



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I854980 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 09 月 11 日

(21)申請案號：108115677

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 05 月 07 日

(51)Int. Cl. : C12N15/113 (2010.01)

A61K31/7125(2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

(30)優先權：2018/05/08 美國

62/668,467

(71)申請人：美商雷格勒斯治療公司(美國) REGULUS THERAPEUTICS INC. (US)

美國加州聖地牙哥市校園點廣場道 4224 號 210

(72)發明人：阿萊森 查理斯 R ALLERSON, CHARLES R. (US)；尼本 史提夫 S NEBEN, STEVEN S. (US)；萊特 提摩西 WRIGHT, TIMOTHY (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2014/179446A2

審查人員：方冠岳

申請專利範圍項數：67 項 圖式數：1 共 76 頁

(54)名稱

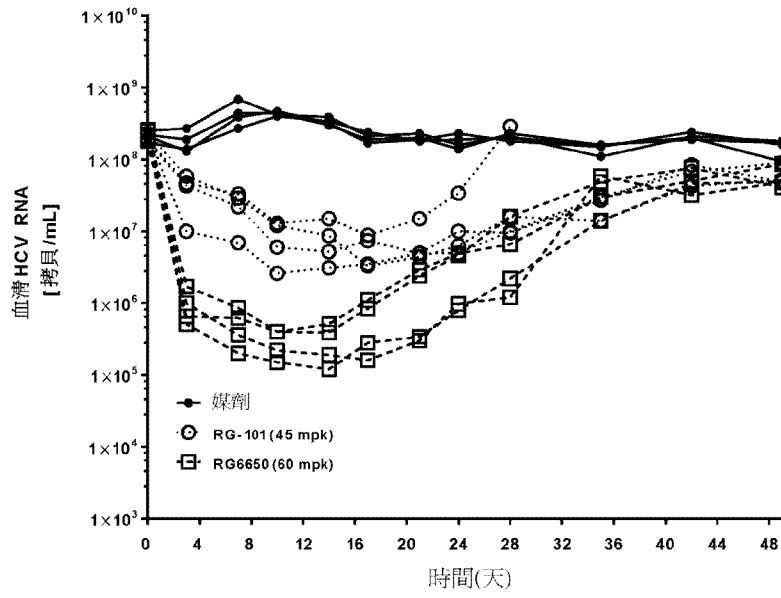
用於調節 MIR-122 之微小 RNA 化合物及方法

(57)摘要

本文闡述用於抑制 miR-122 活性之組合物及方法。該等組合物具有產生強效 miR-122 活性抑制劑之某些核苷修飾且包含幫助遞送至肝臟之部分。該等組合物可投與感染 C 型肝炎病毒之個體，作為 C 型肝炎病毒及相關病狀之治療。

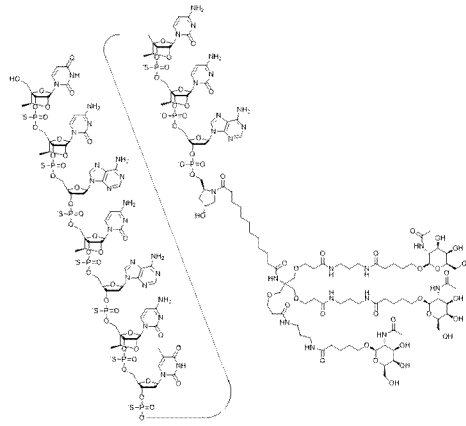
Described herein are compositions and methods for the inhibition of miR-122 activity. The compositions have certain nucleoside modifications that yield potent inhibitors of miR-122 activity and comprise moieties that facilitate delivery to the liver. The compositions may be administered to subjects infected with hepatitis C virus, as a treatment for hepatitis C virus and related conditions.

指定代表圖：



【圖 1】

特徵化學式：





I854980

【發明摘要】

【中文發明名稱】用於調節 MIR-122 之微小 RNA 化合物及方法

【英文發明名稱】MICRORNA COMPOUNDS AND METHODS FOR
MODULATING MIR-122

【中文】

本文闡述用於抑制 miR-122 活性之組合物及方法。該等組合物具有產生強效 miR-122 活性抑制劑之某些核苷修飾且包含幫助遞送至肝臟之部分。該等組合物可投與感染 C 型肝炎病毒之個體，作為 C 型肝炎病毒及相關病狀之治療。

【英文】

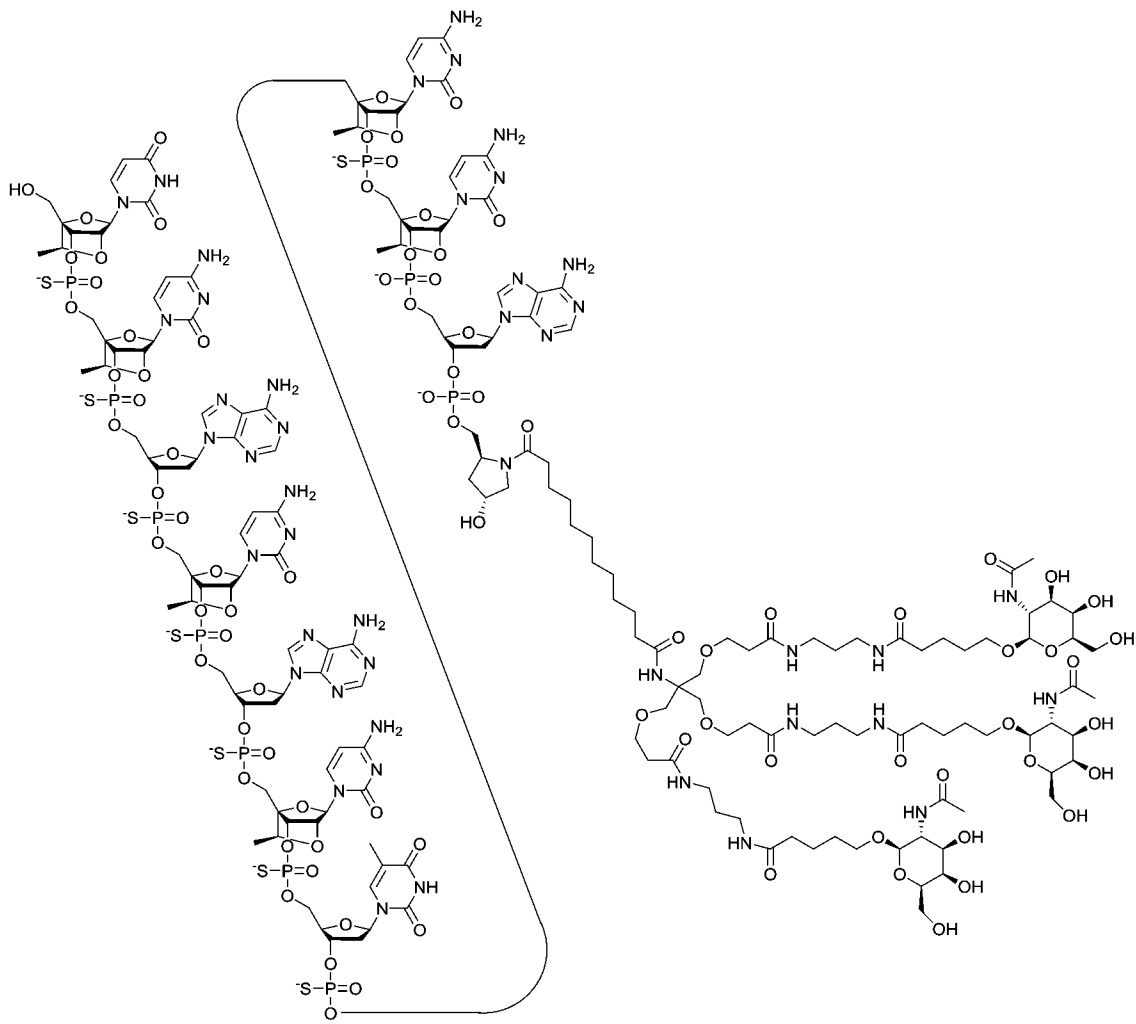
Described herein are compositions and methods for the inhibition of miR-122 activity. The compositions have certain nucleoside modifications that yield potent inhibitors of miR-122 activity and comprise moieties that facilitate delivery to the liver. The compositions may be administered to subjects infected with hepatitis C virus, as a treatment for hepatitis C virus and related conditions.

【指定代表圖】圖 1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】用於調節 MIR-122 之微小 RNA 化合物及方法

【英文發明名稱】MICRORNA COMPOUNDS AND METHODS FOR
MODULATING MIR-122

【技術領域】

【0001】 本文提供了用於調節 miR-122 的活性之化合物及方法。此類方法包括治療與 miR-122 活性相關之疾病，如 HCV 感染。

【先前技術】

【0002】 微小 RNA (MicroRNA 或 microRNA)亦稱為「成熟微小 RNA」，係在植物及動物的基因組中編碼之小型(長度為大約 18 至 24 個核苷酸)非編碼 RNA 分子。在某些情況下，高度保守的、內源性表現之微小 RNA 藉由結合特定 mRNA 之 3'-非轉譯區(3'-UTR)來調節基因之表現。已在植物及動物中鑑定出了多於 1000 種不同的微小 RNA。某些成熟微小 RNA 似乎起源於長的內源性初級微小 RNA 轉錄物(亦稱為 pri-微小 RNA、pri-mir、pri-miR 或 pri-pre-微小 RNA)，該等長的內源性初級微小 RNA 轉錄物長度通常為數百個核苷酸(Lee 等人，EMBO J.，2002，21(17)，4663-4670)。

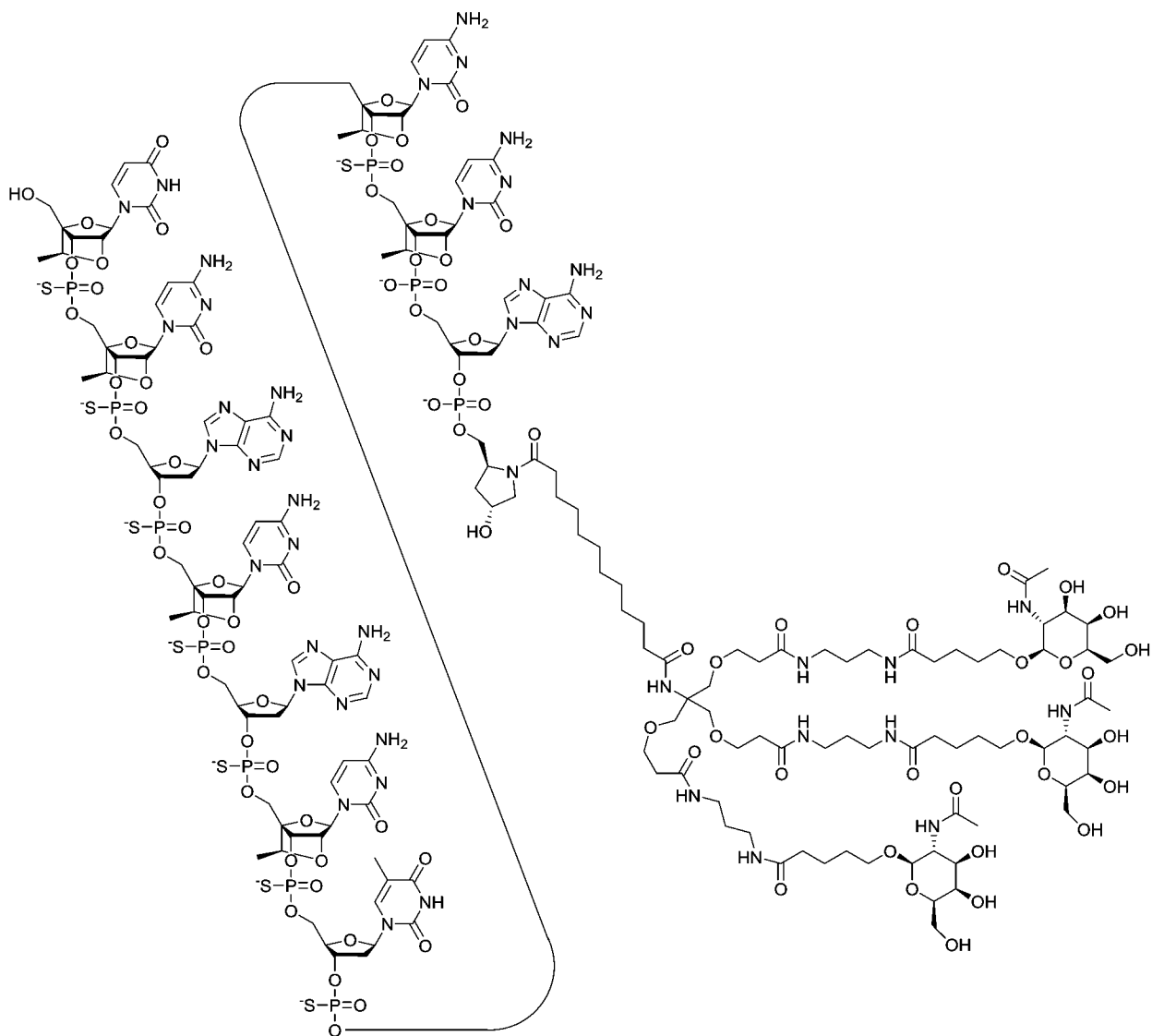
【0003】 miR-122 係一種在肝臟中豐富並且特異性表現之微小 RNA，其係 C 型肝炎病毒積聚之關鍵宿主因子(Jopling 等人，Science. 2005，309(5740): 1577-81)。miR-122 藉由結合 HCV 基因組之 5'非編碼區中之兩個緊密間隔之種子序列位點與 HCV 相互作用，從而引起 HCV 基因組之穩定化，支持複製及轉譯(Jangra 等人，J Virol.，2010，84: 6615-6625；Machlin 等人，2011)。重要的是，miR-122 結合位點在所有基因型及亞型之 HCV 基因組中是完全保守的(Wilson 等人，J. Virol.，2011，85: 2342-2350)。用抗 miR 抑制 miR-122 引起小鼠及食蟹猴體內之總循環膽固醇含量降低以及參與膽固醇體內平衡、脂肪酸及脂質代謝之

基因之表現變化(Esau 等人，2006，Cell Metabolism，3: 87-98)。在未經治療之慢性 HCV 感染個體中，米拉韋森(miravirsen，一種 LNA 修飾之抗 miR-122 寡核苷酸)導致血清 HCV RNA 減少(Janssen 等人，N Engl J Med., 2013, 368:1685-1694)。RG-101 係一種肝細胞靶向抗 miR-122 化合物，單次投與耐受性良好，並引起 HCV 感染個體中之病毒載量顯著降低 (van der Ree 等人，2017, Lancet, 389(10070):709-717)。

【0004】 儘管當前直接作用型抗病毒藥物正在達成高比例之持續病毒反應，但仍有缺乏照料之 HCV 感染個體群體對當前治療無反應或者在成功治療後復發。對抗病毒療法之抗性係 HCV 高突變率之主要問題，且甚至在使用藥物組合時仍能看到。此外，個體對治療方案之依從性差，需要至少每天一次投與口服劑，持續時間較長(例如對於 Harvoni®為 12 週)，此可能會干擾達成高反應率。因此，靶向保守的、突變抗性病毒宿主因子(如 miR-122)之治療劑代表了實現更高及更持久的治癒率之機會。

【發明內容】

【0005】 實施例 1. 一種具有以下結構之化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【0006】 實施例 2. 如實施例 1 之化合物，其係具有該結構之醫藥學上可接受之鹽。

【0007】 實施例 3. 如實施例 2 之化合物，其係具有該結構之鈉鹽。

【0008】 實施例 4. 一種醫藥組合物，其包含實施例 1 至 3 中任一者之化合物及醫藥學上可接受之稀釋劑。

【0009】 實施例 5. 如實施例 4 之醫藥組合物，其中醫藥學上可接受之稀釋劑係水溶液。

【0010】 實施例 6. 如實施例 5 之醫藥組合物，其中水溶液係鹽水溶液。

【0011】 實施例 7. 一種包含實施例 1 至 3 中任一者之化合物之醫藥組合

物，其係凍乾組合物。

【0012】 實施例 8. 一種醫藥組合物，其基本上由鹽水溶液中之如實施例 1 至 3 中任一者之化合物組成。

【0013】 實施例 9. 一種抑制細胞中之 miR-122 活性之方法，其包括使細胞與如實施例 1 至 3 中任一者之化合物接觸。

【0014】 實施例 10. 如實施例 9 之方法，其中細胞係在活體內。

【0015】 實施例 11. 如實施例 9 之方法，其中細胞係在活體外。

【0016】 實施例 12. 一種治療 HCV 感染之方法，其包括向 HCV 感染個體投與至少一個劑量之如實施例 1 至 3 中任一者之化合物或如實施例 4 至 8 中任一者之醫藥組合物。

【0017】 實施例 13. 一種治療 C 型肝炎病毒(HCV)感染之方法，其包括在治療期間向 HCV 感染個體投與至少一個劑量之如實施例 1 至 3 中任一者之化合物或如實施例 4 至 8 中任一者之醫藥組合物及至少一種直接作用型抗病毒藥物 (DAA)，其中治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在治療期開始時投與化合物或醫藥組合物之起始劑量且在治療期結束時投與化合物或醫藥組合物之終止劑量。

【0018】 實施例 14. 如實施例 13 之方法，其中起始劑量及終止劑量係在治療期間投與之化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【0019】 實施例 15. 一種治療 C 型肝炎病毒(HCV)感染之方法，其包括在治療期間向 HCV 感染個體投與至少一個劑量之如實施例 1 至 3 中任一者之化合物或如實施例 4 至 8 中任一者之醫藥組合物及至少一種直接作用型抗病毒藥物 (DAA)，其中治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在治療期開始時投與化合物或醫藥組合物之起始劑量，且起始劑量係在治療期間投與之化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【0020】 實施例 16. 一種治療 C 型肝炎病毒(HCV)感染之方法，其包括在治療期間向 HCV 感染個體投與至少一個劑量之如實施例 1 至 3 中任一者之化合物或如實施例 4 至 8 中任一者之醫藥組合物及至少一種直接作用型抗病毒藥物 (DAA)，其中治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在治療期結束時投與化合物或醫藥組合物之終止劑量，且終止劑量係在治療期間投與之化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【0021】 實施例 17. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 2 至 10 週、4 至 8 週、2 至 6 週或 1 至 4 週。

【0022】 實施例 18. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 11 週、10 週、9 週、8 週、7 週、6 週、5 週、4 週、3 週、2 週或 1 週。

【0023】 實施例 19. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 26、27、28、29 或 30 天。

【0024】 實施例 20. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 28 或 29 天。

【0025】 實施例 21. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 18、19、20、21 或 22 天。

【0026】 實施例 22. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 21 或 22 天。

【0027】 實施例 23. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 12、13、14、15 或 16 天。

【0028】 實施例 24. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 14 或 15 天。

【0029】 實施例 25. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 6、7、8 或 9 天。

【0030】 實施例 26. 如實施例 13 至 16 中任一者之方法，其中治療期之持續時間為 7 或 8 天。

【0031】 實施例 27. 如實施例 13 至 15 或 17 至 26 中任一者之方法，其中化合物或醫藥組合物之起始劑量及 DAA 之第一劑量彼此係在 7 天內投與。

【0032】 實施例 28. 如實施例 13 至 15 或 17 至 26 中任一者之方法，其中化合物或醫藥組合物之起始劑量係在 DAA 之第一劑量之前一天投與。

【0033】 實施例 29. 如實施例 13 至 15 或 17 至 26 中任一者之方法，其中化合物或醫藥組合物之起始劑量係與 DAA 之第一劑量同一天投與。

【0034】 實施例 30. 如實施例 13 至 15 或 17 至 26 中任一者之方法，其中化合物或醫藥組合物之起始劑量係在 DAA 之第一劑量之後一天投與。

【0035】 實施例 31. 如實施例 13、14 或 16 至 26 中任一者之方法，其中化合物或醫藥組合物之終止劑量及 DAA 之末次劑量彼此係在 7 天內投與。

【0036】 實施例 32. 如實施例 13、14 或 16 至 26 中任一者之方法，其中化合物或醫藥組合物之終止劑量係在 DAA 之末次劑量之前 1 天投與。

【0037】 實施例 33. 如實施例 13、14 或 16 至 26 中任一者之方法，其中化合物或醫藥組合物之終止劑量係與 DAA 之末次劑量同一天投與。

【0038】 實施例 34. 如實施例 13、14 或 16 至 26 中任一者之方法，其中化合物或醫藥組合物之終止劑量係在 DAA 之末次劑量之後 1 天投與。

【0039】 實施例 35. 如實施例 12 至 34 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體感染基因型 1。

【0040】 實施例 36. 如實施例 35 之方法，其中 HCV 感染個體感染基因型 1a。

【0041】 實施例 37. 如實施例 35 之方法，其中 HCV 感染個體感染基因型 1b。

【0042】 實施例 38. 如實施例 12 至 34 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體感染基因型 2。

【0043】 實施例 39. 如實施例 12 至 34 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體感染基因型 3。

【0044】 實施例 40. 如實施例 12 至 34 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體感染基因型 4。

【0045】 實施例 41. 如實施例 12 至 34 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體感染基因型 5。

【0046】 實施例 42. 如實施例 12 至 34 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體感染基因型 6。

【0047】 實施例 43. 如實施例 12 至 42 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體經測定感染了具有一或多種抗性相關多型性之 HCV。

【0048】 實施例 44. 如實施例 12 至 43 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體係未經治療之個體。

【0049】 實施例 45. 如實施例 12 至 44 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體患有 HCV 相關性疾病。

【0050】 實施例 46. 如實施例 45 之方法，其中 HCV 相關性疾病係肝硬化、肝纖維化、脂肪性肝炎、脂肪變性或肝細胞癌。

【0051】 實施例 47. 如實施例 12 至 46 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體係患有腎損害之 HCV 感染個體。

【0052】 實施例 48. 如實施例 12 至 47 中任一者之方法，其中 HCV 感染個體係 HCV/HIV 共感染個體。

【0053】 實施例 49. 如實施例 12 至 48 中任一者之方法，其中投與達成持續病毒反應。

【0054】 實施例 50. 如實施例 13 至 49 中任一者之方法，其中在治療期結束時或在治療期結束後之時間點，HCV RNA 含量低於定量下限(LLOQ)。

【0055】 實施例 51. 如實施例 50 之方法，其中在治療期結束後 4 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。

【0056】 實施例 52. 如實施例 50 或實施例 51 之方法，其中在治療期結束後 8 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。

【0057】 實施例 53. 如實施例 50 至 52 中任一者之方法，其中在治療期結束後 12 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。

【0058】 實施例 54. 如實施例 50 至 53 中任一者之方法，其中在治療期結束後 24 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。

【0059】 實施例 55. 如實施例 50 至 54 中任一者之方法，其中在治療期結束後 36 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。

【0060】 實施例 56. 如實施例 50 至 55 中任一者之方法，其中在治療期結束後 48 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。

【0061】 實施例 57. 如實施例 50 至 56 中任一者之方法，其中 LLOQ 為 25 IU/mL。

【0062】 實施例 58. 如實施例 50 至 56 中任一者之方法，其中 LLOQ 為 15 IU/mL。

【0063】 實施例 59. 如實施例 50 至 56 中任一者之方法，其中 LLOQ 為 12 IU/mL。

【0064】 實施例 60. 如實施例 50 至 59 中任一者之方法，其中 HCV RNA 含量係使用基於實時聚合酶鏈式反應之分析來量化。

【0065】 實施例 61. 如實施例 13 至 60 中任一者之方法，其中 DAA 係每日投與。

【0066】 實施例 62. 如實施例 13 至 61 中任一者之方法，其中 DAA 係選自蛋白酶抑制劑、核苷聚合酶抑制劑、核苷酸聚合酶抑制劑、非核苷聚合酶抑制劑、

NS3B 抑制劑、NS3/4A 抑制劑、NS4A 抑制劑、NS5A 抑制劑、NS5B 抑制劑及親環素抑制劑。

【0067】 實施例 63. 如實施例 13 至 62 中任一者之方法，其中 DAA 係選自以下中之一或多者：索非不韋(sofosbuvir)、雷迪帕韋(ledipasvir)、奧比他韋(ombitasvir)、達薩布韋(dasabuvir)、格來普韋(glecaprevir)、匹布他韋(pibrentasvir)、依巴司韋(elbasvir)、格拉瑞韋(grazoprevir)、利巴韋林(ribavirin)、奧比他韋、帕利瑞韋(paritaprevir)、利托那韋(ritonavir)、波普瑞韋(boceprevir)、伐尼瑞韋(vaniprevir)、阿舒瑞韋(asunaprevir)、達卡他韋(daclatasvir)、西咪匹韋(simeprevir)、美利他濱(mericitabine)、圖戈布韋(tegobuvir)、丹諾瑞韋(danoprevir)、沙普瑞韋(sovaprevir)、伏西瑞韋(voxilaprevir)、維帕他韋(velpatasvir) 及 GSK2878175。

【0068】 實施例 64. 如實施例 13 至 63 中任一者之方法，其中至少一種 DAA 包含索非不韋。

【0069】 實施例 65. 如實施例 13 至 64 中任一者之方法，其中至少一種 DAA 包含雷迪帕韋及索非不韋。

【0070】 實施例 66. 如實施例 12 至 65 中任一者之方法，其中化合物之劑量小於或等於 4.0 mg/kg、小於或等於 3.5 mg/kg、小於或等於 3.0 mg/kg、小於或等於 2.5 mg/kg、小於或等於 2.0 mg/kg、小於或等於 1.5 mg/kg、小於或等於 1.0 mg/kg，或小於或等於 0.5 mg/kg。

【0071】 實施例 67. 如實施例 1 至 3 中任一者之化合物或如實施例 4 至 8 中任一者之醫藥組合物，其用於療法中。

【0072】 實施例 68. 如實施例 1 至 3 中任一者之化合物或如實施例 4 至 8 中任一者之醫藥組合物，其用於治療 HCV 感染個體。

【圖式簡單說明】

【0073】 圖 1. 用 PBS、RG-101 或 RG6650 治療後，HCV 感染之小鼠模型血清中 HCV RNA 之減少。

【實施方式】

【0074】 除非另外定義，否則本文使用之所有技術及科學術語具有與本發明所屬領域之普通技術人員通常理解相同之含義。除非提供了具體定義，否則與本文闡述之分析化學、合成有機化學以及醫學及藥物化學結合使用之術語以及其程序及技術係本領域中熟知並且通常使用的。在本文之術語存在複數個定義之情況下，以此部分中之定義為準。化學合成、化學分析、藥物製備、配製及遞送以及個體之治療個體可以使用標準技術。某些此類技術及程序可參見例如「Carbohydrate Modifications in Antisense Research」，Sangvi 及 Cook 編輯，Washington D.C.，1994；及「Remington's Pharmaceutical Sciences」，Mack Publishing Co.，Easton，Pa.，第 18 版，1990；並且出於任何目的，該等參考文獻以引用方式併入本文中。在允許之情況下，除非另外指出，否則貫穿本文之整個揭露內容所提及之所有專利、專利申請、公開之申請案及出版物、GENBANK 序列、網站以及其他公開之材料皆以引用方式整體併入本文中。應當理解，在提及 URL 或其他此類識別符或位址之情況下，此類識別符會變化，並且網際網路上之具體資訊亦會變化，但是等效資訊可以藉由搜索網際網路來找到。如此提及證明瞭此種資訊之可用性及公眾傳播。

【0075】 在揭露及闡述本發明組合物及方法之前，應當理解本文使用之術語僅出於闡述具體實施例之目的而不欲具有限制性。必須指出，除非上下文另外清楚地指明，否則如在說明書及所附申請專利範圍中所使用，單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括複數個指示物。

定義

【0076】 「HCV 感染」意指感染 C 型肝炎病毒之一或多種基因型。

【0077】 「HCV 感染之個體」意指已感染 C 型肝炎病毒之一或多種基因型之個體。HCV 感染之個體可能或可能不展現出 HCV 感染之症狀。HCV 感染之個體包括已感染 HCV 之一或多種基因型之個體，但是該個體之血液中之 HCV RNA 係在可檢測含量以下。

【0078】 「未經治療之 HCV 感染之個體」意指尚未接受先前 HCV 感染治療之 HCV 感染之個體。

【0079】 「HCV 相關性疾病」意指由 HCV 感染所介導之病理性過程。HCV 相關性疾病包括(但不限於)肝硬化、肝纖維化、脂肪性肝炎以及肝細胞癌。

【0080】 「血液 HCV RNA」意指存在於 HCV 感染之個體血液中之 C 型肝炎病毒 RNA。血液包括全血及血清。

【0081】 「血液」意指全血及血液部分，例如血清及血漿。

【0082】 「血清 HCV RNA 回升」意指在先前 HCV RNA 含量降低之後之 HCV RNA 含量增加。

【0083】 「HCV RNA 含量」意指在給定體積之個體血液中之 HCV RNA 之量。HCV RNA 含量可以表示為每毫升之 RNA 拷貝數。「HCV RNA 含量」亦可以稱為「HCV 病毒載量」或「HCV RNA 效價」。HCV RNA 含量可使用活體外反轉錄聚合酶鏈式反應分析來量測。

【0084】 「持續之病毒反應」意指在治療之整個過程結束時及在另外 12 週後個體血液中之 C 型肝炎病毒 RNA 不可檢測。在某些實施例中，HCV RNA 在每毫升血液 40 個拷貝以下視為不可檢測的。

【0085】 「SVRX」(其中 X 係治療期結束後之週數)意指在治療期結束後之該時間點持續的病毒反應。例如，SVR8 係治療期結束後 8 週之持續病毒反應。

【0086】 「無反應者」意指已接受治療但是沒有經歷疾病標誌或症狀之臨床上可接受之改善之個體。

【0087】 「干擾素無反應者」意指已接受用干擾素治療但是沒有經歷 HCV RNA 含量之臨床上可接受之降低之 HCV 感染之個體。

【0088】 「直接作用型抗病毒劑」或「DAA」意指藉由與 HCV 基因組編碼之蛋白質直接相互作用來抑制 HCV 活性之藥劑。DAA 可為 NS3/4A 蛋白酶、NS5A 非結構蛋白或 NS5B 聚合酶之抑制劑。DAA 可為核苷化合物或非核苷化合物。

【0089】 「直接作用型抗病毒性無反應者」意指已接受用直接作用型抗病毒劑治療但是沒有經歷 HCV RNA 含量之臨床上可接受之降低之 HCV 感染之個體。在某些實施例中，病毒已發展出對該直接作用型抗病毒劑之抗性。

【0090】 「腎損害」意指腎臟不能自血液充分過濾廢物之病狀。腎損害可藉由估計腎小球濾過率或量測腎小球濾過率來測定。腎損害亦可藉由肌酐清除率來測定。

【0091】 「miR-122 相關性病狀」意指可以藉由調節 miR-122 來治療、預防或改善之任何疾病、病症或病狀。miR-122 相關性疾病不需要特徵在於過量之 miR-122。miR-122 相關性疾病包括(但不限於)HCV 感染、膽固醇升高及鐵負載過高病症。

【0092】 「鐵負載過高病症」意指特徵在於身體內之鐵過量之任何疾病、病症或病狀。

【0093】 「個體」意指選擇用於治療或療法之人。

【0094】 「有需要之個體」意指鑑定為有療法或治療需要之個體。

【0095】 「疑似患有之個體」意指展現出疾病之一或多個臨床指標之個體。

【0096】 「投與」意指向個體提供藥劑或組合物，並且包括(但不限於)由醫學專家投與及自投與。

【0097】 「非經腸投與」意指藉由注射或輸注投與。非經腸投與包括(但不限於)皮下投與、靜脈內投與及肌肉內投與。

- 【0098】 「皮下投與」意指在皮膚下方投與。
- 【0099】 「靜脈內投與」意指投與進入靜脈中。
- 【0100】 「同時投與」係指以任何方式向個體共同投與兩種或更多種藥劑，其中每種藥劑之藥理學作用皆存在於個體體內。同時投與不要求以單一之藥物組合物、以相同劑型或藉由相同之投與途徑來投與兩種藥劑。該兩種藥劑之作用不需要同時存在。該等作用僅需要一段時間重疊並且不需要共延。
- 【0101】 「持續時間」意指活性或事件持續之時間段。在某些實施例中，治療持續時間係投與多個劑量之藥劑或藥物組合物之時間段。
- 【0102】 「療法」意指疾病治療方法。在某些實施例中，療法包括(但不限於)化學療法、放射療法或投與藥劑。
- 【0103】 「治療」意指施加用於治癒或改善疾病之一或多種特定程序。在某些實施例中，該特定程序係投與一或多種藥劑。
- 【0104】 「改善」意指減輕病狀或疾病之至少一個指標之嚴重性。在某些實施例中，改善包括延緩或減慢病狀或疾病之一或多個指標之進展。可以藉由熟習該項技術者已知之主觀量測或客觀量測來確定指標之嚴重性。
- 【0105】 「處於發展之風險」意指個體易於發展病狀或疾病之狀態。在某些實施例中，處於發展病狀或疾病之風險之個體展現出該病狀或疾病之一或多種症狀，但是沒有展現出診斷患有該病狀或疾病之足夠數量之症狀。在某些實施例中，處於發展病狀或疾病之風險之個體展現出該病狀或疾病之一或多種症狀，但達到診斷該病狀或疾病所要求之更小程度。
- 【0106】 「預防發作」意指在處於發展該疾病或病狀之風險之個體中預防病狀或疾病之發展。在某些實施例中，處於發展該疾病或病狀之風險之個體接受與已經患有該疾病或病狀之個體所接受之治療類似之治療。
- 【0107】 「延緩發作」意指在處於發展該疾病或病狀之風險之個體中延緩病

狀或疾病之發展。在某些實施例中，處於發展該疾病或病狀之風險之個體接受與已經患有該疾病或病狀之個體所接受之治療類似之治療。

【0108】 「治療劑」意指用於治癒、改善或預防疾病之藥劑。

【0109】 「劑量」意指在單次投與中提供之藥劑之指定量。在某些實施例中，劑量可以兩個或更多個大丸劑、片劑或注射劑形式投與。例如，在某些實施例中，在希望皮下投與之情況下，所希望之劑量要求不為藉由單次注射容易地提供之體積。在此類實施例中，可以使用兩次或更多次注射達到所希望之劑量。在某些實施例中，劑量可以兩次或更多次注射投與以使個體體內之注射部位反應減到最小。在某些實施例中，劑量藉由緩慢輸注投與。

【0110】 「劑量單位」意指提供藥劑之形式。在某些實施例中，劑量單位係含有凍乾寡核苷酸之小瓶。在某些實施例中，劑量單位係含有復原寡核苷酸之小瓶。

【0111】 「治療有效量」係指對動物提供治療益處之藥劑之量。

【0112】 「藥物組合物」意指包括藥劑之適合用於向個體投與之物質之混合物。例如，藥物組合物可以包含無菌水溶液。

【0113】 「藥劑」意指當向個體投與時提供治療作用之物質。

【0114】 「活性藥物成分」意指藥物組合物中提供希望之作用之物質。

【0115】 「醫藥學上可接受之鹽」意指本文提供之化合物之生理學及醫藥學上可接受之鹽，即，當投與個體時，該鹽保持化合物之期望生物活性並且不具不期望之毒性效應。本文提供之化合物之非限制性示例性醫藥學上可接受之鹽包括鈉鹽及鉀鹽形式。除非另外明確指示，否則如本文使用之術語「化合物」、「寡核苷酸」及「經修飾之寡核苷酸」包括其醫藥學上可接受之鹽。

【0116】 「鹽水溶液」意指氯化鈉於水中之溶液。

【0117】 「改善之器官功能」意指趨向於正常限制之器官功能變化。在某些

實施例中，藉由量測存在於個體之血液或尿液中之分子來評價器官功能。例如，在某些實施例中，藉由血液肝轉胺酶含量降低來量測改善之肝功能。在某些實施例中，藉由血液尿素氮減少、蛋白尿減少、清蛋白尿減少等來量測改善之腎功能。

【0118】 「可接受之安全性特徵」意指處於臨床上可接受之限制之內之副作用之型態。

【0119】 「副作用」意指除希望之作用以外之可歸因於治療之生理反應。在某些實施例中，副作用包括(但不限於)：注射部位反應、肝功能測試異常、腎功能異常、肝毒性、腎毒性、中樞神經系統異常以及肌病。此類副作用可以被直接或間接檢測。例如，血清中之轉胺酶含量增加可以表明肝毒性或肝功能異常。例如，膽紅素增加可以表明肝毒性或肝功能異常。

【0120】 「注射部位反應」意指在個體注射部位處之皮膚之發炎或異常發紅。

【0121】 「個體依從性」意指個體對建議或規定之療法之順從性。

【0122】 「遵從」意指個體對建議之療法順從。

【0123】 「建議之療法」意指醫學專家建議之治療、改善、延緩或預防疾病之治療。

【0124】 「miR-122」意指具有核鹼基序列 UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG (SEQ ID NO: 1)之微小 RNA。

【0125】 「寡核苷酸」意指包含複數個相互獨立之連接核苷之化合物，每個核苷可經修飾或未經修飾。

【0126】 「經修飾之寡核苷酸」意指相對於天然存在之末端、糖、核鹼基及/或核苷間鍵聯具有一或多個修飾之單鏈寡核苷酸。經修飾之寡核苷酸可包含未經修飾之核苷。

【0127】 「抗 miR」意指具有與微小 RNA 互補之核鹼基序列之經修飾寡核苷

酸。

【0128】 「抗 miR-122」意指具有與 miR-122 互補之核鹼基序列之經修飾寡核苷酸。在某些實施例中，抗 miR-122 與 miR-122 完全互補(即，100%互補)。在某些實施例中，抗 miR-122 係至少 90%、至少 93%、至少 94%、至少 95%或 100%互補。

【0129】 「靶向」意指將與靶核酸雜交之核鹼基序列之設計及選擇過程。

【0130】 「對.....靶向」意指具有將允許與靶核酸雜交之核鹼基序列。

【0131】 「調節」意指干擾功能、量或活性。在某些實施例中，調節意指功能、量或活性增加。在某些實施例中，調節意指功能、量或活性減少。

【0132】 「表現」意指基因之編碼資訊轉變成存在於細胞中並且在細胞中起作用之結構所借助之任何功能及步驟。

【0133】 「核鹼基序列」意指無關任何糖、鍵聯及/或核鹼基修飾，典型地以 5'至 3'方向列出之低聚化合物或核酸中之連續核鹼基之順序。

【0134】 「連續核鹼基」意指在核酸中彼此緊鄰之核鹼基。

【0135】 「核鹼基互補性」意指兩個核鹼基經由氫鍵結非共價配對之能力。

【0136】 「互補」意指一個核酸能夠與另一個核酸或寡核苷酸雜交。在某些實施例中，互補係指寡核苷酸能夠與靶核酸雜交。

【0137】 「完全互補」意指寡核苷酸之每個核鹼基能夠與靶核酸中之每個對應位置上之核鹼基配對。在某些實施例中，寡核苷酸與微小 RNA 完全互補(亦稱為 100%互補)，即，該寡核苷酸之每個核鹼基與該微小 RNA 中之對應位置上之核鹼基互補。經修飾之寡核苷酸可與微小 RNA 完全互補，並且具有許多長度小於微小 RNA 之連接的核苷。例如，具有 10 個連接核苷之寡核苷酸(其中寡核苷酸之每個核鹼基與微小 RNA 中相應位置之核鹼基互補)與微小 RNA 完全互補。

【0138】 「互補性百分比」意指寡核苷酸中與靶核酸之等長部分互補之核鹼

基百分比。藉由將該寡核苷酸中與該靶核酸中之對應位置上之核鹼基互補之核鹼基數除以該寡核苷酸中之核鹼基總數來計算互補性百分比。

【0139】 「同一性百分比」意指第一核酸中與第二核酸中之對應位置上之核鹼基相同之核鹼基數除以該第一核酸中之核鹼基總數。在某些實施例中，該第一核酸係微小 RNA 並且該第二核酸係微小 RNA。在某些實施例中，該第一核酸係寡核苷酸並且該第二核酸係寡核苷酸。

【0140】 「雜交」意指藉由核鹼基互補性發生之互補核酸之退火。

【0141】 「錯配」意指第一核酸中不能夠與第二核酸之對應位置上之核鹼基發生沃森-克里克(Watson-Crick)配對之鹼基。

【0142】 在核鹼基序列背景下之「相同」意指無關糖、鍵聯及/或核鹼基修飾及無關存在之任何嘧啶之甲基狀態，具有相同核鹼基序列。

【0143】 「微小 RNA」意指長度介於 18 與 25 個之間之核鹼基之內源性非編碼 RNA，該內源性非編碼 RNA 係由酶 Dicer 裂解先質微小 RNA 之產物。成熟之微小 RNA 之實例可在稱為 miRBase(<http://microrna.sanger.ac.uk/>)之微小 RNA 數據庫中找到。在某些實施例中，微小 RNA 縮寫為「微小 RNA」或「miR」。

【0144】 「微小 RNA 調節之轉錄物」意指由微小 RNA 調節之轉錄物。

【0145】 「種子序列」意指包含成熟微小 RNA 序列之 5'-末端之核鹼基 2 至 7 之核鹼基序列。

【0146】 「種子匹配序列」意指與種子序列互補並且長度與該種子序列相同之核鹼基序列。

【0147】 「天然存在之核苷間鍵聯」意指核苷之間之 3'至 5'磷酸二酯鍵。

【0148】 「天然糖」意指在 DNA(2'-H)或 RNA(2'-OH)中發現之糖。

【0149】 「核苷間鍵聯」意指相鄰核苷之間之共價鍵。

【0150】 「連接之核苷」意指藉由共價鍵聯接之核苷。

- 【0151】 「核鹼基」意指能夠與另一個核鹼基非共價配對之雜環部分。
- 【0152】 「核苷」意指連接至糖部分之核鹼基。
- 【0153】 「核苷酸」意指具有共價連接至核苷之糖部分之磷酸酯基團之核苷。
- 【0154】 「包含由許多連接之核苷組成的經修飾之寡核苷酸之化合物」意指包括具有指定數目之連接的核苷之經修飾之寡核苷酸之化合物。因此，該化合物可以包括另外之取代基或結合物。除非另外指明，否則該化合物不包括超出該經修飾之寡核苷酸之核苷之任何另外之核苷。
- 【0155】 「修飾之核苷」意指與天然存在之核苷相比具有任何變化之核苷。修飾之核苷可以具有經修飾之糖及未經修飾之核鹼基。經修飾之核苷可以具有經修飾之糖及經修飾之核鹼基。經修飾之核苷可以具有天然糖及經修飾之核鹼基。在某些實施例中，經修飾之核苷係雙環核苷。在某些實施例中，經修飾之核苷係非雙環核苷。
- 【0156】 「2'-修飾之核苷」意指當位置係在 2-去氧核糖或核糖中編號時，包含在等效於呋喃糖基環之 2' 位置之位置上具有任何經修飾之糖之核苷。應當理解，2'-修飾之核苷包括(但不限於)包含雙環糖部分之核苷。
- 【0157】 「經修飾之核苷間鍵聯」意指與天然存在之核苷間鍵聯相比之任何變化。
- 【0158】 「硫代磷酸酯核苷間鍵聯」意指其中非橋聯原子之一係硫原子之核苷之間之鍵聯，即 $\text{OP}(\text{O})(\text{S})\text{O}^-$ 。為免生疑問，硫原子可經質子化或與相對離子(例如 Na^+ 、 K^+ 等)締合。
- 【0159】 「磷酸二酯鍵」意指具有 $-\text{OP}(\text{O})_2\text{O}-$ 結構之核苷之間之鍵聯。為免生疑問，一個非橋接氧可經質子化或與相對離子(例如 Na^+ 、 K^+ 等)締合。
- 【0160】 「未經修飾之核鹼基」意指 RNA 或 DNA 之天然存在之雜環鹼基：嘧啶鹼基腺嘌呤(A)及鳥嘌呤(G)；以及嘧啶鹼基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C) (包括

5-甲基胞嘧啶)及尿嘧啶(U)。

【0161】 「5-甲基胞嘧啶」意指包含連接至胞嘧啶環之 5 位置上之甲基之胞嘧啶。

【0162】 「非甲基化胞嘧啶」意指不具有連接至胞嘧啶環之 5 位置上之甲基之胞嘧啶。

【0163】 「經修飾之核鹼基」意指不為未經修飾之核鹼基之任何核鹼基。

【0164】 「糖部分」意指天然存在之呋喃糖基或經修飾之糖部分。

【0165】 「經修飾之糖部分」意指取代之糖部分或糖替代物。

【0166】 「2'-O-甲基糖」或「2'-OMe 糖」意指在 2'位置上具有 O-甲基修飾之糖。

【0167】 「2'-O-甲氧基乙基糖」或「2'-MOE 糖」意指在 2'位置上具有 O-甲氧基乙基修飾之糖。

【0168】 「2'-O-氟基」或「2'-F」意指在 2'位置上具有氟基修飾之糖。

【0169】 「雙環糖部分」意指包含 4 至 7 員環之經修飾之糖部分(包括但不限於呋喃糖基)，該經修飾之糖部分包含連接該 4 至 7 員環之兩個原子之橋聯以形成第二環，從而產生雙環結構。在某些實施例中，該 4 至 7 員環係糖環。在某些實施例中，該 4 至 7 員環係呋喃糖基。在某些此類實施例中，該橋聯連接該呋喃糖基之 2'-碳及 4'-碳。非限制之示例性雙環糖部分包括 LNA、ENA、cEt、S-cEt 及 R-cEt。

【0170】 「鎖核酸(LNA)糖部分」意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含(CH₂)-O 橋聯之取代之糖部分。

【0171】 「ENA 糖部分」意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含(CH₂)₂-O 橋聯之取代之糖部分。

【0172】 「約束乙基(cEt)糖部分」意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子

之間包含 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯之取代之糖部分。在某些實施例中，該 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯約束為 S 方向。在某些實施例中，該 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯約束為 R 方向。

【0173】 「S-cEt 糖部分」意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含 S-約束之 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯之取代之糖部分。

【0174】 「R-cEt 糖部分」意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含 R-約束之 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯之取代之糖部分。

【0175】 「2'-O-甲基核苷」意指具有 2'-O-甲基糖修飾之經修飾之核苷。

【0176】 「2'-O-甲氧基乙基核苷」意指具有 2'-O-甲氧基乙基糖修飾之經修飾之核苷。2'-O-甲氧基乙基核苷可以包含經修飾或未經修飾之核鹼基。

【0177】 「2'-氟核苷」意指具有 2'-氟基糖修飾之經修飾之核苷。2'-氟核苷可以包含經修飾或未經修飾之核鹼基。

【0178】 「雙環核苷」意指具有雙環糖部分之經修飾之核苷。雙環核苷可以具有經飾或未經修飾之核鹼基。

【0179】 「cEt 核苷」意指包含 cEt 糖部分之核苷。cEt 核苷可以包含經修飾或未經修飾之核鹼基。

【0180】 「S-cEt 核苷」意指包含 S-cEt 糖部分之核苷。

【0181】 「R-cEt 核苷」意指包含 R-cEt 糖部分之核苷。

【0182】 「 β -D-去氧核糖核苷」意指天然存在之 DNA 核苷。

【0183】 「 β -D-核糖核苷」意指天然存在之 RNA 核苷。

【0184】 「LNA 核苷」意指包含 LNA 糖部分之核苷。

【0185】 「ENA 核苷」意指包含 ENA 糖部分之核苷。

【0186】 如本文所使用之「連接基團」係指經由一或多個共價鍵將第一化學實體連接至第二化學實體之原子或原子團。

【0187】 如本文所使用之「連接體」係指經由一或多個共價鍵將一或多個配

位體連接至經修飾或未經修飾之核苷之原子或原子團。該經修飾或未經修飾之核苷可為如本文所闡述之經修飾之寡核苷酸之部分，或可以藉由磷酸二酯或硫代磷酸酯鍵連接至經修飾之寡核苷酸。在一些實施例中，該連接體將一或多個配位體連接至經修飾之寡核苷酸之 3' 末端。在一些實施例中，該連接體將一或多個配位體連接至經修飾之寡核苷酸之 5' 末端。在一些實施例中，該連接體將一或多個配位體連接至經修飾或未經修飾之核苷，該經修飾或未經修飾之核苷被連接至經修飾之寡核苷酸之 3' 末端。在一些實施例中，該連接體將一或多個配位體連接至經修飾或未經修飾之核苷，該經修飾或未經修飾之核苷被連接至經修飾之寡核苷酸之 5' 末端。當該連接體將一或多個配位體連接至經修飾之寡核苷酸之 3' 末端或被連接至經修飾之寡核苷酸之 3' 末端之經修飾或未經修飾之核苷時，在一些實施例中，該連接體之連接點可以係修飾或未經修飾之糖部分之 3' 碳。當該連接體將一或多個配位體連接至經修飾之寡核苷酸之 5' 末端或被連接至經修飾之寡核苷酸之 5' 末端之經修飾或未經修飾之核苷時，在一些實施例中，該連接體之連接點可以係修飾或未經修飾之糖部分之 5' 碳。

綜述

【0188】 RG-101 係靶向 miR-122 之 GalNAc 結合之經修飾寡核苷酸。在已完成之 I 期人類概念驗證研究中，用單一皮下劑量之 RG-101 治療作為單一療法導致所有經治療之 HCV 感染個體之病毒載量顯著降低，包括難以治療基因型、各種肝纖維化狀態之個體以及在先前含 IFN 方案後經歷病毒復發之個體。

【0189】 在已完成之評估 RG-101 與多種經批准之直接作用型抗病毒藥物 (DAA) 組合之 II 期研究中，接受 RG-101 及 Harvoni® 之所有個體在整個 48 週隨訪期內經歷了顯著且持續之病毒載量下降。在接受 RG-101 及 Daklinza™ 或 Olysio® 之組中，反應率小於 100%。在 2 期研究中，200 名個體中有 10 名經歷短暫的高膽紅素血症，其特徵在於結合膽紅素及總膽紅素增加超過正常上限

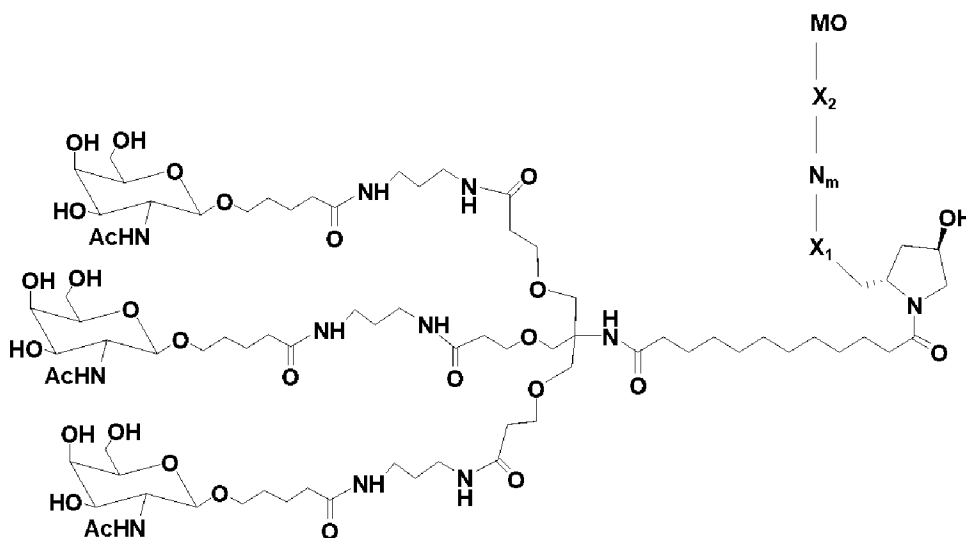
(ULN)。美國食品及藥品管理局將用於治療慢性 HCV 感染之 RG-101 之 IND 擱置在臨床上。

【0190】 儘管不能明確排除其他個體特異性之影響因素，但如本文所述，認為 RG-101 對結合膽紅素轉運之抑制可能導致觀察到之高膽紅素血症。有鑒於此，對靶向 miR-122 之替代化合物進行了篩選，該等化合物保持強效之 HCV 抗病毒活性並具有合適之安全性特徵，包括對經由 MRP2 轉運體之膽紅素轉運沒有實質性干擾。此篩選過程將化合物 RG6650 鑑定為符合該等標準之抗 miR-122 化合物。

某些抗 miR-122 化合物

【0191】 本文提供命名為 RG6650 之化合物，其包含含 GalNAc 之結合部分及與 miR-122 互補之經修飾寡核苷酸。經修飾之寡核苷酸命名為 RG7443 且具有結構 $U_S C_S A C_S A C_S T C_S C_S$ ，其中後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷，後面有下標「S」之核苷係 S-cEt 核苷，且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

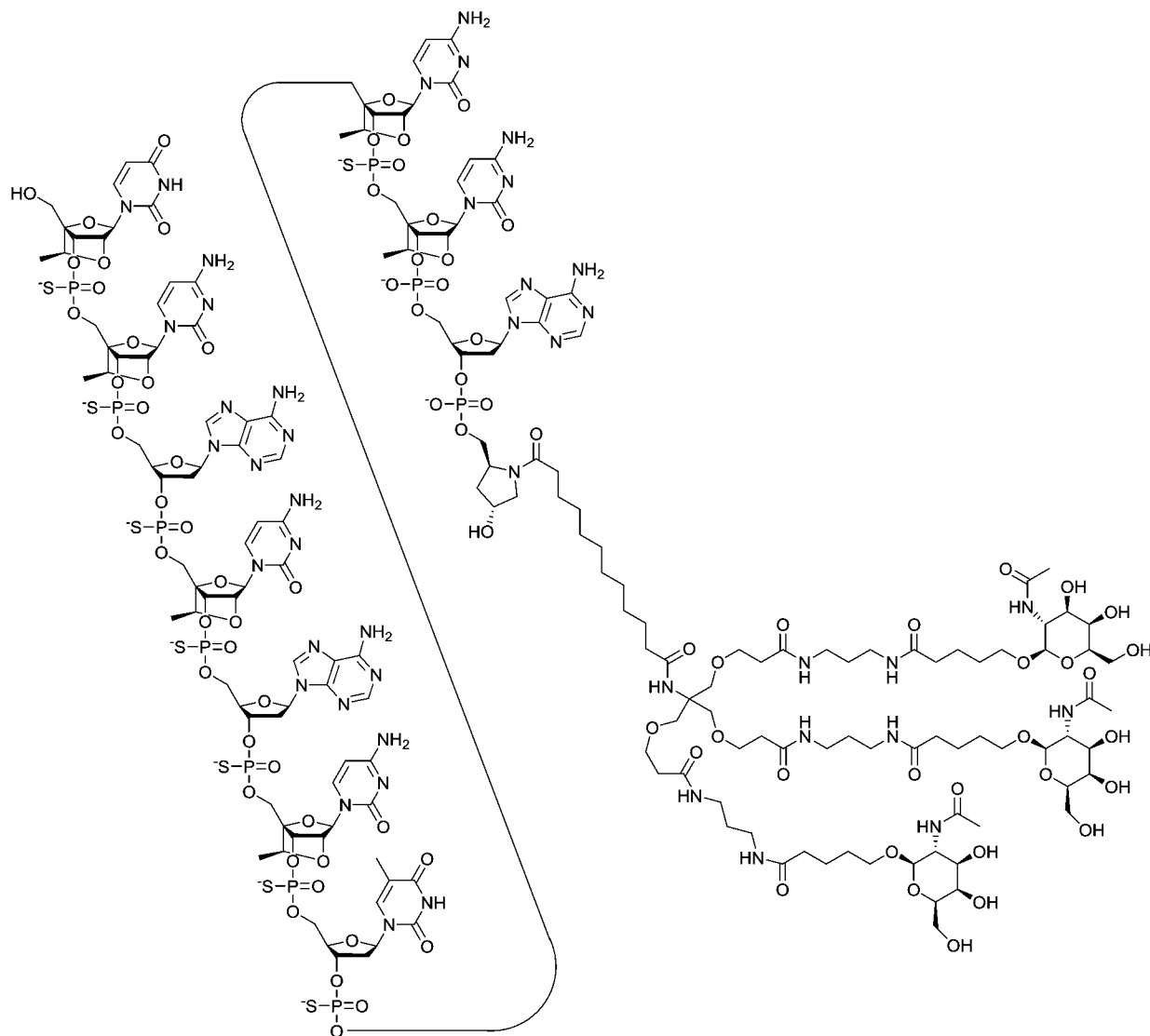
【0192】 在某些實施例中，化合物 RG6650 由以下結構表示：



其中 MO 係經修飾寡核苷酸且具有結構 $U_S C_S A C_S A C_S T C_S C_S$ ，其中後邊沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷，後邊有下標「S」之核苷係 S-cEt 核苷，且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯；其中 X₁ 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N 係 β -D-

去氧核糖腺苷； X_2 係磷酸二酯鍵；且其中結合部分連接至經修飾寡核苷酸之 3' 末端。

【0193】 在某些實施例中，化合物 RG6650 由以下結構表示：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【0194】 在每個核苷間鍵聯(例如，每個硫代磷酸酯鍵及每個磷酸二酯鍵)中，非橋接雜原子(例如，S 或 O)可經質子化或與相對離子如 Na^+ 、 K^+ 等締合。化合物之醫藥學上可接受之鹽可包含比每分子硫代磷酸酯及/或磷酸二酯鍵更少之陽離子相對離子(例如 Na^+ 、 K^+ 等)(即，一些硫代磷酸酯及/或磷酸二酯鍵質子化，且一些與相對離子締合)。在一些實施例中，RG6650 之醫藥學上可接受之鹽包含每分子 RG6650 少於 10 個陽離子相對離子(例如 Na^+ 、 K^+ 等)。亦即，在一些實

施例中，RG6650 之醫藥學上可接受之鹽可以平均每分子 RG6650 包含 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 個陽離子相對離子，剩餘之硫代磷酸酯及/或磷酸二酯鍵經質子化。

【0195】 本文提供醫藥組合物，其包含本文所提供之化合物及醫藥學上可接受之稀釋劑。在某些實施例中，醫藥學上可接受之稀釋劑係水溶液。在某些實施例中，水溶液係鹽水溶液。如本文所使用，醫藥學上可接受之稀釋劑應理解為無菌稀釋劑。

【0196】 在某些實施例中，本文提供之醫藥組合物係藉由皮下注射投與。其他合適之投與途徑包括(但不限於)靜脈投與、口服投與及肌內投與。

抗 miR-122 化合物及組合物之某些用途

【0197】 本文提供用於治療 HCV 感染之方法，其包括向 HCV 感染個體投與至少一個劑量之本文所提供化合物或醫藥組合物。在某些實施例中，本文所提供之方法包含選擇 HCV 感染個體。

【0198】 儘管當前直接作用型抗病毒藥物正在達成高比例之持續病毒反應，但仍有缺乏照料之 HCV 感染個體群體對當前治療無反應或者在成功治療後復發。對抗病毒療法之抗性係 HCV 高突變率之主要問題，且甚至在使用藥物組合時仍能看到。此外，HCV 感染個體對治療方案之依從性差，需要至少每天一次投與口服劑，持續時間較長(例如對於 Harvoni®為 12 週)，此可能會干擾達成高反應率。組合靶向病毒宿主因子 miR-122 之抗 miR-122 治療劑及一種或多種直接作用型抗病毒劑之治療代表了達成更高及更持久治癒率之機會，例如經由改善個體依從性、減少副作用及/或更高療效。因此，在某些實施例中，本文提供多種方法，其包括在治療期間同時投與本文所提供之化合物或醫藥組合物及至少一種直接作用型抗病毒劑(DAA)。

【0199】 在某些實施例中，治療期實質上短於至少一種單獨 DAA 之治療期。

【0200】 本文提供治療 C 型肝炎病毒(HCV)感染之方法，其包括在治療期間向 HCV 感染個體投與本文所提供之化合物或醫藥組合物及至少一種直接作用型抗病毒藥物(DAA)，其中治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在治療期開始時投與化合物或醫藥組合物之起始劑量且在治療期結束時投與化合物或醫藥組合物之終止劑量。在某些實施例中，起始劑量及終止劑量係在治療期間投與之化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【0201】 本文提供治療 HCV 感染之方法，其包括在治療期間向 HCV 感染個體投與本文所提供之化合物或醫藥組合物及至少一種 DAA，其中治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在治療期開始時投與化合物或醫藥組合物之起始劑量，且起始劑量係在治療期間投與之化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【0202】 本文提供治療 HCV 感染之方法，其包括在治療期間向 HCV 感染個體投與本文所提供之化合物或醫藥組合物及至少一種 DAA，其中治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在治療期結束時投與化合物或醫藥組合物之終止劑量，且終止劑量係在治療期間投與之化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【0203】 在本文所提供之任一方法中，治療期之持續時間為 11 週或更短、10 週或更短、9 週或更短、8 週或更短、7 週或更短、6 週或更短、5 週或更短、4 週或更短、2 週或更短、或 1 週或更短。在本文所提供之任一方法中，治療期之持續時間為 1 至 12 週、2 至 10 週、4 至 8 週、2 至 6 週或 1 至 4 週。在本文所提供之任一方法中，治療期之持續時間為 11 週、10 週、9 週、8 週、7 週、6 週或 5 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 11 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 10 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 9 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 8 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 7 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 6 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 5 週。

【0204】 在某些實施例中，治療期之持續時間為 4 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 3 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 2 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 1 週。在某些實施例中，治療期之持續時間為 26、27、28、29 或 30 天。在某些實施例中，治療期之持續時間為 28 或 29 天。在某些實施例中，治療期之持續時間為 18、19、20、21 或 22 天。在某些實施例中，治療期之持續時間為 21 天。在某些實施例中，治療期之持續時間為 12、13、14、15 或 16 天。在某些實施例中，治療期之持續時間為 14 或 15 天。在某些實施例中，治療期之持續時間為 6、7 或 8 天。在某些實施例中，治療期之持續時間為 7 或 8 天。

【0205】 在某些實施例中，化合物或醫藥組合物之起始劑量及至少一種 DAA 之第一劑量彼此係在 7 天內投與。在某些實施例中，化合物或醫藥組合物之起始劑量係在至少一種 DAA 之第一劑量之前 1 天投與。在某些實施例中，化合物或醫藥組合物之起始劑量係與至少一種 DAA 之第一劑量同一天投與。在某些實施例中，化合物或醫藥組合物之起始劑量係在至少一種 DAA 之第一劑量之後 1 天投與。在某些實施例中，化合物或醫藥組合物之終止劑量及至少一種 DAA 之末次劑量彼此係在 7 天內投與。在某些實施例中，化合物或醫藥組合物之終止劑量係在至少一種 DAA 之末次劑量之前 1 天投與。在某些實施例中，化合物或醫藥組合物之終止劑量係與至少一種 DAA 之末次劑量同一天投與。在某些實施例中，化合物或醫藥組合物之終止劑量係在至少一種 DAA 之末次劑量之後 1 天投與。

【0206】 在某些實施例中，本文所提供之化合物係以下列劑量投與：5 mg/kg 或以下、4.5 mg/kg 或以下、4 mg/kg 或以下、3.5 mg/kg 或以下、3 mg/kg 或以下、2.5 mg/kg 或以下、2 mg/kg 或以下、1.5 mg/kg 或以下、1 mg/kg 或以下、0.75 mg/kg 或以下、0.5 mg/kg 或以下、或 0.25 mg/kg 或以下。

【0207】 在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 1。在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 1a。在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 1b。在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 2。在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 3。在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 4。在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 5。在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 6。

【0208】 在某些實施例中，HCV 感染個體感染基因型 1a、基因型 1b、基因型 2a、基因型 2b、基因型 2c、基因型 2d、基因型 3a、基因型 3b、基因型 3c、基因型 3d、基因型 3e、基因型 3f、基因型 4a、基因型 4b、基因型 4c、基因型 4d、基因型 4e、基因型 4f、基因型 4g、基因型 4h、基因型 4i、基因型 4j、基因型 5a、或基因型 6a。

【0209】 HCV 基因組編碼幾種對病毒 RNA 複製及病毒體組裝至關重要之蛋白質。HCV 基因組能夠高速突變。在某些情況下，用 DAA 治療會導致核苷酸序列多型性之出現，其可能與病毒對 DAA 之抗性有關。因此，本文提供治療感染 HCV 基因型之 HCV 感染個體之方法，該 HCV 基因型具有一或多種抗性相關多型性。在某些實施例中，在治療前測試 HCV 感染個體之一或多種抗性相關多型性之存在。在一些實施例中，多型性之存在可以藉由 HCV RNA 之測序來確定。

【0210】 在某些實施例中，在 HCV RNA 中存在編碼一或多種 HCV 編碼蛋白中之一或多種胺基酸多型性之核苷酸變化。在某些實施例中，胺基酸多型性係在 HCV 編碼之 NS5A 蛋白中。在某些實施例中，NS5A 胺基酸多型性係在 NS5A 蛋白之胺基酸位置 M28、Q30、L31 及 Y93 中之一或多者上。在某些實施例中，胺基酸多型性係在 HCV 編碼之 NS3 蛋白中。在某些實施例中，胺基酸多型性係在 NS3 蛋白之位置 Q80、S122、R155、D168 及 D169 中之一或多者上。在某些

實施例中，胺基酸多型性係在 HCV 編碼之 NS4A 蛋白中。在某些實施例中，胺基酸多型性係在 HCV 編碼之 NS4B 蛋白中。在某些實施例中，胺基酸多型性係在 HCV 編碼之 NS5B 蛋白中。

【0211】 在某些實施例中，HCV 感染個體係未經治療之 HCV 感染個體，即該個體在經選擇進行如本文所提供之治療之前尚未接受治療在。在某些實施例中，治療不包括向 HCV 感染個體投與干擾素。在某些實施例中，HCV 感染個體係干擾素無反應者。在某些實施例中，HCV 感染個體係直接作用型抗病毒無反應者。

【0212】 HCV 感染個體可能罹患 HCV 相關性疾病。HCV 感染之主要肝病後果係肝硬化及其併發症，包括出血、肝功能不全及肝細胞癌。另一個併發症係纖維化，其係導致細胞外基質成分沈積之慢性發炎之結果，細胞外基質成分會導致肝架構之扭曲以及微循環及肝功能之阻塞。HCV 感染之另一個併發症係脂肪變性，脂肪變性進而可導致肝外病變，包括糖尿病、蛋白質營養不良、高血壓、細胞毒素、肥胖及缺氧。隨著併發症之嚴重程度增加，肝臟可能最終衰竭，且 HCV 感染個體可能需要肝移植。HCV 感染個體亦可能發展成肝細胞癌。在某些實施例中，HCV 感染個體患有 HCV 相關性疾病。在某些實施例中，HCV 相關性疾病係肝硬化、纖維化、脂肪性肝炎、脂肪變性及/或肝細胞癌。

【0213】 在某些實施例中，HCV 感染個體係肝移植受體。

【0214】 在某些實施例中，HCV 感染個體感染一或多種不同於 HCV 之病毒。在某些實施例中，HCV 感染個體係 HCV/HIV 共感染個體，即該個體感染 HCV 與 HIV。在某些實施例中，本文所提供之方法包含投與用於治療 HIV 感染之抗病毒劑。在某些實施例中，另一治療劑係非核苷反轉錄酶抑制劑(NNRTI)。在某些實施例中，另一治療劑係核苷反轉錄酶抑制劑(NRTI)。在某些實施例中，另一治療劑係蛋白酶抑制劑。在某些實施例中，另一治療劑係進入抑制劑或融合

抑制劑。在某些實施例中，另一治療劑係整合酶抑制劑。在某些實施例中，另一治療劑係選自依法韋侖(efavirenz)、依曲韋林(etravirine)、奈韋拉平(nevirapine)、阿巴卡韋(abacavir)、恩曲他濱(emtricitabine)、泰諾福韋(tenofovir)、拉米夫定(lamivudine)、齊多夫定(zidovudine)、阿紮那韋(atazanavir)、達如那韋(darunavir)、夫沙那韋(fosamprenavir)、利托那韋、恩夫韋肽(enfuvirtide)、馬拉韋羅(maraviroc)及雷特格韋(raltegravir)。

【0215】 在某些實施例中，HCV 感染個體係患有腎損害之 HCV 感染個體。腎損害可藉由測定估計之腎小球濾過率(eGFR)來評估。在某些實施例中，個體患有輕度腎損害。在某些實施例中，輕度腎損害之特徵在於 60-89 ml/min/1.73m² 之腎小球濾過率。在某些實施例中，個體患有中度腎損害。在某些實施例中，中度腎損害之特徵在於 30-59 ml/min/1.73m² 之腎小球濾過率。在某些實施例中，個體患有重度腎損害。在某些實施例中，重度腎損害之特徵在於 15-29 ml/min/1.73m² 之腎小球濾過率。在某些實施例中，個體正在經歷腎衰竭。在某些實施例中，經歷腎衰竭之個體具有小於 15 ml/min/1.73m² 之腎小球濾過率。投與患有腎損害之 HCV 感染個體之化合物或 DAA 之劑量可調整為高於或低於投與沒有腎損害之個體之劑量，此端視患有腎損害之個體之藥物之藥物代謝動力學行為而定。

【0216】 在某些實施例中，本文提供之治療 HCV 感染之症狀。儘管 HCV 感染通常係無症狀的，但在出現時，HCV 感染之症狀包括(但不限於)肝內或肝周圍疼痛、黃疸、噁心、食慾不振及疲勞。

【0217】 可使用 HCV RNA 含量來診斷 HCV 感染、監測疾病活性及/或監測 HCV 感染個體對治療之反應。在某些實施例中，本文提供之治療減少 HCV RNA 含量。在某些實施例中，本文所提供之方法包含投與可有效地治療 HCV 感染之量之化合物或醫藥組合物及 DAA。在某些實施例中，本文所提供之方法包含選

擇 HCV RNA 含量大於 350,000 拷貝/毫升血清、介於 350,000 與 3,500,000 拷貝/毫升血清之間或大於 3,500,000 拷貝/毫升血清之個體。在某些實施例中，本文所提供之方法包含減少 HCV RNA 含量。在某些實施例中，本文所提供之方法包含使 HCV RNA 含量減少至低於 200 拷貝/毫升血清、低於 100 拷貝/毫升血清、低於 40 拷貝/毫升血清。HCV RNA 含量可稱為「病毒載量」或「HCV RNA 效價」。

【0218】 HCV RNA 含量之變化可以闡述為 log 變化。例如，自 60,000 下降到 600 將係 HCV RNA 含量之 2-log 下降。在某些實施例中，本文提供之方法達成 HCV RNA 含量降低大於或等於 2 個 log。在某些實施例中，本文提供之方法達成 HCV RNA 含量降低至少 0.5 倍、至少 1 倍、至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 10 倍、至少 50 倍、至少 100 倍、至少 500 倍、至少 1000 倍、至少 5000 倍或至少 10,000 倍。

【0219】 在某些實施例中，本文所提供之方法包含達成持續病毒反應。在某些實施例中，在治療期之前或結束時 HCV RNA 含量低於定量下限(LLOQ)。在某些實施例中，在治療期結束後 4 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。在某些實施例中，在治療期結束後 8 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。在某些實施例中，在治療期結束後 12 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。在某些實施例中，在治療期結束後 24 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。在某些實施例中，在治療期結束後 36 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。在某些實施例中，在治療期結束後 48 週時，HCV RNA 含量低於 LLOQ。在某些實施例中，LLOQ 為 25 IU/mL。在某些實施例中，LLOQ 為 15 IU/mL。在某些實施例中，LLOQ 為 12 IU/mL。

【0220】 在某些實施例中，HCV RNA 含量係使用基於實時聚合酶鏈式反應之分析來量化。分析之定量下限(LLOQ)可有所不同。例如，用於高清系統之 COBAS TaqMan HCV 測試(2.0 版)之定量下限(LLOQ)為 25 IU/mL 且 COBAS

AmpliPrep/COBAS Taqman HCV 測試(2.0 版)之 LLOQ 為 15 IU/mL。Abbott 實時 HCV 測試之定量下限(LLOQ)為 12 IU/mL。

【0221】 在 HCV 治療方案後，HCV 感染個體可經歷 HCV RNA 含量降低，然後 HCV RNA 含量增加，該後續增加稱為 HCV RNA 含量回彈。在某些實施例中，本文所提供之方法防止 HCV RNA 含量回彈。在某些實施例中，本文所提供之方法延遲 HCV RNA 含量回彈。

【0222】 在本文所提供之任一實施例中，每日一次或每日兩次投與至少一種 DAA。在某些實施例中，每日一次投與至少一種 DAA。在某些實施例中，每日兩次投與至少一種 DAA。在某些實施例中，至少一種 DAA 係選自 NS3/4A 蛋白酶抑制劑、NS5A 抑制劑、核苷 NS5B 聚合酶抑制劑及非核苷 NS5B 聚合酶抑制劑。在某些實施例中，NS5A 抑制劑係依巴司韋。在某些實施例中，NS3/4A 蛋白酶抑制劑係格拉瑞韋。在某些實施例中，NS5A 抑制劑係奧比他韋。在某些實施例中，NS3/4A 蛋白酶抑制劑係帕利瑞韋。在某些實施例中，非核苷 NS5B 聚合酶抑制劑係 dasbuvir。在某些實施例中，NS5A 抑制劑係達卡他韋。在某些實施例中，NS3/4A 蛋白酶抑制劑係西咪匹韋。在某些實施例中，NS5A 抑制劑係雷迪帕韋。在某些實施例中，NS5B 聚合酶抑制劑係索非不韋。在某些實施例中，NS3/4A 抑制劑係格來普韋。在某些實施例中，NS5A 抑制劑係匹布他韋。在某些實施例中，投與一或多種直接作用型抗病毒劑。

【0223】 在某些實施例中，至少一種 DAA 係選自索非不韋、雷迪帕韋、奧比他韋、達薩布韋、依巴司韋、格拉瑞韋、利巴韋林、奧比他韋、帕利瑞韋、利托那韋、波普瑞韋、伐尼瑞韋、阿舒瑞韋、達卡他韋、西咪匹韋、美利他濱、圖戈布韋、丹諾瑞韋、沙普瑞韋、格來普韋、匹布他韋、伏西瑞韋、維帕他韋及 GSK2878175。在某些實施例中，至少一種 DAA 係以可有效地治療 HCV 感染之量投與。在某些實施例中，至少一種 DAA 投與之治療期短於在沒有本文所

提供之化合物或醫藥組合物時投與 DAA 所規定之治療期。

【0224】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含索非不韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含 400 mg 索非不韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 係一個包含 400 mg 索非不韋之錠劑，每日一次口服投與。索非不韋可在有或沒有利巴韋林時投與。

【0225】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含雷迪帕韋及索非不韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含 90 mg 雷迪帕韋之劑量投與之雷迪帕韋及 400 mg 劑量之索非不韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 係一個包含 90 mg 雷迪帕韋及 400 mg 索非不韋之錠劑，每日一次口服投與。

【0226】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含西咪匹韋或其鹽形式。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含以 150 mg 劑量投與之西咪匹韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 係一個包含 150 mg 西咪匹韋之膠囊，每日一次口服投與。

【0227】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含達卡他韋或其鹽形式。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含以 60 mg 劑量投與之達卡他韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 係一個包含 60 mg 達卡他韋之錠劑，每日一次口服投與。在某些實施例中，至少一種 DAA 係兩個各自包含 30 mg 達卡他韋之錠劑，每日一次口服投與。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含以 60 mg 劑量投與之達卡他韋及以 400 mg 劑量投與之索非不韋。在某些實施例中，HCV 感染個體經測定感染了具有一或多種抗性相關多型性之 HCV 基因型。在某些實施例中，抗性相關多型性係 NS5A 多型性。在某些實施例中，NS5A 多型性係在位置 M28、Q30、L31 及 Y93 中之一或多者上。

【0228】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含格來普韋及匹布他韋或其鹽形式。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含以 100 mg 劑量投與之格來普韋及以 40 mg 劑量投與之匹布他韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 係三個各自含有

100 mg 格來普韋及 40 mg 匹布他韋之錠劑，每日一次口服投與。

【0229】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含奧比他韋、帕利瑞韋、利托那韋及達薩布韋或其鹽形式。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含以 12.5 mg 劑量投與之奧比他韋、以 75 mg 劑量投與之帕利瑞韋、以 50 mg 劑量投與之利托那韋及以 250 mg 劑量投與之達薩布韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 係兩個各自含有 12.5 mg 奧比他韋、75 mg 帕利瑞韋、50 mg 利托那韋之錠劑(每日一次口服投與)及一個包含 250 mg 達薩布韋之錠劑(每日兩次投與)。

【0230】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含奧比他韋、帕利瑞韋、利托那韋、達薩布韋及利巴韋林。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含以 12.5 mg 劑量投與之奧比他韋、以 75 mg 劑量投與之帕利瑞韋、以 50 mg 劑量投與之利托那韋及以 800 mg、1000 mg、1200 mg 或 1400 mg 劑量投與之利巴韋林。在某些實施例中，至少一種 DAA 係兩個各自含有 12.5 mg 奧比他韋、75 mg 帕利瑞韋、50 mg 利托那韋之錠劑(每日一次口服投與)、一個包含 250 mg 達薩布韋之錠劑(每日兩次投與)及以 800 mg、1000 mg、1200 mg 或 1400 mg 劑量投與之利巴韋林。

【0231】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含依巴司韋及格拉瑞韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含以 50 mg 劑量投與之依巴司韋及以 100 mg 劑量投與之格拉瑞韋。在某些實施例中，至少一種 DAA 係一個包含 50 mg 依巴司韋及 100 mg 格拉瑞韋之錠劑，每日一次口服投與。

【0232】 在某些實施例中，至少一種 DAA 包含依巴司韋、格拉瑞韋及利巴韋林。在某些實施例中，至少一種 DAA 包含以 50 mg 劑量投與之依巴司韋、以 100 mg 劑量投與之格拉瑞韋及以 800 mg、1000 mg、1200 mg 或 1400 mg 劑量投與之利巴韋林。在某些實施例中，至少一種 DAA 係一個包含 50 mg 依巴司韋及 100 mg 格拉瑞韋之錠劑(每日一次口服投與)及以 1000 mg、1200 mg、或 1400 mg 劑量投與之利巴韋林。在某些實施例中，HCV 感染個體經測定感染了具有一或多

種抗性相關多型性之 HCV 基因型。在某些實施例中，抗性相關多型性係 NS5A 多型性。在某些實施例中，NS5A 多型性係在位置 M28、Q30、L31 及 Y93 中之一或多者上。

【0233】 利巴韋林之推薦劑量係基於體重的。在某些實施例中，對於體重小於 75 kg 之個體，利巴韋林之日劑量為 1000 mg。在某些實施例中，對於體重為 75 kg 或以上之個體，日劑量為 1200 mg 利巴韋林。

【0234】 在某些實施例中，日劑量以兩個分開劑量口服投與，一個劑量在早上且一個劑量在晚上。在某些實施例中，利巴韋林以包含 200 mg 利巴韋林之膠囊提供。

【0235】 在某些實施例中，對於體重小於 66 kg 之個體，利巴韋林之日劑量為 800 mg。在某些實施例中，對於體重為 66 至 80 kg 之個體，利巴韋林之日劑量為 1000 mg。在某些實施例中，對於體重為 81 至 105 kg 之個體，利巴韋林之日劑量為 1200 mg。在某些實施例中，對於體重大於 105 kg 之個體，利巴韋林之日劑量為 1400 mg。

【0236】 投與本文所提供之化合物或醫藥組合物可允許減小至少一種投與 HCV 感染個體之 DAA 之劑量或頻率。減小一或多種所投與 DAA 之劑量或頻率可減輕副作用及/或改善個體依從性。因此，在某些實施例中，在治療期間投與之至少一種 DAA 之劑量係低於單獨投與 DAA 時之劑量。例如，至少一種 DAA 可以比單獨投與至少一種 DAA 時低 25% 之劑量投與。在某些實施例中，在治療期間投與之至少一種 DAA 之劑量的投與頻率低於單獨投與至少一種 DAA 時之投與頻率。例如，至少一種 DAA 可每週一次而非每日一次投與。在某些實施例中，至少一種所投與 DAA 之劑量與頻率低於單獨投與至少一種 DAA 時。

【0237】 在某些實施例中，本文所提供之化合物及至少一種 DAA 係以單一醫藥組合物投與，即化合物及至少一種 DAA 共配製於醫藥組合物中。合適之投與

途徑包括皮下、靜脈內、口服或肌內投與。

【0238】 在某些實施例中，向 HCV 感染個體投與一或多種其他治療劑。在某些實施例中，一或多種其他治療劑包含免疫療法、免疫調節劑、治療性疫苗、抗纖維化劑、抗發炎劑、支氣管擴張劑、黏液溶解劑、抗毒蕈鹼劑、抗白三烯劑、細胞黏附抑制劑、抗氧化劑、細胞介素促效劑、細胞介素拮抗劑、肺表面活性劑、抗微生物劑、抗癌劑、RNAi 劑或親環素抑制劑。

【0239】 在某些實施例中，一或多種其他治療劑可選自輔因子抑制劑、HCV 結構蛋白抑制劑、親環素抑制劑、進入抑制劑、TLR7 促效劑及干擾素。

【0240】 儘管大多數當前療法之目的係消除干擾素之使用，但在一些 HCV 感染個體中，干擾素治療可能係有保證的。在某些實施例中，另一治療劑係選自干擾素、利巴韋林及特拉匹韋(telaprevir)。在某些實施例中，干擾素係選自干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、干擾素 α con-1、聚乙二醇干擾素 α -2b 及聚乙二醇干擾素 α -2a。

【0241】 HCV 感染個體可能會經歷肝功能異常，其係藉由量測膽紅素、白蛋白及凝血酶原時間中之一或多者來評價。量測肝酶丙胺酸胺基轉移酶(ALT)及天冬胺酸胺基轉移酶(AST)來評價肝臟發炎。該等標記物之一或多個異常含量可能表明肝功能異常。在某些實例中，本文提供之方法包括使肝功能正常化。在某些實施例中，本文提供之方法包括使肝酶含量正常化。

【0242】 在本文所提供之任一方法中，化合物可存在於醫藥組合物中。

【0243】 本文所提供之化合物可用於療法中。在某些實施例中，化合物用於治療 HCV 感染個體。在某些實施例中，用於治療 HCV 感染個體之化合物可用於本文所述之任一治療方法中。

【0244】 向 HCV 感染個體投與抗 miR-122 化合物導致血清膽固醇降低，且因此可以單獨或除了另一種功效指標(例如 HCV RNA 含量之降低)之外，用作評價

本文提供之抗 miR-122 化合物之活性之生物標記物。因此，本文提供之方法包括將本文提供之化合物或醫藥組合物投與於 HCV 感染個體，自個體收集血樣，並量測 HCV 感染個體血樣中之膽固醇。膽固醇之含量可用作 HCV 感染個體中抗 miR-122 化合物活性之指標。

某些修飾

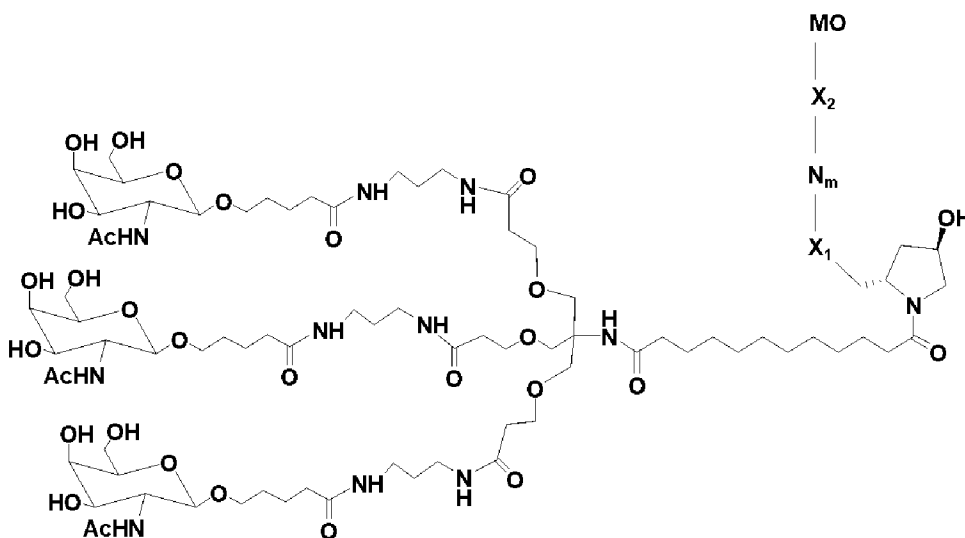
【0245】 在某些實施例中，本文提供化合物，其中結合部分(例如連接體或配位體)之特徵以保持化合物之期望性質(例如在 HCV 感染個體中降低 HCV RNA 含量之功效及缺乏對 MRP2 轉運體之顯著抑制)之方式經修飾。

【0246】 RG6650 及包含 RG7443 之化合物可藉由結構 C 闡述：

L_n -連接體- X_1 - N_m - X_2 -MO；

其中每個 L 獨立地係配位體且 n 為 1 至 10；每個 N 獨立地係經修飾或未經修飾之核苷且 m 係 1 至 5； X_1 係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵； X_2 係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；且 MO 係 RG7443。

【0247】 例如，RG6650 可藉由結構 C 之以下實施例來闡述：

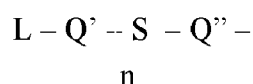


其中 MO 係經修飾寡核苷酸且具有結構 $U_S C_S A C_S A C_S T C_S C_S$ (RG7443)，其中後邊沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷，後邊有下標「S」之核苷係 S-cEt 核苷，且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯；其中 X_1 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N

係 β -D-去氧核糖腺苷； X_2 係磷酸二酯鍵；且其中結合部分連接至經修飾寡核苷酸之 3' 末端。

【0248】 在某些實施例中，結構 C 之一或多種配位體可以係一種配位體，該配位體與 GalNAc 部分一樣，促進肝臟中之攝取。該等配位體包括膽固醇及對去唾液酸糖蛋白受體(ASGPR)具有親和力之其他配位體，包括(但不限於)半乳糖或半乳糖衍生物。在某些實施例中，對 ASGPR 具有親和力之配位體係 N-乙醯半乳糖胺、半乳糖、半乳糖胺、N-甲醯基半乳糖胺、N-丙醯-半乳糖胺、N-正丁醯半乳糖胺或 N-異丁醯-半乳糖胺。

【0249】 在某些實施例中，當 n 大於 1 時，該連接體包含能夠將多於一個 L 連接至該化合物之其餘部分上(即，連接至該經修飾之寡核苷酸(MO)上、連接至 $X_1-N_m-X_2-MO$ 上、連接至 $X-N_m-Y-MO$ 上，等等)之骨架。在一些此類實施例中，該化合物(如結構 A、結構 B、結構 C 或結構 D 之化合物)之 L_n -連接體部分包含結構 E：

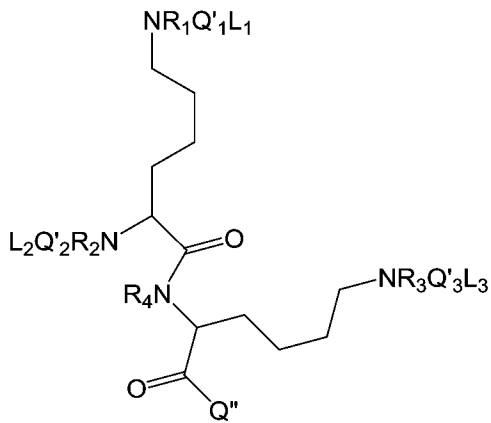


其中每個 L 獨立地係配位體； n 係從 1 至 10；S 係骨架；並且 Q' 及 Q'' 獨立地係連接基團。

【0250】 在某些實施例中，每個 Q' 及 Q'' 獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。

【0251】 在某些實施例中，骨架將 2、3、4 或 5 個配位體連接至經修飾之寡核苷酸上。在某些實施例中，骨架將 3 個配位體連接至經修飾之寡核苷酸上。

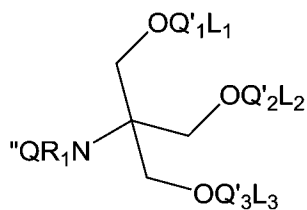
【0252】 一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(i)：



其中 L_1 、 L_2 及 L_3 各自獨立地係配位體； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地係連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基及取代之 C_1 - C_6 烷基。

【0253】 在一些實施例中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施例中， R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施例中， R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 各自選自 H 及甲基。

【0254】 另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(ii)：

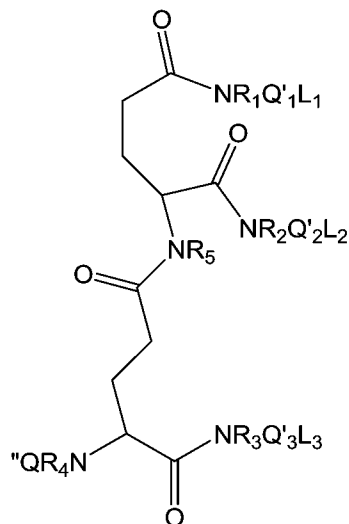


其中 L_1 、 L_2 及 L_3 各自獨立地係配位體； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地係連接基團；並且 R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基及取代之 C_1 - C_6 烷基。

【0255】 在一些實施例中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)

環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-氨基己酸。在一些實施例中， R_1 選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施例中， R_1 係 H 或甲基。

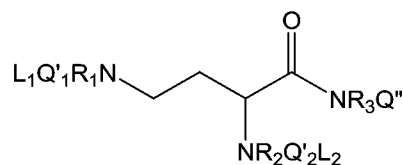
【0256】 另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(iii)：



其中 L_1 、 L_2 及 L_3 各自獨立地係配位體； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地係連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 及 R_5 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基及取代之 C_1 - C_6 烷基。

【0257】 在一些實施例中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-氨基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-氨基己酸。在一些實施例中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 及 R_5 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施例中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 及 R_5 各自選自 H 及甲基。

【0258】 另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(iv)：

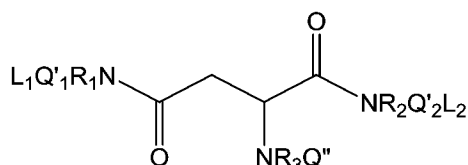


其中 L_1 及 L_2 各自獨立地係配位體； Q'_1 、 Q'_2 及 Q'' 各自獨立地係連接基團；並且

R_1 、 R_2 及 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基及取代之 C_1 - C_6 烷基。

【0259】 在一些實施例中， Q'_1 、 Q'_2 及 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施例中， R_1 、 R_2 及 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施例中， R_1 、 R_2 及 R_3 各自選自 H 及甲基。

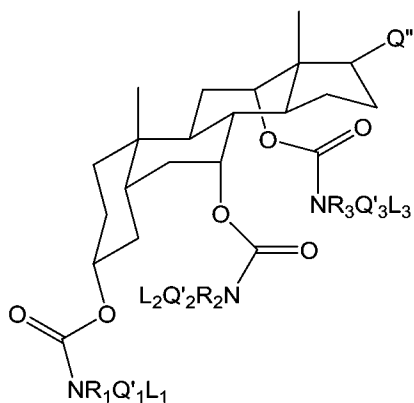
【0260】 另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(v)：



其中 L_1 及 L_2 各自獨立地係配位體； Q'_1 、 Q'_2 及 Q'' 各自獨立地係連接基團；並且 R_1 、 R_2 及 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基及取代之 C_1 - C_6 烷基。

【0261】 在一些實施例中， Q'_1 、 Q'_2 及 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施例中， R_1 、 R_2 及 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施例中， R_1 、 R_2 及 R_3 各自選自 H 及甲基。

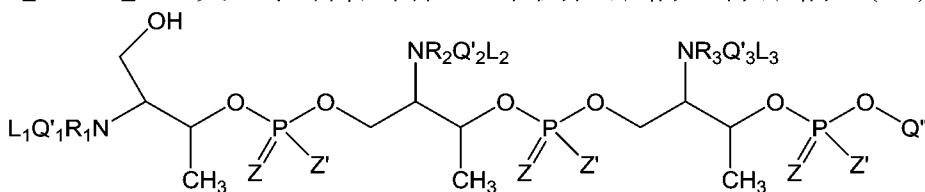
【0262】 另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(vi)：



其中 L_1 、 L_2 及 L_3 各自獨立地係配位體； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地係連接基團；並且 R_1 、 R_2 及 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基及取代之 C_1 - C_6 烷基。

【0263】 在一些實施例中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施例中， R_1 、 R_2 及 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施例中， R_1 、 R_2 及 R_3 各自選自 H 及甲基。

【0264】 另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(vii)：

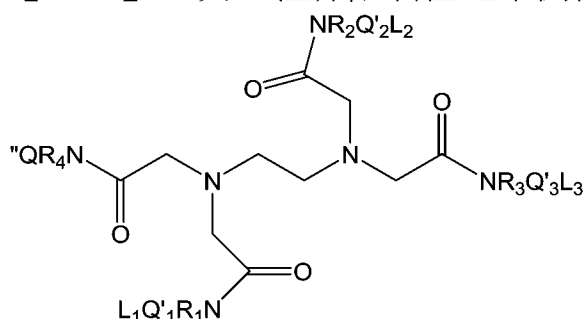


其中 L_1 、 L_2 及 L_3 各自獨立地係配位體； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地係連接基團；並且 R_1 、 R_2 及 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基及取代之 C_1 - C_6 烷基；並且 Z 及 Z' 各自獨立地選自 O 及 S。

【0265】 在一些實施例中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺

基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施例中， R_1 、 R_2 及 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施例中， R_1 、 R_2 及 R_3 各自選自 H 及甲基。在一些實施例中，至少一個 P 原子上之 Z 或 Z' 係 S，並且另一個 Z 或 Z' 係 O(即，硫代磷酸酯鍵)。在一些實施例中，每個 -OP(Z)(Z')O- 皆為硫代磷酸酯鍵。在一些實施例中，至少一個 P 原子上之 Z 及 Z' 皆為 O(即，磷酸二酯鍵)。在一些實施例中，每個 -OP(Z)(Z')O- 皆為磷酸二酯鍵。

【0266】 另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(viii)：



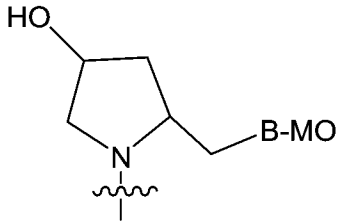
其中 L_1 、 L_2 及 L_3 各自獨立地係配位體； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地係連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基及取代之 C_1 - C_6 烷基。

【0267】 在一些實施例中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 及 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代之 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代之 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代之 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代之 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施例中， R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施例中， R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 各自選自 H 及甲基。

【0268】 例如 PCT 公開號 WO 2013/033230；美國專利號 8,106,022 B2；美國公開號 2012/0157509 A1；美國專利號 5,994,517；美國專利號 7,491,805 B2；美國專利號 8,313,772 B2；Manoharan, M.，第 16 章，Antisense Drug Technology，

Crooke, S.T.、Marcel Dekker 公司，2001，391-469 闡述了非限制性之示例性骨架及/或包含骨架之連接體及其合成。

【0269】 在某些實施例中，該化合物之 L_n -連接體部分包含結構 F：



其中：

B 選自 -O-、-S-、-N(R^N)-、-Z-P(Z')(Z'')O-、-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X- 以及 -Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-；

MO 係 RG7443；

R^N 選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基以及苯甲基；

Z、Z' 及 Z'' 各自獨立地選自 O 及 S；

每個 N 獨立地係經修飾或未經修飾之核苷；

m 係從 1 至 5；

X 選自磷酸二酯鍵及硫代磷酸酯鍵；

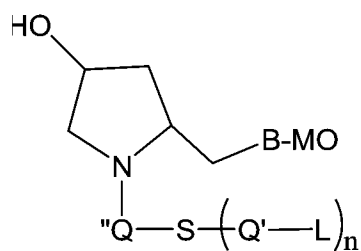
Y 係磷酸二酯鍵；並且

波形線表明連接至這個或該等連接體及配位體之其餘部分。

【0270】 在某些實施例中，波形線表明連接至以上結構 E。

【0271】 在某些實施例中，n 係從 1 至 5、1 至 4、1 至 3、或 1 至 2。在某些實施例中，n 係 1。在某些實施例中，n 係 2。在某些實施例中，n 係 3。在某些實施例中，n 係 4。在某些實施例中，n 係 5。

【0272】 在某些實施例中，該化合物之 L_n -連接體部分包含結構 G：



其中：

B 選自 -O-、-S-、-N(R^N)-、-Z-P(Z')(Z'')O-、-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X- 以及 -Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-；

MO 係 RG7443；

R^N 選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基以及苯甲基；

Z、Z'及 Z''各自獨立地選自 O 及 S；

每個 N 獨立地係經修飾或未經修飾之核苷；

m 係從 1 至 5；

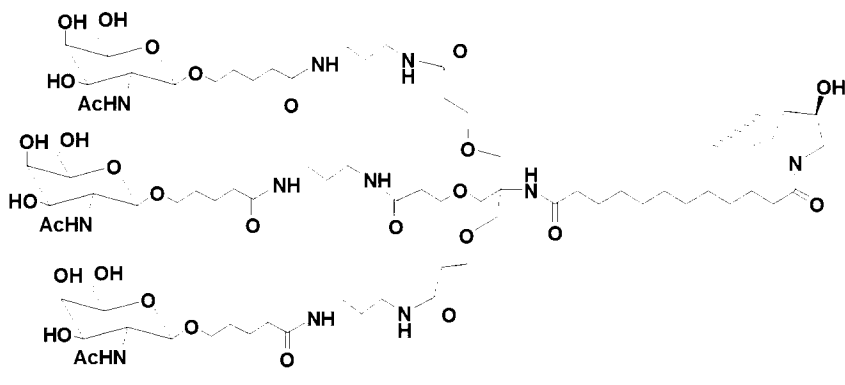
X 選自磷酸二酯鍵及硫代磷酸酯鍵；

Y 係磷酸二酯鍵；

每個 L 獨立地係配位體；n 係從 1 至 10；S 係骨架；並且 Q'及 Q''獨立地係連接基團。

【0273】 在某些實施例中，每個 Q'及 Q''獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、C₁-C₂₀ 烷基、取代之 C₁-C₂₀ 烷基、C₂-C₂₀ 烯基、取代之 C₂-C₂₀ 烯基、C₂-C₂₀ 炔基、取代之 C₂-C₂₀ 炔基、C₁-C₂₀ 烷氧基、取代之 C₁-C₂₀ 烷氧基、胺基、醯胺基、吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。

【0274】 化合物之一非限制之示例性 L_n-連接體部分(例如，具有結構 F 或結構 G)在以下結構 H 中示出：



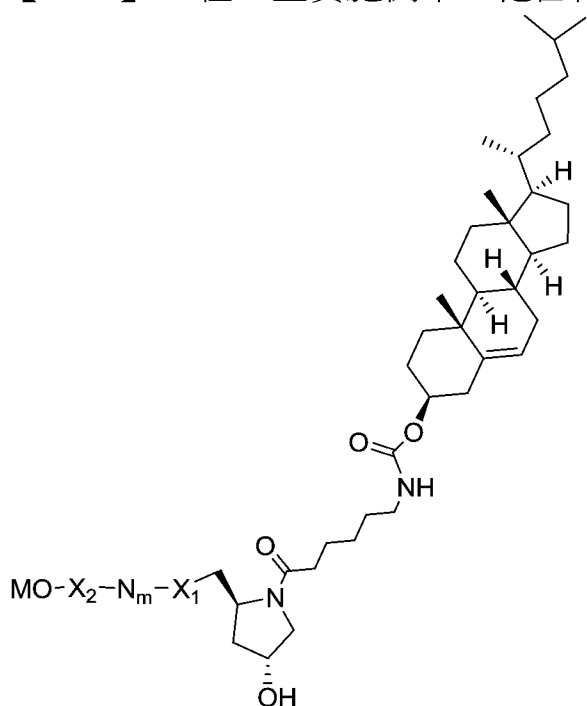
其中波形線表明連接至該經修飾之寡核苷酸 RG7443 上、例如結構 B 中之 X_1 上或例如結構 C 或結構 D 中之 X 或 Y 上。

【0275】 在某些實施例中，包含本文所述結合之經修飾寡核苷酸之化合物具有結構 A：

L_n -連接體-MO；

其中每個 L 獨立地係配位體且 n 為 1 至 10；且 MO 係 RG7443。

【0276】 在一些實施例中，化合物具有以下結構：



其中每個 N 獨立地係經修飾或未經修飾之核苷且 m 係 1 至 5； X_1 及 X_2 各自獨立地係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；且 MO 係 RG7443。

【0277】 在某些實施例中， X_1 及 X_2 中之至少一者係磷酸二酯鍵。在某些實施

例中， X_1 及 X_2 中之每一者係磷酸二酯鍵。

【0278】 在某些實施例中， m 係 1。在某些實施例中， m 係 2。在某些實施例中， m 係 3、4 或 5。在某些實施例中， m 係 2、3、4 或 5。在某些實施例中，當 m 大於 1 時， N_m 之每個經修飾或未經修飾之核苷可藉由磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接至 N_m 之相鄰經修飾或未經修飾之核苷。

【0279】 在本文所述之任一實施例中， N_m 可為 N'_pN'' ，其中每個 N' 獨立地係經修飾或未經修飾之核苷且 p 為 0 至 4；且 N'' 係包含未經修飾之糖部分之核苷。

【0280】 在某些實施例中， p 係 0。在某些實施例中， p 係 1、2、3 或 4。在某些實施例中，當 p 係 1、2、3 或 4 時，每個 N' 包含未經修飾之糖部分。

【0281】 在某些實施例中，未經修飾之糖部分係 β -D-核糖或 β -D-去氧核糖。

【0282】 在某些實施例中，當 p 係 1、2、3 或 4 時， N' 包含嘌呤核鹼基。在某些實施例中， N'' 包含嘌呤核鹼基。在某些實施例中，嘌呤核鹼基係選自腺嘌呤、鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤及 7-甲基鳥嘌呤。在某些實施例中， N' 係 β -D-去氧核糖腺苷或 β -D-去氧核糖鳥苷。在某些實施例中， N'' 係 β -D-去氧核糖腺苷或 β -D-去氧核糖鳥苷。

【0283】 在某些實施例中， p 係 1， N' 及 N'' 各自係 β -D-去氧核糖腺苷，且 N' 及 N'' 藉由磷酸二酯核苷間鍵聯連接。在某些實施例中， p 係 1， N' 及 N'' 各自係 β -D-去氧核糖腺苷，且 N' 及 N'' 藉由磷酸二酯核苷間鍵聯連接。在某些實施例中， p 係 1， N' 及 N'' 各自係 β -D-去氧核糖腺苷，且 N' 及 N'' 藉由硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接。

【0284】 在某些實施例中，當 p 係 1、2、3 或 4 時， N' 包含嘧啶核鹼基。在某些實施例中， N'' 包含嘧啶核鹼基。在某些實施例中，嘧啶核鹼基係選自胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶及 5,6-二氫尿嘧啶。

【0285】 在某些實施例中，每個 N 之糖部分係獨立地選自 β -D-核糖、 β -D-去

氧核糖、2'-O-甲氧基糖、2'-O-甲基糖、2'-氟糖及二環糖部分。在某些實施例中，每個二環糖部分係獨立地選自 cEt 糖部分、LNA 糖部分及 ENA 糖部分。在某些實施例中，cEt 糖部分係 S-cEt 糖部分。在某些實施例中，cEt 糖部分係 R-cEt 糖部分。

【0286】 在某些實施例中，化合物包含連接至經修飾寡核苷酸之 5'末端之結合部分。在某些實施例中，化合物包含連接至經修飾寡核苷酸之 3'末端之結合部分。在某些實施例中，化合物包含連接至經修飾寡核苷酸之 5'末端之結合部分。在某些實施例中，化合物包含連接至經修飾寡核苷酸之 3'末端之第一結合部分及連接至經修飾寡核苷酸之 5'末端之第二結合部分。

某些代謝產物

【0287】 當在活體外或活體內暴露於核酸外切酶及/或核酸內切酶時，化合物可以經受在整個化合物之不同位置上之裂解。此種裂解之產物可以保留一定程度之母體化合物之活性，並且因此視為活性代謝物。因此，化合物之代謝產物可以用於本文闡述之該等方法中。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸(未結合或結合的)經受 5'末端及/或 3'末端上之裂解，從而產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 5'末端及/或 3'末端上少 1 個、2 個或 3 個核苷酸之代謝產物。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸經受 5'末端上之裂解，釋放 5'-末端之核苷酸並且產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 5'末端上少 1 個核苷酸之代謝產物。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸經受 5'末端上之裂解，釋放兩個 5'-末端之核苷酸並且產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 5'末端上少兩個核苷酸之代謝產物。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸經受 3'末端上之裂解，釋放 3'-末端之核苷酸並且產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 3'末端上少一個核苷酸之代謝產物。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸經受 3'末端上之裂解，釋放兩個 3'-末端之核苷酸並且產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 3'末端上少兩個核苷酸之代謝產

物。

【0288】 包含連接至結合部分之經修飾之寡核苷酸之化合物還可以經受該經修飾之寡核苷酸與配位體之間之連接活體內之一位點上之裂解。在某些實施例中，裂解產生包含一部分結合部分之母體經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，裂解產生在經修飾之寡核苷酸與配位體之間包含連接體之一或多個亞單位之母體經修飾之寡核苷酸。例如，在化合物具有結構 L_n -連接體- X_1 - N_m - X_2 -MO 之情況下，在一些實施例中，裂解產生包含 N_m 之一或多個核苷酸之母體經修飾之寡核苷酸。在一些實施例中，結合之經修飾之寡核苷酸之裂解產生母體經修飾之寡核苷酸。在一些此類實施例中，例如，在化合物具有結構 L_n -連接體- X_1 - N_m - X_2 -MO 之情況下，在一些實施例中，裂解產生不包含 N_m 之任何核苷酸之母體經修飾之寡核苷酸。

某些核鹼基序列

【0289】 本文所述之任一抗 miR-122 核鹼基序列(包括但不限於在實例及序列表中發現之彼等序列)皆與核酸之任何修飾無關。因此，由 SEQ ID NO 定義之核酸可獨立地包含對一或多個糖部分、一或多個核苷間鍵聯及/或一或多個核鹼基之一或多個修飾。

【0290】 雖然本文件所附序列表將每個核鹼基序列根據需要鑑定為「RNA」或「DNA」，但實際上彼等序列可以用化學修飾之任何組合進行修飾。熟習該項技術者將易於領會，如「RNA」或「DNA」這樣之名稱闡述經修飾之寡核苷酸在一定程序上係任意的。例如，包含含有 2'-OH 糖部分及胸腺嘧啶鹼基之核苷之經修飾之寡核苷酸可以闡述為具有修飾之糖(針對 DNA 之天然 2'-H 為 2'-OH)之 DNA 或具有修飾之鹼基(針對 RNA 之天然尿嘧啶為胸腺嘧啶(甲基化尿嘧啶))之 RNA。

【0291】 因此，本文提供之核酸序列(包括但不限於序列表中之彼等序列)旨在

涵蓋含有天然或修飾之 RNA 及/或 DNA 之任何組合之核酸，包括(但不限於)具有經修飾之核鹼基之此類核酸。作為實例而非限制，具有核鹼基序列「ATCGATCG」之經修飾之寡核苷酸涵蓋具有此種核鹼基序列之任何寡核苷酸，無論係經修飾的或未經修飾的，包括(但不限於)包含 RNA 鹼基之此類化合物，如具有序列「AUCGAUCG」之彼等化合物及具有一些 DNA 鹼基及一些 RNA 鹼基如「AUCGATCG」之彼等化合物以及具有其他修飾之鹼基如「AT^{me}CGAUCG」之寡核苷酸，其中 ^{me}C 指示 5-甲基胞嘧啶。類似地，具有核鹼基序列「AUCGAUCG」之經修飾之寡核苷酸涵蓋具有此種核鹼基序列之任何寡核苷酸，無論係經修飾的或未經修飾的，包括(但不限於)包含 DNA 鹼基之此類化合物，如具有序列「ATCGATCG」之彼等化合物及具有一些 DNA 鹼基及一些 RNA 鹼基如「AUCGATCG」之彼等化合物以及具有其他經修飾之鹼基如「AT^{me}CGAUCG」之寡核苷酸，其中 ^{me}C 指示 5-甲基胞嘧啶。

某些修飾

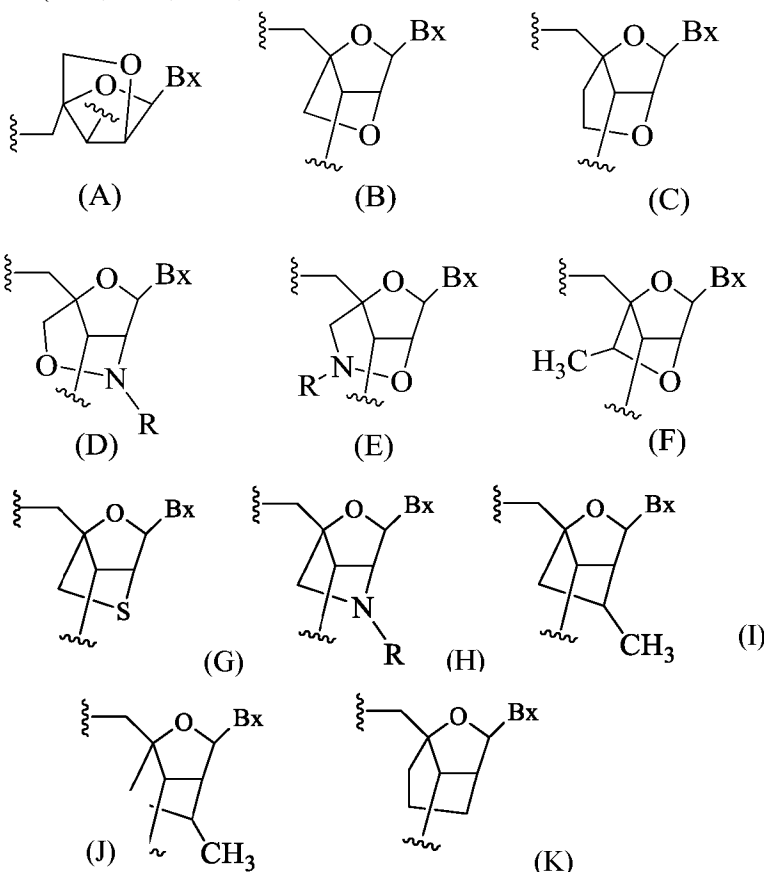
【0292】 經修飾之寡核苷酸可以包含對核鹼基、糖及/或核苷間鍵聯之一或多種修飾。可以因為希望之特性(例如像細胞攝取增強、對其他寡核苷酸或核酸靶標之親和性增強以及在核酸酶存在下之穩定性增加)選擇修飾之核鹼基、糖及/或核苷間鍵聯優先於未修飾之形式。

【0293】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含一或多種修飾之核苷。在某些實施例中，經修飾之核苷係穩定性核苷。穩定性核苷之一個實例係 2'-修飾之核苷。

【0294】 在某些實施例中，經修飾之核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，包含經修飾之糖部分之經修飾之核苷包含未經修飾之核鹼基。在某些實施例中，經修飾之糖包含經修飾之核鹼基。在某些實施例中，經修飾之核苷係 2'-修飾之核苷。

【0295】 在某些實施例中，2'-修飾之核苷包含雙環糖部分。在某些此類實施例中，該雙環糖部分係呈 α 構型之 D 糖。在某些此類實施例中，該雙環糖部分係呈 β 構型之 D 糖。在某些此類實施例中，該雙環糖部分係呈 α 構型之 L 糖。在某些此類實施例中，該雙環糖部分係呈 β 構型之 L 糖。

【0296】 在某些實施例中，該雙環糖部分在 2' 碳原子與 4' 碳原子之間包含橋聯基團。包含雙環糖部分之核苷稱為雙環核苷或 BNA。在某些實施例中，雙環核苷包括(但不限於)如下所描繪之(A) α -L-亞甲基氧基(4'-CH₂-O-2') BNA；(B) β -D-亞甲基氧基(4'-CH₂-O-2') BNA；(C) 伸乙基氧基(4'-(CH₂)₂-O-2') BNA；(D) 胺基氧基(4'-CH₂-O-N(R)-2') BNA；(E) 氧基胺基(4'-CH₂-N(R)-O-2') BNA；(F) 甲基(亞甲基氧基) (4'-CH(CH₃)-O-2') BNA(亦稱為約束之乙基或 cEt)；(G) 亞甲基硫代(4'-CH₂-S-2') BNA；(H) 亞甲基-胺基(4'-CH₂-N(R)-2') BNA；(I) 甲基碳環(4'-CH₂-CH(CH₃)-2') BNA；(J) c-MOE (4'-CH₂-OMe-2') BNA 以及(K) 伸丙基碳環(4'-(CH₂)₃-2') BNA。



其中 Bx 係核鹼基部分，並且 R 獨立地係 H、保護基團或 C₁-C₁₂ 烷基。

【0297】 在某些實施例中，2'-修飾之核苷包含選自以下之 2'-取代基：F、OCF₃、O-CH₃、OCH₂CH₂OCH₃、2'-O(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(CH₃)₂、-O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ 及 O-CH₂-C(=O)-N(H)CH₃。

【0298】 在某些實施例中，2'-修飾之核苷包含選自 F、O-CH₃ 及 OCH₂CH₂OCH₃ 之 2'-取代基。

【0299】 在某些實施例中，經修飾寡核苷酸包含一或多種核苷間修飾。在某些該等實施例中，經修飾寡核苷酸之每個核苷間鍵聯係經修飾之核苷間鍵聯。在某些實施例中，經修飾之核苷間鍵聯包含磷原子。

【0300】 在某些實施例中，經修飾寡核苷酸包含至少一個硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在某些實施例中，經修飾寡核苷酸之每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【0301】 在某些實施例中，經修飾寡核苷酸包含一或多個經修飾之核鹼基。在某些實施例中，經修飾之核鹼基係選自 7-去氫雜鳥嘌呤、7-去氫雜腺嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、2-氨基吡啶及 2-吡啶酮。在某些實施例中，經修飾之核鹼基係選自 5-取代之嘧啶、6-氫雜嘧啶及 N-2、N-6 及 O-6 取代之嘌呤，包括 2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶及 5-丙炔基胞嘧啶。

某些合成方法

【0302】 可以使用本領域中已知之自動化固相合成方法來製得經修飾之寡核苷酸。在固相合成過程中，亞磷醯胺單體依次與共價連接至固體載體上之核苷偶聯。此核苷係該經修飾之寡核苷酸之 3' 末端核苷。典型地，該偶聯循環包括四步：脫三苯甲基(用酸去除 5'-羥基保護基團)、偶聯(將活化之亞磷醯胺連接至載體結合之核苷或寡核苷酸)、氧化或硫化(用氧化劑或硫化劑轉化新形成之亞磷酸三酯)，並且加帽(乙醯化未反應之 5'-羥基)。在最後之偶聯循環之後，使該固

體載體結合之寡核苷酸經受脫三苯甲基步驟，接著係裂解及去保護步驟，該裂解及去保護步驟同時使寡核苷酸從固體載體上釋放並且使保護基團從鹼基上去除。藉由過濾去除固體載體，濃縮濾液並且測試所得到之溶液之特性及純度。然後例如使用填充有陰離子交換樹脂之柱來純化寡核苷酸。

【0303】 可以使用與產生未結合之寡核苷酸之固相合成類似之自動固相合成來製得 GalNAc 結合之經修飾之寡核苷酸。在合成 GalNAc 結合之寡核苷酸過程中，該等亞磷醯胺單體依次與共價連接至固體載體上之 GalNAc 結合物偶聯。GalNAc 結合物及 GalNAc 結合物固體載體之合成例如在美國專利號 8,106,022 及國際申請公開號 WO 2013/033230 中闡述，為了闡述含碳水化合物之結合物(包括包含一或多個 GalNAc 部分之結合物)之合成及共價連接至固體載體上之結合物之合成，該等參考文件中之每一者之全文以引用方式併入本文中。

某些醫藥組合物

【0304】 本文提供醫藥組合物，其包含本文所提供之化合物及醫藥學上可接受之稀釋劑。在某些實施例中，醫藥學上可接受之稀釋劑係水溶液。在某些實施例中，水溶液係鹽水溶液。如本文所使用，醫藥學上可接受之稀釋劑應理解為無菌稀釋劑。合適之投與途徑包括(但不限於)靜脈內及皮下投與。

【0305】 在某些實施例中，醫藥組合物係本文所提供之化合物，其係在合適之稀釋劑中製備，在製備期間用酸或鹼調節至 pH 7.0-9.0，然後在無菌條件下凍乾。凍乾之經修飾寡核苷酸隨後用合適之稀釋劑(例如水溶液，如水)或生理相容之緩衝液(例如鹽水溶液、漢克氏溶液(Hanks's solution)或林格氏溶液(Ringer's solution))復原。復原產品以皮下注射或靜脈輸注之形式投與。凍乾之藥品可以包裝在 2 mL 之 I 型透明玻璃瓶(經硫酸銨處理)中，用溴丁基橡膠封口塞住，並用鋁頂封密封。

【0306】 在某些實施例中，醫藥組合物係以劑量單位(例如錠劑、膠囊、濃注

等)之形式投與。在一些實施例中，醫藥組合物包含劑量在選自以下之範圍內之本文所提供之化合物：25 mg 至 250 mg。在某些實施例中，該等醫藥組合物包含以選自以下之劑量存在之本文所提供之化合物：25 mg、30 mg、35 mg、40 mg、45 mg、50 mg、55 mg、60 mg、65 mg、70 mg、75 mg、80 mg、85 mg、90 mg、95 mg、100 mg、105 mg、110 mg、115 mg、120 mg、125 mg、130 mg、135 mg、140 mg、145 mg、150 mg、155 mg、160 mg、165 mg、170 mg、175 mg、180 mg、185 mg、190 mg、195 mg、200 mg、205 mg、210 mg、215 mg、220 mg、225 mg、230 mg、235 mg、240 mg、245 mg 或 250 mg。

【0307】 醫藥組合物亦可含有合適之穩定劑或試劑，其增加藥劑之溶解度以允許製備高濃度溶液。

【0308】 在某些實施例中，本文提供之醫藥組合物可以另外含有通常存在於醫藥組合物中之其他輔助組分，其使用量為業內確定之量。因此，例如，組合物可以含有額外相容之藥物活性物質，例如止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或抗發炎劑。

某些 miR-122 套組

【0309】 本發明亦提供了套組。在一些實施例中，套組包含本文提供之一或多種化合物。在一些實施例中，本文提供之化合物存在於小瓶內。在例如分配包裝中可以存在多個小瓶，如 10 個。在一些實施例中，小瓶製造成注射器可接近。套組亦可以包含本文提供之該等化合物之使用說明書。

【0310】 在一些實施例中，該等套組可以用於向個體投與本文提供之化合物。在此類情況下，除了包含本文提供之至少一種化合物以外，該套組可以進一步包括以下中之一或多個：注射器、酒精棉簽、棉球及/或紗布墊。在一些實施例中，與 miR-122 互補之該等化合物可以存在於預填充注射器(如具有例如帶針保護器之 27 號、½ 英吋針頭之單劑量注射器)中，而非小瓶中。在例如分配包

裝中可以存在多個預填充注射器，如 10 個。套組還可以包含本文提供之化合物之投與說明書。

某些實驗模型

【0311】 在某些實施例中，本發明提供了在實驗模型中使用及/或測試本文提供之化合物之方法。熟習該項技術者能夠選擇及修改用於該等實驗模型之方案以評估本文提供之化合物。

【0312】 在投與抗 miR 化合物之後反義抑制微小 RNA 之作用可以藉由本領域已知之各種方法來評價。在某些實施例中，該等方法用來定量活體外或活體內細胞或組織中之微小 RNA 含量。在某些實施例中，藉由微陣列分析來量測微小 RNA 含量之變化。在某些實施例中，藉由若干商業上可獲得之 PCR 測定之一如 TaqMan® 微小 RNA 測定(Applied Biosystems，一個生命科技品牌)來量測微小 RNA 含量之變化。

【0313】 可以使用螢光素酶細胞培養測定來評價抗 miR 化合物之活體外活性。在這個測定中，微小 RNA 螢光素酶感測器構建體被工程改造成包含融合至螢光素酶基因之相關微小 RNA 之一或多個結合位點。當微小 RNA 結合該螢光素酶感測器構建體中其同源位點時，螢光素酶表現被壓製。當將適當之抗 miR 引入到細胞中時，其結合靶微小 RNA 並且解除螢光素酶表現之壓製。因此，在這個測定中，作為相關微小 RNA 之有效抑制劑之抗 miR 將引起螢光素酶表現增加。

【0314】 可以藉由量測微小 RNA 之靶標之 mRNA 及/或蛋白質含量來評價抗 miR 化合物之活性。微小 RNA 結合一或多個靶 RNA 內之互補位點，導致靶 RNA 被壓製，因此抑制微小 RNA 引起該微小 RNA 之靶標之 mRNA 及/或蛋白質之含量增加(即，去阻遏)。可以在活體內或活體外量測一或多個靶 RNA 之去阻遏。例如，miR-122 之靶標係醛縮酶 A (ALDOA)。抑制 miR-122 引起 ALDOA mRNA

之含量增加，因此 ALDOA mRNA 含量可以用來評估抗 miR-122 化合物之抑制活性。

【0315】 可以在 HCV 複製子測定中量測抗 miR-122 化合物對 HCV 複製之作用。在這個測定中，化合物被引入到細胞系(例如，人肝細胞癌細胞系)中，該細胞系包含具有穩定之螢光素酶報導體及三個細胞培養適應突變(luc-ubi-neo/ET)之 HCV 之亞基因組複製子。該螢光素酶報導體用作 HCV 複製之間接指標。所使用之複製子可以係親本 HCV 基因型或具有賦予抗病毒劑抗性之突變之 HCV 基因型。可以單獨地或與用於治療 HCV 感染之其他藥劑組合來評估抗 miR-122 化合物。在一些實施例中，可以在活體內或活體外測定中測試經修飾之寡核苷酸，並且隨後結合以形成用於本文闡述之該等方法中使用之化合物。

實例

【0316】 提出以下實例以便更完全地說明本發明之一些實施例。然而，該等實例決不應當解釋為對本發明寬泛範圍之限制。

【0317】 熟習該項技術者將易於在不背離本發明精神情況下，採用本發現之基本原理來設計各種化合物。

實例 1：用於治療 HCV 感染之抗 miR-122 化合物

【0318】 miR-122 係在肝臟中大量特異性表現之微小 RNA，其係 C 型肝炎病毒累積之關鍵宿主因子(Jopling 等人，*Science*. 2005, 309(5740), 1577-81)。miR-122 藉由結合 HCV 基因組之 5'非編碼區之兩個緊密間隔之種子序列位點與 HCV 相互作用，導致 HCV 基因組穩定，支持複製及轉譯(Jangra 等人，*J Virol.*, 2010, 84: 6615-6625；Machlin 等人，2011)。RG-101 係靶向 miR-122 之 GalNAc 結合之經修飾寡核苷酸。

【0319】 在已完成之 I 期人類概念驗證研究中，用單一皮下劑量之 RG-101 治療作為單一療法導致所有經治療之 HCV 感染個體之病毒載量顯著且持續降低，

包括難以治療基因型、各種肝纖維化狀態之個體以及在先前含 IFN 方案後經歷病毒復發之個體。

【0320】 在已完成之評估 RG-101 與多種經批准之直接作用型抗病毒藥物 (DAA) 組合之 II 期研究中，個體在第 1 天接受了 2 mg/kg 之 RG-101 之單次皮下注射，隨後係 28 天之每日一次口服 DAA (Harvoni®、Olysio® 或 Daklinza™)，然後在第 29 天額外皮下注射 2 mg/kg 之 RG-101。病毒反應定義為使用實時 HCV 分析 (Abbott)，HCV RNA 病毒載量低於定量下限 (LLOQ)，且 LLOQ = 12 IU/mL。具有病毒反應之個體之數量及百分比如表 1 所示。值得注意的是，RG-101 + Harvoni 組之所有個體在 48 週之隨訪期內皆經歷了顯著且持續之病毒載量下降。在 RG-101 + Olysio 組及 RG-101 + Daklinza 組中，分別有 6 名及 4 名個體復發。在 RG-101 + Olysio 組中，一名個體撤回同意，因此不包括在第 48 週之時間點內。

表 1：用 RG-101 + DAA 治療後之病毒反應

隨訪時間	RG-101 + Harvoni	RG-101 + Olysio	RG-101 + Daklinza
第 12 週	27/27 (100%)	26/27 (96.3%)	22/25 (88.0%)
第 24 週	27/27 (100%)	23/27 (85.2%)	22/25 (88.0%)
第 48 週	27/27 (100%)	20/27 (76.9%)	21/25 (84.0%)

【0321】 在 2 期研究中，200 名個體中有 10 名出現短暫之高膽紅素血症，其特徵在於結合之膽紅素及總膽紅素增加，超過正常上限 (ULN)。美國食品及藥品管理局將用於治療慢性 HCV 感染之 RG-101 之 IND 擱置在臨床上。

【0322】 為了鑑定高膽紅素血症之潛在機制，進行了文獻檢索，並對 RG-101 研究之臨床前數據進行了澈底之重新分析。文獻檢索顯示，在 miR-122 與膽紅素代謝路徑之間或在作為一類藥物之寡核苷酸與膽紅素代謝路徑之間，沒有先前報導之關聯。在對小鼠、大鼠及猴子進行之大量研究中，在劑量明顯高於測試之臨床劑量下，沒有鑑定出膽紅素增加之病例。此外，在前 IND 期，測試 RG-101 及其活性代謝物與細胞色素 P450 酶以及攝取及流出轉運體相互作用之能力。正

如寡核苷酸所預期，兩種化合物皆不能與該等酶及轉運體顯著相互作用。

【0323】 假設干擾肝臟中膽紅素轉運體會導致高膽紅素血症。肝臟中有幾種轉運體參與膽紅素在肝細胞與膽汁之間之轉運。一種該轉運體，多藥物抗性相關蛋白 2 (MRP2)，由 ABCC2 基因編碼，在肝細胞頂側、近端腎小管細胞頂膜及腸腔(腸細胞)上表現。MRP2 轉運體參與有機陰離子如結合膽紅素之釋放。已知之 MRP2 轉運體抑制劑包括丙磺舒(probenecid)、呋塞米(furosemide)、利托那韋、阿巴卡韋、環孢菌素 A (cyclosporin A)及泰諾福韋。然而，如上所述，寡核苷酸先前沒有報導為 MRP2 之抑制劑。

【0324】 導致高膽紅素血症之另一個因素可能係 HCV 感染個體中 MRP2 之表現量。與未感染之個體相比，HCV 感染個體中之 MRP2 表現減少了約 70%(J Hepatol. 2001 年 12 月;35(6):765-73)。因此，HCV 感染個體可能更容易受到抑制 MRP2 轉運體活性之化合物之影響，此乃因該等個體中 MRP2 之含量已經降低。此外，MRP2 在人類中之表現低於嚙齒類動物及非人靈長類動物，此可能解釋了在臨床前或 IND 使能研究中沒有觀察到高膽紅素血症之原因。

【0325】 為了測試 RG-101 干擾 MRP2 轉運體活性之假設，按照本領域已知之方法進行活體外分析(例如，參見 Vermeer 等人，Drug Metab. Dispos., 2016, 44(3):453-9)。在此分析中，表現外排轉運體之囊泡用於評估藥物是否係轉運體之受質或抑制劑。由內向外之膜泡係由用單個外排轉運體瞬時轉染之昆蟲細胞製備，在此情況下係 MRP2。由於囊泡處於從內向外之方向，MRP2 轉運體以 ATP 依賴之方式將放射性標記之受質[3H]-雌二醇-17 β -葡萄糖醛酸苷泵入囊泡中，並量測囊泡內放射性標記之受質之累積。若化合物係 MRP2 轉運抑制劑，則相對於對照樣品，放射性標記之受質之累積將減少。化合物之抑制效應藉由測定 IC₅₀ 來評估，該濃度導致對轉運體介導之放射性標記受質攝取之 50%抑制。

【0326】 對 RG-101 進行活體外 MRP2 分析。RG-101 與 RG1649 (RG-101 之

未結合抗 miR)均在 0、0.1、0.3、1、3、10、30 及 100 uM 之濃度下測試。RG-101 及 RG1649 之 IC50 計算值分別為 5.98 uM 及 2.21 uM。因此，RG-101 在此分析中抑制 MRP2 轉運體。進行了額外研究，證實 RG-101 與 RG1649 在本分析中皆抑制 MRP2 轉運體(RG-101 IC50 之範圍為 5 至 62 uM；RG1649 IC50 之範圍為 2 至 11 uM)。

【0327】 儘管部分基於 MRP2 分析數據，不能明確排除其他 HCV 感染個體特异性影響因素，但據信包括 RG-101 抑制結合膽紅素轉運、HCV 感染個體基線膽紅素轉運受損及肝細胞優先攝取 RG-101 (由於 GalNAc 結合部分)在內之因素組合可能導致觀察到之高膽紅素血症。有鑒於此，對靶向 miR-122 之替代化合物進行了篩選，該等化合物保持了強效 HCV 抗病毒活性，但不顯著干擾 MRP2 轉運體對膽紅素之轉運。

實例 2：缺乏顯著 MRP2 抑制之強效抗 miR-122 化合物之活體外篩選

【0328】 選擇抗 miR-122 化合物進行測試，以評估 HCV 感染小鼠模型中 HCV 複製子抑制、MRP2 轉運體抑制、活體外及活體內安全性、活體內藥效及活體內功效。該等化合物在長度、核苷糖修飾及核苷間鍵聯修飾方面各不相同。此外，亦測試了未結合化合物及 GalNAc 結合之化合物。

HCV 複製子研究

【0329】 將 HCV 複製子分析用於測定抗 miR-122 化合物抑制 HCV 基因型 1b 複製之能力。在此分析中，將測試化合物引入用含有螢光素酶報告基因之 HCV GT1b 複製子穩定轉染之 Huh7 細胞中。螢光素酶報告子用作 HCV 複製之間接量測。儘管預期 GalNAc 結合之化合物對於 HCV 感染之治療係較佳的，但由於增強了對肝細胞之遞送，故測試了一些未結合之化合物。

【0330】 選定之化合物在 0.015 uM 至 100 uM 之九種濃度下進行測試。納入 GS-7977 (索非不韋)作為陽性對照。將細胞以每孔 8,000 個細胞之密度平鋪至 96

孔板中。向細胞中添加化合物並保持 72 小時之時段。用 Bright-Glo 試劑檢測上清液中之發光信號，並用於計算每種化合物之抗病毒活性。將 CellTiter-Fluor 試劑用於評價細胞活力。計算 EC₅₀ (觀察到 50%抑制之濃度)。

【0331】 複製子分析中測試之某些抗 miR-122 化合物及其計算之 EC₅₀ 值如表 2 所示。核苷後面沒有下標表示 β-D-去氧核糖核苷；核苷後跟下標「E」表示 2'-MOE 核苷；核苷後跟下標「S」表示 S-cEt 核苷。磷酸二酯鍵用「PO」表示；所有其他鍵聯皆係硫代磷酸酯。「Me」表示核苷鹼基上之 5-甲基。

【0332】 如表 2 所示，長度、核苷糖修飾及/或核苷間鍵聯之變化導致病毒抑制之差異。例如，相對於 RG2634，RG3054 在 5'端含有一個額外之核苷，然而 RG3054 之效力遠不如 RG2634。RG6371 及 RG6370 僅在磷酸二酯及硫代磷酸酯核苷間鍵聯之數量上不同，但顯示出不同之功效。在 GalNAc 結合之化合物中，RG6650 及 RG2634 在此分析中係最強效的。儘管 RG6234 及 RG497998 作為未結合之化合物在活體外分析中係強效的，但預計活體內功效不適合用作治療劑。

【0333】 某些化合物在多次實驗中進行了測試。RG-101 之 EC₅₀ 範圍為 1.994 至 10.68 uM。RG2634 之 EC₅₀ 範圍為 13.93 至 31.1 uM。RG6650 之 EC₅₀ 範圍為 7.716 至 11.3 uM。RG497998 之 EC₅₀ 範圍為 7.708 至 10.87 uM。

表 2：HCV 複製子分析中之抗 miR-122 化合物

化合物	經修飾寡核苷酸	X ₂	N	X ₁	結合物	EC ₅₀ uM 1 號實驗	EC ₅₀ uM 2 號實驗
RG-101	A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E C ^{Me} _E C ^{Me} _E A _E T _E TGUS ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ (SEQ ID NO: 2)	PO	A	PO	GalNAc(3)	2.079	5.007
RG1649	A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E C ^{Me} _E C ^{Me} _E A _E T _E TGUS ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ (SEQ ID NO: 2)					0.7196	
RG6650	U ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)		11.30
RG2634	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	22.47	
RG3054	U ₅ C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	>100	
RG6370	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅ A ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	60.92	
RG6371	C ₅ A ₅ C ₅ ^{PO} A ₅ ^{PO} C ₅ ^{PO} U ₅ ^{PO} C ₅ C ₅ A ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	34.11	
RG6372	U ₅ C ₅ A ₅ ^{PO} C ₅ ^{PO} A ₅ ^{PO} C ₅ ^{PO} U ₅ C ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	>100	

RG6234	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅ A ₅	無	17.42	
RG497998	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅	無	7.708	
GS-7977		不適用	0.149	0.098

【0334】 對基於 HCV 複製子分析之功效及結構多樣性選擇之抗 miR-122 化合物進行 MRP2 分析。如表 3 所示，RG-101 及 RG1649 在此分析中抑制 MRP2 轉運體活性。RG6650、RG2634、RG3054、RG6370、RG6234 及 RG497998 各自顯示出大於 100 uM 之 IC₅₀，表明該等化合物在此分析中不顯著干擾 MRP2 轉運體活性。

【0335】 對於某些化合物，檢測進行了多次。RG1649 IC₅₀ 之範圍為 2 至 11 uM，且 RG-101 IC₅₀ 之範圍為 5 至 62。每次測試該化合物時，RG6650 大於 100 uM。

表 3：MRP2 轉運體分析中之抗 miR-122 化合物

化合物	經修飾寡核苷酸	X ₂	N	X ₁	結合物	IC ₅₀ uM 1 號實驗	IC ₅₀ uM 2 號實驗
RG-101	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E T _E TGUS ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ (SEQ ID NO: 2)	PO	A	PO	GalNAc(3)	5.98	
RG1649	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E T _E TGUS ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ (SEQ ID NO: 2)					2.21	
RG6650	U ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	>100	
RG2634	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)		>100
RG3054	U ₅ C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)		>100
RG6370	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅ A ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)		>100
RG6371	C ₅ A ₅ C ₅ ^{PO} A ₅ ^{PO} C ₅ ^{PO} U ₅ ^{PO} C ₅ C ₅ A ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	ND	ND
RG6372	U ₅ C ₅ A ₅ ^{PO} C ₅ ^{PO} A ₅ ^{PO} C ₅ ^{PO} U ₅ C ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	ND	ND
RG6234	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅ A ₅				無		>100
RG497998	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅				無		>100
GS-7977					不適用	ND	ND

實例 3：缺乏 MRP2 抑制之強效抗 miR-122 化合物之活體內篩選

【0336】 進一步測試在複製子分析中抑制 HCV 複製、而在活體外轉運體分析中不抑制 MRP2 之化合物的活體內功效及安全性。

功效

【0337】 為了確定活體內功效，評估化合物去阻遏肝臟醛縮酶 A (ALDOA) 之表現之能力，肝臟醛縮酶 A 係通常由 miR-122 活性抑制之基因。miR-122 之抑

制導致 ALDOA 表現增加，因此 ALDOA mRNA 含量可用於量測活體內 miR-122 之抑制活性。

【0338】 在此分析中僅測試了 GalNAc 結合之化合物。化合物係以化合物之抗 miR 部分之莫耳當量投與。RG-101 之單次皮下劑量係以範圍為 0.004 至 1.116 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 之劑量投與。其他化合物係以範圍為 0.006 至 1.942 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 之劑量以單次皮下劑量投與。7 天後，終止研究。收集肝組織用於量測 ALDOA mRNA 及藥物含量。收集腎組織用於量測藥物含量。收集血液用於量測膽固醇。

【0339】 藉由定量 PCR 量測從肝臟中分離之 RNA 中之 ALDOA mRNA 含量。使用 ALDOA mRNA 相對於鹽水之倍數變化來計算每種化合物之 ED50 ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) (「ND」表示「未測定」)，如表 4 所示。

【0340】 除了 RG6370 (及 RG3054，結果不可解釋)之外，對於 ALDOA 去阻遏(表 4)，此分析中測試之每種化合物皆顯示出與 RG-101 相似之 ED50。對於膽固醇降低(表 5)，每種測試之化合物皆顯示出類似於或優於 RG-101 之 ED50。

表 4：ALDOA 去阻遏

化合物	經修飾寡核苷酸	X ₂	N	X ₁	結合物	ED50 1 號實驗	ED50 2 號實驗
RG-101	A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E C ^{Me} _E T _E TGUS _C AC _S AC _S TC _S C _S (SEQ ID NO: 2)	PO	A	PO	GalNAc(3)	0.041	0.122
RG6650	U _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	PO	A	PO	GalNAc(3)		0.091
RG2634	C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	0.029	
RG3054	U _S C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	*	
RG6370	C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S A _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	6.51	
RG6371	C _S A _S C _S ^{PO} _{As} ^{PO} _{Cs} ^{PO} _{Us} ^{PO} _{Cs} C _S A _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	0.086	
RG6372	U _S C _S A _S ^{PO} _{Cs} ^{PO} _{As} ^{PO} _{Cs} ^{PO} _{Us} C _S C _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	0.028	

*結果不可解釋

表 5：膽固醇降低

化合物	經修飾寡核苷酸	X ₂	N	X ₁	結合物	ED50 1 號實驗	ED50 2 號實驗
RG-101	A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E C ^{Me} _E T _E TGUS _C AC _S AC _S TC _S C _S (SEQ ID NO: 2)	PO	A	PO	GalNAc(3)	1.104	0.079
RG6650	U _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	PO	A	PO	GalNAc(3)		0.025
RG2634	C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	0.011	
RG3054	U _S C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	.08152	
RG6370	C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S A _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	0.0007	
RG6371	C _S A _S C _S ^{PO} _{As} ^{PO} _{Cs} ^{PO} _{Us} ^{PO} _{Cs} C _S A _S	PO	A	PO	GalNAc(3)	1.116	

RG6372	U ₅ C ₅ A ₅ ^{PO} C ₅ ^{PO} A ₅ ^{PO} C ₅ ^{PO} U ₅ C ₅ C ₅	PO	A	PO	GalNAc(3)	0.8088	
--------	--	----	---	----	-----------	--------	--

安全性

【0341】 亦測試符合活體內功效標準之化合物之安全性。藉由量測干擾素誘導基因 IFIT 在肝臟中之表現來評價化合物觸發促發炎反應之能力。此外，亦量測了投與化合物後之 ALT 含量。化合物 RG6370 及 RG3054 增加了 IFIT 之表現，表明潛在之促發炎反應。

【0342】 基於該等 HCV 複製子分析、MRP2 分析以及活體內功效及安全性研究，兩種化合物 RG6650 及 RG2634 符合為選擇適當強效且安全之化合物而建立之標準。

作用之開始

【0343】 為了確定 RG6650 及 RG2634 是否可以藉由作用之開始來區分，用範圍為 0.014 至 1.117 umol/kg 劑量之化合物治療各組小鼠。投與後 1、3、7 或 14 天，從 4 至 5 隻小鼠組中收集肝組織。分離 RNA 並量測 ALDOA mRNA。據觀察，相對於 RG2634，RG6650 在較低劑量及較早時間點表現出對 ALDOA mRNA 之增強之去阻遏作用，表明藉由 ALDOA mRNA 去阻遏作用量測，其作用開始得更快速。

實例 4：因應 miR-122 抑制之 HCV RNA 含量降低

【0344】 由於宿主-病原體之特異性，HCV 僅能感染人類及黑猩猩。因此，通常用於活體內實驗研究之較小物種(如小鼠)不能感染 HCV，用於測試治療 HCV 感染之候選試劑。為了解決此問題，可以使用人肝嵌合小鼠模型(例如，參見 Bissig 等人，*Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104:20507-20511；Bissig 等人，*J Clin Invest.*, 2010, 120: 924-930)。在此模型中，用人肝細胞重新填充免疫缺陷小鼠之肝臟，產生嵌合肝臟，其中大多數肝細胞係人肝細胞。然後用 HCV 感染小鼠並用抗 HCV 劑治療。此小鼠模型可購自例如 PhoenixBio。

HCV 感染之人嵌合肝小鼠之治療

【0345】 在 HCV 感染之人嵌合肝小鼠模型中測試了抗 miR-122 化合物。用人肝細胞重新填充免疫缺陷小鼠之肝臟，產生嵌合肝臟，其中大多數肝細胞係人肝細胞。接種 HCV 基因型 1a 6 週後，獲得了研究中包括之每隻動物之基線病毒效價。

【0346】 用 45 mg/kg 劑量之 PBS、RG-101 或 60 mg/kg 劑量之 RG6650 治療每組四隻動物。在第 3、7、10、14、21、28、35、42 及 49 天收集血液。在第 49 天終止研究。

【0347】 如圖 1 所示，用 RG-101 與 RG6650 治療導致病毒效價顯著降低，如根據血清 HCV RNA 所量測。RG6650 治療導致 HCV 感染動物中之血清 HCV RNA 減少 2 個 log 以上。

【0348】 該等結果表明，在單次投與 GalNAc 結合之經修飾寡核苷酸 RG6650 後，HCV 感染動物之 HCV 病毒效價顯著降低，作用時間提前且持續。

【0349】 如本文所述，RG6650 係 HCV 複製之強效抑制劑，且重要的是在活體外基本上不干擾 MRP2 轉運體活性。因此，RG6650 已鑑定為治療 HCV 感染之候選治療劑。

口服投與後抗 miR-122 化合物之藥效學活性

【0350】 進行實驗以確定口服投與 RG6650 是否會導致肝臟中 miR-122 之藥效學調節。亦測試了 RG7443，RG6650 之未結合抗 miR。儘管未結合之抗 miR-122 在 HCV 治療中抑制 miR-122 之效果不如 GalNAc 結合之有效，但將其納入口服投與研究進行比較。

【0351】 用 RG6650 或 RG7443 治療每組 5 隻小鼠，如表 6 及 7 所示，其中「s.c.」表示皮下投與，且「p.o.」表示口服投與。抗 miR 化合物在 PBS 中遞送用於皮下投與。在 PBS 溶液中製備口服投與之抗 miR 化合物，並將 0.3 M 碳酸氫鈉(BC)

添加至 9.5 之 pH。口服給藥時，先使動物禁食 12 小時。對於所有治療組，向小鼠投與單劑量且在四天後處死。收集肝組織進行藥效學及藥物代謝動力學分析。自肝臟及腎臟分離 RNA。量測肝臟中之 ALDOA 減少。

表 6：口服或 S.C.投與抗 miR 後之 PD 效應

組	化合物類型	治療	劑量 mg/kg	途徑	肝臟	
					PD Sig	Std Dev
1		PBS	0	s.c.	0.0000	0.1029
2	9 聚體 + GalNAc	RG6650 於 PBS 中	30	s.c.	1.704	0.3447
3	9 聚體	RG7443 於 PBS 中	30	s.c.	1.945	0.3543
5	9 聚體	BC	0	p.o.	0.0000	0.0941
6	9 聚體 + GalNAc	RG6650 於 BC 中	100	p.o.	1.84	0.3249
7	9 聚體	RG7443 於 BC 中	100	p.o.	0.3448	0.2453

表 7：口服或 S.C.投與後肝臟組織中之抗 miR 量

組	化合物類型	治療	劑量 mg/kg	途徑	肝臟	
					平均值 ug/g	Std Dev
1		PBS	0	s.c.		
2	9 聚體 + GalNAc	RG6650 於 PBS 中	30	s.c.	13.94	1.357
3	9 聚體	RG7443 於 PBS 中	30	s.c.	1.48	0.239
5	9 聚體	BC	0	p.o.		
6	9 聚體 + GalNAc	RG6650 於 BC 中	100	p.o.	0.54*	n.d.
7	9 聚體	RG7443 於 BC 中	100	p.o.	< 0.4	

【0352】 對於肝臟中之 RG6650 (*), 除一隻動物外，所有動物之結果皆係不可量化的，因此只報告了一隻動物之數據。

【0353】 皮下投與未結合及 GalNAc 結合之抗 miR-122 化合物導致肝臟中 ALDOA 之去阻遏。儘管口服投與未結合之抗 miR-122 化合物 RG7443 在肝臟中沒有產生顯著之 PD 效應，但口服投與 GalNAc 結合之化合物 RG6650 產生與皮下投與後觀察到之 PD 效應相當之 PD 效應。該等數據表明，在口服及皮下投與後，GalNAc 結合之抗 miR-122 化合物 RG6650 係 miR-122 之有效抑制劑。

原代人類肝細胞中抗 miR-122 化合物之自由攝取

【0354】 為了進一步比較 RG-101、RG6650 及 RG7443 之活性，用每種化合

物處理原代人類肝細胞(PPH)。由於平鋪後 PPH 之 ASGPR 表現下調，使用 CCL-163 飼養細胞及 CellAble 板(Toyo Gosei Co., Japan)形成 3D PPH 球狀體。在飼養細胞上平鋪 4 天後，用以下劑量之抗 miR 處理 PPH：0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM、10 nM 或 100 nM。用 PBS 處理對照組。三天後，收穫細胞，分離 RNA，並藉由 RT-PCR 量測 ALDOA 含量。計算每種化合物之 EC50。RG-101、RG660 及 RG7443 之 EC50 分別為 6.0 nM、2.07 nM 及 1.91 M。GalNAc 結合之 9 聚體之活性與 RG-101 之活性相當，此表明 HCV 效價在臨床上有效降低。此外，GalNAc 結合物顯著增強了 9 聚體抗 miR-122 之活性，如 EC50 降低了約 1000 倍所指示(RG6650 為 2.07 nM，RG7443 為 1.91 μM)。因此，在原代人類肝細胞中，GalNAc 結合之抗 miR-122 在較低劑量下明顯比未結合之抗 miR-122 更具活性。

【0355】 除了本文闡述之彼等修改之外，本發明之各種修改將因前述說明而對熟習該項技術者變得清楚。意欲此類修改亦處於所附申請專利範圍之範圍之內。本申請中引用之每個參考文件(包括但不限於雜誌文章、美國專利案及非美國專利案、專利申請公佈、國際專利申請公佈、GENBANK®保藏編號等)之全文以引用方式併入本文中。

【序列表】

<110> 美商雷格勒斯治療公司

<120> 用於調節 MIR-122 之微小 RNA 化合物及方法

<130>

<150> US 62/668, 467

<151> 2018-05-08

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> RNA

<213> 智人

<400> 1

uggaguguga caaugguguu ug

22

<210> 2

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> RNA

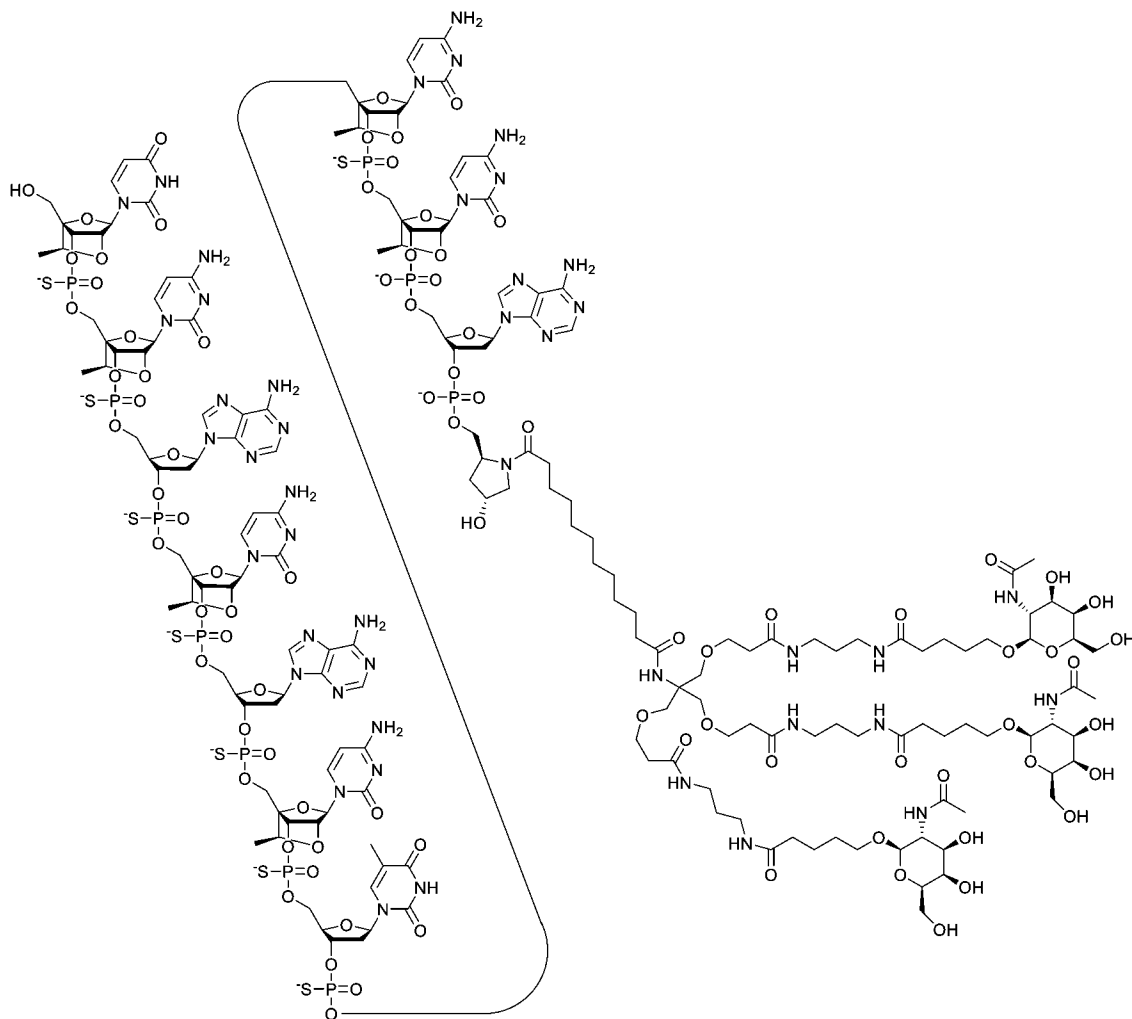
<400> 2

acaccattgu cacactcc

18

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種具有以下結構之化合物，



或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 2】 如請求項 1 之化合物，其係具有該結構之醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 3】 如請求項 2 之化合物，其係具有該結構之鈉鹽。

【請求項 4】 一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 至 3 中任一項之化合物及醫藥學上可接受之稀釋劑。

【請求項 5】 如請求項 4 之醫藥組合物，其中該醫藥學上可接受之稀釋劑係水溶液。

【請求項 6】 如請求項 5 之醫藥組合物，其中該水溶液係鹽水溶液。

【請求項 7】 一種包含如請求項 1 至 3 中任一項之化合物之醫藥組合物，其係

凍乾組合物。

【請求項 8】 一種醫藥組合物，其基本上由於鹽水溶液中之如請求項 1 至 3 中任一項之化合物組成。

【請求項 9】 一種於活體外抑制細胞中之 miR-122 活性之方法，其包括使細胞與如請求項 1 至 3 中任一項之化合物接觸。

【請求項 10】 一種如請求項 1 至 3 中任一項之化合物之用途，其用於製備抑制細胞中之 miR-122 活性之醫藥品。

【請求項 11】 一種如請求項 1 至 3 中任一項之化合物或如請求項 4 至 8 中任一項之醫藥組合物之用途，其用於製備治療 HCV 感染之醫藥品。

【請求項 12】 一種如請求項 1 至 3 中任一項之化合物或如請求項 4 至 8 中任一項之醫藥組合物之用途，其用於製備治療 C 型肝炎病毒(HCV)感染之醫藥品，其中該醫藥品進一步包含至少一種直接作用型抗病毒藥物(DAA)或該醫藥品與至少一種直接作用型抗病毒藥物組合投藥，及其中該治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在該治療期開始時投與該化合物或醫藥組合物之起始劑量且在該治療期結束時投與該化合物或醫藥組合物之終止劑量。

【請求項 13】 如請求項 12 之用途，其中該起始劑量及該終止劑量係在該治療期間投與之該化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【請求項 14】 一種如請求項 1 至 3 中任一項之化合物或如請求項 4 至 8 中任一項之醫藥組合物之用途，其用於製備治療 C 型肝炎病毒(HCV)感染之醫藥品，其中該醫藥品進一步包含至少一種直接作用型抗病毒藥物(DAA)或該醫藥品與至少一種直接作用型抗病毒藥物組合投藥，及其中該治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在該治療期開始時投與該化合物或醫藥組合物之起始劑量，且該起始劑量係在該治療期間投與之該化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【請求項 15】 一種如請求項 1 至 3 中任一項之化合物或如請求項 4 至 8 中任一項之醫藥組合物之用途，其用於製備治療 C 型肝炎病毒(HCV)感染之醫藥品，其中該醫藥品進一步包含至少一種直接作用型抗病毒藥物(DAA)或該醫藥品與至少一種直接作用型抗病毒藥物組合投藥，及其中該治療期之持續時間為 12 週或更短，且其中在該治療期結束時投與該化合物或醫藥組合物之終止劑量，且該終止劑量係在該治療期間投與之該化合物或醫藥組合物之唯一劑量。

【請求項 16】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 2 至 10 週、4 至 8 週、2 至 6 週或 1 至 4 週。

【請求項 17】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 11 週、10 週、9 週、8 週、7 週、6 週、5 週、4 週、3 週、2 週或 1 週。

【請求項 18】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 26、27、28、29 或 30 天。

【請求項 19】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 28 或 29 天。

【請求項 20】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 18、19、20、21 或 22 天。

【請求項 21】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 21 或 22 天。

【請求項 22】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 12、13、14、15 或 16 天。

【請求項 23】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 14 或 15 天。

【請求項 24】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為

6、7、8 或 9 天。

【請求項 25】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該治療期之持續時間為 7 或 8 天。

【請求項 26】 如請求項 12 至 14 中任一項之用途，其中該化合物或醫藥組合物之該起始劑量及該 DAA 之第一劑量彼此係在 7 天內投與。

【請求項 27】 如請求項 12 至 14 中任一項之用途，其中該化合物或醫藥組合物之該起始劑量係在該 DAA 之第一劑量之前一天投與。

【請求項 28】 如請求項 12 至 14 中任一項之用途，其中該化合物或醫藥組合物之該起始劑量係與該 DAA 之第一劑量同一天投與。

【請求項 29】 如請求項 12 至 14 中任一項之用途，其中該化合物或醫藥組合物之該起始劑量係在該 DAA 之第一劑量之後一天投與。

【請求項 30】 如請求項 12、13 及 15 中任一項之用途，其中該化合物或醫藥組合物之該終止劑量及該 DAA 之末次劑量彼此係在 7 天內投與。

【請求項 31】 如請求項 12、13 及 15 中任一項之用途，其中該化合物或醫藥組合物之該終止劑量係在該 DAA 之末次劑量之前一天投與。

【請求項 32】 如請求項 12、13 及 15 中任一項之用途，其中該化合物或醫藥組合物之該終止劑量係與該 DAA 之末次劑量同一天投與。

【請求項 33】 如請求項 12、13 及 15 中任一項之用途，其中該化合物或醫藥組合物之該終止劑量係在該 DAA 之末次劑量之後一天投與。

【請求項 34】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體感染基因型 1。

【請求項 35】 如請求項 34 之用途，其中該 HCV 感染個體感染基因型 1a。

【請求項 36】 如請求項 34 之用途，其中該 HCV 感染個體感染基因型 1b。

【請求項 37】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體感染

基因型 2。

【請求項 38】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體感染基因型 3。

【請求項 39】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體感染基因型 4。

【請求項 40】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體感染基因型 5。

【請求項 41】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體感染基因型 6。

【請求項 42】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體經測定感染了具有一或多種抗性相關多型性之 HCV。

【請求項 43】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體係未經治療之個體。

【請求項 44】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體患有 HCV 相關性疾病。

【請求項 45】 如請求項 44 之用途，其中該 HCV 相關性疾病係肝硬化、肝纖維化、脂肪性肝炎、脂肪變性或肝細胞癌。

【請求項 46】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體係患有腎損害之 HCV 感染個體。

【請求項 47】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該 HCV 感染個體係 HCV/HIV 共感染個體。

【請求項 48】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該投與達成持續病毒反應。

【請求項 49】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中在該治療期結束時或在

該治療期結束後之時間點，HCV RNA 含量低於定量下限(LLOQ)。

【請求項 50】 如請求項 49 之用途，其中在該治療期結束後 4 週時，該 HCV RNA 含量低於該 LLOQ。

【請求項 51】 如請求項 49 之用途，其中在該治療期結束後 8 週時，該 HCV RNA 含量低於該 LLOQ。

【請求項 52】 如請求項 49 之用途，其中在該治療期結束後 12 週時，該 HCV RNA 含量低於該 LLOQ。

【請求項 53】 如請求項 49 之用途，其中在該治療期結束後 24 週時，該 HCV RNA 含量低於該 LLOQ。

【請求項 54】 如請求項 49 之用途，其中在該治療期結束後 36 週時，該 HCV RNA 含量低於該 LLOQ。

【請求項 55】 如請求項 49 之用途，其中在該治療期結束後 48 週時，該 HCV RNA 含量低於該 LLOQ。

【請求項 56】 如請求項 49 之用途，其中該 LLOQ 為 25 IU/mL。

【請求項 57】 如請求項 49 之用途，其中該 LLOQ 為 15 IU/mL。

【請求項 58】 如請求項 49 之用途，其中該 LLOQ 為 12 IU/mL。

【請求項 59】 如請求項 49 之用途，其中該 HCV RNA 含量係使用基於實時聚合酶鏈式反應之分析來量化。

【請求項 60】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該 DAA 係每日投與。

【請求項 61】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該 DAA 係選自蛋白酶抑制劑、核苷聚合酶抑制劑、核苷酸聚合酶抑制劑、非核苷聚合酶抑制劑、NS3B 抑制劑、NS3/4A 抑制劑、NS4A 抑制劑、NS5A 抑制劑、NS5B 抑制劑及親環素抑制劑。

【請求項 62】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該 DAA 係選自以下中

之一或多者：索非不韋 (sofosbuvir)、雷迪帕韋 (ledipasvir)、奧比他韋 (ombitasvir)、達薩布韋 (dasabuvir)、格來普韋 (glecaprevir)、匹布他韋 (pibrentasvir)、依巴司韋 (elbasvir)、格拉瑞韋 (grazoprevir)、利巴韋林 (ribavirin)、奧比他韋、帕利瑞韋 (paritaprevir)、利托那韋 (ritonavir)、波普瑞韋 (boceprevir)、伐尼瑞韋 (vaniprevir)、阿舒瑞韋 (asunaprevir)、達卡他韋 (daclatasvir)、西咪匹韋 (simeprevir)、美利他濱 (mericitabine)、圖戈布韋 (tegobuvir)、丹諾瑞韋 (danoprevir)、沙普瑞韋 (sovaprevir)、伏西瑞韋 (voxilaprevir)、維帕他韋 (velpatasvir) 及 GSK2878175。

【請求項 63】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該至少一種 DAA 包含索非不韋。

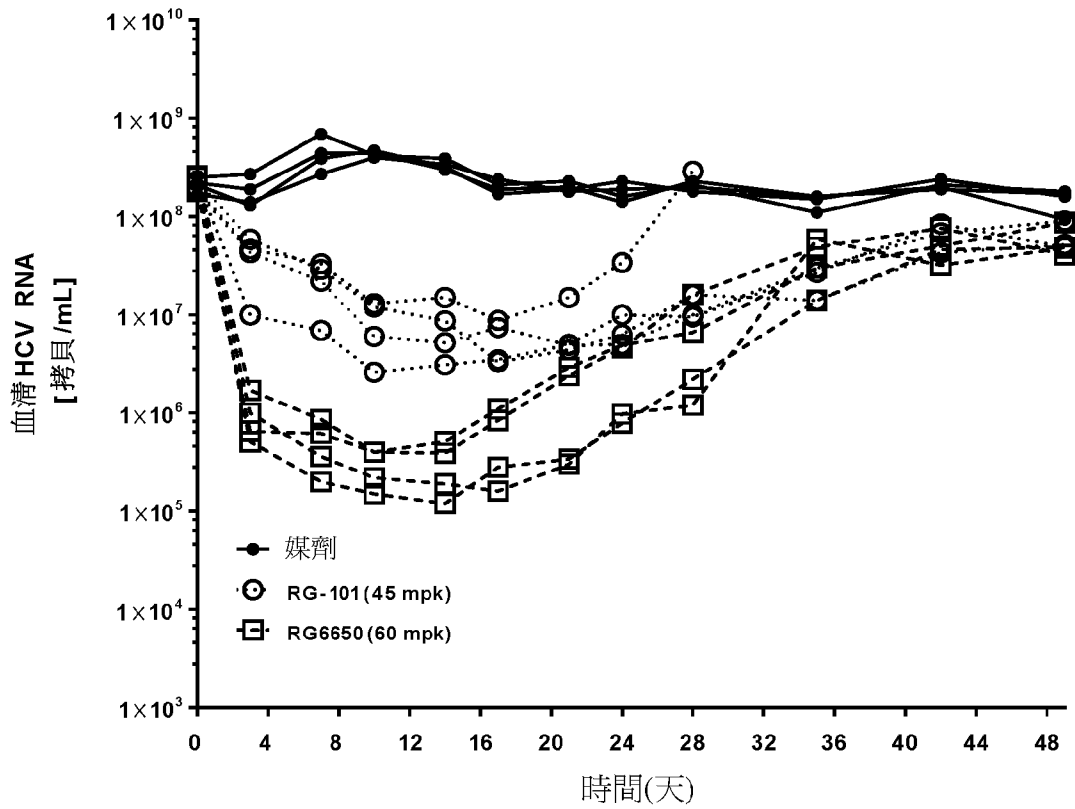
【請求項 64】 如請求項 12 至 15 中任一項之用途，其中該至少一種 DAA 包含雷迪帕韋及索非不韋。

【請求項 65】 如請求項 11 至 15 中任一項之用途，其中該化合物之劑量小於或等於 4.0 mg/kg、小於或等於 3.5 mg/kg、小於或等於 3.0 mg/kg、小於或等於 2.5 mg/kg、小於或等於 2.0 mg/kg、小於或等於 1.5 mg/kg、小於或等於 1.0 mg/kg，或小於或等於 0.5 mg/kg。

【請求項 66】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物或如請求項 4 至 8 中任一項之醫藥組合物，其用於療法中。

【請求項 67】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物或如請求項 4 至 8 中任一項之醫藥組合物，其用於治療 HCV 感染個體。

【發明圖式】



【圖 1】