篩選和螢光素酶報告基因檢測法，其他如 PCR 或基於分支 DNA(bDNA)的方法、或基於蛋白質的方法，如免疫螢光分析法，例如

Western Blot、或流式細胞術測定的，dsRNA 使在靶活性提高至少 1%、至少 5%、至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%、至少 75% 或至少 80%的同時，將脫靶活性減少了至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%或至少 75%。

【0403】 本揭露化合物可以存在特定的幾何或立體異構體形式。本揭露設想所有的這類化合物，包括順式和反式異構體、(-)和(+)-對映體、(R)-和(S)-對映體、非對映異構體、(D)-異構體、(L)-異構體，及其外消旋混合物和其他混合物，例如對映異構體或非對映體富集的混合物，所有這些混合物都屬本揭露的範圍之內。烷基等取代基中可存在另外的不對稱碳原子。所有這些異構體以及它們的混合物，均包括在本揭露的範圍之內。本揭露的含有不對稱碳原子的化合物可以以光學活性純的形式或外消旋形式被分離出來。光學活性純的形式可以從外消旋混合物拆分，或藉由使用手性原料或手性試劑合成。

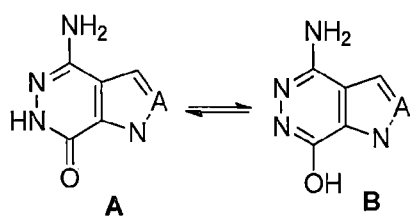
【0404】 可以藉由的手性合成或手性試劑或者其他常規技術製備光學活性的(R)-和(S)-異構體以及 D 和 L 異構體。如果想得到本揭露某化合物的一種對映體，可以藉由不對稱合成或者具有手性助劑的衍生作用來製備，其中將所得非對映體混合物分離，並且輔助基團裂開以提供純的所需對映異構體。或者，當分子中含有鹼性官能團(如胺基)或酸性官能團(如羧基)時，與適當的光學活性的酸或鹼形成非對映異構體的鹽，然後藉由本領域所公知的常規方法進行非對映異構體拆分，然後回收得到純的對映體。此外，對映異構體和非對映異構體的分離

通常是藉由使用色譜法完成的，該色譜法採用手性固定相，並視需要地與化學衍生法相結合(例如由胺生成胺基甲酸鹽)。

【0405】 本揭露所述化合物的化學結構中，鍵“/”表示未指定構型，即如果化學結構中存在手性異構體，鍵“/”可以為“.....”或“/”，或者同時包含“.....”和“/”兩種構型。本揭露所述化合物的化學結構中，鍵“//”並未指定構型，即鍵“//”的構型可以為 *E* 型或 *Z* 型，或者同時包含 *E* 和 *Z* 兩種構型。

【0406】 在本揭露的化學結構式中，“~”、“*”、“*”可以根據本文所述發明範圍連接一個或多個任何基團；星號“*”表示手性中心。

【0407】 在不指明構型的情況下，本揭露的化合物和中間體還可以以不同的互變異構體形式存在，並且所有這樣的形式包含於本揭露的範圍內。術語“互變異構體”或“互變異構體形式”是指可經由低能壘互變的不同能量的結構異構體。例如，質子互變異構體(也稱為質子轉移互變異構體)包括經由質子遷移的互變，如酮-烯醇及亞胺-烯胺、內醯胺-內醯亞胺異構化。內醯胺-內醯亞胺平衡實例是在如下所示的 A 和 B 之間。



【0408】 本揭露中的所有化合物可以被畫成 A 型或 B 型。所有的互變異構形式在本揭露的範圍內。化合物的命名不排除任何互變異構體。

【0409】 本揭露還包括一些與本文中記載的那些相同的，但一個或多個原子被原子量或質量數不同於自然中通常發現的原子量或質量數的原子置換的同位素標記的本揭露化合物。可結合到本揭露化合物的同位素的實例包括氫、碳、

氫、氧、磷、硫、氟、碘和氯的同位素，諸如分別為 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{123}I 、 ^{125}I 和 ^{36}Cl 等。

【0410】 除另有說明，當一個位置被特別地指定為氘 (D) 時，該位置應理解為具有大於氘的天然豐度 (其為 0.015%) 至少 1000 倍的豐度的氘 (即，至少 10% 的氘摻入)。示例中化合物的具有大於氘的天然豐度可以是至少 1000 倍的豐度的氘、至少 2000 倍的豐度的氘、至少 3000 倍的豐度的氘、至少 4000 倍的豐度的氘、至少 5000 倍的豐度的氘、至少 6000 倍的豐度的氘或更高豐度的氘。

本揭露還包括各種氘化形式的式(I)、式(I')、式(II)化合物。與碳原子連接的各個可用的氫原子可獨立地被氘原子替換。所屬技術領域具有通常知識者能夠參考相關文獻合成氘化形式的式(I)、式(I')、式(II)化合物。在製備氘代形式的式(I)、式(I')、式(II)化合物時可使用市售的氘代起始物質，或它們可使用常規技術採用氘代試劑合成，氘代試劑包括但不限於氘代硼烷、三氘代硼烷四氫呋喃溶液、氘代氫化鋰鋁、氘代碘乙烷和氘代碘甲烷等。

【0411】 本揭露還提供了一種製備 dsRNA 或醫藥組成物的方法，其包括：合成本揭露所述的 dsRNA 或醫藥組成物。

【0412】 一些實施方案中，“包含”可替換為“由.....組成”。

【0413】 本揭露引入 WO2022028462A1、WO2023274395A、PCT/CN2022/139462 全文。

【0414】 術語解釋

為了更容易理解本揭露，以下具體定義了一些技術和科學術語。除非在本文中另有明確定義，本文使用的所有其它技術和科學術語都具有本揭露所屬技術領域具有通常知識者通常理解的含義。

【0415】除另有說明，“視需要地”、“視需要”、“可選的”或“可選”是指意味著隨後所描述的事件或環境可以但不必發生，該說明包括該事件或環境發生或不發生的場合。例如“視需要地， R_1 和 R_2 直接相連成環”是指 R_1 和 R_2 直接相連成環可以發生但不必須存在，該說明包括 R_1 和 R_2 直接相連成環的情形和 R_1 和 R_2 不成環的情形。

【0416】術語“約”、“大約”是指數值在由所屬技術領域具有通常知識者所測定的具體值的可接受誤差範圍內，該數值部分取決於怎樣測量或測定(即測量體系的限度)。例如，“約”可意味著在 1 內或超過 1 的標準差。或者，“約”或“基本上包含”可意味著至多 20% 的範圍，例如 1% 至 15% 之間、在 1% 至 10% 之間、在 1% 至 5% 之間、在 0.5% 至 5% 之間、在 0.5% 至 1% 之間變化，本揭露中，數字或數值範圍之前有術語“約”的每種情況也包括給定數的實施方案。除非另外說明，否則當具體值在本申請和申請專利範圍中出現時，“約”或“基本上包含”的含義應該假定為在該具體值的可接受誤差範圍內。

【0417】如無特殊說明，本揭露的“化合物”、“化學修飾”、“配體”、“dsRNA”、“核酸”和“RNAi”均可獨立地以鹽、混合鹽或非鹽（例如游離酸或游離鹼）的形式存在。當以鹽或混合鹽的形式存在時，其可為藥學上可接受的鹽。

【0418】“藥學上可接受的鹽”可選自無機鹽或有機鹽，也可包括藥學上可接受的酸加成鹽和藥學上可接受的鹼加成鹽。

【0419】“藥學上可接受的酸加成鹽”是指能夠保留游離鹼的生物有效性而無其它副作用的，與無機酸或有機酸所形成的鹽。無機酸鹽包括但不限於鹽酸鹽、氫溴酸鹽、硫酸鹽、硝酸鹽、磷酸鹽等；有機酸鹽包括但不限於甲酸鹽、乙酸鹽、2,2-二氯乙酸鹽、三氟乙酸鹽、丙酸鹽、己酸鹽、辛酸鹽、癸酸鹽、十一

碳烯酸鹽、乙醇酸鹽、葡萄糖酸鹽、乳酸鹽、癸二酸鹽、己二酸鹽、戊二酸鹽、丙二酸鹽、草酸鹽、馬來酸鹽、琥珀酸鹽、富馬酸鹽、酒石酸鹽、檸檬酸鹽、棕櫚酸鹽、硬脂酸鹽、油酸鹽、肉桂酸鹽、月桂酸鹽、蘋果酸鹽、谷胺酸鹽、焦谷胺酸鹽、天冬胺酸鹽、苯甲酸鹽、甲磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽、海藻酸鹽、抗壞血酸鹽、水楊酸鹽、4-胺基水楊酸鹽、萘二磺酸鹽等。這些鹽可藉由本領域已知的方法製備。

【0420】“藥學上可接受的鹼加成鹽”是指能夠保持游離酸的生物有效性而無其它副作用的、與無機鹼或有機鹼所形成的鹽。衍生自無機鹼的鹽包括但不限於鈉鹽、鉀鹽、鋰鹽、銨鹽、鈣鹽、鎂鹽、鐵鹽、鋅鹽、銅鹽、錳鹽、鋁鹽等。較佳的無機鹽為銨鹽、鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽及鎂鹽，較佳鈉鹽。衍生自有機鹼的鹽包括但不限於以下的鹽：一級胺類、二級胺類及三級胺類，被取代的胺類，包括天然的被取代胺類、環狀胺類及鹼性離子交換樹脂，例如胺、異丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、二甲基乙醇胺、2-二甲胺基乙醇、2-二乙胺基乙醇、二環己胺、賴胺酸、精胺酸、組胺酸、咖啡因、普魯卡因、膽鹼、甜菜鹼、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可鹼、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、聚胺樹脂等。較佳的有機鹼包括異丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二環己基胺、膽鹼及咖啡因。這些鹽可藉由本領域已知的方法製備。

【0421】“烷基”指飽和的脂族烴基團，例如包括 1 至 30 個碳原子的直鏈和支鏈基團（ C_1 - C_{30} 烷基），又例如含有 1 至 6 個碳原子的烷基（ C_1 - C_6 烷基），又例如 1 至 3 個碳原子的烷基（ C_1 - C_3 烷基）。非限制性實施例包括甲基、乙基、

正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、三級丁基、二級丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基及其各種支鏈異構體等。

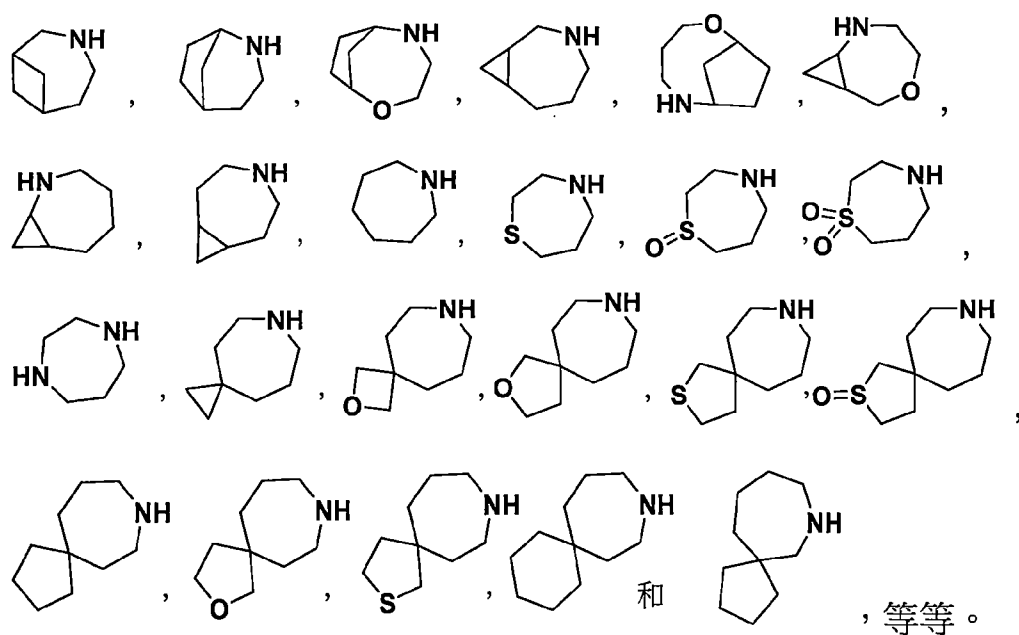
【0422】術語“烯基”是指含有至少一個雙鍵的烴基。烯基的非限制性實例包括但不限於：乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基或2-丁烯基及其各種支鏈異構體。

【0423】術語“炔基”指含有至少一個三鍵的烴基。炔基的非限制性實例包括但不限於：乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基或2-丁炔基及其各種支鏈異構體。

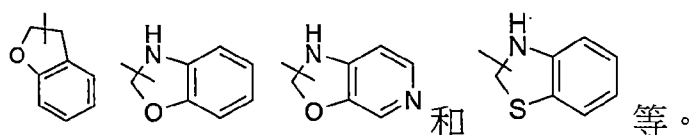
【0424】術語“烷氧基”指-O-(烷基)，其中烷基的定義如上所述。烷氧基的非限制性實例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基。

【0425】“環烷基”指飽和或部分不飽和單環或多環環狀烴取代基，環烷基環包含3至20個碳原子，較佳包含3至6個碳原子，更佳包含5-6個碳原子。單環環烷基的非限制性實例包括環丙基、環丁基、環戊基、環戊烯基、環己基、環己烯基、環己二烯基等；多環環烷基包括螺環、並環和橋環的環烷基。

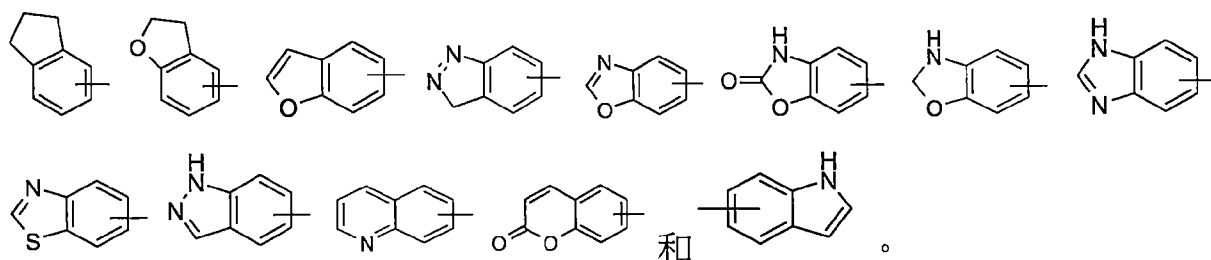
【0426】“雜環烷基”指飽和或部分不飽和單環或多環環狀烴取代基，其包含3至20個環原子，其中一個或多個環原子為選自氮、氧或 $S(O)_m$ (其中 m 是整數0至2)的雜原子，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-的環部分，其餘環原子為碳。較佳包含3至12個環原子，其中1~4個是雜原子；更佳包含3至7個環原子。“雜環烷基”非限制性實例包括：



【0427】該雜環烷基環可以稠合於芳基或雜芳基環上，其中與母體結構連接在一起的環為雜環烷基，其非限制性實例包括：






【0428】“芳基”指具有共軛的 π 電子體系的 6 至 14 員全碳單環或稠合多環(也就是共享毗鄰碳原子對的環)基團，較佳為 6 至 12 員，例如苯基和萘基。該芳基環可以稠合於雜芳基、雜環烷基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為芳基環，其非限制性實例包括：

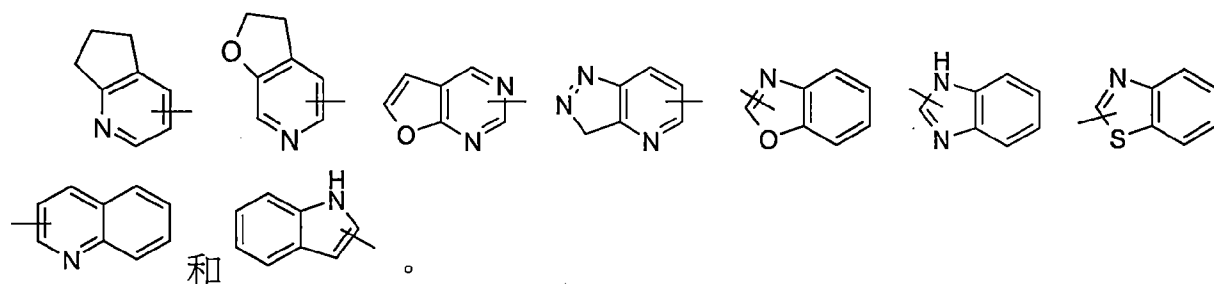


【0429】“雜芳基”指包含 1 至 4 個雜原子、5 至 14 個環原子的雜芳族體系，其中雜原子選自氧、硫和氮。雜芳基較佳為 6 至 12 員，更佳為 5 員或 6 員。

例如。其非限制性實例包括：咪唑基、呋喃基、噻吩基、噻唑基、吡唑基、噁唑基(oxazolyl)、異噁唑基(isoxazolyl)、吡咯基、四唑基、吡啶基、嘧啶基、噻二唑、

吡嗪基、三唑基、呔唑基、苯并咪唑基、、、等。

【0430】該雜芳基環可以稠合於芳基、雜環烷基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為雜芳基環，其非限制性實例包括：



【0431】術語“羥基”指-OH基團。

【0432】術語“鹵素”指氟、氯、溴或碘。

【0433】術語“氰基”指-CN。

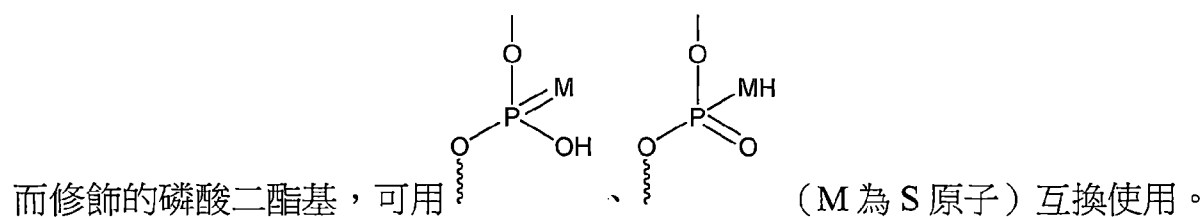
【0434】術語“胺基”指-NH₂。

【0435】術語“硝基”指-NO₂。

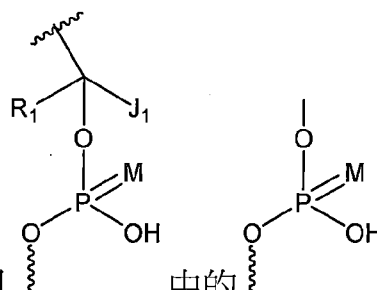
【0436】術語“側氧”指=O取代基。

【0437】本揭露中，“磷酸酯基團”可為磷酸一酯基團、磷酸二酯基團或磷酸三酯基團，較佳磷酸二酯基團；“硫代磷酸酯基團”中的“磷酸酯基團”也具有同樣的含義。

【0438】本揭露中，硫代磷酸二酯基是指一個非橋接氧原子被硫原子替代



【0439】“取代”指基團中的一個或多個氫原子，較佳為最多 5 個，更佳為 1~3 個氫原子彼此獨立地被相應數目的取代基取代。當取代基是酮或側氧(即，=O)時，則原子上有兩個(2 個)氫被替代。



【0440】本揭露上下文中，基團  中的  部分可以替換為

能夠與相鄰核苷酸實現連接的任意基團。

【0441】術語“連接”，當表示兩個分子之間的聯繫時，指兩個分子藉由共價鍵連接或者兩個分子經由非共價鍵(例如，氫鍵或離子鍵)關聯，包括直接連接、間接連接。

【0442】術語“直接連接”指第一化合物或基團與第二化合物或基團在沒有任何間插原子或原子基團的情況下連接。

【0443】術語“間接連接”指第一化合物或基團與第二化合物或基團藉由中間基團、化合物或分子(例如，連接基團)連接。

【0444】“醫藥組成物”表示含有一種或多種本文所述化合物或其生理學上可藥用的鹽或前體藥物與其他化學組分的混合物，以及其他組分例如生理學可藥用的載體和賦形劑。醫藥組成物的目的是促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0445】“藥學上可接受的賦形劑”包括但不限於任何已經被美國食品和藥物管理局 (FDA) 批准對於人類或家畜動物使用可接受的任何助劑、載體、助流

劑、甜味劑、稀釋劑、防腐劑、染料/著色劑、增香劑、表面活性劑、潤濕劑、分散劑、助懸劑、穩定劑、等滲劑、溶劑或乳化劑。

【0446】如本文所使用的，術語“抑制”，可以與“減少”、“沉默”、“下調”、“阻抑”和其他類似術語交替使用，並且包括任何水平的抑制。抑制可藉由這些變量中的一個或多個與對照水平相比的絕對或相對水平的減少來評估。該對照水平可以是本領域中使用的任何類型的對照水平，例如給藥前基線水平或從類似的未經處理或經對照(例如僅緩衝液對照或惰性劑對照)處理的受試者、細胞、或樣品確定的水平。例如，可以採用 mRNA 剩餘表達量來表徵 dsRNA 對靶基因表達的抑制程度，如 mRNA 剩餘表達量為不高於 99%、不高於 95%、不高於 90%、不高於 85%、不高於 80%、不高於 75%、不高於 70%、不高於 65%、不高於 60%、不高於 55%、不高於 50%、不高於 45%、不高於 40%、不高於 35%、不高於 30%、不高於 25%、不高於 20%、不高於 15%、或不高於 10%。靶基因表達的抑制率可以採用 Dual-Glo® Luciferase Assay System 檢測，分別讀取螢火蟲 (Firefly) 化學發光值和海腎 (Renilla) 化學發光值，計算相對值 $\text{Ratio} = \text{Ren}/\text{Fir}$ ，抑制率(%) = $1 - (\text{Ratio} + \text{dsRNA}/\text{Ratioreporter only}) * 100\%$ ；本揭露中，剩餘 mRNA 表達量比例 (或剩餘活性%) = $100\% - \text{抑制率}(\%)$ 。

【0447】“有效量”或“有效劑量”包含足以改善或預防醫學病症的症狀或病症的量。有效量還意指足以允許或促進診斷的量。用於特定患者或獸醫學受試者的有效量可依據以下因素而變化：如待治療的病症、患者的總體健康情況、給藥的方法途徑和劑量以及副作用嚴重性。有效量可以是避免顯著副作用或毒性作用的最大劑量或給藥方案。

【0448】如本文所使用的，“對象”、“患者”、“受試者”或“個體”可互換使用，包括人類或者非人類動物，例如哺乳動物，例如人或猴。

【0449】如本文所使用的，有義鏈（又稱 SS、SS 鏈或正義鏈）是指包含與靶 mRNA 序列相同或基本上相同的序列的鏈；反義鏈（又稱 AS 或 AS 鏈）是指具有與靶 mRNA 序列互補的序列的鏈。

【0450】本揭露中，有義鏈或反義鏈的“5'區域”也即“5'端”、“5'末端”，可替換使用。例如反義鏈 5'區域的第 2 位至第 8 位的核苷酸，也可替換為反義鏈 5'端的第 2 位至第 8 位的核苷酸。同理，有義鏈或反義鏈的“3'區域”、“3'末端”和“3'端”也可替換使用。

【0451】在描述本文所述的 dsRNA 有義鏈的上下文中，術語“SEQ ID NO:1 的核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸序列的至少 15 個連續核苷酸”旨在表示本文所述的 dsRNA 有義鏈包含如與 SEQ ID NO:1 所示的有義鏈的至少 15 個連續核苷酸，或與 SEQ ID NO:1 所示的有義鏈的至少 15 個連續核苷酸相差不超過 3 個核苷酸序列，視需要地，相差不超過 2 個核苷酸序列，視需要地，相差 1 個核苷酸序列。視需要地，本文所述的 dsRNA 有義鏈包含 SEQ ID NO:1 所示有義鏈的至少 16 個連續核苷酸，或與 SEQ ID NO:1 所示的有義鏈的至少 16 個連續核苷酸相差不超過 3 個核苷酸序列，視需要地，相差不超過 2 個核苷酸序列，視需要地，相差 1 個核苷酸序列；

【0452】在描述本文所述的 dsRNA 反義鏈的上下文中，術語“與 SEQ ID NO:2 所示的反義鏈相差不超過 3 個核苷酸序列的至少 15 個連續核苷酸”旨在表示本文所述的 SEQ ID NO: 2 所示的反義鏈的至少 15 個連續核苷酸，或與 SEQ

ID NO:2 所示的反義鏈的至少 15 個連續核苷酸相差不超過 3 個核苷酸序列，視需要地，相差不超過 2 個核苷酸序列，視需要地，相差 1 個核苷酸序列。

【0453】 如無特別說明，在本揭露上下文中，“G”、“C”、“A”、“T”與“U”分別代表核苷酸，其分別包含鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸苷與尿嘧啶的鹼基。小寫字母 m 表示該字母 m 左側相鄰的一個核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；小寫字母 f 表示該字母 f 左側相鄰的一個核苷酸為氟修飾的核苷酸；小寫字母 s 表示與該字母 s 左右相鄰的兩個核苷酸之間為硫代磷酸二酯基連接。

【0454】 如本揭露所使用的，術語“2'-氟(2'-F)修飾的核苷酸”指核苷酸的核糖基 2'位的羥基被氟取代形成的核苷酸，“非氟修飾的核苷酸”指核苷酸的核糖基 2'位的羥基被非氟基團取代形成的核苷酸或核苷酸類似物。

【0455】 如本揭露所使用的，術語“2'-甲氧基(2'-OMe)修飾的核苷酸”指核糖基的 2'-羥基被甲氧基取代而形成的核苷酸。

【0456】 在本揭露的上下文中，一個核苷酸序列與另外一個核苷酸序列存在“核苷酸差異”，是指前者與後者相比，相同位置的核苷酸的鹼基種類發生了改變，例如，在後者中一個核苷酸鹼基為 A 時，在前者的相同位置處的對應核苷酸鹼基為 U、C、G 或者 T 的情況下，認定為兩個核苷酸序列之間在該位置處存在核苷酸差異。在一些實施方式中，以無鹼基核苷酸或其等同物代替原位置的核苷酸時，也可認為在該位置處產生了核苷酸差異。

【0457】 如本文所使用的，術語“互補”或“反向互補”一詞可互相替代使用，並具有所屬技術領域具有通常知識者周知的含義，即，在雙鏈核酸分子中，一條鏈的鹼基與另一條鏈上的鹼基以互補的方式相配對。在 DNA 中，嘌呤鹼基腺嘌呤始終與嘧啶鹼基胸腺嘧啶(或者在 RNA 中為尿嘧啶)相配對；嘌呤鹼基鳥嘌呤

始終與嘧啶鹼基胞嘧啶相配對。每個鹼基對都包括一個嘌呤和一個嘧啶。當一條鏈上的腺嘌呤始終與另一條鏈上的胸腺嘧啶(或尿嘧啶)配對，以及鳥嘌呤始終與胞嘧啶配對時，兩條鏈被認為是彼此相互補的，以及從其互補鏈的序列中可以推斷出該鏈的序列。與此相應地，“錯配”在本領域中意指在雙鏈核酸中，對應位置上的鹼基並未以互補的形式配對存在。

【0458】 術語“dsRNA”是指能夠進行 RNA 干擾的雙鏈 RNA 分子，包含有義鏈和反義鏈。

【0459】 術語“化學修飾”或“修飾”包括核苷酸經化學手段的所有改變，例如化學部分的添加或去除、或以一個化學部分取代另一個化學部分。

【0460】 術語“鹼基”包含任何已知的 DNA 和 RNA 鹼基、鹼基類似物，例如嘌呤或嘧啶，其還包括天然化合物腺嘌呤、胸腺嘧啶、鳥嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、次黃苷和天然類似物。鹼基類似物還可以是通用鹼基。

【0461】 術語“平端”或“平末端”可互換使用，是指在 dsRNA 的給定的末端沒有非配對的核苷酸或核苷酸類似物，即，沒有核苷酸突出。大多數情況下，兩個末端都是平末端的 dsRNA 將在其整個長度範圍內是雙鏈的。

【0462】 本揭露提供的 dsRNA 可以藉由本領域常規的製備方法(例如固相合成和液相合成的方法)得到。其中，固相合成已經有商業化訂製服務。可以藉由使用具有相應修飾的核苷單體來將修飾的核苷酸基團引入本揭露所述的 dsRNA 中，製備具有相應修飾的核苷單體的方法及將修飾的核苷酸基團引入 dsRNA 的方法也是所屬技術領域具有通常知識者所熟知的。

【圖式簡單說明】

【0463】圖 1 為 TRD002218、TRD007205 在給藥後第 7 天 TTR mRNA 的表達量。

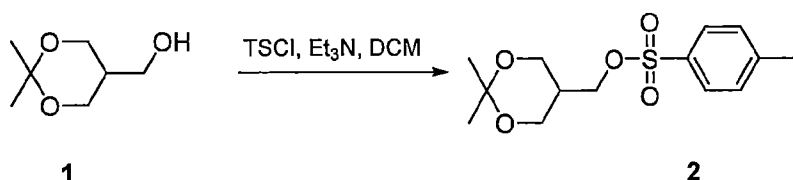
【0464】圖 2 為 TRD002218、TRD007205 在給藥後第 28 天 TTR mRNA 的表達量。

【實施方式】

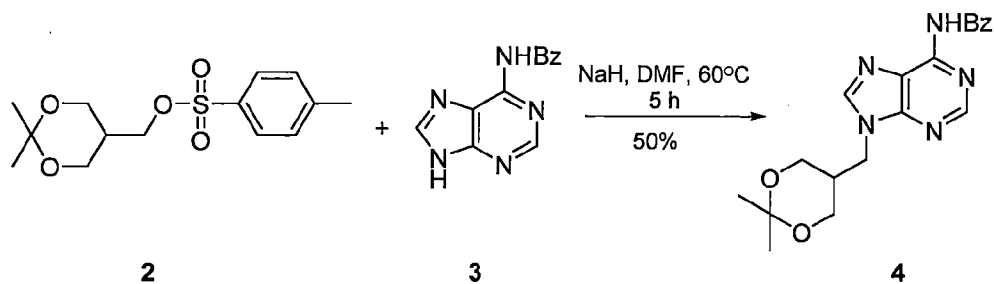
【0465】以下結合實施例進一步描述本揭露，但這些實施例並非限制著本揭露的範圍。本揭露實施例中未註明具體條件的實驗方法，通常按照常規條件或按照原料或商品製造廠商所建議的條件。未註明具體來源的試劑，則該試劑可自任意分子生物學試劑的供應商以用於分子生物學應用的質量/純度而獲得。

【0466】實施例 1：化學修飾的製備

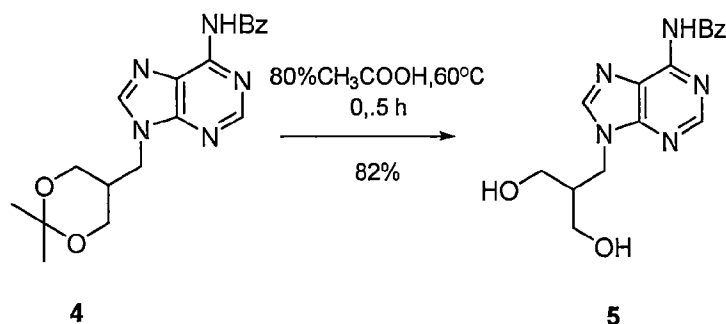
【0467】1.1 合成化合物 1-1a 和化合物 1-1b



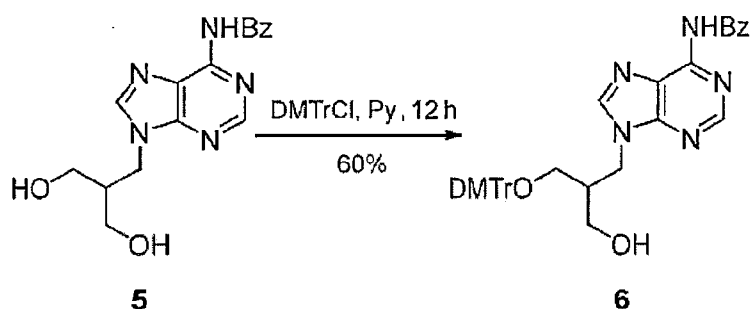
將化合物 1 (500 mg, 3.42 mmol) 和三乙胺(Et₃N, 692 mg, 6.84 mmol, 0.95 mL) 溶於二氯甲烷(DCM, 10 mL)中，冰浴下滴加 4-甲苯磺酰氯(TsCl, 717 mg, 3.76 mmol)的二氯甲烷 (10 mL) 溶液，滴加完畢後反應在室溫下攪拌過夜，待反應完畢後，用水淬滅，水相用二氯甲烷 (15 mL) 提取三次，合併的有機相先用飽和碳酸氫鈉水溶液 (10 mL) 洗滌，再用飽和食鹽水 (20 mL) 洗滌，隨後減壓蒸乾溶劑得到粗品 2 (820 mg, 80%)，直接用於下一步反應。MS m/z: C₁₄H₂₁O₅S, [M+H]⁺ 理論：301.10 實測：301.2。



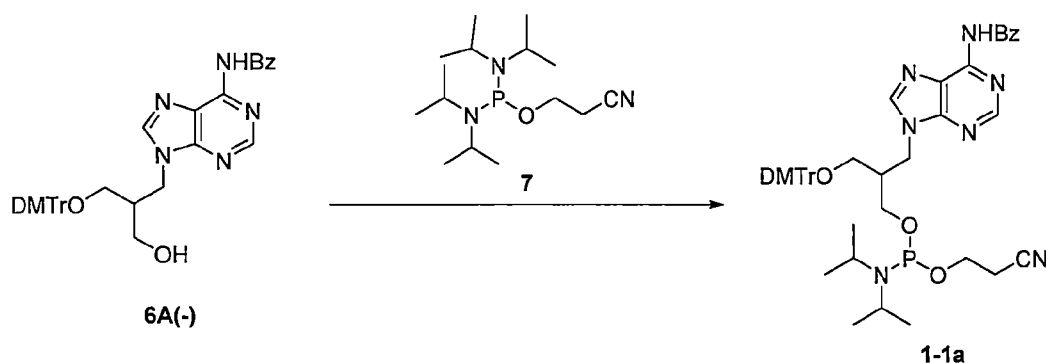
【0468】將化合物 **3** (239 mg, 1.22 mmol) 溶解於二甲基甲醯胺 (DMF, 10 mL) 中，冰浴下加入 NaH(60%溶解在礦物油中, 93 mg, 2.33 mmol) 溶液，該反應下攪拌 30 分鐘，然後滴加化合物 **2** (350 mg, 1.16 mmol)，滴加完畢後反應在 60 °C 下攪拌 5 小時，反應完畢後，加水淬滅，水相用乙酸乙酯(15 mL)提取三次，合併的有機相先用水(10 mL)洗滌三次，再用飽和食鹽水(10 mL)洗滌，隨後減壓蒸乾溶劑，經反相製備 HPLC (C¹⁸, 條件: 5-50% (A: H₂O, B: CH₃CN), 流速: 70 mL/min)，凍乾後得到 220 mg 化合物 **4**。MS m/z : C₁₉H₂₁N₅O₃Na, [M+Na]⁺ 理論: 390.16, 實測: 390.3。



【0469】室溫下將化合物 **4** (1.50 g, 4.08 mmol) 溶解於 20 mL 的醋酸和水 (4:1) 的混合溶液中，60 °C 下攪拌 30 分鐘，待反應完畢後減壓蒸乾溶劑，經反相製備 HPLC (C¹⁸, 條件: 5-25% (A: H₂O, B: CH₃CN), 流速: 70 mL/min)，凍乾後得到 1.10 g 化合物 **5**。MS m/z : C₁₆H₁₈N₅O₃, [M+H]⁺ 理論: 328.13, 實測: 328.4。

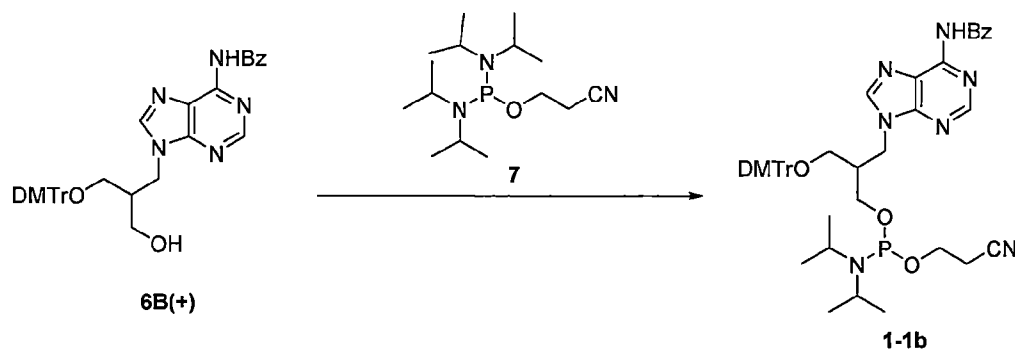


【0470】將化合物 **5** (1.00 g, 3.05 mmol) 溶於吡啶(Py, 10 mL) 中，冰浴下滴 4,4'-雙甲氧基三苯甲基氯(DMTrCl, 1.50 g, 4.58 mmol) 的吡啶(5 mL) 溶液，滴加完畢後反應在室溫下攪拌過夜，待反應完畢後，用水淬滅，減壓蒸乾溶劑，經反相製備 HPLC (C^{18} , 條件: 5-80% (A: H_2O , B: CH_3CN), 流速: 70 mL/min), 凍乾後得到 1.00 g 化合物 **6**。MS m/z : $C_{37}H_{36}N_5O_5$, $[M-H]^+$ 理論: 630.26, 實測: 630.5。消旋體化合物 **6** 經手性管柱(Daicel CHIRALPAK® IE 250*4.6 mm, 5 μ m, A: 正己烷, B: 乙醇) 拆分得 410 mg **6A(-)** 和 435 mg **6B(+)**。



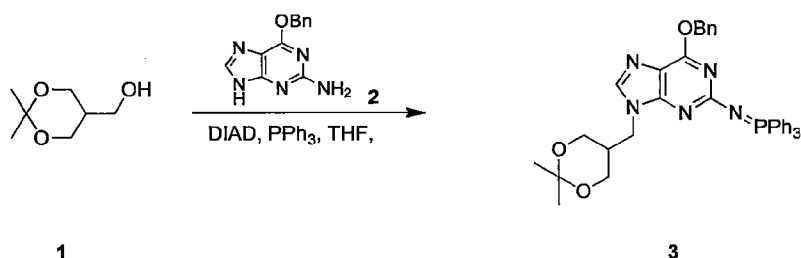
【0471】將化合物 **6A(-)** (200 mg, 0.32 mmol), 四氫唑(11 mg, 0.16 mmol), N-甲基咪唑(5 mg, 0.06 mmol), 3A 分子篩(500 mg) 溶於 10 mL 的乙腈中，室溫下加入化合物 **7** (144 mg, 0.48 mmol), 在室溫下攪拌過夜。反應完畢後，將分子篩過濾掉，加入二氯甲烷(30 mL), 飽和碳酸氫鈉水溶液 (10 mL) 洗滌三次，再用飽和食鹽水 (20 mL) 洗滌，濾液旋乾並經反相製備 HPLC (C^{18} , 條件: 5-100% (A: 水, B: CH_3CN), 流速: 70 mL/min), 凍乾後得到 200 mg 化合物 **1-1a**。MS m/z :

$C_{40}H_{39}N_6O_7P$, [M-二異丙基+OH]⁺ 理論: 747.26, 實測: 747.6。¹H NMR (400 MHz, Acetonitrile-*d*₃) δ 7.56, 7.54 (2s, 1H), 7.36-7.27 (m, 2H), 7.24-7.21 (m, 7H), 6.83-6.80 (m, 4H), 4.12-4.10 (m, 2H), 3.75-3.68 (m, 10H), 3.20-2.80 (m, 2H), 2.68-2.54 (m, 4H), 1.22-1.04 (m, 18H)。



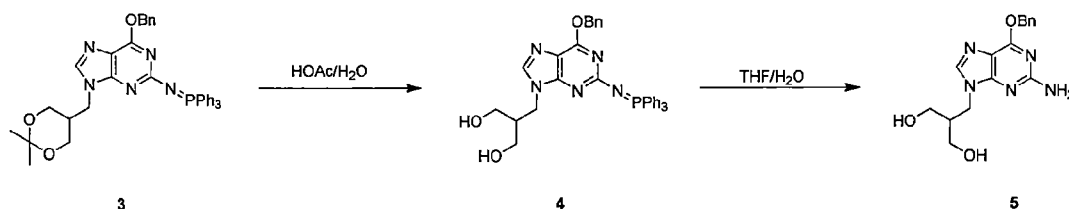
【0472】 將化合物 **6B(+)** (200 mg, 0.32 mmol), 四氫唑(11 mg, 0.16 mmol), N-甲基咪唑(5 mg, 0.06 mmol), 3A 分子篩(500 mg)溶於 10 mL 的乙腈中, 室溫下加入化合物 **7** (144 mg, 0.48 mmol), 在室溫下攪拌過夜。反應完畢後, 將分子篩過濾掉, 加入二氯甲烷 (30 mL), 飽和碳酸氫鈉水溶液 (10 mL) 洗滌三次, 再用飽和食鹽水 (20 mL) 洗滌, 濾液旋乾並經反相製備 HPLC (C¹⁸, 條件: 5-100% (A: 水, B: CH₃CN), 流速: 70 mL/min), 凍乾後得到 200 mg 化合物 **1-1b**。MS m/z: $C_{40}H_{39}N_6O_7P$, [M-二異丙基+OH]⁺ 理論: 747.26, 實測: 747.5。

【0473】 1.2 合成化合物 1-6a

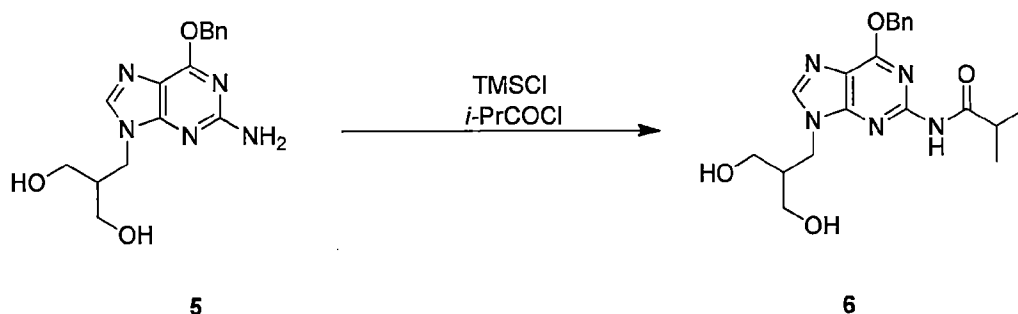


【0474】 將化合物 **1** (10 g, 68.404 mmol)、化合物 **2** (15 g, 62.186 mmol) 和三苯基膦 (32.62 g, 124.371 mmol) 溶於無水 THF (30 mL), 於 0°C 下緩慢滴加

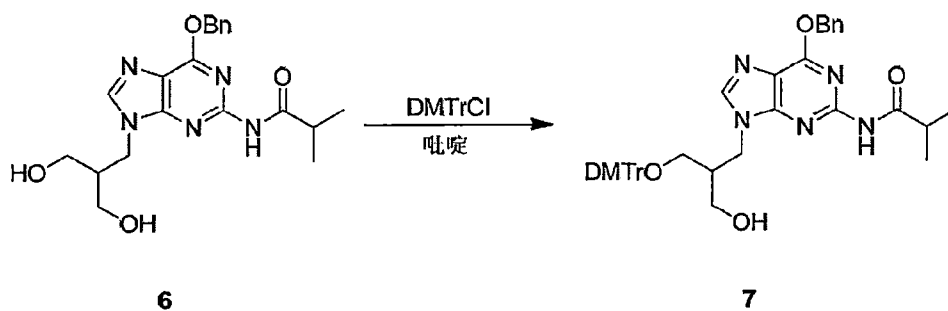
DIAD (24.656 mL, 124.371 mmol)。該反應液在 25°C 下反應 12 h。LCMS 顯示反應完成。將該反應液用乙酸乙酯 (200 mL) 和水 (200 mL) 萃取，有機相乾燥將濾液濃縮，得到的殘留物用正相管柱純化 (DCM/ MeOH = 10/ 1) 得目標產物 3 (20 g)。



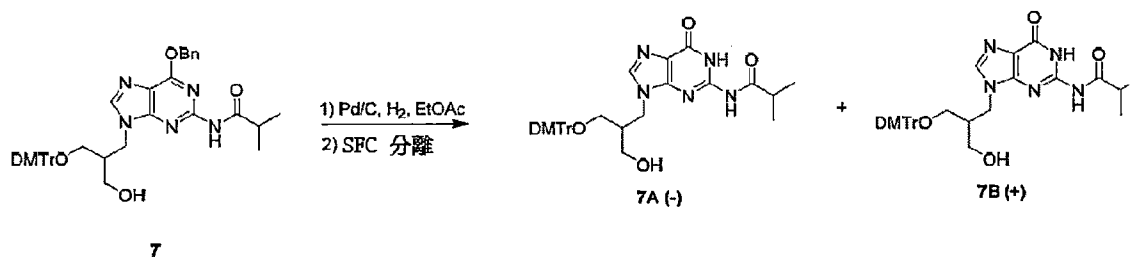
【0475】 將化合物 3 (20 g, 28.585 mmol) 溶於醋酸 (24 mL, 426.016 mmol) 和 H₂O (12 mL) 中，60°C 攪拌 1 小時。之後將反應液旋乾加入 THF (12 mL) 和 H₂O (12 mL)，80°C 攪拌 7 小時。LCMS 顯示反應完成。將反應液加入乙酸乙酯 (200 mL) 和水 (100 mL) 萃取，水相加入碳酸鈉固體直到水相有大量固體析出。將固體過濾，用水洗滌，將濾餅用油泵拉乾，得到目標化合物 5 (9 g)。



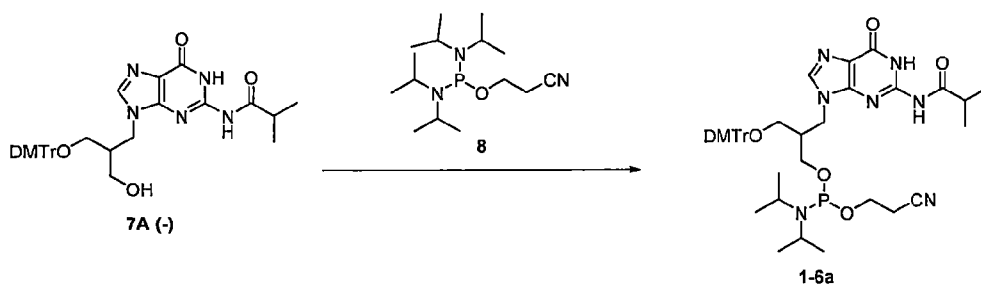
【0476】 在氮氣保護下，將化合物 5 (6.8 g, 18.581 mmol) 溶於吡啶 (80 mL) 中，於 0°C 下緩慢加入 TMSCl (14.250 mL, 111.489 mmol)，攪拌 2 h。之後在 0°C 下加入 Isobutyryl chloride (2.044 mL, 19.511 mmol)，於 25°C 下攪拌 1h。LCMS 顯示反應完成。用二氯甲烷 (200 mL) 和水 (200 mL) 萃取，有機相乾燥旋乾後拌樣，用正相管柱純化 (DCM: MeOH=10: 1) 過管柱，在 4.8% 處出峰)，得到黃色油狀化合物 6 (12 g)。



【0477】在氮氣保護下，將化合物 6 (5.5 g, 12.392 mmol) 溶於吡啶 (30 mL)，加入 MOLECULAR SIEVE 4A 1/16 (7 g, 12.392 mmol)，然後在 0°C 下分批加入 DMTrCl (5.04 g, 14.870 mmol) 固體，25°C 反應 2h。TLC (PE: EtOAc= 1: 1, Rf = 0.69) 顯示反應已經完成。該反應液和 TJN200879-040-P1 合併一起處理。將反應液用乙酸乙酯(200 mL) 和水(200 mL) 萃取，有機相乾燥旋乾後拌樣用正相管柱純化 (PE: EtOAc 過管柱，在 84% 處出峰)，得到黃色油狀化合物 7 (12 g)。

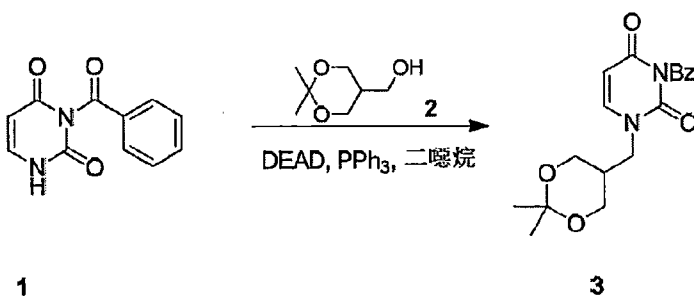


【0478】將化合物 7 (12 g, 15.389 mmol) 溶於 EtOAc (140 mL)，加入濕鈀碳 Pd/C(7 g, 15.389 mmol) 該反應液在 25°C，氫氣(15 Psi)下反應 2 小時。TLC (PE: EtOAc = 0: 1, Rf = 0.09) 顯示反應已經完成。將反應液過濾，濾餅用乙酸乙酯(30 mL) 沖洗三遍後，收集濾液。濾液旋乾後加入 50 mL 二氯甲烷和 2 mL 三乙胺拌樣用正相管柱純化 (DCM: MeOH=10: 1 過管柱，在 0.5% 處出峰)，得到 9 g (黃色泡沫狀固體)。將所得消旋化合物 SFC 拆分，得到產品目標化合物 7A (-)(3.9 g) 和目標化合物 7B (+)(3.8 g)。



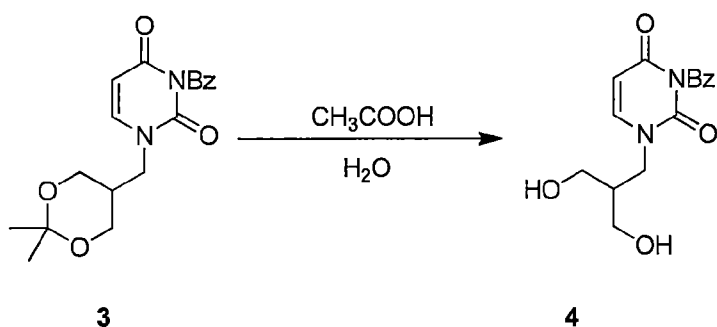
【0479】 將化合物 7A (-) (3.30 g, 5.40 mmol)，四氫唑(190 mg, 2.70 mmol)，1-甲基咪唑(90 mg, 1.10 mmol)，3A 分子篩(500 mg)溶於 30 mL 的乙腈中，室溫下加入化合物 8 (2.50 g, 8.10 mmol)，在室溫下攪拌 2 h。反應完畢後，將分子篩過濾掉，加入 DCM (150 mL)，飽和碳酸氫鈉水溶液洗滌 (30 mL*3)，再用飽和食鹽水 (30 mL) 洗滌，濾液旋乾並經反相製備 HPLC (C18, Condition: 5-100% (A: water, B: CH₃CN), 流速: 70 mL/min)，凍乾後得到 **1-6a** (2.9 g, 66%)。MS m/z : C₄₃H₅₅N₇O₇P [M+H]⁺，理論：812.38，實測：812.5。¹H NMR (400 MHz, Acetonitrile-d₃) δ 7.56, 7.54 (2s, 1H), 7.36-7.27 (m, 2H), 7.24-7.21 (m, 7H), 6.83-6.80 (m, 4H), 4.12-4.10 (m, 2H), 3.75-3.68 (m, 10H), 3.20-2.80 (m, 2H), 2.68-2.54 (m, 4H), 1.22-1.04 (m, 18H)。

【0480】 1.3 合成化合物 1-7a

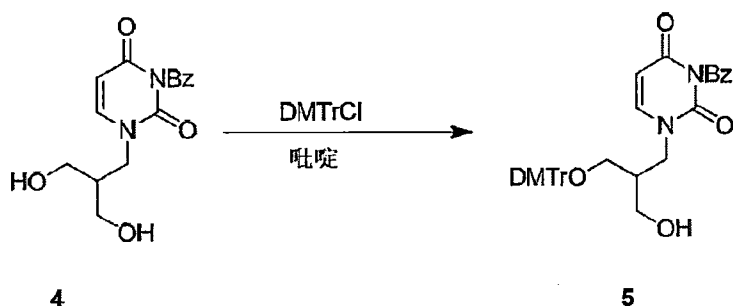


【0481】 在氮氣保護下，將化合物 1 (5 g, 23.1272 mmol)，化合物 2 (6.76 g, 46.254 mmol) 和三苯基磷 (7.28 g, 27.753 mmol) 溶於 30 mL 二噁烷中，於 0°C 緩慢滴加入 DEAD (5.502 mL, 27.753 mmol)。滴加完成後，反應緩慢升溫至 25°C 繼續反應 1 h。在反應液裡加入 100 mL H₂O 和 100 mL EtOAc 萃取，有機相合併乾

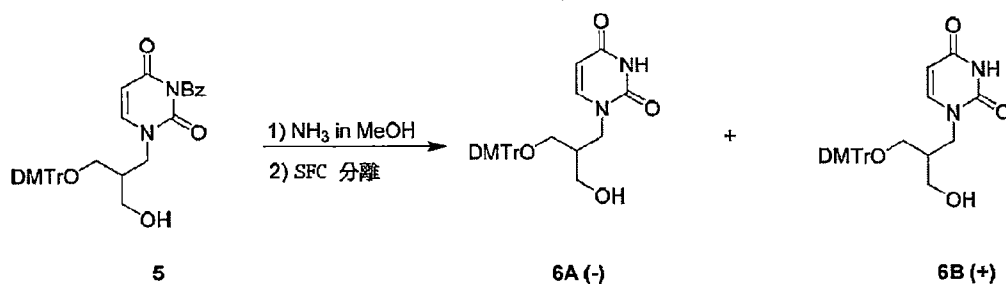
燥過濾濃縮後拌樣過管柱，用正相管柱純化 (PE:EtOAc=1:1 過管柱) 得目標產物 (4 g)。



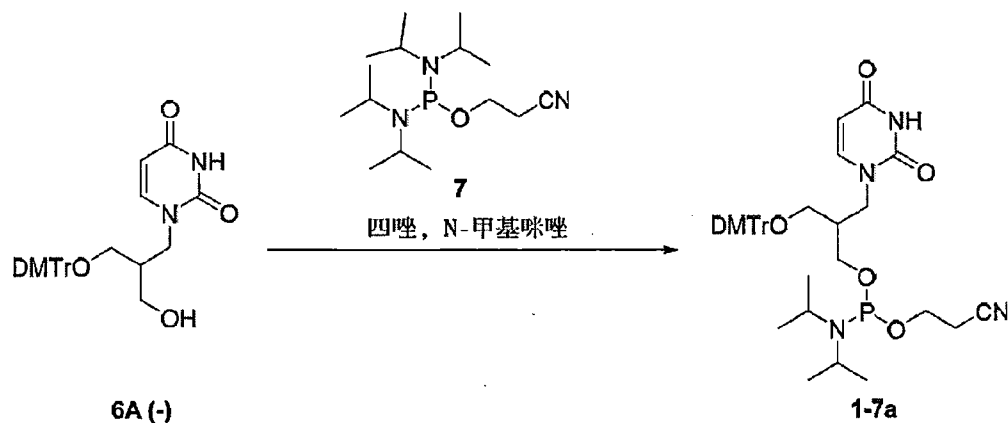
【0482】將化合物 3 (3.3 g) 溶於 HOAc (16 mL) 和 H₂O (4 mL)，油浴 60°C 加熱 0.5 h。將反應液旋乾得到的殘留物用正相管柱純化 (PE:EtOAc=0:1 過管柱)，得到目標產物 4 (3 g)。



【0483】將化合物 4 (3 g, 8.873 mmol) 溶於 5 mL 吡啶中，在氮氣保護下於 0°C 緩慢滴加 DMTrCl (3.91 g, 11.535 mmol) 的 10 mL 吡啶的溶液。滴加完畢後反應升溫至 25°C 並繼續反應 1 h。在反應液中加入 50 mL 水和 100 mL 乙酸乙酯萃取。水相再用 100 mL 乙酸乙酯萃取三次，有機相合併乾燥過濾濃縮用正相管柱純化 (用 PE:EtOAc=2:1)。得到目標產物 5 (4 g)。

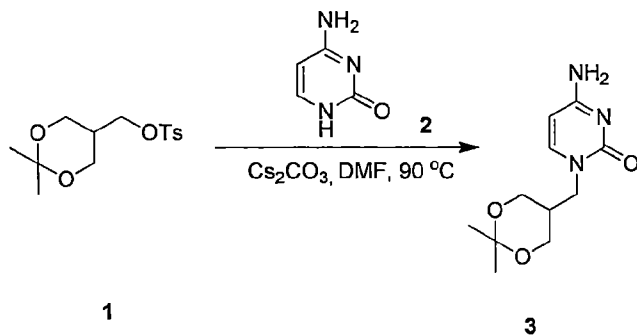


【0484】將化合物 5 (4 g, 5.769 mmol) 溶於甲醇(10 mL)，加入飽和的 NH₃ 甲醇溶液(40 mL)，0°C 反應 6 h。將反應液旋乾用正相管柱純化(用 PE:EtOAc =0:1) 得消旋化合物 2.4 g SFC 拆分，得到目標產物 6A (750 mg, 100% 純度) 和目標產物 6B (400 mg, 99.16% 純度)。

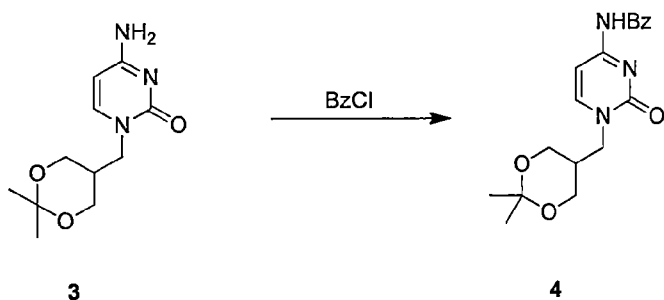


【0485】將化合物 6A(-) (700 mg, 1.40 mmol)，四唑(50 mg, 0.70 mmol)，1-甲基咪唑(23 mg, 0.28 mmol)，3A 分子篩(500 mg)溶於 10 mL 的乙腈中，室溫下加入化合物 7 (630 mg, 2.10 mmol)，在室溫下攪拌 2 h。反應完畢後，將分子篩過濾掉，加入 DCM (50 mL)，飽和碳酸氫鈉水溶液洗滌 (10 mL*3)，再用飽和食鹽水 (20 mL) 洗滌，濾液旋乾並經反相製備 HPLC (C18, Condition: 5-100% (A: 水 B: CH₃CN), 流速: 70 mL/min)，凍乾後得到 1-7a (700 mg, 72%)。MS m/z : C₃₈H₄₇N₄O₇PNa[M+Na]⁺，理論：725.32，實測：725.5。

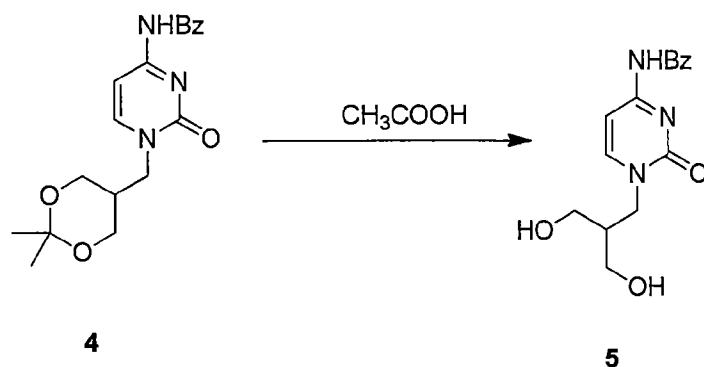
【0486】 1.4 合成化合物 1-8a



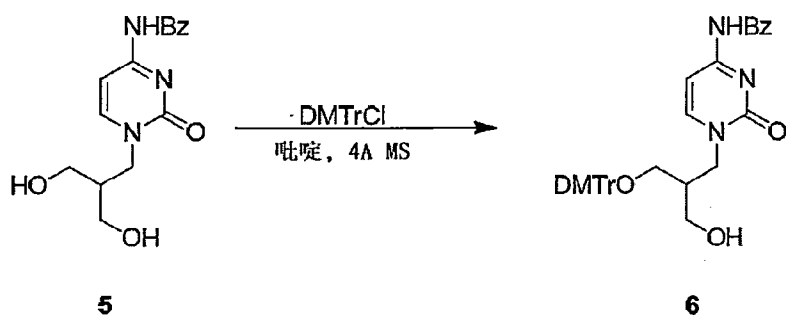
【0487】將化合物 1 (8.5 g, 76.508 mmol), 化合物 2 (30.64 g, 91.809 mmol) 溶於 DMF (150 mL), 加入 CS_2CO_3 (29.91 g, 91.809 mmol), 反應於氮氣保護下, 90°C 反應 12 h。LCMS 檢測反應完成。將反應液過濾, 油泵旋乾, 正相管柱分離純化(80g, DCM/ MeOH = 10/ 1~5/ 1)得到目標產物 3(13.5 g, 80% 純度)。



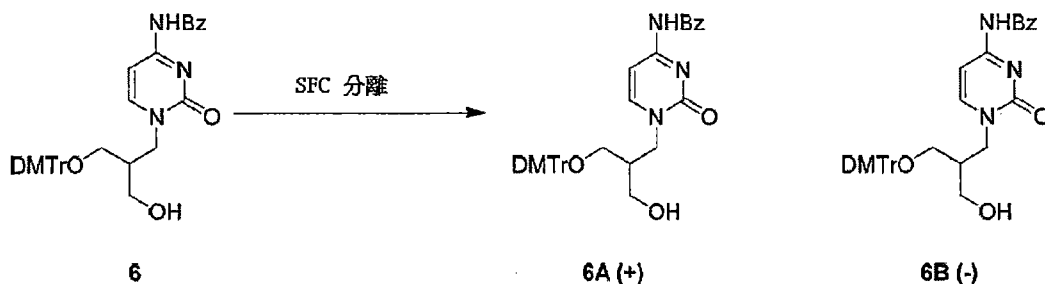
【0488】將化合物 3 (10.5 g, 35.105 mmol) 溶於吡啶 (65 mL) 和 CH_3CN (65 mL), 向溶液中滴加 BzCl (4.894 mL, 42.126 mmol), 於 25°C 反應 2h。LCMS 檢測大部分原料反應完成, 加 H_2O (100 mL) 淬滅, EtOAc (100 mL X 3) 萃取, 乾燥旋乾, 管柱分離 (合併 TJN200872-101) 純化 (80 g, PE/ EtOAc =10/ 1~0/ 1, DCM/ MeOH=10/ 1) 得到目標產物 4 (14 g, 90% 純度)。



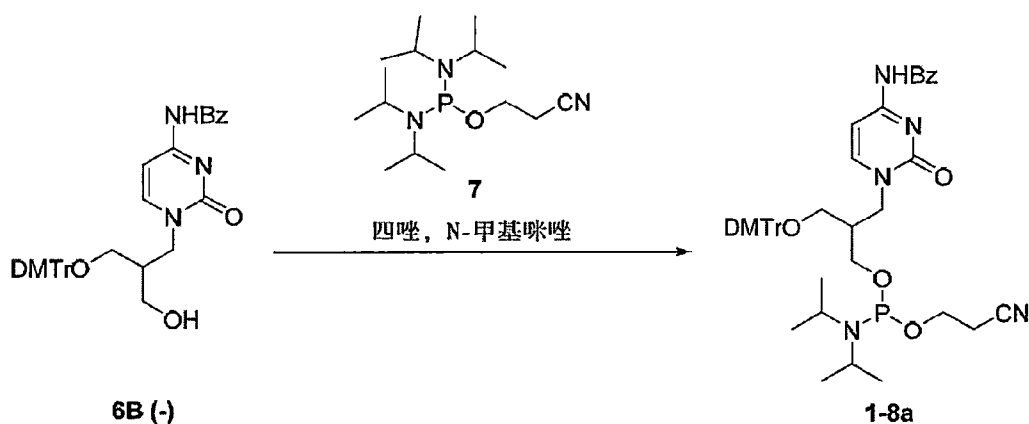
【0489】將化合物 4 (14 g, 36.694 mmol) 溶於 HOAc (56 mL, 314.796 mmol) 和 H_2O (14 mL), 於 60°C 反應 2h, LCMS 顯示反應完成。油泵濃縮, 正相管柱分離 (40 g, DCM/ MeOH = 1/ 0~5/ 1) 得到目標產物 5 (8.4 g, 90% 純度 & 2.4 g, 80% 純度)。



【0490】將化合物 5 (7.4 g, 21.957 mmol), DMAP (0.54 g, 4.391 mmol), MOLECULAR SIEVE 4A (11.1 g, 2.967 mmol) 溶於吡啶 (60 mL), 冰浴下攪拌 10 min, 然後加入 DMTrCl (8.93 g, 26.348 mmol), 反應攪拌 1.8 h。LCMS 檢測約 19% 原料剩餘, 約 60% 目標 MS。合併 (TJN200872-105&106) 一起純化。向反應液中加入 H₂O (50 mL), 經 DCM (50 mL X 3) 萃取, 乾燥, 旋乾, 管柱分離 (120 g, PE/ (EA: DCM: TEA = 1: 1: 0.05) = 1/ 0~0/ 1 至 DCM/ MeOH = 10/ 1) 得到目標化合物 6 (11 g, 89% 純度, TJN200872-105&106&107), 回收原料 (3.0 g, 70% 純度)。

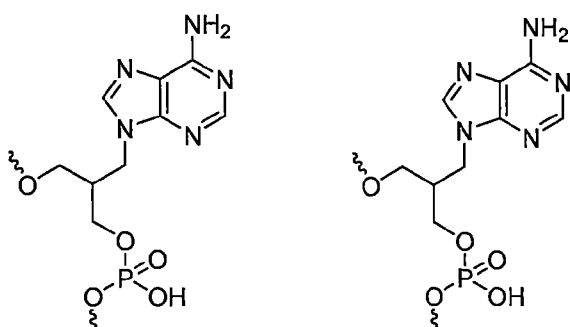


【0491】化合物 6 (15 g, 22.041 mmol) 經 SFC (DAICEL CHIRALPAK AD (250mm*50mm,10um); 0.1% NH₃ H₂O EtOH, B: 45%-45%; 200ml/ min) 分離得到目標產物 6A(+) (5.33 g, 94.29% 純度), 目標產物 6B(-) (6.14 g, 97.91% 純度), 化合物 6B(-)回收 1.0 g。



【0492】 將化合物 6B (-) (5.4 g, 8.92 mmol), 四唑(312 mg, 4.46 mmol), 1-甲基咪唑(146 mg, 1.78mmol), 3A 分子篩(500 mg)溶於 40 mL 的乙腈中, 室溫下加入化合物 7 (4 g, 13.4 mmol), 在室溫下攪拌 2 h。反應完畢後, 將分子篩過濾掉, 加入 DCM (200 mL), 飽和碳酸氫鈉水溶液洗滌 (30 mL*3), 再用飽和食鹽水 (50 mL) 洗滌, 濾液旋乾並經反相製備 HPLC (C18, Condition: 5-100% (A: water, B: CH₃CN), 流速: 70 mL/min), 凍乾後得到 **1-8a** (5.8 g, 80%)。MS m/z: C₄₅H₅₁N₅O₇P, [M+H]⁺, 理論: 804.36, 實測: 804.4。

【0493】 實施例 2: 不同化學修飾表徵



(-)hmpNA(A)

(+)hmpNA(A)

【0494】 其中, 我們將由 2-羥甲基-1,3-丙二醇為起始原料合成的核苷酸定義 hmpNA;

(+)-hmpNA(A)為實施例 1.1 節中核苷亞磷醯胺單體 1-1b 藉由固相合成獲得，絕對構型為(*S*)-hmpNA(A)；

(-)-hmpNA(A)為實施例 1.1 節中核苷亞磷醯胺單體 1-1a 藉由固相合成獲得，絕對構型為(*R*)-hmpNA(A)；

類似的，替換 hmpNA 的鹼基種類，藉由固相合成獲得以下結構並確認絕對構型：

(+)-hmpNA(G)，絕對構型為(*S*)-hmpNA(G)；

(-)-hmpNA(G)，絕對構型為(*R*)-hmpNA(G)；

(+)-hmpNA(C)，絕對構型為(*S*)-hmpNA(C)；

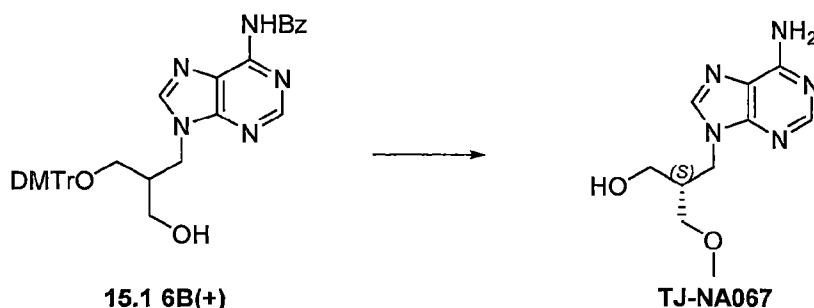
(-)-hmpNA(C)，絕對構型為(*R*)-hmpNA(C)；

(+)-hmpNA(U)，絕對構型為(*R*)-hmpNA(U)；

(-)-hmpNA(U)，絕對構型為(*S*)-hmpNA(U)。

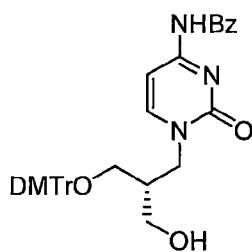
【0495】 (*S*)-hmpNA(G)，(*R*)-hmpNA(G)，(*S*)-hmpNA(C)，(*R*)-hmpNA(C)，(*S*)-hmpNA(U) 和(*R*)-hmpNA(U)的絕對構型由其中間體或衍生物經 X-Ray 衍射而確認。

【0496】 中間體或衍生物的結構為：



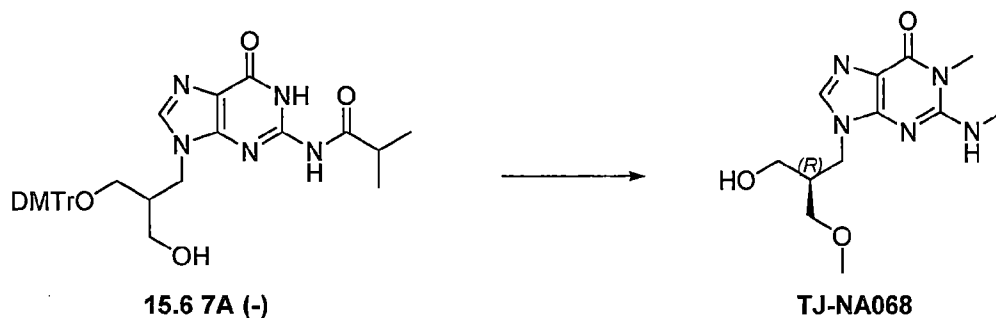
【0497】 **TJ-NA067**: 檢測晶體為無色塊狀 (0.30 × 0.10 × 0.04mm³)，屬單斜晶系 P21 空間群。晶胞參數 a = 16.0496(5)Å，b = 4.86260(10)Å，c = 16.4686(5)Å，

$\alpha = 90^\circ$, $\beta = 118.015(4)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 1134.65(7)\text{\AA}^3$, $Z = 4$ 。計算密度 $D_c = 1.389\text{g/cm}^3$, 單胞中電子數 $F(000) = 504.0$, 單胞的線性吸收係數 $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.840\text{mm}^{-1}$, 衍射實驗溫度 $T = 150.00(11)\text{K}$ 。



15.8 6A (+)

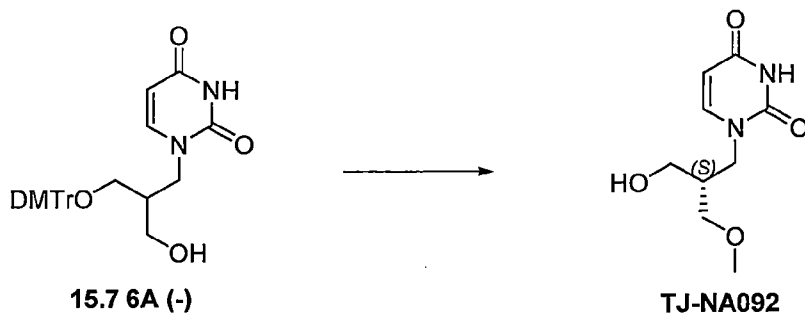
【0498】 6A(+): 檢測晶體為無色塊狀 ($0.30 \times 0.20 \times 0.10\text{ mm}^3$)，屬單斜晶系 P21 空間群。晶胞參數 $a = 22.6688(7)\text{\AA}$, $b = 8.5595(2)\text{\AA}$, $c = 23.3578(5)\text{\AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 113.876(3)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 4144.3(2)\text{\AA}^3$, $Z = 2$ 。計算密度 $D_c = 0.999\text{g/cm}^3$, 單胞中電子數 $F(000) = 1318.0$, 單胞的線性吸收係數 $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.570\text{mm}^{-1}$, 衍射實驗溫度 $T = 100.01(18)\text{K}$ 。



15.6 7A (-)

TJ-NA068

【0499】 TJ-NA048: 檢測晶體為無色針狀 ($0.30 \times 0.04 \times 0.04\text{mm}^3$)，屬單斜晶系 P1 空間群。晶胞參數 $a = 7.6165(4)\text{\AA}$, $b = 11.3423(5)\text{\AA}$, $c = 17.3991(8)\text{\AA}$, $\alpha = 85.007(4)^\circ$, $\beta = 88.052(4)^\circ$, $\gamma = 70.532(4)^\circ$, $V = 1411.75(12)\text{\AA}^3$, $Z = 2$ 。計算密度 $D_c = 1.366\text{g/cm}^3$, 單胞中電子數 $F(000) = 620.0$, 單胞的線性吸收係數 $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.856\text{mm}^{-1}$, 衍射實驗溫度 $T = 150.00(13)\text{K}$ 。



【0500】 TJ-NA092: 檢測晶體為無色稜管柱狀 ($0.30 \times 0.10 \times 0.10 \text{ mm}^3$)，屬三斜晶系 P1 空間群。晶胞參數 $a = 5.17960(10) \text{ \AA}$ ， $b = 8.0667(2) \text{ \AA}$ ， $c = 12.4077(2) \text{ \AA}$ ， $\alpha = 93.146(2)^\circ$ ， $\beta = 101.266(2)^\circ$ ， $\gamma = 96.134(2)^\circ$ ， $V = 503.993(18) \text{ \AA}^3$ ， $Z = 2$ 。計算密度 $D_c = 1.412 \text{ g/cm}^3$ ，單胞中電子數 $F(000) = 228.0$ ，單胞的線性吸收係數 $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.945 \text{ mm}^{-1}$ ，衍射實驗溫度 $T = 100.00(10) \text{ K}$ 。

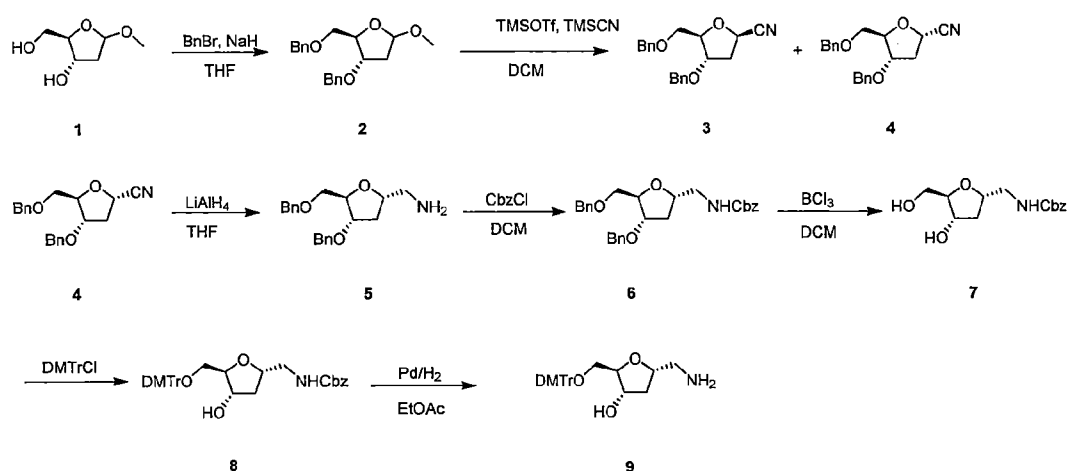
【0501】 實施例 3：製備 NAG0052、L96

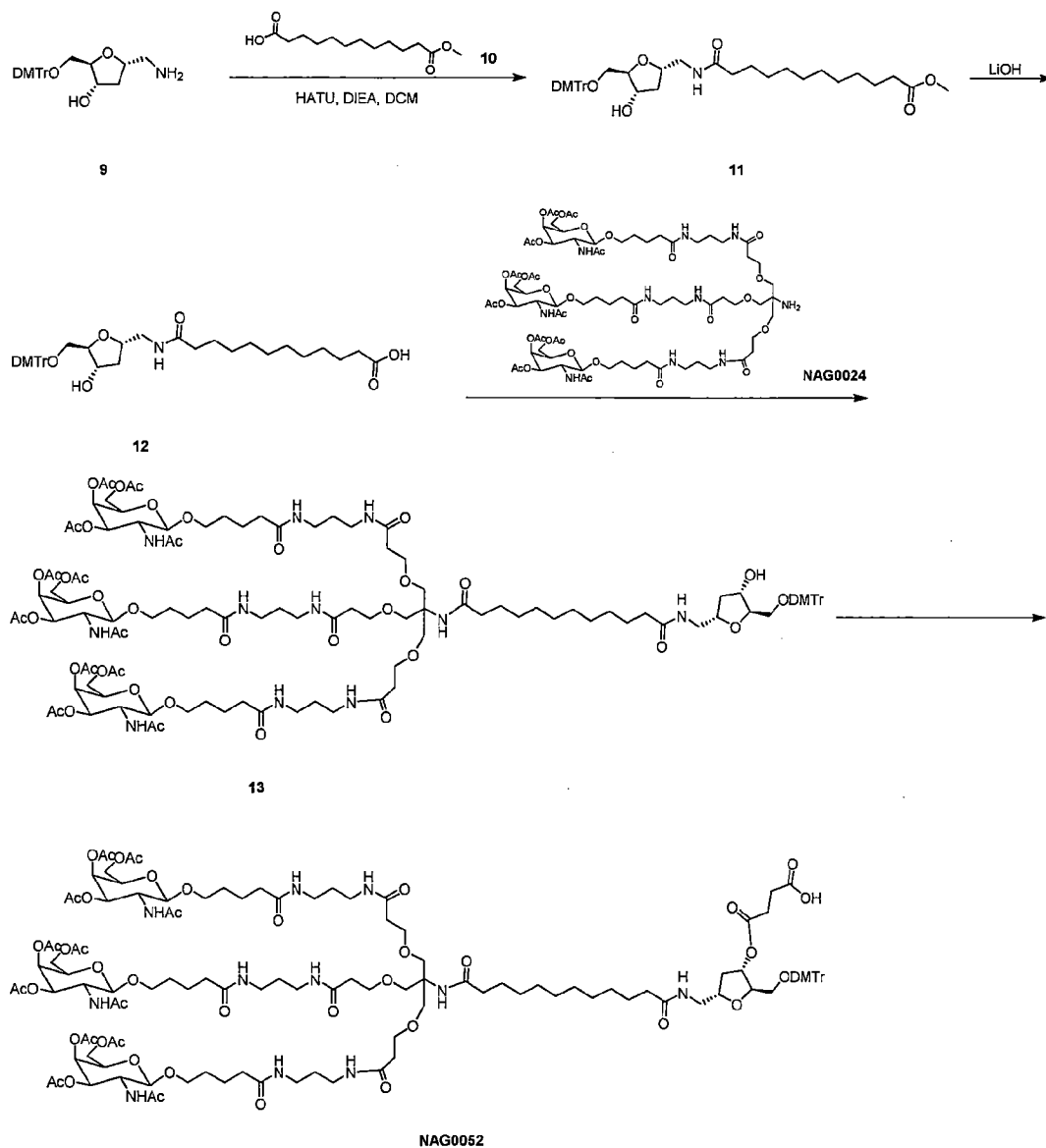
化合物 NAG0024、NAG0026 購買自天津藥明康德新藥開發有限公司。除非特別說明，以下實施例中所用的試劑均為市售商品。

【0502】 化合物 NAG0052 的合成

【0503】 起始原料化合物 1 採購自江蘇倍達醫藥科技有限公司。化合物

NAG0052 的合成路線如下所示：





【0504】上述路線中涉及的具體中間產物以及終產物的合成以及鑑定如下所述：

【0505】化合物 2

在 0°C 以及氮氣保護下，往化合物 1 (12.3 mL, 101 mmol) 的 THF (300 mL) 溶液中分批加入 NaH (12.2 g, 304 mmol, 純度 60%)。該混合物在 20°C 下攪拌 1 小時之後再次冷卻到 0°C，接著往體系中逐滴加入苄溴 (36.3 mL, 304 mmol)，並且在 20°C 攪拌 12 小時。將該反應液用 H₂O (100 mL) 淬滅後，用 EtOAc (200 mL x 2) 萃取。合併後的有機相用飽和食鹽水 (100 mL) 洗滌，Na₂SO₄ 乾燥，過濾，濃

縮得到的殘留物經過矽膠管柱層析分離後得到目標化合物 **2** (20.0 g, 51.8 mmol, 產率 51%)。

LCMS: $t_R = 2.615$ and 2.820 min in 30-90AB_7 min_220&254_Shimadzu.lcm (Xtimate C18, 3 μ m, 2.1*30mm), MS (ESI) $m/z = 351.2$ [M+Na]⁺。

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.35-7.12 (m, 10H), 5.06-4.95 (m, 1H), 4.51-4.39 (m, 4H), 4.24-3.87 (m, 2H), 3.50-3.40 (m, 2H), 3.38-3.20 (m, 3H), 2.20-1.91 (m, 2H)。

【0506】 化合物 3 和 4

在 20°C 以及氮氣保護下，往化合物 **2** (13.0 g, 33.6 mmol) 的 DCM (300 mL) 溶液中一次性加入 TMSCN (13.5 mL, 101 mmol)，接著逐滴加入 TMSOTf (9.14 mL, 50.5 mmol) 的 DCM (30 mL) 溶液。該反應液在 20°C 下攪拌 15 小時。反應結束之後用飽和 NaHCO₃ 水溶液 (80 mL) 淬滅該體系，並且用 DCM (150 mL x 2) 萃取，合併後的有機相用飽和食鹽水 (80 mL) 洗滌，Na₂SO₄ 乾燥，過濾以及濃縮後藉由矽膠管柱層析分離後得到目標化合物 **3** (3.30 g, 9.18 mmol, 產率 27%) 以及淡黃色油狀液體化合物 **4** (8.50 g, 9.18 mmol, 產率 70%)。

【0507】 化合物 3

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.42-7.29 (m, 10H), 4.81 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.65-4.49 (m, 4H), 4.30-4.21 (m, 2H), 3.65-3.57 (m, 1H), 3.57-3.49 (m, 1H), 2.49-2.40 (m, 2H)。

【0508】 化合物 4

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.42-7.26 (m, 10H), 4.93-4.87 (m, 1H), 4.65-4.48 (m, 4H), 4.43-4.38 (m, 1H), 4.21-4.17 (m, 1H), 3.79-3.70 (m, 1H), 3.54 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 2.45-2.37 (m, 2H)。

【0509】 化合物 5

在 0°C 及氮氣保護下將化合物 4 (3.00 g, 9.28 mmol) 的 THF (15 mL) 溶液，滴加到 LiAlH₄ (0.79 g, 20.9 mmol) 的 THF (15 mL) 溶液中，滴加完後體系在 0°C 反應 1 小時。TLC (PE: EtOAc = 3: 1) 監測到原料完全消失。向反應液中緩慢加入十水硫酸鈉，加至不冒泡為止。之後將反應液過濾，濾餅用二氯甲烷 (60 mL) 洗滌三次後，收集濾液旋乾，得目標化合物 5 (3.00 g, 產率 90%)。

¹H NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7.40-7.14 (m, 10H), 4.54-4.38 (m, 4H), 4.06-3.99 (m, 2H), 3.91 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 3.48-3.37 (m, 2H), 2.67-2.52 (m, 2H), 2.21-2.18 (m, 1H), 1.77-1.73 (m, 1H)。

【0510】 化合物 6

在氮氣保護下，將化合物 5 (3.00 g, 8.25 mmol) 溶於 DCM (30 mL)，加入 TEA (3.44 mL, 24.7 mmol) 和 CbzCl (1.76 mL, 12.4 mmol)，20°C 反應 2 小時。LCMS 顯示反應完成。將反應液加入二氯甲烷 (30 mL) 和水 (60 mL) 萃取。有機相用水 (60 mL x 3) 洗滌三次，無水硫酸鈉乾燥，濃縮用正相管柱純化 (PE: EtOAc = 1:1)，得到目標化合物 6 (2.5 g, 產率 90%)。

LCMS: *t*_R = 0.810 min in 5-95AB_1min, MS (ESI) *m/z* = 462.2 [M+H]⁺。

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.39-7.29 (m, 15H), 5.35 (s, 1H), 5.15-5.01 (m, 2H), 4.72 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.54-4.40 (m, 3H), 4.26 (s, 1H), 4.23-4.18 (m, 1H), 4.11-4.04 (m, 1H), 3.54-3.41 (m, 3H), 3.37-3.25 (m, 1H), 2.34-2.23 (m, 1H), 1.85-1.79 (m, 1H)。

【0511】 化合物 7

在氮氣保護下，將化合物 6 (2.00 g, 3.90 mmol) 溶於 DCM (5 mL)，在 -78°C 下加入 BCl₃ 的 THF 溶液 (1M, 27.3 mL)，反應 1 小時。TLC (DCM: MeOH = 10:

1) 監測到原料完全消失。將反應液在-78°C下加入甲醇 (20 mL) 淬滅，濃縮，用正相管柱純化 (DCM: MeOH= 10:1)，得到目標化合物 **7** (2.00 g, 產率 60%)。

¹H NMR: (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7.41-7.23 (m, 5H), 5.08 (s, 2H), 4.25-4.07 (m, 2H), 3.85-3.75 (m, 1H), 3.63-3.56 (m, 1H), 3.54-3.48 (m, 1H), 3.30-3.27 (m, 2H), 2.34-2.21 (m, 1H), 1.71-1.64 (m, 1H)。

【0512】 化合物 **8**

在氮氣保護下，將化合物 **7** (0.50 g, 1.78 mmol) 溶於吡啶 (5 mL) 中，在 0°C 下加入 4A 分子篩 (500 mg) 和 DMTrCl (0.66 mL, 2.13 mmol)，之後升溫至 20°C 反應 1.5 小時。TLC (PE: EtOAc = 2: 1) 監測到原料完全消失。將反應液加入乙酸乙酯 (60 mL) 和水 (60 mL) 萃取，有機相用水 (60 mL x 3) 洗滌三次後用無水硫酸鈉乾燥，濃縮，用正相管柱純化 (PE: EtOAc = 1:1)，得到目標化合物 **8** (800 mg, 產率 90%)。

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.44 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.37-7.23 (m, 11H), 7.22-7.15 (m, 1H), 6.84 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 5.09 (s, 2H), 4.31-4.17 (m, 2H), 4.02-3.91 (m, 1H), 3.84-3.73 (m, 6H), 3.33 (s, 1H), 3.28 (s, 1H), 3.19-3.01 (m, 2H), 2.34-2.25 (m, 1H), 1.70-1.62 (m, 1H)。

【0513】 化合物 **9**

將化合物 **8** (800 mg, 1.234 mmol) 溶於 EtOAc (5 mL)，加入 Pd/C 10% (800 mg, 7.517 mmol)，反應在 H₂ 條件 (15 Psi)，20°C 下反應 1 小時。LCMS 顯示反應已經完成。反應液過濾，濾餅用二氯甲烷 (100 mL) 和甲醇 (100 mL) 洗滌三次，濃縮，經過反相管柱分離得到化合物 **9** (300 mg, 54%)。

LCMS: t_R = 2.586 min in 10-80CD_3min MS (ESI) m/z = 450.2 [M+H]⁺。

【0514】 化合物 11

將化合物 **10** (435 mg, 1.780 mmol) 溶於 DCM (10 mL)，加入 DIEA (0.441 mL, 2.67 mmol) 和 HATU (677 mg, 1.78 mmol) 後，再加入化合物 **9** (400 mg, 0.890 mmol)，20°C 反應 1 小時。TLC (DCM:MeOH=10:1) 監測反應完成。將反應液加入二氯甲烷 (60 mL) 和水 (60 mL) 萃取，有機相用水 (60 mL x 3) 洗滌三次，無水硫酸鈉乾燥，濃縮用正相管柱純化 (PE:EtOAc=0:1 過管柱，在 100% 處出產品峰)，得到目標化合物 **11** (600 mg, 產率 90%)。

LCMS: $t_R = 2.745$ min in 30-90CD_3min, MS (ESI) $m/z = 698.4$ $[M+Na]^+$ 。

¹H NMR: (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7.46-7.38 (m, 2H), 7.35-7.24 (m, 6H), 7.22-7.16 (m, 1H), 6.90-6.78 (m, 4H), 4.29-4.21 (m, 2H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.66-3.62 (m, 3H), 3.41 (s, 1H), 3.18-3.04 (m, 2H), 2.36-2.17 (m, 5H), 1.71-1.50 (m, 5H), 1.39-1.25 (m, 14H)。

【0515】 化合物 12

將化合物 **11** (600 mg, 0.799 mmol) 溶於 THF (3 mL) 和 H₂O (1 mL)，加入 LiOH.H₂O (134 mg, 3.20 mmol)，20°C 反應 12 小時。TLC (DCM:MeOH=10:1) 顯示反應完成。將反應液旋乾，用水 (5 mL) 和甲醇 (5 mL) 溶解，用反向管柱純化 (H₂O:CH₃CN = 1:1, 在 35% 左右出峰)，得到目標化合物 **12** (460 mg, 產率 100%，鋰鹽)。

LCMS: $t_R = 1.346$ min in 10-80CD_3min, MS (ESI) $m/z = 684.3$ $[M+Na]^+$ 。

HPLC: $t_R = 1.879$ min in 10-80CD_6min。

¹H NMR: (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7.47-7.39 (m, 2H), 7.35-7.24 (m, 6H), 7.22-7.15 (m, 1H), 6.91-6.79 (m, 4H), 4.31-4.18 (m, 2H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.78 (s, 6H), 3.44-

3.33 (m, 2H), 3.18-3.04 (m, 2H), 2.35-2.27 (m, 1H), 2.24-2.10 (m, 4H), 1.70-1.51 (m, 5H), 1.31-1.23 (m, 12H)。

【0516】 化合物 13

室溫環境，氮氣保護下，將化合物 NAG0024 (271 mg, 0.151 mmol) 溶解於無水 THF (2 mL) 和無水 DMF (4 mL)，加入 3A 分子篩，再依次加入化合物 12 (100 mg, 0.151 mmol)、HOBt (25 mg, 0.181 mmol)、DCC (38 mg, 0.181 mmol) 和 DIEA (39 mg, 0.302 mmol)。反應液 45°C 反應 16 h。LC-MS 顯示反應完全後，加水淬滅，過濾。濾液濃縮後，經 C18 反相管柱純化 (H₂O/MeCN)，得到化合物 13 (210 mg，產率 57%)。

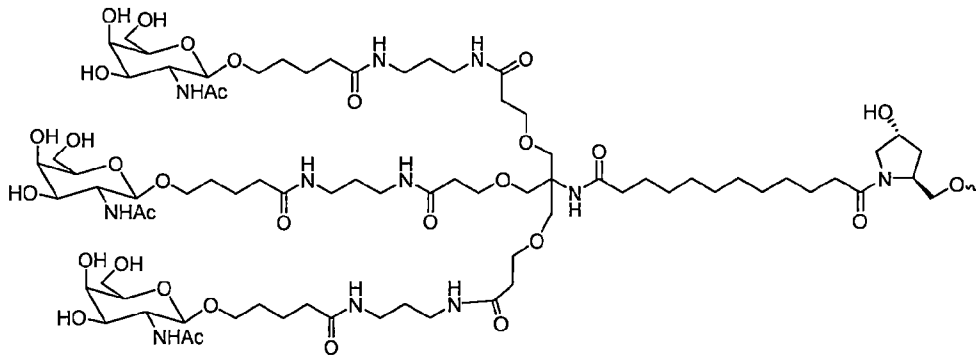
【0517】 化合物 NAG0052

室溫環境下，化合物 13 (230 mg，0.094 mmol) 溶於吡啶 (5 mL)，加入分子篩，加入 DMAP (12 mg，0.283 mmol)，丁二酸酐 (28 mg，0.283 mmol)。氮氣保護，50°C 攪拌 16 小時。LCMS 檢測反應完全，過濾旋乾。過 C18 反相管柱純化後，由製備 HPLC 二次純化，得到目標化合物 NAG0052 (123 mg，0.048 mmol，產率 51%)。

MS (ESI) $m/z = 2535.3$ [M-1]。理論：2536.2。

¹H NMR (400 MHz, Acetonitrile-*d*₃) δ 7.48-7.43 (m, 2H), 7.37-7.12 (m, 11H), 7.00-6.85 (m, 10H), 6.66 (s, 1H), 5.31 (dd, $J = 3.4, 1.1$ Hz, 3H), 5.20-5.13 (m, 1H), 5.05 (dd, $J = 11.3, 3.4$ Hz, 3H), 4.56 (d, $J = 8.5$ Hz, 3H), 4.30 (dd, $J = 7.7, 5.3$ Hz, 1H), 4.18-3.93 (m, 14H), 3.79 (s, 10H), 3.65 (q, $J = 4.7, 3.6$ Hz, 13H), 3.56-3.07 (m, 24H), 2.56 (s, 6H), 2.37 (t, $J = 5.8$ Hz, 10H), 2.17 (t, $J = 7.5$ Hz, 9H), 2.02-1.96 (m, 20H), 1.88 (s, 8H), 1.82-1.73 (m, 2H), 1.60 (dt, $J = 15.0, 7.3$ Hz, 16H), 1.27 (s, 13H)。

【0518】 L96 的合成



【0519】 按照專利申請 WO2014025805A1 記載的方法製備獲得如上結構式所示的 L96。

【0520】 實施例 4： dsRNA 的合成

【0521】 1. 自製帶有載體的樹脂

將含有羧酸基團的化合物 NAG0052 (157 mg, 0.062 mmol) 溶於無水 DMF (3 mL)，待底物完全溶解後，依次加入無水乙腈(4 mL)、DIEA(0.03 mL, 0.154 mmol, 2.5 eq)和 HBTU(35 mg, 0.093 mmol, 1.5 eq)。反應液混合均勻後，再加入大孔胺甲基樹脂(476 mg, 空白載量為 0.41 mmol/g, 目標載量為 0.1 mmol/g)。將反應液放入搖床上(溫度：25°C，轉速：200 rpm)振搖過夜。反應液過濾，濾餅依次分別用 DCM，無水乙腈洗滌，收集固體，真空乾燥過夜。

【0522】 將上步固體分散於無水乙腈(5 mL)，依次加入吡啶(0.18 mL)，DMAP(3 mg)，NMI(0.12 mL)和 CapB1(2.68 mL)。將反應液放入搖床上(溫度：25°C，轉速：200 rpm)振搖 2 h。反應液過濾，濾餅用無水乙腈洗滌，收集固體，真空乾燥過夜，得到帶有載體的樹脂。載量經過測定為 0.1 mmol/g。

【0523】 2. 對於已經連接在樹脂上的 **NAG0052**，使用該樹脂作為起始，按照核苷酸排布順序自 3'-5' 方向逐一連接核苷單體。每連接一個核苷單體都包括脫保護、偶聯、蓋帽、氧化或硫化四步反應。操作為本領域常規。

【0524】 化合物 **NAG0052** 經過固相合成連接到序列上，再經過胺解後，**NAG0052** 結構脫去一部分官能團成為 **NAG0052'**。製得的 dsRNA 具有表 1 和表 2 中所示的有義鏈和反義鏈。

【0525】 表 1. dsRNA 列表

dsRNA 編號	有義鏈編號	反義鏈編號
TRD002218	TJR4373-SS	TJR0414-AS
TRD007205	TJR013485S	TJR0414-AS

【0526】 表 2. 有義鏈和反義鏈的核酸序列

		SEQ ID NO	序列方向 5'-3'
有義鏈	TJR4373-SS	25	CmsAmsGm UmGfUm UfCfUf UmGmCm UmCmUm AmUmAm Am-L96
	TJR013485S	26	CmsAmsGm UmGfUm UfCfUf UmGmCm UmCmUm AmUmAms Ams-NAG0052'
反義鏈	TJR0414-AS	27	UmsUfsAm UmAmGf AmGmCm AmAmGm AmAfCm AfCmUm GmsUmsUm

【0527】 在上表中，大寫字母 G、A、C、U 分別表示包含鳥嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶的核苷酸，小寫字母 m 表示 2'-甲氧基修飾，小寫字母 f 表示 2'-

氟修飾，小寫字母 s 表示與該字母 s 左右相鄰的兩個核苷酸之間為硫代磷酸二酯基連接；以下同。

【0528】 實施例 5：dsRNA 在體內對靶基因 mRNA 表達量的抑制

本實驗考察本揭露的綴合不同的 dsRNA 在體內對靶基因 mRNA 表達量的抑制效率

【0529】 將雄性 6-8 週齡 C57BL/6 小鼠隨機分組，每組共 6 隻，每個時間點各 3 隻，分別向每組小鼠給予 TRD007205、參比陽性 TRD002218 以及 PBS。

【0530】 所有動物依據體總計算給藥量，採用皮下注射方式單次給藥，dsRNA 給藥劑量（以無配體核苷酸的量計）為 1 mg/kg，給藥體積為 5mL/kg。給藥 7 天、28 天後處死小鼠，收集肝臟，用 RNA later（Sigma Aldrich 公司）保存；隨後用組織勻漿儀勻漿肝組織，再用組織 RNA 提取試劑盒（凡知醫療科技，FG0412）根據操作說明書標注的操作步驟提取得到肝組織總 RNA。將總 RNA 反轉錄成 cDNA 並採用實時螢光定量 PCR 方法檢測肝組織中的 TTR mRNA（轉甲狀腺蛋白 mRNA）的表達量。在該螢光定量 PCR 法中，以甘油醛 3-磷酸脫氫酶（GAPDH）基因作為內參基因，使用針對 TTR 和 GAPDH 的 Taqman 探針引子分別檢測 TTR 和 GAPDH 的 mRNA 表達量。

【0531】 表 3. 小鼠體內實驗分組信息：

編號	Dose	mRNA 定量	動物數目	備註
PBS	-	D7, 28	6	每個時間點各 3 隻
TRD002218	1mpk s.c.	D7, 28	6	每個時間點各 3 隻
TRD007205	1mpk s.c.	D7, 28	6	每個時間點各 3 隻

【0532】表 4. 檢測引子的序列參見如下：

引子名稱	SEQ ID NO	正向引子
mTTR-F	28	GGGAAGACCGCGGAGTCT
mTTR-R	29	CAGTTCTACTCTGTACACTCCTTCTACAAA
mTTR-P	30	5`6-FAM-CTGCACGGGCTCACCACAGATGA- 3`BHQ1
mGAPDH-F	31	CGGCAAATTCAACGGCACAG
mGAPDH-R	32	CCACGACATACTCAGCACCG
mGAPDH-P	33	5`TET-ACCATCTTCCAGGAGCGAGACCCCACT- 3`BHQ2

【0533】TTR mRNA 表達量按照如下等式計算：

TTR mRNA 表達量=【(測試組 TTR mRNA 表達量/測試組 GAPDH mRNA 表達量) / (對照組 TTR mRNA 表達量/對照組 GAPDH mRNA 表達量)】x 100%。

【0534】給藥 7 天、28 天後，本揭露的綴合不同結構的 dsRNA 的在體內對靶基因 mRNA 表達量的抑制效率分別見圖 1 和圖 2。由圖 1 的結果可知，TRD007205 在給藥後 7 天對於 TTR mRNA 的表達抑制均具有良好的效果。由圖 2 可知，給藥 28 天後，TRD007205 對靶基因 mRNA 表達量的抑制作用均優於 TRD002218。

【0535】實施例 6：合成 dsRNA

【0536】1. 自製帶有載體的樹脂。

【0537】 2. 使用帶有 **NAG0052** 的樹脂作為起始，按照核苷酸排布順序自 3'-5' 方向逐一連接核苷單體。每連接一個核苷單體都包括脫保護、偶聯、蓋帽、氧化或硫化四步反應。

【0538】 製得的 dsRNA 具有表 5 和表 6 中所示的有義鏈和反義鏈。

表 5. dsRNA 列表

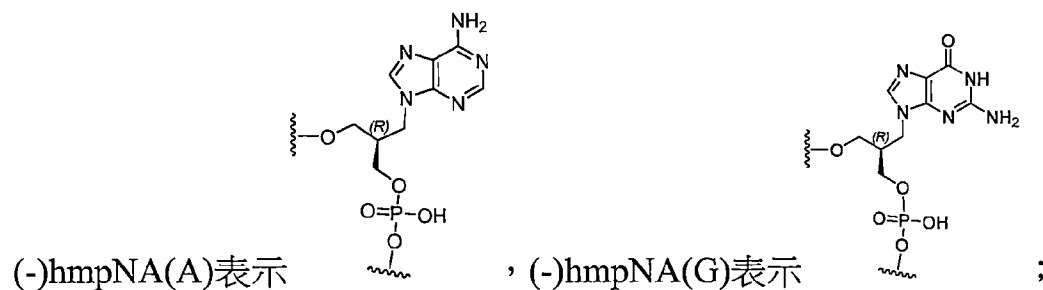
dsRNA 編號	有義鏈編號	反義鏈編號
TRD008069	TJR015002S	TJR014946A
TRD008042	TJR015002S	TJR014947A
TRD008070	TJR015002S	TJR014948A
TRD008071	TJR015002S	TJR014949A
TRD008072	TJR015002S	TJR014950A
TRD008073	TJR015002S	TJR014951A
TRD008074	TJR015002S	TJR014952A
TRD008043	TJR015002S	TJR014953A
TRD008075	TJR015002S	TJR014954A
TRD008076	TJR015002S	TJR014956A
TJR100383	S0262	A0252
TJR100384	S0263	A0252
TJR100385	S0262	A0253
TJR100386	S0263	A0253
TRD007972-1	TJR014883S-1	TJR013122A

【0539】表 6. dsRNA 的有義鏈和反義鏈

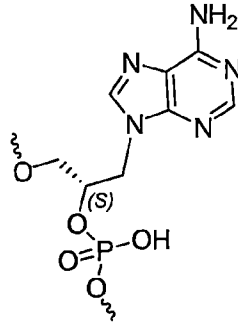
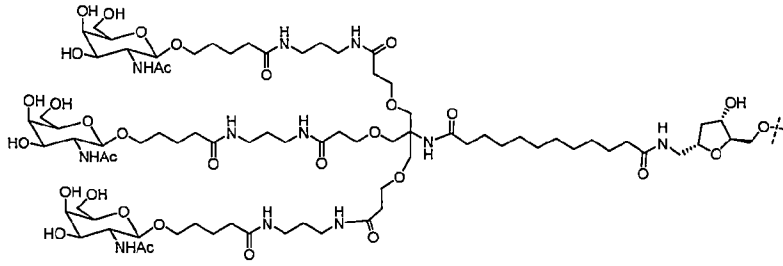
	單鏈編號	SEQ ID NO	序列方向 5'-3'
有 義 鏈	TJR015002S-1	3	UmsAmsUmUmCmUmCfAfGfUmGmCmUmCmU mCmCmUmAm
	TJR015002S	4	UmsAmsUmUmCmUmCfAfGfUmGmCmUmCmU mCmCmUmAm-NAG0052'
	S0262	15	UmsAmsUmUmCfUmCfAfGfUmGmCmUmCmUm CmCmUmAm-L10
	S0263	16	UmsAmsUmUmCfUmCfAfGfUmGmCmUmCmUm CmCmUmAm-L96
	TJR014883S-1	17	UmsAmsUmUmCmUmCfAfGfUmGmCmUmCmU mCmCmUmAm-NAG0052'
反 義 鏈	TJR014946A	5	UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUfG mAfGmAfAmUmAmsCmsUm
	TJR014947A	6	UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUm GmAfGmAfAmUfAmsCmsUm
	TJR014948A	7	UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUf GmAfGmAfAmUfAmsCmsUm
	TJR014949A	8	UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUf GmAfGmAfAmUfAmsCmsUm
	TJR014950A	9	UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmU mGmAfGmAfAmUmAmsCmsUm

TJR014951A	10	UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUm GmAfGmAfAmUmAmsCmsUm
TJR014952A	11	UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUm GmAfGmAfAmUmAmsCmsUm
TJR014953A	12	UmsAfsGmGmAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAmCmUf GmAfGmAfAmUmAmsCmsUm
TJR014954A	13	UmsAfsGmGmAmGm(-)hmpNA(A)GfCfAmCmUm GmAfGmAfAmUmAmsCmsUm
TJR014956A	14	UmsAfsGmGmAmGm(-)hmpNA(A)GmCmAmCm UmGmAfGmAmAmUmAmsCmsUm
A0252	18	UmsAfsGmGmAmGfAmGfCfAmCmUmGmAfGm AfAmUmAmsCmsUm
A0253	19	UmsAfsGmGmAmGfA(GNA)GfCfAmCmUmGmAf GmAfAmUmAmsCmsUm
TJR013122A	20	UmsAfsGmGfAmGf(-)hmpNA(A)GmCmAfCmUfG mAfGmAfAmUfAmsCmsUm

其中，

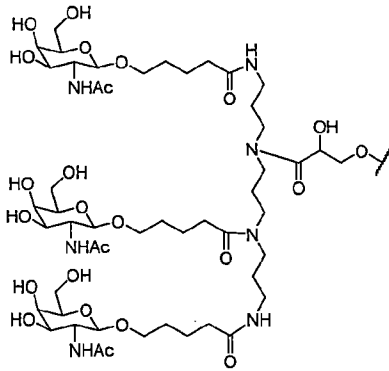


【0540】 NAG0052'的結構為：

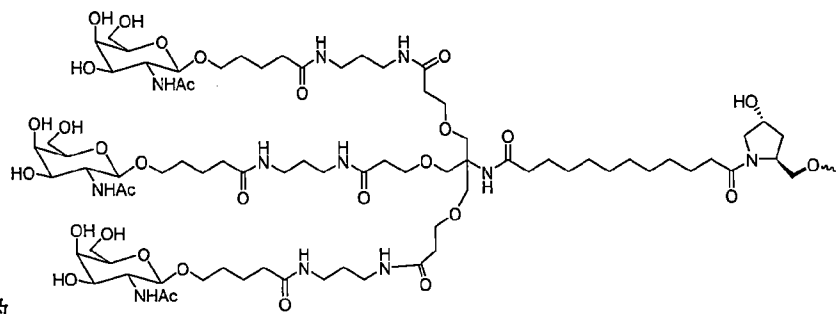


【0541】 A(GNA)的結構為：

【0542】 L10 的結構為：



L10



L96 結構為

【0543】表 7. dsRNA 的有義鏈和反義鏈對應的裸序列

	裸序列所對應的 shi'shi 單鏈編號	SEQ ID NO	裸序列，序列方向 5'-3'
有義鏈	TJR015002S、TJR015002S-1、S0262、 S0263、TJR014883S-1	1	UAUUCUCAGUGCUCUC CUA
反義鏈	TJR014946A、TJR014947A、 TJR014948A、TJR014949A、 TJR014950A、TJR014951A、 TJR014952A、TJR014953A、 TJR014954A、TJR014955A、 TJR014956A、A0252、A0253、 TJR013122A	2	UAGGAGAGCACUGAGA AUACU

【0544】實施例 7：人原代肝細胞（PHH）中人 APOC3 的抑制-7 個濃度點抑制活性

在人原代肝細胞（PHH）中採用 7 個濃度梯度對 dsRNA 進行人原代肝細胞（PHH）活性篩選。各個 dsRNA 樣品轉染起始終濃度為 10 nM，5 倍梯度稀釋和 7 個濃度點。

【0545】PHH 凍存於液氮中，轉染前 24 h，將人原代肝細胞（PHH）復蘇後接種於 96 孔板，接種密度為每孔 3×10^4 個細胞，每孔 80 μ L 培養基。參照產品說明手冊，使用 Lipofectamine RNAi MAX（ThermoFisher，13778150）轉染 dsRNA，dsRNA 轉染的梯度終濃度為 10 nM、2 nM、0.4 nM、0.08 nM、0.016 nM、0.0032 nM 和 0.00064 nM。在處理 24 小時後，使用高通量細胞 RNA 提取試劑盒

進行細胞總 RNA 提取、RNA 逆轉錄實驗和定量實時 PCR 檢測，測定人 APOC3 的 mRNA 水平，根據 GAPDH 內參基因水平對人 APOC3 的 mRNA 水平進行校正。

【0546】其中，在實時定量 PCR 檢測時，採用的是探針 Q-PCR 檢測實驗，其引子信息如表 8 所示。

【0547】表 8. Taqman 引子信息表

引子名稱	SEQ ID	引子序列
	NO	
hAPOC3-PF	32	TGCCTCCCTTCTCAGCTTCA
hAPOC3-PR	33	GGGAACTGAAGCCATCGGTC
hAPOC3-P	34	ATGAAGCACGCCACCAAGACCGCCA
hGAPDH-PF1-MGB	35	GACCCCTTCATTGACCTCAACTAC
hGAPDH-PR1-MGB	36	TTGACGGTGCCATGGAATTT
hGAPDH-P1-MGB	37	TTACATGTTCCAATATGATTCC

【0548】結果分析方法

Q-PCR 檢測實驗完畢後，按照系統自動設定的閾值獲取相應的 Ct 值，可以藉由 Ct 值比較，相對定量某個基因的表達：比較 Ct 指的是藉由與內參基因 Ct 值之間的差值來計算基因表達差異，也稱之是 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ， $\Delta\Delta Ct = [(Ct \text{ 實驗組目的基因} - Ct \text{ 實驗組內參}) - (Ct \text{ 對照組目的基因} - Ct \text{ 對照組內參})]$ 。抑制率 (%) = (1 - 目的基因表達剩餘量) * 100%。

【0549】結果以相對於經過對照 dsRNA 處理的細胞的人 APOC3 mRNA 表達剩餘百分比來表示。抑制率的 IC₅₀ 結果見表 9。表 9 實驗結果表明，TRD008043 優於其餘組別。

【0550】表 9. siRNA 在 PHH 細胞中多劑量抑制活性

化合物編號	靶基因 mRNA (PHH) 表達剩餘百分比 (平均值)							IC ₅₀ 值 (nM)
	10nM	2nM	0.4nM	0.08nM	0.016nM	0.0032nM	0.00064nM	
TRD008069	24.92%	38.33%	68.39%	73.47%	83.11%	91.01%	92.01%	1.0798
TRD008042	26.53%	37.89%	61.49%	72.17%	86.28%	89.10%	86.96%	0.7943
TRD008070	23.78%	36.48%	56.66%	70.28%	84.23%	86.48%	91.03%	0.6150
TRD008071	45.02%	31.96%	49.62%	68.05%	80.10%	84.87%	99.95%	0.3525
TRD008072	19.87%	29.88%	44.58%	70.06%	86.87%	86.88%	79.12%	0.3005
TRD008073	19.79%	28.22%	49.97%	66.67%	87.28%	94.27%	93.77%	0.3286
TRD008074	22.46%	31.73%	56.32%	75.03%	94.54%	96.84%	95.29%	0.5109
TRD008043	11.76%	24.58%	42.58%	80.06%	137.04%	142.87%	139.52%	0.2326
TRD008075	22.78%	37.10%	53.89%	71.67%	89.33%	85.35%	90.65%	0.5623
TRD008076	20.26%	40.18%	53.04%	73.64%	87.25%	89.06%	98.43%	0.6770

【0551】以相同的方法考察 TRD007972-1 與 TJR100385、TJR100386 的活性差異，抑制率的 IC₅₀ 結果見表 10。

【0552】表 10 結果表明，TRD007972-1 在 PHH 細胞中針對 APOC3 基因具有高水平的在靶抑制活性，優於 TJR100385、TJR100386。

【0553】表 10. dsRNA 在 PHH 細胞中多劑量抑制活性

化合物編號	靶基因 mRNA (PHH) 表達剩餘百分比 (平均值)							IC ₅₀ 值 (nM)
	10nM	2nM	0.4nM	0.08nM	0.016nM	0.0032nM	0.00064nM	
TRD007972-1	9.56%	13.93%	16.38%	30.71%	59.05%	90.95%	100.24%	0.0257
TJR100385	11.28%	14.67%	24.83%	40.91%	72.83%	94.84%	100.61%	0.0525
TJR100386	11.37%	16.44%	25.55%	44.03%	79.38%	98.46%	105.35%	0.0652

【0554】實施例 8：dsRNA 的 psiCHECK 反義鏈 (AS 鏈) 脫靶水平驗證在 HEK-293A 細胞中採用 9 個濃度梯度對 dsRNA 進行體外分子水平模擬在靶及脫靶水平篩選。結果表明，TRD008043 具有高活性的同時，還具有低脫靶性。

【0555】構建 dsRNA 序列對應的脫靶序列，插入到 psiCHECK-2 質粒中。該質粒包含海腎螢光素酶基因及螢火蟲螢光素酶基因。作為雙報告基因系統，dsRNA 的靶序列插入到海腎螢光素酶基因的 3' UTR 區域，dsRNA 對於靶標序列的活性可以藉由經螢火蟲螢光素酶校準後的海腎螢光素酶表達情況的檢測來反映，檢測使用 Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega, E2940)。

【0556】dsRNA 序列對應的 GSSM 靶標質粒構建規則如下：

針對 dsRNA 的反義鏈，構建與反義鏈 5'端 1-8 位完全互補，而其它位置的鹼基完全不匹配的脫靶質粒 (GSSM)，鹼基錯配對應規則為 A 與 C 互配、G 與 T 互配。

【0557】 HEK293A 細胞培養於含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培養基中，在 37°C，5% CO₂ 條件下培養。轉染前 24 h，將 HEK293A 細胞接種於 96 孔板，接種密度為每孔 8×10³ 個細胞，每孔 100 μL 培養基。

【0558】 按照說明書，使用 Lipofectamine2000 (ThermoFisher, 11668019) 對細胞共轉染 dsRNA 及對應質粒，Lipofectamine2000 每孔使用 0.2 μL，質粒轉染量為 20 ng 每孔。對於脫靶序列質粒，dsRNA 共設置 9 個濃度點，最高濃度點終濃度為 20nM，3 倍梯度稀釋，20nM、6.6667nM、2.2222nM、0.7407nM、0.2469 nM、0.0823 nM、0.0274 nM、0.0091 nM、0.0030 nM。轉染後 24h，採用 Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega, E2940) 檢測脫靶水平。

【0559】 結果如表 11 所示，結果表明，與 TJR100383 和 TJR100384 相比，TRD008043 無脫靶風險。

【0560】 表 11. AS 鏈種子區 psiCHECK 脫靶活性篩選結果

靶基因 mRNA (GSSM) 表達剩餘百分比 (平均值)					
雙鏈代碼	20 nM	6.6667 nM	2.2222 nM	0.7407 nM	0.2469 nM
TJR100383	18.76%	21.50%	30.04%	59.86%	90.79%
TJR100384	20.50%	27.59%	34.24%	64.27%	102.36%
TRD008043	87.92%	87.25%	95.16%	94.00%	86.86%
雙鏈代碼	0.0823 nM	0.0274 nM	0.0091 nM	0.0030 nM	IC50(nM)
TJR100383	100.95%	103.06%	89.70%	98.64%	1.0129
TJR100384	98.38%	104.87%	104.37%	108.00%	1.0937
TRD008043	93.45%	89.65%	89.41%	89.24%	> 20

【0561】 實施例 9： Tg 小鼠的藥效學研究

小鼠為 B6；CBA-Tg(APOC3)3707Bres/J，品系：#006907（Jackson 實驗室，11-12w），以下簡稱 APOC3 Tg 小鼠，雌雄各 9 隻。動物到達後分籠飼養 N=2/籠，適應 10 天。每週測量一次體重。

【0562】 給藥前 14 天收集至少 40 μ L 血漿樣本(~90 μ L 血液)，用於適應期進行血漿中 HDL、LDL、TG、TC 和 ApoC3 第一次基線測量。第二次基線在給藥前 7 天進行，收集至少 40 μ L 血漿樣本(~90 μ L 血液)進行第二次血漿中 TG、TC、HDL-C 和 ApoC3 檢測；選取 17 隻動物，根據 TG 和 ApoC3（載脂蛋白 C3）水平，分成 3 組。第三次基線在給藥當天上午進行，收集至少 40 μ L 血漿樣本(~90 μ L 血液)進行 TG、TC、HDL-C 和 ApoC3 檢測，這組數據將作為 0 點(第 0 天)基線。

【0563】 供試品預配製時，用生理鹽水(PH=7.4)溶解，每種溶液取 5 μ L 稀釋 10 倍，再用 NanoDrop 檢測濃度 3 次/種。給藥配方的最終濃度將根據 NanoDrop 的結果進行調整。單次給予生理鹽水組和受試樣品，均為皮下注射，注射體積根據給藥前的體重計算而得。

【0564】 給藥後每週測量一次體重，第 7、14、21、28、35 和 42 天收集血漿樣本（採集血液前，過夜禁食）進行血漿中 ApoC3、TG、TC 和 HDL-C 檢測。血樣採集後半小時內離心（離心條件：4°C, 3000g, 5min）。將血漿收集到 2 支聚丙烯管中，體積分別為 30 μ L (準確體積)和 10~15 μ L (其餘)，乾冰速凍，樣品分析前保存在-80°C 冰箱中。結果如表 13-表 15 所示。

【0565】表 12. 實驗分組及給藥方案

組別	受試物	給藥劑量	給藥途徑	採血點 (天)	動物數
		(mg/kg)			
1	生理鹽水	/	皮下注射	-14, -7, 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42	3 雄+3 雌
2	TRD008043	3	皮下注射	-14, -7, 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42	3 雄+3 雌
3	TRD007972-1	3	皮下注射	-14, -7, 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42	2 雄+3 雌

【0566】表 13. APOC3 Tg 小鼠單次給予受試物後血漿中 APOC3 與 0 天基線的百分比 ($\bar{x}\pm SE$)

組別	人 APOC3 (與第 0 天的百分比)					
	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	第 42 天
生理鹽水	95.40±19.60	104.68±18.48	94.78±17.40	103.64±17.70	84.77±13.31	96.80±12.04
TRD008043 3mg/kg	9.07±2.32***	11.90±3.27***	11.32±2.93***	17.24±4.40***	20.58±5.14**	38.18±14.08*
TRD007972-1 3mg/kg	14.90±1.94***	37.12±10.12***	37.60±8.59**	60.99±10.39	62.17±9.32	82.45±15.83

*** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$, p 均為與生理鹽水組相比。One-way ANOVA Dunnett's test。

【0567】表 13 結果表明：APOC3 Tg 小鼠單次給予受試樣品後，TRD008043 組小鼠血漿中 APOC3 與生理鹽水組比較，第 7 天、第 14 天、第 21 天、第 28

天、第 35 天、第 42 天與 0 天的基線的百分比有顯著的降低。而 TRD007972-1 組小鼠血漿中 APOC3 與生理鹽水組比較，第 35 天、第 42 天與 0 天的基線的百分比無明顯差異。同時，從數值上看，TRD008043 組在單次給藥後血漿中 APOC3 與 0 天基線百分比在 D14-D35 約比 TRD007972-1 低 3 倍。

【0568】結果表明，TRD008043 與 TRD007972-1 相比，TRD008043 降低人 APOC3 的效果優於 TRD007972-1。

【0569】表 14. APOC3 Tg 小鼠單次給予受試物後血漿中 TG 與 0 天基線的百分比 ($\bar{x}\pm SE$)

組別	TG (與第 0 天的百分比)					
	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	第 42 天
生理鹽水	86.36±8.35	97.92±13.02	106.96±9.25	110.12±17.72	98.09±12.82	84.22±8.90
TRD008043 3mg/kg	15.17±3.36***	17.02±4.53***	18.42±4.93***	21.77±5.66**	26.17±6.95	36.01±6.95
TRD007972-1 3mg/kg	28.78±5.87***	41.20±9.06**	49.20±9.83**	67.68±16.12	114.80±40.98	74.58±7.84

*** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$, p 均為與生理鹽水組相比，One-way ANOVA Dunnett's test

【0570】表 14 結果表明，APOC3 Tg 小鼠單次給予受試樣品後，至第 28 天，與生理鹽水組比較，TRD008043 仍保持顯著降低血漿中 TG 的作用，但 TRD007972-1 與生理鹽水組比較已無顯著性區別。同時，從數值上看，TRD008043 組在單次給藥後血漿中 TG 與 0 天的基線百分比在 D14-D35 約比 TRD007972-1 組低 2-4 倍。

【0571】 結果表明，TRD008043 與 TRD007972-1 相比，TRD008043 降低 TG 的效果優於 TRD007972-1。

【0572】 表 15. APOC3 Tg 小鼠單次給予受試物後血漿中 TC 與 0 天基線的百分比 ($\bar{x}\pm SE$)

組別	TC (與第 0 天的百分比)					
	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	第 42 天
生理鹽水	86.45±8.49	99.41±14.27	109.96±12.78	98.10±14.34	91.89±14.95	82.03±10.27
TRD008043 3mg/kg	42.70±9.21*	45.45±11.65*	47.60±11.42*	44.92±10.51*	42.59±11.75	49.61±10.11
TRD007972-1 3mg/kg	66.54±6.80	75.07±6.34	80.71±6.53	89.51±8.64	79.62±8.92	85.56±7.90

* $p<0.05$ ， p 為與生理鹽水組相比，One-way ANOVA Dunnett's test

【0573】 表 15 結果表明，APOC3 Tg 小鼠單次給予受試樣品後，至第 28 天，與生理鹽水組比較，TRD008043 仍保持顯著降低血漿中 TC 的作用，但 TRD007972-1 與生理鹽水組比較均無顯著性區別。同時，從數值上看，TRD008043 組在單次給藥後血漿中 TC 與 0 天的基線百分比在 D14-D35 約比 TRD007972-1 組低 2 倍。

【0574】 結果表明，TRD008043 與 TRD007972-1 相比，TRD008043 降低 TC 的效果優於 TRD007972-1。

【符號說明】 無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3"
fileName="99842-中文序列表.xml" softwareName="WIPO Sequence"
softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-05-05">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>112102800</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-01-19</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>722182CPCT</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>CN</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>CN202210064031.8</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-01-20</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">大陸商上海拓界生物医药科技有限公司
</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>TUOJIE BIOTECH(SHANGHAI) CO., LTD.</ApplicantNameLatin>
  <InventorName languageCode="zh">王, 艷輝</InventorName>
  <InventorNameLatin>WANG, YANHUI</InventorNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">一種dsRNA、其應用及製備方法</InventionTitle>
  <InventionTitle languageCode="en">DSRNA, ITS APPLICATION AND PREPARATION
METHOD</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>39</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q118">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <NonEnglishQualifier_value>dsRNA的有義鏈對應的裸序列
</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q119">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tattctcagtgctctccta</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q120">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <NonEnglishQualifier_value>dsRNA的反義鏈對應的裸序列
          </NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q121">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 3" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q122">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q123">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>

```

```

    <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tattctcagtgctctccta</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q124">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q125">

```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tattctcagtgtctctccta</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q126">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    <INSDQualifier id="q127">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 6" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q128">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
</INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q129">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q130">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q131">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
  </NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q132">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>

```

```

    <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q133">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
  </NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q134">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>

```

```

<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q135">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q136">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>

```

```

<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q137">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
  </NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q138">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q139">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q140">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q141">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
  </NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q142">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q143">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q144">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q145">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q146">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q147">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
      </NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tattctcagtgctctccta</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q148">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q149">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tattctcagtgctctccta</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q150">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>

```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q151">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tattctcagtgctctccta</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q152">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q153">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
    </NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q154">

```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q155">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
    </NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDQualifier id="q156">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q157">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表6所示的修飾
  </NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```

</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q158">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <NonEnglishQualifier_value>有義鏈</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q159">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>unsure</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>19</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q160">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>為A或G</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tattctcagtgtctctctr</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q161">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <NonEnglishQualifier_value>反義鏈</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q162">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taggagagcactgagaatact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q163">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <NonEnglishQualifier_value>有義鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q164">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>unsure</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>19</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q165">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <NonEnglishQualifier_value>為C或U</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gcaccgttaaggacaagty</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q166">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <NonEnglishQualifier_value>反義鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q167">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacttgctccttaacggtgctc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q168">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q169">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <NonEnglishQualifier_value>具有如說明書表2所示的修飾
          </NonEnglishQualifier_value>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cagtgttcttgctctataa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q170">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q171">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<NonEnglishQualifier_value>具有說明書表2所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cagtgttcttgctctataa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q172">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q173">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<NonEnglishQualifier_value>具有說明書表2所示的修飾
</NonEnglishQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttatagagcaagaacactggt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 28" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q174">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>mTTR-F</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>TTR-F</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q175">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gggaagaccgcggagtct</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 29" >
  <INSDSeq>

```

```
<INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q176">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>mTTR-R</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>mTTR-R</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q177">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cagttctactctgtacactccttctacaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q178">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>mTTR-P</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>mTTR-P</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q179">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ctgcacgggctcaccacagatga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q180">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>mGAPDH-F</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>mGAPDH-F</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q181">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cggcaaattcaacggcacag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 32" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q182">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>mGAPDH-R</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>mGAPDH-R</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q183">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ccacgacatactcagcaccg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>

```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 33" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q184">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>mGAPDH-P</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>mGAPDH-P</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q185">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>accatcttccaggagcgagaccccact</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 34" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q186">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>hAPOC3-P</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>hAPOC3-P</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q187">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgaagcagccaccaagaccgcca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>24</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..24</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q188">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>hGAPDH-PF1-MGB</INSDQualifier_value>
```

```

    <NonEnglishQualifier_value>hGAPDH-PF1-MGB</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q189">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gacccttcattgacctcaactac</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q190">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>hGAPDH-PR1-MGB</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>hGAPDH-PR1-MGB</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q191">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>

```

```
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttgacggtgccatggaattt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 37" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q192">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>hGAPDH-P1-MGB</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>hGAPDH-P1-MGB</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q193">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttacatgttccaatatgattcc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 38" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q194">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>hAPOC3-PF</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>hAPOC3-PF</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q195">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tcctcccttctcagcttca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q196">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>hAPOC3-PR</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>hAPOC3-PR</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q197">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gggaactgaagccatcggtc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```


其中， N_a 為 2'-甲氧基修飾的核苷酸， N_b 為 2'-氟修飾的核苷酸。

【請求項3】 如請求項 1 或 2 所述的 dsRNA，其中，

該反義鏈包含如下式所示的核苷酸序列：

5'- N_a ' N_b ' N_a 'X' N_a 'X'W'X'X'X' N_a 'X' N_a ' N_b ' N_a 'X' N_a 'X' N_a ' N_a '-3'；

較佳地，該反義鏈包含如下式所示的核苷酸序列：

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_a 'W' N_b ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b 'W' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a '-3'；

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_a 'W' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a '-3'；

或，

5'- N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_a 'W' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_a ' N_b ' N_a ' N_a ' N_a ' N_a '-3'；

其中，每個 X' 獨立地為 N_a ' 或 N_b '； N_a ' 為 2'-甲氧基修飾的核苷酸， N_b ' 為 2'-氟修飾的核苷酸；

W' 表示包含式 (I) 所示的化學修飾、其互變異構體或其藥學上可接受的鹽的核苷酸。

【請求項4】如請求項1至3中任一項所述的 dsRNA，其中，該有義鏈和/或反義鏈中至少一個磷酸酯基為具有修飾基團的磷酸酯基，較佳為硫代磷酸酯基，更佳為硫代磷酸二酯基。

【請求項5】如請求項4所述的 dsRNA，其中，該硫代磷酸二酯基存在於以下位置中的至少一處：

該有義鏈的 5'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；

該有義鏈的 5'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；

該反義鏈的 5'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；

該反義鏈的 5'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；

該反義鏈的 3'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；以及

該反義鏈的 3'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；

較佳地，該有義鏈和/或反義鏈中包括多個硫代磷酸二酯基，該硫代磷酸二酯基存在於：

該有義鏈的 5'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；和，

該有義鏈的 5'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；和，

該反義鏈的 5'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；和，

該反義鏈的 5'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；和，

該反義鏈的 3'端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；和，

該反義鏈的 3'端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間。

【請求項6】如請求項1至5中任一項所述的 dsRNA，其中，

該有義鏈包含與 SEQ ID NO:1 的核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸的至少

15 個連續核苷酸；並且

該反義鏈包含與 SEQ ID NO:2 的核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸的至少 19 個連續核苷酸；

較佳地，

該有義鏈包含 SEQ ID NO:1 所示的核苷酸序列，並且反義鏈包含 SEQ ID NO:2 所示的核苷酸序列。

【請求項7】 如請求項 1 至 6 中任一項所述的 dsRNA，其中，

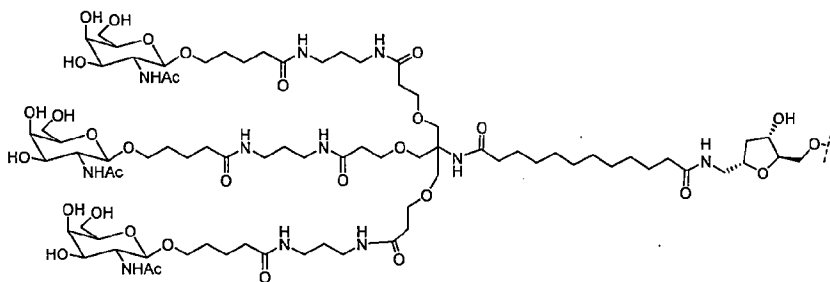
該反義鏈包含 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13 和 SEQ ID NO:14 中任一項所示的核苷酸序列；

較佳地，該有義鏈包含 SEQ ID NO:3 所示的核苷酸序列。

【請求項8】 如請求項 1 至 7 中任一項所述的 dsRNA，其中，該 dsRNA 還包括與其綴合的配體，該配體包含 N-乙醯基-半乳糖胺。

【請求項9】 如請求項 8 所述的 dsRNA，其中，

該配體具有如下結構或其藥學上可接受的鹽，



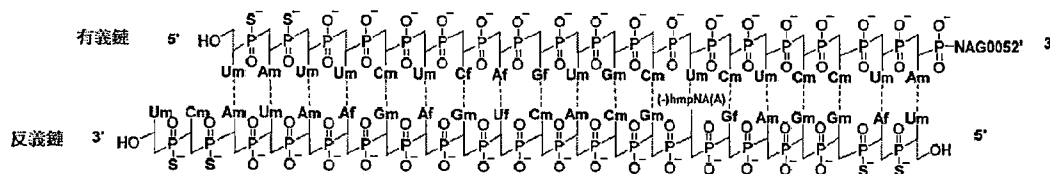
【請求項10】 如請求項 8 或 9 所述的 dsRNA，其中，該 dsRNA 有義鏈的 3' 端與該配體綴合。

【請求項11】 如請求項 8 至 10 中任一項所述的 dsRNA，其中，該配體藉由磷酸酯基團或硫代磷酸酯基團與該 dsRNA 有義鏈的 3'端連接；較佳藉由磷酸二酯基團或硫代磷酸二酯基團連接，更佳藉由磷酸二酯基團連接。

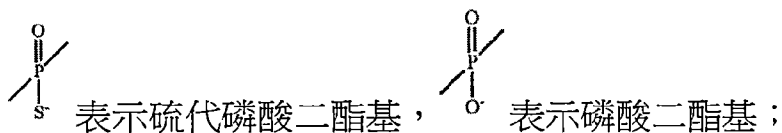
【請求項12】 如請求項 1 至 11 中任一項所述的 dsRNA，其中，該反義鏈包含 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 任一項所示的核苷酸序列；

較佳地，該有義鏈包含 SEQ ID NO:4 所示的核苷酸序列。

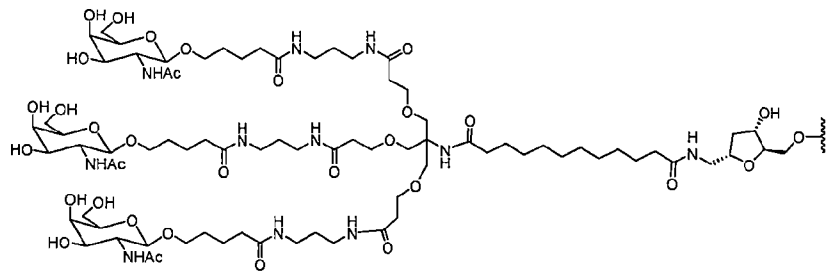
【請求項13】 如請求項 1 至 12 中任一項所述的 dsRNA，其中，該 dsRNA 具有如下結構或其藥學上可接受的鹽：



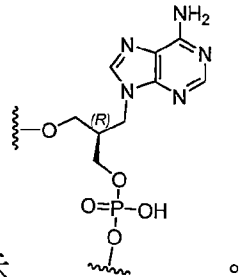
其中，Af = 腺嘌呤2'-F核糖核苷；Cf = 胞嘧啶2'-F核糖核苷；Uf = 尿嘧啶2'-F核糖核苷；Gf = 鳥嘌呤2'-F核糖核苷；Am = 腺嘌呤2'-OMe核糖核苷；Cm = 胞嘧啶2'-OMe核糖核苷；Gm = 鳥嘌呤2'-OMe核糖核苷；Um = 尿嘧啶2'-OMe核糖核苷；



NAG0052'表示



(-)-hmpNA(A)表示



【請求項14】一種醫藥組成物，其包含如請求項 1 至 13 中任一項所述的 dsRNA；視需要地，該醫藥組成物還包含一種或多種藥學上可接受的賦形劑。

【請求項15】一種載體，其包含如請求項 1 至 13 中任一項所述的 dsRNA。

【請求項16】一種細胞，其包含如請求項 1 至 13 中任一項所述的 dsRNA，或如請求項 15 所述的載體。

【請求項17】一種如請求項 1 至 13 中任一項所述的 dsRNA、如請求項 14 所述的醫藥組成物、如請求項 15 所述的載體、或如請求項 16 所述的細胞在製備藥物中的應用；

該藥物用於降低受試者中的甘油三酯水平，或用於預防和/或治療由升高的甘油三酯水平或升高的膽固醇水平介導的疾病；較佳地，該由升高的甘油三酯水平或升高的膽固醇水平介導的疾病選自高甘油三酯血症、肥胖症、高脂血症、脂質和/或膽固醇代謝異常、動脈粥樣硬化、心血管疾病、冠狀動脈疾病、高甘油三酯血症誘導的胰腺炎、代謝綜合症、II 型糖尿病、家族性乳糜微粒血症綜合症或家族性部分脂質營養不良。

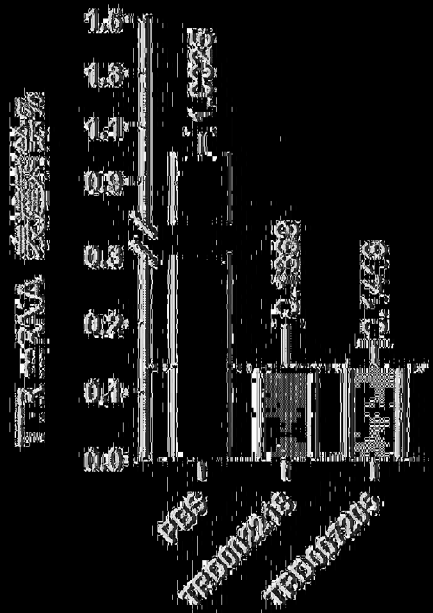
【請求項18】 一種抑制 APOC3 基因或其 mRNA 表達的方法，其包括向受試者給予有效量或有效劑量的如請求項 1 至 13 中任一項所述的 dsRNA、如請求項 14 所述的醫藥組成物、如請求項 15 所述的載體、或如請求項 16 所述的細胞。

【請求項19】 一種遞送寡核苷酸至肝臟的方法，其包括向受試者給予有效量或有效劑量的如請求項 8 至 13 中任一項所述的 dsRNA、如請求項 14 所述的醫藥組成物、如請求項 15 所述的載體、或如請求項 16 所述的細胞。

【請求項20】 一種試劑盒，其包含如請求項 1 至 13 中任一項所述的 dsRNA、如請求項 14 中任一項所述的醫藥組成物、如請求項 15 所述的載體、或如請求項 16 所述的細胞。

【請求項21】 一種製備 dsRNA 或醫藥組成物的方法，其包括：合成如請求項 1 至 13 中任一項所述的 dsRNA。

(發明圖式C)



(圖1)



(圖2)

進行細胞總 RNA 提取、RNA 逆轉錄實驗和定量實時 PCR 檢測，測定人 APOC3 的 mRNA 水平，根據 GAPDH 內參基因水平對人 APOC3 的 mRNA 水平進行校正。

【0546】其中，在實時定量 PCR 檢測時，採用的是探針 Q-PCR 檢測實驗，其引子信息如表 8 所示。

【0547】表 8. Taqman 引子信息表

引子名稱	SEQ ID	
	NO	引子序列
hAPOC3-PF	38	TGCCTCCCTTCTCAGCTTCA
hAPOC3-PR	39	GGGAACTGAAGCCATCGGTC
hAPOC3-P	34	ATGAAGCACGCCACCAAGACCGCCA
hGAPDH-PF1-MGB	35	GACCCCTTCATTGACCTCAACTAC
hGAPDH-PR1-MGB	36	TTGACGGTGCCATGGAATTT
hGAPDH-P1-MGB	37	TTACATGTTCCAATATGATTCC

【0548】結果分析方法

Q-PCR 檢測實驗完畢後，按照系統自動設定的閾值獲取相應的 Ct 值，可以藉由 Ct 值比較，相對定量某個基因的表達：比較 Ct 指的是藉由與內參基因 Ct 值之間的差值來計算基因表達差異，也稱之是 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ， $\Delta\Delta Ct = [(Ct \text{ 實驗組目的基因} - Ct \text{ 實驗組內參}) - (Ct \text{ 對照組目的基因} - Ct \text{ 對照組內參})]$ 。抑制率 (%) = (1 - 目的基因表達剩餘量) * 100%。