

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2022-0115946**(43) 공개일자** 2022년08월19일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 C12N 15/113 (2010.01) A61K 31/713 (2006.01)
 A61P 9/12 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 C12N 15/113 (2013.01)
 A61K 31/713 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7019814</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2020년11월06일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2022년06월10일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2020/059265</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2021/096763
 국제공개일자 2021년05월20일</p> <p>(30) 우선권주장
 62/934,695 2019년11월13일 미국(US)
 63/017,854 2020년04월30일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 알닐람 파마슈티칼스 인코포레이티드
 미국 매사추세츠주 02142 캄브릿지 헨리 에이. 테르미어 스퀘어 웨스트 켄달 스트리트 675</p> <p>(72) 발명자
 포스터 도날드
 미국 매사추세츠 02142 캄브릿지 헨리 에이. 테르미어 스퀘어 웨스트 켄달 스트리트 675</p> <p>아가월 사거
 미국 매사추세츠 02142 캄브릿지 헨리 에이. 테르미어 스퀘어 웨스트 켄달 스트리트 675
 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
 장훈</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 97 항

(54) 발명의 명칭 안지오텐시노겐 (AGT) 관련 장애를 치료하기 위한 방법 및 조성물**(57) 요약**

본 발명은 대상체에서 AGT 유전자의 발현을 저해하는 방법 뿐만 아니라, 상기 AGT 유전자를 표적화하는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 사용하여 AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 갖는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 AGT 유전자의 발현을 저해하기 위해 이러한 RNAi 작용제를 사용하여 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61P 9/12 (2018.01)
C12N 2310/14 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/32 (2013.01)
C12N 2310/351 (2013.01)
C12N 2320/31 (2013.01)
C12N 2320/35 (2013.01)
C12N 2320/52 (2013.01)

(72) 발명자

황 스티븐 앨버트

미국 매사추세츠 02142 캄브릿지 헨리 에이. 테르
미어 스퀘어 웨스트 켄달 스트리트 675

김 재

미국 매사추세츠 02142 캄브릿지 헨리 에이. 테르
미어 스퀘어 웨스트 켄달 스트리트 675

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 안지오텐시노젠 (AGT) 유전자의 발현을 저해하는 방법으로서, 상기 방법이 약 50 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 상기 AGT 유전자의 발현을 저해하는 단계를 포함하고,

여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;

상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고;

상기 뉴클레오타이드 상의 변형 중 적어도 하나가 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형인, 방법.

청구항 2

안지오텐시노젠 (AGT) 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이 약 50 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체를 치료하는 단계를 포함하고,

여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;

상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고;

상기 뉴클레오타이드 상의 변형 중 적어도 하나가 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형인, 방법.

청구항 3

안지오텐시노젠 (AGT) 관련 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이 약 50 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 AGT 관련 장애를 갖는 대상체를 치료하는 단계를 포함하고,

여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;

상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고;

상기 뉴클레오타이드 상의 변형 중 적어도 하나가 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형인, 방법.

청구항 4

대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 방법으로서, 상기 방법이 약 50 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량의 이중 가

닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 단계를 포함하고,

여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;

상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고;

상기 뉴클레오타이드 상의 변형 중 적어도 하나가 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형인, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고정 용량이 월 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고정 용량이 6 개월 마다 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고정 용량이 6 개월 마다 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 50 mg 내지 약 200 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 200 mg 내지 약 400 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 400 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 100 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 200 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 300 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 400 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 500 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 600 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 700 또는 800 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 상기 대상체에게 피하로 또는 정맥내로 투여되는, 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 피하 투여가 피하 주사인, 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, 상기 정맥내 투여가 정맥내 주사인, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 21개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 22개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)를 포함하고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)를 포함하는, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)로 이루어지고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)로 이루어지는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드가 변형된 뉴클레오타이드인, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드가 변형된 뉴클레오타이드인, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드가 변형된 뉴클레오타이드인, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드가 변형된 뉴클레오타이드인, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 변형 중 적어도 하나가 데옥시-뉴클레오타이드, 3'-말단 데옥시-티민 (dT) 뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 변형 뉴클레오타이드, 2'-데옥시 변형 뉴클레오타이드, 잠금 뉴클레오타이드, 잠금 해제 뉴클레오타이드, 입체 형태적으로 제한된 뉴클레오타이드, 구속된 에틸 뉴클레오타이드, 무염기성 뉴클레오타이드, 2'-아미노 변형 뉴클레오타이드, 2'-O-알릴 변형 뉴클레오타이드, 2'-C-알킬 변형 뉴클레오타이드, 2'-하이드록시 변형 뉴클레오타이드, 2'-메톡시에틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-O-알킬 변형 뉴클레오타이드, 모르폴리노 뉴클레오타이드, 포스포르아미데이트, 비천연 염기를 포함하는 뉴클레오타이드, 테트라하이드로피란 변형 뉴클레오타이드, 1,5-안하이드로헥시톨 변형 뉴클레오타이드, 사이클로헥세닐 변형 뉴클레오타이드, 포스포티오에이트 기를 포함하는 뉴클레오타이드, 메틸포스포에이트 기를 포함하는 뉴클레오타이드, 5'-포스페이트를 포함하는 뉴클레오타이드, 5'-포스페이트 모방체를 포함하는 뉴클레오타이드, 열적 탈안정화 뉴클레오타이드, 글리콜 변형 뉴클레오타이드 (GNA) 및 2-O-(N-메틸아세트아미드) 변형 뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 변형 중 적어도 하나가 데옥시-뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 변형 뉴클레오타이드, 2'-데옥시 변형 뉴클레오타이드, 글리콜 변형 뉴클레오타이드 (GNA) 및 2-O-(N-메틸아세트아미드) 변형 뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 가닥 영역이 19~23개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 19~21개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 21~23개 뉴클레오타이드 쌍 길이 또는 21개 뉴클레오타이드 쌍 길이인, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 가닥이 독립적으로 19~23개 뉴클레오타이드 길이, 19~25개 뉴클레오타이드 길이 또는 21~23개 뉴클레오타이드 길이인, 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 센스 가닥이 21개 뉴클레오타이드 길이이고, 상기 안티센스 가닥이 23개 뉴클레오타이드 길이인, 방법.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 가닥이 적어도 1개의 뉴클레오타이드의 3' 오버행 또는 적어도 2개의 뉴클레오타이드의 3' 오버행을 포함하는, 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결이 하나의 가닥의 3'-말단에 존재하는, 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 가닥이 상기 안티센스 가닥인, 방법.

청구항 39

제37항에 있어서, 상기 가닥이 상기 센스 가닥인, 방법.

청구항 40

제36항에 있어서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결이 하나의 가닥의 5'-말단에 존재하는, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 가닥이 상기 안티센스 가닥인, 방법.

청구항 42

제40항에 있어서, 상기 가닥이 상기 센스 가닥인, 방법.

청구항 43

제36항에 있어서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결이 하나의 가닥의 5'-말단 및 3'-말단 모두에 존재하는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 가닥이 상기 안티센스 가닥인, 방법.

청구항 45

대상체에서 안지오텐시노젠 (AGT) 유전자의 발현을 저해하는 방법으로서, 상기 방법이 약 50 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 상기 AGT 유전자의 발현을 저해하는 단계를 포함하고,

여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;

a가 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c가 2'-O-메틸시티딘-3'-포스페이트이고, g가 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u가 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af가 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf가 2'-플루오로시티딘-3'-포스페이트이고, Gf가 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf가 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)이 티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s가 포스포로티오에이트 연결인, 방법.

청구항 46

약 50 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 AGT 발현의 감소로

부터 이익을 얻을 대상체에게 투여하여 상기 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체를 치료하는 방법으로서,

여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;

a가 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c가 2'-O-메틸시티딘-3'-포스페이트이고, g가 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u가 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af가 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf가 2'-플루오로시티딘-3'-포스페이트이고, Gf가 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf가 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)이 티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s가 포스포로티오에이트 연결인, 방법.

청구항 47

약 50 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 AGT 관련 장애를 갖는 대상체에게 투여하여 상기 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, AGT 관련 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서,

여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;

a가 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c가 2'-O-메틸시티딘-3'-포스페이트이고, g가 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u가 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af가 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf가 2'-플루오로시티딘-3'-포스페이트이고, Gf가 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf가 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)이 티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s가 포스포로티오에이트 연결인, 방법.

청구항 48

약 50 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 단계를 포함하는, 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 방법으로서,

여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;

a가 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c가 2'-O-메틸시티딘-3'-포스페이트이고, g가 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u가 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af가 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf가 2'-플루오로시티딘-3'-포스페이트이고, Gf가 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf가 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)이 티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s가 포스포로티오에이트 연결인, 방법.

청구항 49

제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고정 용량이 월 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여되는,

방법.

청구항 50

제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고정 용량이 3 개월 마다 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 51

제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고정 용량이 6 개월 마다의 간격으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 52

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 50 mg 내지 약 200 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 53

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 200 mg 내지 약 400 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 54

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 400 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 55

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 100 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 56

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 200 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 57

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 300 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 58

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 400 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 59

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 500 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 60

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 600 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 61

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 약 700 또는 800 mg의 고정 용량을 투여받는, 방법.

청구항 62

제45항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 상기 대상체에게 피하로 또는 정맥내로 투여되는, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 피하 투여가 피하 주사인, 방법.

청구항 64

제62항에 있어서, 상기 정맥내 투여가 정맥내 주사인, 방법.

청구항 65

제45항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 66

제45항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 21개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 67

제45항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 22개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 68

제45항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)를 포함하고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)를 포함하는, 방법.

청구항 69

제45항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)로 이루어지고, 상기 센스 가닥이 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)로 이루어지는, 방법.

청구항 70

제45항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염이 리간드를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 리간드가 상기 센스 가닥의 3' 말단에 컨쥬게이트되는, 방법.

청구항 72

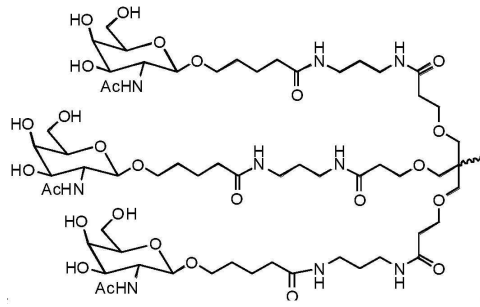
제70항 또는 제71항에 있어서, 상기 리간드가 N-아세틸갈락토사민 (GalNAc) 유도체인, 방법.

청구항 73

제72항에 있어서, 상기 GalNAc 유도체가 1가, 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체를 포함하는, 방법.

청구항 74

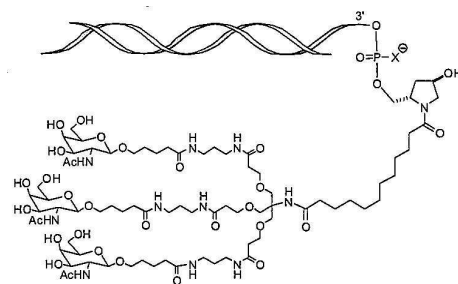
제72항에 있어서, 상기 리간드가



인, 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 센스 가닥의 3' 말단이 화학식



로 나타낸 바와 같은 리간드에 컨쥬게이트되는데, 여기서, X가 O 또는 S이거나, X가 O인, 방법.

청구항 76

제1항 내지 제4항 및 제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 사람인, 방법.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 대상체가 적어도 130 mmHg의 수축기 혈압 또는 적어도 80 mmHg의 이완기 혈압을 갖는, 방법.

청구항 78

제76항에 있어서, 상기 대상체가 적어도 140 mmHg의 수축기 혈압 또는 적어도 80 mmHg의 이완기 혈압을 갖는, 방법.

청구항 79

제1항 내지 제4항 및 제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 염 민감성에 취약한 그룹의 일부이거나, 과체중이거나, 비만이거나, 임신 중이거나, 임신할 계획을 갖고 있거나, 제2형 당뇨병을 갖거나, 제1형 당뇨병을 갖거나, 감소된 신장 기능을 갖는, 방법.

청구항 80

제2항 또는 제46항에 있어서, 상기 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 장애가 AGT 관련 장애인, 방법.

청구항 81

제3항, 제47항 또는 제80항에 있어서, 상기 AGT 관련 장애가 높은 혈압, 고혈압, 경계성 고혈압, 일차성 고혈압, 이차성 고혈압, 고립성 수축기 또는 이완기 고혈압, 임신 관련 고혈압, 당뇨병성 고혈압, 저항성 고혈압, 불응성 고혈압, 발작성 고혈압, 신혈관성 고혈압, 골드블라트 (Goldblatt) 고혈압, 안구 고혈압, 녹내장, 폐 고혈압, 문맥 고혈압, 전신 정맥 고혈압, 수축기 고혈압, 불안정성 고혈압; 고혈압성 심장 질환, 고혈압성 신병증, 죽상 동맥 경화증, 동맥 경화증, 혈관병증, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 만성 심부전, 심근병

증, 당뇨병성 심근병증, 야간 저혈압, 사구체 경화증, 대동맥 축착, 대동맥류, 심실 섬유증, 심부전, 심근 경색, 협심증, 뇌졸중, 신장 질환, 신부전, 전신 경화증, 자궁내 성장 제한 (intrauterine growth restriction: IUGR), 태아 성장 제한, 비만, 간 지방증/지방간, 비알코올성 지방 간염 (non-alcoholic steatohepatitis: NASH), 비알코올성 지방간 질환 (non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD); 포도당 불내성, 제2형 당뇨병 및 대사 증후군으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 82

제4항 또는 제48항에 있어서, 상기 혈압이 수축기 혈압 및/또는 이완기 혈압을 포함하는, 방법.

청구항 83

제1항 내지 제4항 및 제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 AGT 발현을 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 감소시키는, 방법.

청구항 84

제83항에 있어서, 상기 대상체의 혈액 또는 혈청 샘플 중 AGT 단백질 수준이 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 감소되는, 방법.

청구항 85

제1항 내지 제4항 및 제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 수축기 혈압 및/또는 이완기 혈압의 감소를 초래하는, 방법.

청구항 86

제85항에 있어서, 상기 수축기 혈압 및/또는 확장기 혈압이 적어도 4 mmHg, 5 mmHg, 6 mmHg, 7 mmHg, 8 mmHg, 9 mmHg 또는 10 mmHg 감소되는, 방법.

청구항 87

제1항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 고혈압 치료를 위한 추가의 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 88

제87항에 있어서, 상기 추가의 치료제가 이뇨제, 안지오텐신 전환 효소 (angiotensin converting enzyme: ACE) 억제제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, 베타-차단제, 혈관 확장제, 칼슘 채널 차단제, 알도스테론 길항제, 알파 2 항진제, 레닌 억제제, 알파-차단제, 말초 작용 아드레날린 작용제, 선택적 D1 수용체 부분 항진제, 비선택적 알파-아드레날린 길항제, 합성, 스테로이드성 항미네랄로코르티코이드 작용제; 전술한 것들의 임의의 조합; 및 작용제의 조합으로서 제형화된 고혈압 치료제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 89

제87항에 있어서, 상기 추가의 치료제가 안지오텐신 II 수용체 길항제를 포함하는, 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 안지오텐신 II 수용체 길항제가 로사르탄, 발사르탄, 올메사르탄, 에프로사르탄 및 아질사르탄으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 91

제1항 내지 제4항 및 제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNAi 작용제 또는 이의 염이 약제학적 조성물로 투여되는, 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 RNAi 작용제 또는 이의 염이 완충되지 않은 용액으로 투여되는, 방법.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 완충되지 않은 용액이 염수 또는 물인, 방법.

청구항 94

제91항에 있어서, 상기 RNAi 작용제 또는 이의 염이 완충 용액으로 투여되는, 방법.

청구항 95

제94항에 있어서, 상기 완충 용액이 아세테이트, 시트레이트, 프롤라민, 카보네이트 또는 포스페이트, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 96

제95항에 있어서, 상기 완충 용액이 포스페이트 완충 식염수 (phosphate buffered saline: PBS)인, 방법.

청구항 97

하기를 포함하는, 제1항 내지 제4항 및 제45항 내지 제48항 중 어느 한 항의 방법을 수행하기 위한 키트:

- a) 상기 RNAi 작용제 또는 이의 염, 및
- b) 사용 설명서, 및
- c) 임의로, 상기 RNAi 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하기 위한 수단.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원

[0002]

본 출원은 2020년 4월 30일자로 출원된 미국 가특허 출원 US 63/017,854 및 2019년 11월 13일자로 출원된 미국 가특허 출원 US 62/934,695에 대한 우선권의 이익을 주장하며, 이들의 전문은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0003]

본 출원은 2019년 5월 14일자로 출원된 PCT 특허 출원 PCT/US2019/032150에 관한 것이며, 이의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0004]

서열 목록

[0005]

본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이로써 그 전체가 참조로 포함된다. 2020년 11월 3일자로 생성된 상기 ASCII 사본은 121301-11120_SL.txt로 명명되며, 24,638 byte의 크기이다.

배경 기술

[0006]

레닌-안지오텐신-알도스테론 시스템 (renin-angiotensin-aldosterone system: RAAS)은 혈압의 조절에 중요한 역할을 한다. 상기 RAAS 캐스케이드는 신장의 토리겔 세포에서 순환계 내로 레닌을 방출하는 것으로 시작된다. 레닌 분비는 원위 세뇨관의 Na^+ 부하, β -교감 신경 자극 또는 신장 관류 감소를 비롯한 여러 요인에 의해 자극된다. 혈장 중의 활성 레닌은 안지오텐시노겐 (간에 의해 생성됨)을 안지오텐신 I로 절단한 다음, 안지오텐신 I은 순환하고 국부적으로 발현되는 안지오텐신 전환 효소 (angiotensin-converting enzyme: ACE)에 의해 안지오텐신 II로 전환된다. 상기 RAAS에 대한 안지오텐신 II의 효과의 대부분은 안지오텐신 II 유형 1 수용체 (angiotensin II type 1 receptor: AT_1R)에 대한 결합에 의해 발휘되어 동맥 혈관 수축, 세뇨관 및 사구체 효과 (예를 들어, Na^+ 재흡수 증가 또는 사구체 여과율 조절)를 유발한다. 또한, 부신 피질 자극 호르몬, 항이뇨 호르몬, 카테콜아민, 엔도텔린, 세로토닌, 및 Mg^{2+} 및 K^+ 의 수준과 같은 다른 자극과 함께, AT_1R 자극은 알도스테론 방출을 유도하고, 이는 결국 신장 원위 컨볼루션 세뇨관에서 Na^+ 및 K^+ 배설을 촉진한다.

- [0007] 예를 들어, 과도한 안지오텐신 II 생성 또는 AT₁R 자극을 유발하는 RAAS의 조절 이상은, 예를 들어, 심장, 신장 및 동맥에서 산화 스트레스 증가, 염증 촉진, 비대 및 섬유증을 초래하고, 예를 들어, 좌심실 섬유증, 동맥 리모델링 및 사구체 경화증을 유발할 수 있는 고혈압을 초래한다.
- [0008] 고혈압은 성인 인구 중 20~50%에 영향을 미치는 선진국에서 가장 만연하고 조절 가능한 질환이다. 고혈압은 기대 수명 단축, 만성 신장 질환, 뇌졸중, 심근 경색, 심부전, 동맥류 (예를 들어, 대동맥류), 말초 동맥 질환, 심장 손상 (예를 들어, 심장 확대 또는 비대) 및 기타 심혈관계 관련 질환, 장애 또는 병태와 같은 다양한 질환, 장애 및 병태의 주요 위험 요인이다. 또한, 고혈압은 모든 뇌졸중 중 62% 및 모든 심장 질환 사례 중 49%를 차지하거나 이들에 기여하는 심혈관계 이환율 및 사망률에 대한 중요한 위험 요인인 것으로 나타났다. 2017년에, 고혈압과 관련된 질환 및 장애의 발병 위험을 추가로 감소시키기 위한 보다 더 낮은 혈압을 위한 목표를 제공하는 고혈압의 진단, 예방 및 치료에 대한 지침의 변화가 이루어졌다 (예를 들어, 문헌 [Reboussin *et al.* Systematic Review for the 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2017 Nov 7. pii: S0735-1097(17)41517-8. doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.004]; 및 [Whelton *et al.* (2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2017 Nov 7. pii: S0735-1097(17)41519-1. doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.006] 참조).
- [0009] 고혈압을 치료하는데 이용 가능한 항고혈압 약물의 수에도 불구하고, 대상체 중 3분의 2 이상은 하나의 항고혈압제로 조절되지 않으며, 다른 약물 클래스로부터 선택된 2개 이상의 항고혈압제를 필요로 한다. 이는 약물의 수가 증가함에 따라 순응도가 감소하고 부작용이 증가하기 때문에 조절된 혈압을 갖는 대상체의 수를 추가로 감소시킨다. 또한, 여러 연구는 혈압을 조절하기 위한 항고혈압제가 또한 혈압에 미치는 영향과 관계 없이 신장 기능에 영향을 미친다는 사실을 발견하고 항고혈압 약물의 만성 사용과 신장 기능의 악화 사이의 잠재적인 관계를 제안하였다 (문헌 [Tomlinson, *et al.* (2013) *PLoS ONE* 8(11) Article ID e78465; The SPRINT Research Group (2015) *NEJM* 373(22):2103-2116, ClinicalTrials.gov number, NCT01206062; Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group (2013) *Kidney International Supplements* 3:1-150]; [Kamaroff, *et al.* (2018) *Hindawi International J Chron Dis* Article ID 1382705 | <https://doi.org/10.1155/2018/1382705>]).

발명의 내용

- [0010] 따라서, 고혈압을 갖는 대상체를 치료하기 위한 추가의 방법 및 요법이 당해 분야에 필요하다.
- [0011] **발명의 개요**
- [0012] 본 발명은 안지오텐시노젠 (AGT) 유전자의 발현을 저해하기 위한, AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 장애를 갖는 대상체를 치료하기 위한, AGT 관련 장애를 갖는 대상체를 치료하기 위한, 및 대상체에서 혈압을 감소시키기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 상기 방법은 AGT 유전자를 표적화하는 고정 용량의 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0013] 하나의 양태에서, 본 발명은 대상체에서 안지오텐시노젠 (AGT) 유전자의 발현을 저해하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 상기 AGT 유전자의 발현을 저해하는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,
- [0014] 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열

을 포함하고;

- [0015] 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고; 상기 뉴클레오타이드 상의 변형 중 적어도 하나는 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형이다.
- [0016] 또 다른 양태에서, 본 발명은 안지오텐시노겐 (AGT) 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체, 예를 들어, AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 발병할 위험이 있는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체를 치료하는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;
- [0017] 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고; 상기 뉴클레오타이드 상의 변형 중 적어도 하나는 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형이다.
- [0018] 하나의 양태에서, 본 발명은 안지오텐시노겐 (AGT) 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 AGT 관련 장애를 갖는 대상체를 치료하는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;
- [0019] 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고; 상기 뉴클레오타이드 상의 변형 중 적어도 하나는 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형이다.
- [0020] 또 다른 양태에서, 본 발명은 AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 갖는 대상체와 같은 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;
- [0021] 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고; 상기 뉴클레오타이드 상의 변형 중 적어도 하나는 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형이다.
- [0022] 일부 실시 형태에서, 상기 고정 용량은 월 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상

기 고정 용량은 분기 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 고정 용량은 반년 마다의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다.

- [0023] 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 50 mg 내지 약 200 mg의 고정 용량을 투여받는다. 다른 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 200 mg 내지 약 400 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 400 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량을 투여받는다.
- [0024] 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 100 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 200 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 300 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 400 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 500 mg의 고정 용량을 투여받는다. 다른 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 600 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 800 mg의 고정 용량을 투여받는다.
- [0025] 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 피하로 또는 정맥내로 상기 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 피하 투여는 피하 주사, 예를 들어, 피하 자가 투여이다. 다른 실시 형태에서, 상기 정맥내 투여는 정맥내 주사이다.
- [0026] 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0027] 다른 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 21개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0028] 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 22개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0029] 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)를 포함하고, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)를 포함한다.
- [0030] 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)로 이루어지고, 상기 센스 가닥이 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)로 이루어진다.
- [0031] 일부 실시 형태에서, 상기 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다. 다른 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.
- [0032] 일부 실시 형태에서, 상기 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다. 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.
- [0033] 일부 실시 형태에서, 상기 뉴클레오타이드 변형 중 적어도 하나는 데옥시-뉴클레오타이드, 3'-말단 데옥시-티민 (dT) 뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 변형 뉴클레오타이드, 2'-데옥시 변형 뉴클레오타이드, 잠금 뉴클레오타이드, 잠금 해제 뉴클레오타이드, 입체 형태적으로 제한된 뉴클레오타이드, 속박된 에틸 뉴클레오타이드, 무염기성 뉴클레오타이드, 2'-아미노 변형 뉴클레오타이드, 2'-O-알릴 변형 뉴클레오타이드, 2'-C-알킬 변형 뉴클레오타이드, 2'-하이드록시 변형 뉴클레오타이드, 2'-메톡시에틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-O-알킬 변형 뉴클레오타이드, 모르폴리노 뉴클레오타이드, 포스포르아미데이트, 비천연 염기를 포함하는 뉴클레오타이드, 테트라하이드로피란 변형 뉴클레오타이드, 1,5-안하이드로핵시톨 변형 뉴클레오타이드, 사이클로핵세닐 변형 뉴클레오타이드, 포스포로티오에이트 기를 포함하는 뉴클레오타이드, 메틸포스포에이트 기를 포함하는 뉴클레오타이드, 5'-포스페이트를 포함하는 뉴클레오타이드, 5'-포스페이트 모방체를 포함하는 뉴클레오타이드, 열적 탈안정화 뉴클레오타이드, 글리콜 변형 뉴클레오타이드 (GNA) 및 2-O-(N-메틸아세트아미드) 변형 뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0034] 일부 실시 형태에서, 상기 뉴클레오타이드 변형 중 적어도 하나는 데옥시-뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 변형 뉴클레오타이드, 2'-데옥시 변형 뉴클레오타이드, 글리콜 변형 뉴클레오타이드

(GNA) 및 2'-O-(N-메틸아세트아미드) 변형 뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

- [0035] 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 영역은 19~23개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 19~21개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 21~23개 뉴클레오타이드 쌍 길이 또는 21개 뉴클레오타이드 쌍 길이이다.
- [0036] 일부 실시 형태에서, 각각의 가닥은 독립적으로 19~23개 뉴클레오타이드 길이, 19~25개 뉴클레오타이드 길이 또는 21~23개 뉴클레오타이드 길이이다. 일부 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 21개 뉴클레오타이드 길이이고, 상기 안티센스 가닥은 23개 뉴클레오타이드 길이이다.
- [0037] 일부 실시 형태에서, 적어도 하나의 가닥은 적어도 1개의 뉴클레오타이드의 3' 오버행 또는 적어도 2개의 뉴클레오타이드의 3' 오버행을 포함한다.
- [0038] 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸 포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결은 하나의 가닥의 3'-말단에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 안티센스 가닥이다. 다른 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 센스 가닥이다.
- [0039] 일부 실시 형태에서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결은 하나의 가닥의 5'-말단에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 안티센스 가닥이다. 다른 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 센스 가닥이다.
- [0040] 일부 실시 형태에서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결은 하나의 가닥의 5'-말단 및 3'-말단 모두에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 안티센스 가닥이다.
- [0041] 하나의 양태에서, 본 발명은 대상체에서 안지오텐시노젠 (AGT) 유전자의 발현을 저해하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 상기 AGT 유전자의 발현을 저해하는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 상기 화학적 변형은 다음과 같이 정의된다: a는 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c는 2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트이고, g는 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u는 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af는 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf는 2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트이고, Gf는 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf는 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)은 티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다.
- [0042] 또 다른 양태에서, 본 발명은 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체, 예를 들어, AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 발병할 위험이 있는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체를 치료하는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 상

기 화학적 변형은 다음과 같이 정의된다: a는 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c는 2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트이고, g는 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u는 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af는 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf는 2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트이고, Gf는 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf는 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)은 티미딘-클리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다.

[0043] 하나의 양태에서, 본 발명은 AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 AGT 관련 장애를 갖는 대상체를 치료하는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 상기 화학적 변형은 다음과 같이 정의된다: a는 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c는 2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트이고, g는 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u는 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af는 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf는 2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트이고, Gf는 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf는 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)은 티미딘-클리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다.

[0044] 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 고정 용량의 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 상기 혈압 수준을 감소시키는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 상기 화학적 변형은 다음과 같이 정의된다: a는 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c는 2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트이고, g는 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u는 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af는 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf는 2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트이고, Gf는 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf는 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)은 티미딘-클리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다.

[0045] 일부 실시 형태에서, 상기 고정 용량은 월 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 고정 용량은 분기 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 고정 용량은 반년 마다의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다.

[0046] 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 50 mg 내지 약 200 mg의 고정 용량을 투여받는다. 다른 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 200 mg 내지 약 400 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 400 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량을 투여받는다.

[0047] 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 100 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 200 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 300 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 400 mg의 고정 용량을 투여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 500 mg의 고정 용량을 투여받는다. 다른 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 600 mg의 고정 용량을 투

여받는다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 약 800 mg의 고정 용량을 투여받는다.

[0048] 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 피하로 또는 정맥내로 상기 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 피하 투여는 피하 주사, 예를 들어, 피하 자가 투여이다. 다른 실시 형태에서, 상기 정맥내 투여는 정맥내 주사이다.

[0049] 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0050] 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 21개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0051] 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 22개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

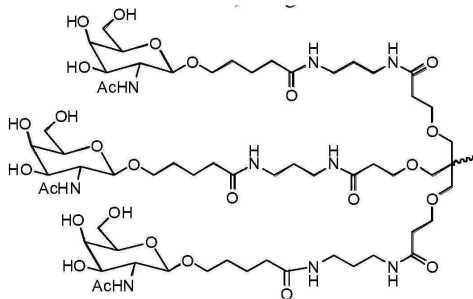
[0052] 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)를 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)를 포함한다.

[0053] 다른 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)로 이루어지고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)로 이루어진다.

[0054] 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 리간드를 추가로 포함한다. 다른 실시 형태에서, 상기 리간드는 상기 센스 가닥의 3' 말단에 컨쥬게이트된다.

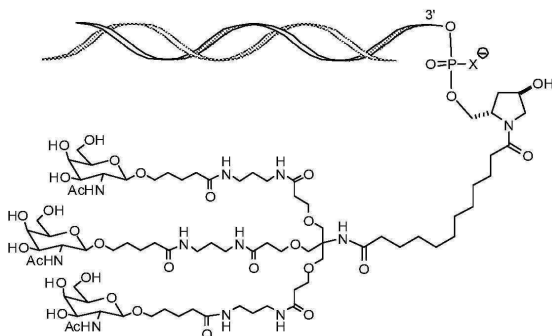
[0055] 일부 실시 형태에서, 상기 리간드는 N-아세틸갈락토사민 (GalNAc) 유도체이다. 다른 실시 형태에서, 상기 GalNAc 유도체는 1가, 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체를 포함한다.

[0056] 일부 실시 형태에서, 상기 리간드는



[0057] 이다.

[0058] 다른 실시 형태에서, 상기 센스 가닥의 3' 말단은 화학식



[0059] 로 나타낸 바와 같은 리간드에 컨쥬게이트되는데, 여기서, X

는 0 또는 S이다.

- [0060] 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 사람이다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 적어도 130 mmHg의 수축기 혈압 또는 적어도 80 mmHg의 이완기 혈압을 갖는다. 다른 실시 형태에서, 상기 대상체는 적어도 140 mmHg의 수축기 혈압 또는 적어도 80 mmHg의 이완기 혈압을 갖는다.
- [0061] 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 염 민감성에 취약한 그룹의 일부이거나, 과체중이거나, 비만이거나, 임신 중이거나, 임신할 계획을 갖고 있거나, 제2형 당뇨병을 갖거나, 제1형 당뇨병을 갖거나, 감소된 신장 기능을 갖는다.
- [0062] 일부 실시 형태에서, 상기 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 장애는 AGT 관련 장애이다. 하나의 실시 형태에서, 상기 AGT 관련 장애는 고혈압이다. 다른 실시 형태에서, 상기 AGT 관련 장애는 높은 혈압, 고혈압, 경계성 고혈압, 일차성 고혈압, 이차성 고혈압, 고립성 수축기 또는 이완기 고혈압, 임신 관련 고혈압, 당뇨병성 고혈압, 저항성 고혈압, 불응성 고혈압, 발작성 고혈압, 신혈관성 고혈압, 골드블라트 (Goldblatt) 고혈압, 안구 고혈압, 녹내장, 폐 고혈압, 문맥 고혈압, 전신 정맥 고혈압, 수축기 고혈압, 불안정성 고혈압; 고혈압성 심장 질환, 고혈압성 신병증, 죽상 동맥 경화증, 동맥 경화증, 혈관병증, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 만성 심부전, 심근병증, 당뇨병성 심근병증, 야간 저혈압, 사구체 경화증, 대동맥 축착, 대동맥류, 심실 섬유증, 심부전, 심근 경색, 협심증, 뇌졸중, 신장 질환, 신부전, 전신 경화증, 자궁내 성장 제한 (intrauterine growth restriction: IUGR), 태아 성장 제한, 비만, 간 지방증/지방간, 비알코올성 지방 간염 (non-alcoholic steatohepatitis: NASH), 비알코올성 지방간 질환 (non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD); 포도당 불내성, 제2형 당뇨병 및 대사 증후군으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 하나의 실시 형태에서, 상기 AGT 관련 장애는 고혈압이다. 하나의 실시 형태에서, 상기 고혈압은 높은 혈압, 고혈압, 경계성 고혈압, 일차성 고혈압, 이차성 고혈압, 고립성 수축기 또는 이완기 고혈압, 임신 관련 고혈압, 당뇨병성 고혈압, 저항성 고혈압, 불응성 고혈압, 발작성 고혈압, 신혈관성 고혈압, 골드블라트 고혈압, 안구 고혈압, 녹내장, 폐 고혈압, 문맥 고혈압, 전신 정맥 고혈압, 수축기 고혈압, 불안정성 고혈압; 고혈압성 심장 질환 및 고혈압성 신병증으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0063] 일부 실시 형태에서, 상기 혈압 압력은 수축기 혈압 및/또는 이완기 혈압을 포함한다.
- [0064] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 AGT 발현을 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 감소시킨다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체의 혈액 또는 혈청 샘플 중 AGT 단백질 수준은 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 감소된다.
- [0065] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 수축기 혈압 및/또는 이완기 혈압의 감소를 초래한다. 일부 실시 형태에서, 상기 수축기 혈압 및/또는 확장기 혈압은 적어도 4 mmHg, 5 mmHg, 6 mmHg, 7 mmHg, 8 mmHg, 9 mmHg 또는 10 mmHg 감소된다.
- [0066] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 고혈압 치료를 위한 추가의 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 추가의 치료제는 이노제, 안지오텐신 전환 효소 (angiotensin converting enzyme: ACE) 억제제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, 베타-차단제, 혈관 확장제, 칼슘 채널 차단제, 알도스테론 길항제, 알파2 항진제, 레닌 억제제, 알파-차단제, 말초 작용 아드레날린 작용제, 선택적 D1 수용체 부분 항진제, 비선택적 알파-아드레날린 길항제, 합성, 스테로이드성 항미네랄로코르티코이드 작용제; 전술한 것들의 임의의 조합; 및 작용제의 조합으로서 제형화된 고혈압 치료제로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 상기 추가의 치료제는 안지오텐신 II 수용체 길항제를 포함한다. 다른 실시 형태에서, 상기 안지오텐신 II 수용체 길항제는 로사르탄, 발사르탄, 올메사르탄, 에프로사르탄 및 아질사르탄으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0067] 일부 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제는 약제학적 조성물로서 투여된다.
- [0068] 일부 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제는 완충되지 않은 용액으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 완충되지 않은 용액은 염수 또는 물이다.
- [0069] 일부 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제는 완충 용액으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 완충 용액은 아세테이트, 시트레이트, 프롤라민, 카보네이트 또는 포스페이트 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 완충 용액은 포스페이트 완충 식염수 (phosphate buffered saline: PBS)이다.
- [0070] 본 발명은 또한 본 출원에서 기재된 바와 같은 본 발명의 방법을 수행하기 위한 키트를 제공한다. 상기 키트는

a) 상기 RNAi 작용제, 및 b) 사용 설명서, 및 c) 임의로, 상기 RNAi 작용제를 상기 대상체에게 투여하기 위한 수단을 포함한다.

[0071] 또 다른 양태에서, 본 발명은 또한 안지오텐시노젠 (AGT)의 발현을 저해하기 위한 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 포함하는, AGT 관련 장애를 치료하기 위한 약제학적 조성물을 제공한다. 상기 약제학적 조성물은 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 dsRNA 작용제를 포함하고, 여기서, 상기 안티센스 가닥은 UGUACUCUCAUUGUGGAGACGA (서열 번호 9)의 뉴클레오타이드 서열의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 뉴클레오타이드 서열의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 상기 뉴클레오타이드의 5개 이하는 변형을 포함하지 않고; 상기 뉴클레오타이드 변형 중 적어도 하나는 열적 탈안정화 뉴클레오타이드 변형이고; 상기 이중 가닥 RNAi 작용제는 월 1회 이하로 50 mg/용량의 용량, 예를 들어, 월 약 1회로 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg)의 용량으로 투여된다.

[0072] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAGACGA (서열 번호 9)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함한다.

[0073] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAGACGA (서열 번호 9)의 적어도 21개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)를 추가로 포함한다.

[0074] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAGACGA (서열 번호 9)의 적어도 22개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)를 추가로 포함한다.

[0075] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAGACGA (서열 번호 9)를 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)를 추가로 포함한다.

[0076] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드 서열은 UGUACUCUCAUUGUGGAGACGA (서열 번호 9)로 이루어진다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥의 뉴클레오타이드 서열은 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)로 추가로 이루어진다.

[0077] 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드 및 상기 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 변형을 포함한다.

[0078] 특정 실시 형태에서, 상기 뉴클레오타이드 변형 중 적어도 하나는 데옥시-뉴클레오타이드, 3'-말단 데옥시-티민 (dT) 뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 변형 뉴클레오타이드, 2'-데옥시 변형 뉴클레오타이드, 잠금 뉴클레오타이드, 잠금 해제 뉴클레오타이드, 입체 형태적으로 제한된 뉴클레오타이드, 속박된 에틸 뉴클레오타이드, 무염기성 뉴클레오타이드, 2'-아미노 변형 뉴클레오타이드, 2'-O-알릴 변형 뉴클레오타이드, 2'-C-알킬 변형 뉴클레오타이드, 2'-하이드록시 변형 뉴클레오타이드, 2'-메톡시에틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-O-알킬 변형 뉴클레오타이드, 모르폴리노 뉴클레오타이드, 포스포르아미데이트, 비천연 염기를 포함하는 뉴클레오타이드, 테트라하이드로피란 변형 뉴클레오타이드, 1,5-안하이드로핵시톨 변형 뉴클레오타이드, 사이클로핵세닐 변형 뉴클레오타이드, 포스포로티오에이트 기를 포함하는 뉴클레오타이드, 메틸포스포네이트 기를 포함하는 뉴클레오타이드, 5'-포스페이트를 포함하는 뉴클레오타이드, 5'-포스페이트 모방체를 포함하는 뉴클레오타이드, 열적 탈안정화 뉴클레오타이드, 글리콜 변형 뉴클레오타이드 (GNA) 및 2-O-(N-메틸아세트아미드) 변형 뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 실시 형태에서, 상기 뉴클레오타이드 변형 중 적어도 하나는 데옥시-뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 변형 뉴클레오타이드, 2'-데옥시 변형 뉴클레오타이드, 글리콜 변형 뉴클레오타이드 (GNA) 및 2-O-(N-메틸아세트아미드) 변형

뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

- [0079] 특정 실시 형태에서, 상기 뉴클레오타이드 변형은 2'-메톡시에틸, 2'-플루오로, 2'-데옥시 변형 뉴클레오타이드 및 GNA 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0080] 특정 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 영역은 19~23개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 19~21개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 21~23개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 21개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 19~30개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 19~25개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 23~27개 뉴클레오타이드 쌍 길이로부터 선택된 길이를 갖는다. 특정 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 영역은 19~21개의 뉴클레오타이드 쌍 길이의 길이를 갖는다.
- [0081] 특정 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 또는 이의 염의 각각의 가닥은 독립적으로 19~30개 뉴클레오타이드 길이, 19~23개 뉴클레오타이드 길이 및 21~23개 뉴클레오타이드 길이로부터 선택된 길이를 갖는다. 특정 실시 형태에서, 각각의 가닥은 독립적으로 21~23개의 뉴클레오타이드 길이이다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 21개 뉴클레오타이드 길이이고, 상기 안티센스 가닥은 23개 뉴클레오타이드 길이이다.
- [0082] 특정 실시 형태에서, 적어도 하나의 가닥은 적어도 1개의 뉴클레오타이드의 3' 오버행을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 적어도 하나의 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오타이드의 3' 오버행을 포함한다.
- [0083] 특정 실시 형태에서, 상기 작용제는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결을 추가로 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결은 하나의 가닥의 3'-말단에 존재한다. 특정 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 안티센스 가닥이다. 특정 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 센스 가닥이다.
- [0084] 특정 실시 형태에서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결은 하나의 가닥의 5'-말단에 존재한다. 특정 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 안티센스 가닥이다. 특정 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 센스 가닥이다.
- [0085] 특정 실시 형태에서, 상기 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결은 하나의 가닥의 5'-말단 및 3'-말단 모두에 존재한다. 특정 실시 형태에서, 상기 가닥은 상기 안티센스 가닥이다.
- [0086] 본 발명은 안지오텐시노젠 (AGT)의 발현을 저해하기 위한 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제 또는 이의 염을 포함하는, AGT 관련 장애를 치료하기 위한 약제학적 조성물을 제공한다. 상기 약제학적 조성물/약제학적 조성물은 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염을 포함하며, 여기서, 상기 작용제는 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 상기 화학적 변형은 다음과 같이 정의된다: a는 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c는 2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트이고, g는 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u는 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af는 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf는 2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트이고, Gf는 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf는 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)은 티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s는 포스포로티오에이트 연결이고; 상기 약제학적 조성물은 적어도 50 mg/용량의 용량으로 월 1회 이하로 투여된다.
- [0087] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함한다.
- [0088] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 21개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)를 추가로 포함한다.
- [0089] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucaugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 22개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)를 추가로 포함한다.

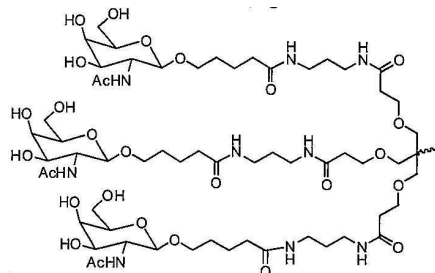
2)를 추가로 포함한다.

[0090] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)를 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)를 추가로 포함한다.

[0091] 특정 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥의 변형된 뉴클레오타이드 서열은 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)로 이루어진다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥의 변형된 뉴클레오타이드 서열은 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)로 이루어진다.

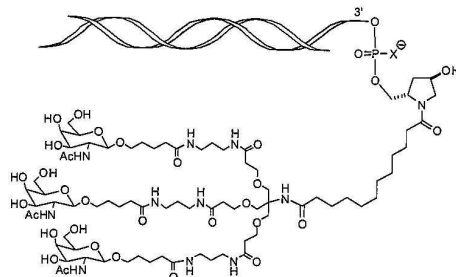
[0092] 특정 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 리간드를 추가로 포함한다. 특정 실시 형태에서, 상기 리간드는 상기 센스 가닥의 3' 말단에 컨쥬게이트된다. 특정 실시 형태에서, 상기 리간드는 N-아세틸갈락토사민 (GalNAc) 유도체이다. 특정 실시 형태에서, 상기 GalNAc 유도체는 1가, 2가 또는 3가 분지형 링 커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체를 포함한다.

[0093] 특정 실시 형태에서, 리간드는



[0094] 이다.

[0095] 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥의 3' 말단은 화학식



[0096] 로 나타낸 바와 같은 리간드에 컨쥬게이트되는데, 여기서, X는 O 또는 S이다. 특정 실시 형태에서, X는 O이다.

[0097] 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca를 포함하고, 상기 센스 가닥의 3' 말단은 L96 (N-[트리스(GalNAc-알킬)-아미도데카노일]]-4-하이드록시폴리놀 Hyp-(GalNAc-알킬)3)usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa에 컨쥬게이트되고, 상기 안티센스 가닥은 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa를 포함하고; 상기 화학적 변형은 다음과 같이 정의된다: a는 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c는 2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트이고, g는 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u는 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af는 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf는 2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트이고, Gf는 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf는 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)은 티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다.

[0098] 특정 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 용량 당 50 mg 내지 500 mg의 용량으로 투여된다. 특정 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 용량 당 50 내지 400 mg의 용량으로 투여된다. 특정 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 용량 당 50 내지 300 mg의 용량으로 투여된다.

[0099] 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 50 mg 내지 약 200 mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 200 mg 내지 약 400 mg의 고정 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 400 mg 내지 약 800 mg의 고정 용량으로 투여된다.

[0100] 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 100 mg의 고정 용량으로 투여된다. 일부

실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 200 mg의 고정 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 300 mg의 고정 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 400 mg의 고정 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 500 mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 600 mg의 고정 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염은 약 800 mg의 고정 용량으로 투여된다.

- [0101] 특정 실시 형에서, 상기 약제학적 조성물은 월 1회 내지 6 개월 당 1회의 빈도로 투여된다. 특정 실시 형에서, 상기 약제학적 조성물은 월 1회 내지 3 개월 당 1회의 빈도로 투여된다. 특정 실시 형에서, 상기 약제학적 조성물은 3 개월 당 1회 내지 6 개월 당 1회의 빈도로 투여된다.
- [0102] 일부 실시 형태에서, 상기 약제학적 조성물은 월 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 약제학적 조성물은 분기 당 1회의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 약제학적 조성물은 반년 마다의 간격으로 상기 대상체에게 투여된다.
- [0103] 특정 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제는 월 1회 내지 6 개월 당 1회의 빈도로 용량 당 50 내지 400 mg의 용량으로 투여된다.
- [0104] 특정 실시 형태에서, 상기 AGT 관련 장애는 높은 혈압, 고혈압, 경계성 고혈압, 일차성 고혈압, 이차성 고혈압, 고립성 수축기 또는 이완기 고혈압, 임신 관련 고혈압, 당뇨병성 고혈압, 저항성 고혈압, 불응성 고혈압, 발작성 고혈압, 신혈관성 고혈압, 골드블라트 고혈압, 안구 고혈압, 녹내장, 폐 고혈압, 문맥 고혈압, 전신 정맥 고혈압, 수축기 고혈압, 불안정성 고혈압; 고혈압성 심장 질환, 고혈압성 신병증, 죽상 동맥 경화증, 동맥 경화증, 혈관병증, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 만성 심부전, 심근병증, 당뇨병성 심근병증, 야간 저혈압, 사구체 경화증, 대동맥 축착, 대동맥류, 심실 섬유증, 심부전, 심근 경색, 협심증, 뇌졸중, 신장 질환, 심부전, 전신 경화증, 자궁내 성장 제한 (IUGR), 태아 성장 제한, 비만, 간 지방증/지방간, 비알코올성 지방 간염 (NASH), 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD); 포도당 불내성, 제2형 당뇨병 및 대사 증후군으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0105] 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 적어도 130 mmHg의 수축기 혈압 또는 적어도 80 mmHg의 이완기 혈압을 갖는다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 적어도 140 mmHg의 수축기 혈압 및 적어도 80 mmHg의 이완기 혈압을 갖는다.
- [0106] 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 염 민감성에 취약한 그룹의 일부이거나, 과체중이거나, 비만이거나, 임신 중이거나, 임신할 계획을 갖고 있거나, 제2형 당뇨병을 갖거나, 제1형 당뇨병을 갖는다.
- [0107] 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 AGT 관련 장애를 가지며, 추가로 염 민감성에 취약한 그룹의 일부이거나, 과체중이거나, 비만이거나, 임신 중이거나, 임신할 계획을 갖고 있거나, 제2형 당뇨병을 갖거나, 제1형 당뇨병을 갖는다.
- [0108] 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 감소된 신장 기능을 갖는다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 AGT 관련 장애를 가지며, 추가로 감소된 신장 기능을 갖는다.
- [0109] 특정 실시 형태에서, 상기 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함한다.
- [0110] 특정 실시 형태에서, 상기 약제학적 조성물은 피하 또는 정맥내 주사에 의한 투여를 위한 것이다.
- [0111] 본 발명은 AGT 관련 장애를 치료하는 방법에서 또는 AGT 관련 장애를 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제의 제조 방법에서 사용하기 위한 임의의 약제학적 조성물의 용도를 추가로 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0112] 도 1은 단일 위약, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg 또는 200 mg의 AD-85481의 피하 투여 후 0 일차의 AGT 기준선에 대한 혈청 AGT의 변화 퍼센트를 도시하는 그래프이다.
- 도 2는 단일 위약, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg 또는 200 mg의 AD-85481의 피하 투여 후 기준선에 대한 8 주차의 수축기 혈압 (systolic blood pressure: SBP) 및 이완기 혈압 (diastolic blood pressure: DBP)의 변화를 도시하는 그래프이다. 각 그룹의 대상체 수는 x축을 따라 도시되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0113] 본 발명은 안지오텐시노젠 (AGT) 유전자의 발현을 저해하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 장애를 갖는 대상체를 치료하거나 대상체에서 AGT 관련 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 본 출원에서 기재된 바와 같이 고정 용량, 예를 들어, 약 50 mg 내지 약 800 mg의 AGT를 표적화하는 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0114] 하기 상세한 설명은 AGT를 표적화하는 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 이의 염을 사용하여, AGT 유전자의 발현을 저해하는 방법, AGT 유전자의 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체, 예를 들어, AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압에 걸리기 쉽거나 이로 진단받은 대상체를 치료하는 방법, 및 AGT 유전자의 발현을 저해하기 위한 고정 용량의 이러한 RNAi 작용제 또는 이의 염을 포함하는 약제학적 조성물을 개시한다.
- [0115] **I. 정의**
- [0116] 본 발명이 보다 용이하게 이해될 수 있도록 하기 위해, 특정 용어를 먼저 정의한다. 또한, 파라미터의 값 또는 값의 범위가 인용될 때마다, 인용된 값에 대한 중간 값 및 범위도 또한 본 발명의 일부인 것으로 의도된다는 것에 유의해야 한다.
- [0117] 관사 ("한" 및 "하나")는 본 출원에서 해당 관사의 문법적 대상의 하나 또는 하나 이상 (즉, 적어도 하나)을 지칭하는데 사용된다. 예로서, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 초과 요소, 예를 들어, 복수의 요소를 의미한다.
- [0118] "포함하는"이라는 용어는 "~을 포함하지만 이에 한정되지 않는"이라는 문구를 의미하기 위해 본 출원에서 사용되며, 이와 상호 교환적으로 사용된다.
- [0119] "또는"이라는 용어는, 문맥이 달리 명시하지 않는다면, "및/또는"이라는 용어를 의미하기 위해 본 출원에서 사용되며, 이와 상호 교환적으로 사용된다. 예를 들어, "센스 가닥 또는 안티센스 가닥"은 "센스 가닥 또는 안티센스 가닥 또는 센스 가닥 및 안티센스 가닥"으로서 이해된다.
- [0120] "약"이라는 용어는 당해 분야에서 전형적인 허용 범위내를 의미하기 위해 본 출원에서 사용된다. 예를 들어, "약"은 평균으로부터 약 2의 표준 편차로서 이해될 수 있다. 특정 실시 형태에서, 약은 $\pm 10\%$ 를 의미한다. 특정 실시 형태에서, 약은 $\pm 5\%$ 를 의미한다. 약이 일련의 숫자 또는 범위 앞에 존재할 때, "약"은 일련의 또는 범위내 숫자 각각을 수식할 수 있는 것으로 이해된다. 숫자 또는 일련의 숫자 앞의 "적어도"라는 용어는 "적어도"라는 용어에 인접한 숫자와 문맥상 분명한 바와 같이 논리적으로 포함될 수 있는 모든 후속 숫자 또는 정수를 포함하는 것으로 이해된다. 예를 들어, 핵산 분자 중 뉴클레오타이드의 수는 정수이어야 한다. 예를 들어, "21개 뉴클레오타이드 핵산 분자의 적어도 19개 뉴클레오타이드"는 19, 20 또는 21개 뉴클레오타이드가 명시된 성질을 갖는다는 것을 의미한다. 적어도가 일련의 숫자 또는 범위 앞에 존재할 때, "적어도"는 일련의 또는 범위내 숫자 각각을 수식할 수 있는 것으로 이해된다.
- [0121] 본 출원에서 사용되는 "이하" 또는 "미만"은 문맥에서 논리적으로 문구에 인접한 값 및 0까지 논리적으로 보다 낮은 값 또는 정수로서 이해된다. 예를 들어, "2개 이하의 뉴클레오타이드"의 오버행을 갖는 듀플렉스는 2, 1 또는 0개의 뉴클레오타이드 오버행을 갖는다. 이하가 일련의 숫자 또는 범위 앞에 존재할 때, "이하"는 일련의 또는 범위내 숫자 각각을 수식할 수 있는 것으로 이해된다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 범위는 상한치 및 하한치 둘 다를 포함한다.
- [0122] 서열과 전사물 상의 표시된 부위 또는 다른 서열 사이에 모순이 있는 경우, 본 명세서에 인용된 뉴클레오타이드 서열이 우선한다.
- [0123] 화학 구조와 화학명이 모순되는 경우, 화학 구조가 우선한다.
- [0124] 본 출원에서 사용되는 바와 같이, "AGT"라는 용어와 상호 교환적으로 사용되는 "안지오텐시노젠"은 널리 공지된 유전자 및 폴리펩타이드를 지칭하며, 또한 세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A, 멤버 8; 알파-1 항프로테이나아제; 항트립신; 세르핀 A8; 안지오텐신 I; 세르핀 A8; 안지오텐신 II; 알파-1 항프로테이나아제 안지오텐시노젠; 항트립신; 프리-안지오텐시노젠2; ANHU; 세린 프로테이나아제 억제제; 및 시스테인 프로테이나아제 억제제로서 당해 분야에 공지되어 있다.
- [0125] "AGT"라는 용어는 사람 AGT를 포함하며, 이의 아미노산 및 완전한 코딩 서열은, 예를 들어, GenBank 승인 번호

GI:188595658 (NM_000029.3; 서열 번호 1); 마카카 파시쿨라리스 (*Macaca fascicularis*) AGT에서 발견될 수 있고, 이의 아미노산 및 완전한 코딩 서열은, 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI: 90075391 (AB170313.1: 서열 번호 3); 마우스 (무스 무스쿨루스) (*Mus musculus*) AGT에서 발견될 수 있고, 이의 아미노산 및 완전한 코딩 서열은, 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI: 113461997 (NM_007428.3; 서열 번호 5); 및 rat AGT (라투스 노르베지쿠스) (*Rattus norvegicus*) AGT에서 발견될 수 있고, 이의 아미노산 및 완전한 코딩 서열은, 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:51036672 (NM_134432; 서열 번호 7)에서 발견될 수 있다.

[0126] AGT mRNA 서열의 추가의 예는 공개적으로 이용 가능한 데이터베이스, 예를 들어, GenBank, UniProt, OMIM 및 마카카 게놈 프로젝트 웹 사이트를 사용하여 용이하게 이용 가능하다.

[0127] 본 출원에서 사용되는 "AGT"라는 용어는 또한 AGT 유전자의 단일 뉴클레오타이드 다형태 (single nucleotide polymorphism: SNP)와 같은 AGT 유전자의 자연 발생 DNA 서열 변이를 지칭한다. 예시적인 SNP는 www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?geneId=183에서 이용 가능한 dbSNP 데이터베이스에서 발견될 수 있다. AGT 유전자 내의 서열 변이의 비제한적인 예는, 예를 들어, 미국 특허 US 5,589,584에 기재된 것들을 포함하며, 이의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다. 예를 들어, AGT 유전자 내의 서열 변이는 -532번 위치 (전사 개시 부위에 대해)에서 C→T; -386번 위치에서 G→A; -218번 위치에서 G→A; -18번 위치에서 C→T; -6 및 -10번 위치에서 G→A 및 A→C; +10번 위치에서 C→T (번역되지 않음); +521번 위치에서 C→T (T174M); +597번 위치에서 T→C (P199P); +704번 위치에서 T→C (M235T; 또한 참조 SNP (refSNP) 클러스터 보고서 참조: www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP에서 이용 가능한 rs699); +743번 위치에서 A→G (Y248C); +813번 위치에서 C→T (N271N); +1017번 위치에서 G→A (L339L); +1075번 위치에서 C→A (L359M); 및/또는 +1162번 위치에서 G→A (V388M)를 포함할 수 있다.

[0128] 본 출원에서 사용되는 "표적 서열"은 일차 전사 산물의 RNA 가공 산물인 mRNA를 비롯하여 AGT 유전자의 전사 동안 형성된 mRNA 분자의 뉴클레오타이드 서열의 연속 부분을 지칭한다. 서열의 표적 부분은 적어도 AGT 유전자의 전사 동안 형성된 mRNA 분자의 뉴클레오타이드 서열 부분에서 또는 그 부분 근처에서 iRNA 지시된 절단을 위한 기질의 역할을 하기에 적어도 충분히 길 것이다. 하나의 실시 형태에서, 상기 표적 서열은 AGT의 단백질 코딩 영역 내에 있다.

[0129] 상기 표적 서열은 약 19~36개 뉴클레오타이드 길이, 예를 들어, 바람직하게는 약 19~30개 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 예를 들어, 상기 표적 서열은 약 19~30개 뉴클레오타이드, 19~30, 19~29, 19~28, 19~27, 19~26, 19~25, 19~24, 19~23, 19~22, 19~21, 19~20, 20~30, 20~29, 20~28, 20~27, 20~26, 20~25, 20~24, 20~23, 20~22, 20~21, 21~30, 21~29, 21~28, 21~27, 21~26, 21~25, 21~24, 21~23 또는 21~22개 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 상기에서 인용된 범위 및 길이의 중간 범위 및 길이도 또한 본 발명의 일부인 것으로 고려된다.

[0130] 본 출원에서 사용되는 "서열을 포함하는 가닥"이라는 용어는 표준 뉴클레오타이드 명명법을 사용하여 언급된 서열에 의해 기재되는 뉴클레오타이드 쌍을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0131] "G", "C", "A", "T" 및 "U" 각각은 일반적으로 각각 염기로서 구아닌, 사이토신, 아데닌, 티미딘 및 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드를 나타낸다. 그러나, "리보뉴클레오타이드" 또는 "뉴클레오타이드"라는 용어는 또한 하기에서 추가로 상세히 설명되는 바와 같은 변형된 뉴클레오타이드, 또는 대용 치환 모이어티 (moiety) (예를 들어, 표 2 참조)를 지칭할 수 있는 것으로 이해될 것이다. 통상의 기술자는 구아닌, 사이토신, 아데닌 및 우라실이 이러한 대체 모이어티를 보유하는 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 염기 쌍 형성 특성을 실질적으로 변경하지 않고 다른 모이어티로 대체될 수 있다는 것을 잘 알고 있다. 예를 들어, 제한 없이, 염기로서 이노신을 포함하는 뉴클레오타이드는 아데닌, 사이토신 또는 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 형성할 수 있다. 따라서, 우라실, 구아닌 또는 아데닌을 포함하는 뉴클레오타이드는, 예를 들어, 이노신을 포함하는 뉴클레오타이드에 의해 본 발명에서 특성화된 dsRNA의 뉴클레오타이드 서열에서 대체될 수 있다. 또 다른 예에서, 아데닌 및 사이토신은 올리고뉴클레오타이드의 어느 곳에서나 각각 구아닌 및 우라실로 대체되어 표적 mRNA와 G-U 위블 (Wobble) 염기 쌍을 형성할 수 있다. 이러한 대체 모이어티를 포함하는 서열은 본 발명에서 특성화된 조성물 및 방법에 적합하다.

[0132] 본 출원에서 상호 교환적으로 사용되는 "iRNA", "RNAi 작용제", "iRNA 작용제", "RNA 간섭 작용제"라는 용어는 해당 용어가 본 출원에 정의되는 바와 같이 RNA를 포함하고 RNA 유도된 침묵 복합체 (RNA-induced silencing complex: RISC) 경로를 통한 RNA 전사물의 표적화된 절단을 매개하는 작용제를 지칭한다. iRNA는 RNA 간섭 (RNAi)으로서 공지된 과정을 통해 mRNA의 서열 특이적 분해를 지시한다. iRNA는, 예를 들어, 세포에서, 예를 들어, 포유 동물 대상체, 바람직하게는 사람 대상체와 같은 대상체 내의 세포에서 AGT 유전자의 발현을 조절,

예를 들어, 저해한다.

- [0133] 하나의 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 표적 RNA 서열, 예를 들어, AGT 표적 mRNA 서열과 상호 작용하여 표적 RNA의 절단을 지시하는 단일 가닥 RNA를 포함한다. 이론에 구속시키고자 하는 것은 아니지만, 세포 내에 도입된 긴 이중 가닥 RNA는 다이서(Dicer)로서 공지된 III형 엔도뉴클레아제에 의해 siRNA로 분해되는 것으로 믿어진다(문헌 [Sharp *et al.*, (2001) *Genes Dev.* 15:485]). 리보뉴클레아제-III 유사 효소인 다이서는 상기 dsRNA를 특유의 2개의 염기 3' 오버행을 갖는 19~23개 염기 쌍의 짧은 간섭 RNA로 가공한다(문헌 [Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363]). 그 다음, 상기 siRNA는 RNA 유도된 침묵 복합체(RISC)에 도입되며, 여기서, 하나 이상의 헬리카아제는 상기 siRNA 듀플렉스를 풀어서 상보적 안티-센스 가닥이 표적 인식을 안내할 수 있도록 한다(문헌 [Nykanen, *et al.*, (2001) *Cell* 107:309]). 적절한 표적 mRNA에 결합하면, 상기 RISC 내의 하나 이상의 엔도뉴클레아제는 상기 표적을 절단하여 침묵을 유도한다(문헌 [Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.* 15:188]). 따라서, 하나의 양태에서, 본 발명은 세포 내에서 생성되고 RISC 복합체의 형성을 촉진하여 표적 유전자, 즉, AGT의 침묵을 달성하는 단일 가닥 RNA (siRNA)에 관한 것이다. 따라서, "siRNA"라는 용어는 또한 상기에서 기재된 바와 같은 iRNA를 지칭하기 위해 본 출원에서 사용된다.
- [0134] 특정 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제는 세포 또는 유기체 내로 도입되어 표적 mRNA를 저해하는 단일 가닥 siRNA (ssRNAi)일 수 있다. 단일 가닥 RNAi 작용제는 RISC 엔도뉴클레아제, 아르고나트 2에 결합한 다음, 표적 mRNA를 절단한다. 상기 단일 가닥 siRNA는 일반적으로 15~30개 뉴클레오타이드이며 화학적으로 변형된다. 단일 가닥 siRNA의 설계 및 테스트는 미국 특허 US 8,101,348 및 문헌 [Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894]에 기재되어 있으며, 이들 각각의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다. 본 출원에서 기재된 임의의 안티-센스 뉴클레오타이드 서열은 본 출원에서 기재된 바와 같은 단일 가닥 siRNA로서 또는 문헌 Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894에 기재된 방법에 의해 화학적으로 변형된 것으로 사용될 수 있다.
- [0135] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 조성물, 용도 및 방법에 사용하기 위한 "iRNA"는 이중 가닥 RNA이며, "이중 가닥 RNA 작용제", "이중 가닥 RNA (dsRNA) 분자", "dsRNA 작용제" 또는 "dsRNA"로서 본 출원에서 지칭된다. "dsRNA"라는 용어는 표적 RNA, 즉, AGT 유전자에 대해 "센스" 및 "안티센스" 배향을 갖는 것으로서 지칭되는 2개의 역평행 및 실질적으로 상보적인 핵산 가닥을 포함하는 듀플렉스 구조를 갖는 리보핵산 분자의 복합체를 지칭한다. 본 발명의 일부 실시 형태에서, 이중 가닥 RNA (dsRNA)는 RNA 간섭 또는 RNAi로서 본 출원에서 지칭되는 전사후 유전자 침묵 기전을 통해 표적 RNA, 예를 들어, mRNA의 분해를 촉발한다.
- [0136] 일반적으로, dsRNA 분자의 각 가닥의 뉴클레오타이드의 대부분은 리보뉴클레오타이드, 예를 들어, 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 변형된 뉴클레오타이드이다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 "iRNA"는 화학적 변형을 갖는 리보뉴클레오타이드를 포함할 수 있으며; iRNA는 다중 뉴클레오타이드에서 실질적인 변형을 포함할 수 있다. 본 출원에서 사용되는 "변형된 뉴클레오타이드"라는 용어는 독립적으로 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오타이드간 연결 또는 변형된 핵 염기, 또는 이들의 임의의 조합을 갖는 뉴클레오타이드를 지칭한다. 따라서, 변형된 뉴클레오타이드라는 용어는 뉴클레오사이드간 연결, 당 모이어티 또는 핵 염기에 대한, 예를 들어, 작용기 또는 원자의 치환, 첨가 또는 제거를 포함한다. 본 발명의 작용제에 사용하기에 적합한 변형은 본 출원에 개시되거나 당해 분야에 공지된 모든 유형의 변형을 포함한다. siRNA 유형 분자에 사용되는 임의의 이러한 변형은 본 명세서 및 청구범위의 목적을 위해 "iRNA" 또는 "RNAi 작용제"에 의해 포함된다.
- [0137] 상기 듀플렉스 영역은 RISC 경로를 통한 목적하는 표적 RNA의 특이적 분해를 가능하게 하는 임의의 길이일 수 있으며, 약 19 내지 36개 염기 쌍 길이, 예를 들어, 약 19~30개 염기 쌍 길이, 예를 들어, 약 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 또는 36개 염기 쌍 길이, 예를 들어, 약 19~30, 19~29, 19~28, 19~27, 19~26, 19~25, 19~24, 19~23, 19~22, 19~21, 19~20, 20~30, 20~29, 20~28, 20~27, 20~26, 20~25, 20~24, 20~23, 20~22, 20~21, 21~30, 21~29, 21~28, 21~27, 21~26, 21~25, 21~24, 21~23 또는 21~22개 염기 쌍 길이의 범위일 수 있다. 특정 실시 형태에서, 상기 듀플렉스 영역은 19~21개 염기 쌍 길이이다. 상기에서 인용된 범위 및 길이의 중간 범위 및 길이도 또한 본 발명의 일부인 것으로 고려된다.
- [0138] 듀플렉스 구조를 형성하는 2개의 가닥은 하나의 더 큰 RNA 분자의 상이한 부분일 수 있거나, 이들은 별도의 RNA 분자일 수 있다. 상기 2개의 가닥이 하나의 더 큰 분자의 일부이므로 듀플렉스 구조를 형성하는 하나의 가닥의 3'-말단과 각각의 다른 가닥의 5'-말단 사이에 연속적인 뉴클레오타이드 쇄로 연결되어 있는 경우, 연결 RNA 쇄는 "헤어핀 루프"로서 지칭된다. 헤어핀 루프는 적어도 하나의 쌍을 형성하지 않는 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 헤어핀 루프는 적어도 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 23개 또는 그 이상의 쌍을 형성하지 않는 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 헤어핀 루프는 10개 이하의 뉴

클레오타이드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 헤어핀 루프는 8개 이하의 쌍을 형성하지 않는 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 헤어핀 루프는 4~10개의 쌍을 형성하지 않는 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 헤어핀 루프는 4~8개의 뉴클레오타이드일 수 있다.

[0139] dsRNA의 2개의 실질적으로 상보적인 가닥이 별도의 RNA 분자로 구성되는 경우, 이들 분자는 공유적으로 연결될 필요는 없지만 공유적으로 연결될 수 있다. 상기 2개의 가닥이 듀플렉스 구조를 형성하는 하나의 가닥의 3'-말단과 각각의 다른 가닥의 5'-말단 사이에 연속적인 뉴클레오타이드 쌍 이외의 수단에 의해 공유적으로 연결되어 있는 경우, 연결 구조는 "링커"로서 지칭된다. 상기 RNA 가닥은 동일하거나 상이한 수의 뉴클레오타이드를 가질 수 있다. 염기 쌍의 최대 수는 dsRNA의 최단 가닥 마이너스 (minus) 듀플렉스에 존재하는 임의의 오버행에서 뉴클레오타이드의 수이다. 상기 듀플렉스 구조에 추가하여, RNAi는 하나 이상의 뉴클레오타이드 오버행을 포함할 수 있다.

[0140] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA 작용제는 dsRNA인데, 이의 각각의 가닥은 표적 RNA 서열, 예를 들어, AGT 유전자와 상호 작용하여 표적 RNA의 절단을 지시하는 19~23개 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0141] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 표적 RNA 서열, 예를 들어, AGT 표적 mRNA 서열과 상호 작용하여 표적 RNA의 절단을 지시하는 24~30개 뉴클레오타이드의 dsRNA이다.

[0142] 본 출원에서 사용되는 "뉴클레오타이드 오버행"이라는 용어는 이중 가닥 iRNA의 듀플렉스 구조로부터 돌출되는 적어도 하나의 쌍을 형성하지 않는 뉴클레오타이드를 지칭한다. 예를 들어, dsRNA의 하나의 가닥의 3'-말단이 다른 가닥의 5'-말단을 초과하여 확장되거나 그 반대일 때, 뉴클레오타이드 오버행이 있다. dsRNA는 적어도 하나의 뉴클레오타이드의 오버행을 포함할 수 있고; 대안으로, 상기 오버행은 적어도 2개의 뉴클레오타이드, 적어도 3개의 뉴클레오타이드, 적어도 4개의 뉴클레오타이드, 적어도 5개의 뉴클레오타이드 또는 그 이상을 포함할 수 있다. 뉴클레오타이드 오버행은 데옥시뉴클레오타이드/뉴클레오사이드를 비롯한 뉴클레오타이드/뉴클레오사이드 유사체를 포함하거나 이로 이루어질 수 있다. 상기 오버행(들)은 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 이들의 임의의 조합 상에 있을 수 있다. 또한, 오버행의 뉴클레오타이드(들)는 dsRNA의 안티센스 또는 센스 가닥의 5'-말단, 3'-말단 또는 양쪽 말단 상에 존재할 수 있다.

[0143] 특정 실시 형태에서, dsRNA의 안티센스 가닥은 3'-말단 또는 5'-말단에 1~10개 뉴클레오타이드, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 뉴클레오타이드를 갖는다. 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 또는 둘 다의 가닥 상의 오버행은 10개 보다 더 긴 연장된 길이의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 1~30개 뉴클레오타이드, 2~30개 뉴클레오타이드, 10~30개 뉴클레오타이드, 10~25개 뉴클레오타이드, 10~20개 뉴클레오타이드 또는 10~15개 뉴클레오타이드 길이를 포함할 수 있다. 특정 실시 형태에서, 연장된 오버행은 상기 듀플렉스의 센스 가닥 상에 있다. 특정 실시 형태에서, 연장된 오버행은 상기 듀플렉스의 센스 가닥의 3' 말단 상에 존재한다. 특정 실시 형태에서, 연장된 오버행은 상기 듀플렉스의 센스 가닥의 5' 말단 상에 존재한다. 특정 실시 형태에서, 연장된 오버행은 상기 듀플렉스의 안티센스 가닥 상에 있다. 특정 실시 형태에서, 연장된 오버행은 상기 듀플렉스의 안티센스 가닥의 3' 말단 상에 존재한다. 특정 실시 형태에서, 연장된 오버행은 상기 듀플렉스의 안티센스 가닥의 5' 말단 상에 존재한다. 특정 실시 형태에서, 상기 연장된 오버행 중의 하나 이상의 뉴클레오타이드는 뉴클레오사이드 티오포스페이트로 대체된다. 특정 실시 형태에서, 상기 오버행은 생리학적 조건하에 안정한 헤어핀 구조를 형성할 수 있도록 자가 상보적인 부분을 포함한다.

[0144] "평활 (blunt)" 또는 "평활 말단"은 이중 가닥 RNA 작용제의 말단에 쌍을 형성하지 않는 뉴클레오타이드가 없는 데, 즉, 뉴클레오타이드 오버행이 없다는 것을 의미한다. "평활 말단화된" 이중 가닥 RNA 작용제는 이의 전체 길이에 걸쳐 이중 가닥인데, 즉, 분자의 어느 한 말단에서도 뉴클레오타이드 오버행이 없다. 본 발명의 RNAi 작용제는 하나의 말단에 뉴클레오타이드 오버행이 없는 RNAi 작용제 (즉, 하나의 오버행 및 하나의 평활 말단을 갖는 작용제) 또는 어느 하나의 말단에도 뉴클레오타이드 오버행이 없는 RNAi 작용제를 포함한다. 대부분의 경우, 이러한 분자는 이의 전체 길이에 걸쳐 이중 가닥이다.

[0145] "안티센스 가닥" 또는 "가이드 가닥"이라는 용어는 표적 서열, 예를 들어, AGT mRNA에 대해 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 iRNA, 예를 들어, dsRNA의 가닥을 지칭한다. 본 출원에서 사용되는 "상보성 영역"이라는 용어는 본 출원에서 정의된 바와 같은 서열, 예를 들어, 표적 서열, 예를 들어, AGT 뉴클레오타이드 서열에 대해 실질적으로 상보적인 안티센스 가닥 상의 영역을 지칭한다. 상기 상보성 영역이 표적 서열에 대해 완전히 상보적이지 않은 경우, 불일치 (mismatch)는 분자의 내부 또는 말단 영역에 있을 수 있다. 일반적으로, 가장 허용되는 불일치는 말단 영역, 예를 들어, iRNA의 5'- 또는 3'-말단의 5, 4 또는 3개 뉴클레오타이드 내에 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명의 이중 가닥 RNA 작용제는 상기 안티센스 가닥 중의 뉴클레오타이드 불일

치를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 발명의 이중 가닥 RNA 작용제는 상기 센스 가닥 중의 뉴클레오타이드 불일치를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 뉴클레오타이드 불일치는, 예를 들어, iRNA의 3'-말단으로부터 5, 4, 3개 뉴클레오타이드 내에 있다. 또 다른 실시 형태에서, 상기 뉴클레오타이드 불일치는, 예를 들어, iRNA의 3'-말단 뉴클레오타이드 내에 있다.

[0146] 본 출원에서 사용되는 "센스 가닥" 또는 "패신저 가닥 (passenger strand)"이라는 용어는 해당 용어가 본 출원에서 정의되는 바와 같이 안티센스 가닥의 영역에 대해 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 iRNA의 가닥을 지칭한다.

[0147] 본 출원에 사용되는 "실질적으로 모든 뉴클레오타이드가 변형된다"는 대부분 변형되지만 완전히 변형되지는 않으며, 5, 4, 3, 2 또는 1개 또는 그 이하의 변형되지 않은 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0148] 본 출원에서 사용되는 "절단 영역"이라는 용어는 절단 부위에 바로 인접하여 위치하는 영역을 지칭한다. 상기 절단 부위는 절단이 일어나는 표적 상의 부위이다. 일부 실시 형태에서, 상기 절단 영역은 절단 부위 중 어느 하나의 말단 상에 및 이에 바로 인접하여 3개의 염기를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 절단 부위 중 어느 하나의 말단 상에 및 이에 바로 인접하여 2개의 염기를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 절단 부위는 구체적으로 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드 10 및 11에 의해 결합된 부위에 존재하며, 상기 절단 영역은 뉴클레오타이드 11, 12 및 13을 포함한다.

[0149] iRNA 내, 예를 들어, 본 출원에 기재된 바와 같은 dsRNA 내의 상보적 서열은 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드와 하나 또는 둘 다의 뉴클레오타이드 서열의 전체 길이에 걸쳐 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 염기 쌍 형성을 포함한다. 이러한 서열은 본 출원에서 서로에 대해 "완전히 상보적인"으로서 언급될 수 있다. 그러나, 제1 서열이 본 출원의 제2 서열과 관련하여 "실질적으로 상보적인"으로서 언급되는 경우, 상기 2개의 서열은 완전히 상보적일 수 있거나, 이들은 30개 이하의 염기 쌍의 듀플렉스에 대해 하이브리드화될 때 하나 이상이지만 일반적으로는 5, 4, 3 또는 2개 이하의 불일치된 염기 쌍을 형성할 수 있으면서, 이들의 궁극적인 적용, 예를 들어, RISC 경로를 통한 유전자 발현의 저해와 가장 관련된 조건하에 하이브리드화하는 능력을 보유한다. 그러나, 2개의 올리고뉴클레오타이드가 하이브리드화될 때 하나 이상의 단일 가닥 오버행을 형성하도록 설계되는 경우, 이러한 오버행은 상보성 결정과 관련하여 불일치로서 간주되지 않는다. 예를 들어, 보다 긴 올리고뉴클레오타이드가 보다 짧은 올리고뉴클레오타이드에 대해 완전히 상보적인 21개 뉴클레오타이드의 서열을 포함하는, 21개 뉴클레오타이드 길이의 하나의 올리고뉴클레오타이드 및 23개 뉴클레오타이드 길이의 또 다른 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 dsRNA는 본 출원에서 기재된 목적을 위해 "완전히 상보적인"으로서 여전히 지칭될 수 있다.

[0150] 본 출원에서 사용되는 "상보적인" 서열은 또한, 하이브리드화하는 이들의 능력과 관련하는 상기 요건이 충족되는 한, 비-왓슨-크릭 (non-Watson-Crick) 염기 쌍 또는 비천연 및 변형된 뉴클레오타이드로부터 형성된 염기 쌍을 포함하거나 이들로부터 전적으로 형성될 수 있다. 이러한 비-왓슨-크릭 염기 쌍은 G:U 위블 또는 후그슈타인 (Hoogsteen) 염기 쌍 형성을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0151] 본 출원의 "상보적인", "완전히 상보적인" 및 "실질적으로 상보적인"이라는 용어는 이들의 사용의 맥락으로부터 이해되는 바와 같이 dsRNA의 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이의 염기 일치 또는 이중 가닥 RNA 작용제의 안티센스 가닥과 표적 서열 사이의 염기 일치와 관련하여 사용될 수 있다.

[0152] 본 출원에서 사용되는 전령 RNA (mRNA)의 "적어도 일부에 대해 실질적으로 상보적인" 폴리뉴클레오타이드는 관심 대상 mRNA (예를 들어, AGT 유전자를 인코딩하는 mRNA)의 연속 부분에 대해 실질적으로 상보적인 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 예를 들어, 서열이 AGT 유전자를 인코딩하는 mRNA의 연속 부분에 대해 실질적으로 상보적인 경우, 폴리뉴클레오타이드는 AGT mRNA의 적어도 일부에 대해 상보적이다.

[0153] 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 출원에서 개시된 센스 가닥 폴리뉴클레오타이드 및 안티센스 폴리뉴클레오타이드는 표적 AGT 서열에 대해 완전히 상보적이다. 다른 실시 형태에서, 본 출원에서 개시된 센스 가닥 폴리뉴클레오타이드 및 안티센스 폴리뉴클레오타이드는 표적 AGT 서열에 대해 실질적으로 상보적이며, 서열 번호 1 및 2 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열 번호 1 및 2 중 어느 하나의 단편의 등가 영역에 대한 전체 길이에 걸쳐 적어도 80% 상보적인, 예를 들어, 적어도 90% 또는 95% 상보적인, 또는 100% 상보적인 연속 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0154] 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 출원에서 개시된 안티센스 가닥 폴리뉴클레오타이드는 표적 AGT 서열에 대해 완전히 상보적이다. 다른 실시 형태에서, 본 출원에서 개시된 안티센스 가닥 폴리뉴클레오타이드는 표적 AGT

서열에 대해 실질적으로 상보적이며, 서열 번호 1의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열 번호 1의 단편의 등가 영역에 대한 전체 길이에 걸쳐 적어도 약 90% 상보적인, 예를 들어, 약 90% 또는 약 95% 상보적인 연속 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 서열 번호 1의 단편은 서열 번호 1의 638~658번 뉴클레오타이드이다.

[0155] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA의 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드 서열은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0156] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA의 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드 서열은 뉴클레오타이드 서열 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)을 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0157] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA의 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드 서열은 UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA (서열 번호 9)로 이루어진다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 센스 가닥을 추가로 포함하는데, 여기서, 상기 가닥의 뉴클레오타이드 서열은 뉴클레오타이드 서열 GUCAUCCACAAUGAGAGUACA (서열 번호 10)로 이루어진다.

[0158] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA의 안티센스 가닥의 변형된 뉴클레오타이드 서열은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)의 적어도 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다. 상기 화학적 변형은 다음과 같이 정의된다: a는 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c는 2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트이고, g는 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u는 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af는 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf는 2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트이고, Gf는 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf는 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Tgn)은 티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체이고, s는 포스포로티오에이트 연결이며; 상기 센스 가닥의 3' 말단은 리간드, 예를 들어, N-[트리스(GalNAc-알킬)-아미도데카노일]-4-하이드록시폴리놀 (Hyp-(GalNAc-알킬)₃ 또는 L96로도 지칭됨)에 임의로 공유적으로 연결된다.

[0159] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA의 안티센스 가닥의 변형된 뉴클레오타이드 서열은 변형된 뉴클레오타이드 서열 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)을 포함한다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)을 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0160] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA의 안티센스 가닥의 변형된 뉴클레오타이드 서열은 usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa (서열 번호 11)로 이루어진다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 센스 가닥을 추가로 포함하는데, 여기서, 상기 센스 가닥의 변형된 뉴클레오타이드 서열은 변형된 뉴클레오타이드 서열 gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca (서열 번호 12)로 이루어진다.

[0161] 일반적으로, "iRNA"는 화학적 변형을 갖는 리보뉴클레오타이드를 포함한다. 이러한 변형은 본 출원에서 개시되거나 당해 분야에 공지된 모든 유형의 변형을 포함한다. dsRNA 분자에 사용되는 임의의 이러한 변형은 본 명세서 및 청구범위의 목적을 위해 "iRNA"에 의해 포함된다.

[0162] 본 발명의 한 양태에서, 본 발명의 방법 및 조성물에 사용하기 위한 작용제는 안티센스 억제 기전을 통해 표적 mRNA를 저해하는 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자이다. 상기 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자는 표적 mRNA 내의 서열에 대해 상보적이다. 상기 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 mRNA와 염기 쌍을 형성하고 물리적으로 번역 기전을 방해함으로써 화학양론적 방식으로 번역을 저해할 수 있다 (문헌 [Dias, N. *et al.*, (2002) *Mol Cancer Ther* 1:347-355] 참조). 상기 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자는 약 14 내지 약 30개 뉴클레오타이드 길이일 수 있으며, 표적 서열에 대해 상보적인 서열을 가질 수 있다. 예를 들어, 상기 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자는 본 출원에서 기재된 안티센스 서열 중 어느 하나로부터 적어도 약 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의 연속 뉴클레오타이드인 서열을 포함할 수 있다.

[0163] 본 출원에서 사용되는 dsRNA와 같은 "iRNA를 세포와 접촉시키는"이라는 문구는 임의의 가능한 수단에 의해 세포를 접촉시키는 것을 포함한다. 세포를 iRNA와 접촉시키는 것은 시험관내 세포를 iRNA와 접촉시키거나 생체내

세포를 iRNA와 접촉시키는 것을 포함한다. 상기 접촉은 직접적으로 또는 간접적으로 수행될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 상기 iRNA는 상기 방법을 수행하는 개체에 의해 세포와 물리적 접촉에 놓일 수 있거나, 대안으로, 상기 iRNA는 후속적으로 세포와 접촉하도록 허용하거나 초래하는 상황에 놓일 수 있다.

[0164] 시험관내 세포의 접촉은, 예를 들어, 상기 세포를 iRNA로 인큐베이션함으로써 수행될 수 있다. 생체내 세포의 접촉은, 예를 들어, 상기 iRNA를 상기 세포가 위치하는 조직에 또는 이의 부근에 주사함으로써, 또는 상기 iRNA를 또 다른 영역, 예를 들어, 접촉될 세포가 위치하는 조직에 상기 작용제가 후속적으로 도달하도록 혈류 또는 피하 공간에 주사함으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, 상기 iRNA는 iRNA를 관심 대상 부위, 예를 들어, 간으로 지시하는 리간드, 예를 들어, GalNAc를 함유하거나 이에 커플링될 수 있다. 시험관내 및 생체내 접촉 방법의 조합도 또한 가능하다. 예를 들어, 세포는 또한 iRNA와 시험관내 접촉되고 후속적으로 대상체 내로 이식될 수 있다.

[0165] 특정 실시 형태에서, 세포를 iRNA와 접촉시키는 것은 세포 내로의 섭취 또는 흡수를 용이하게 하거나 수행함으로써 "iRNA를 세포 내로 전달하는 것" 또는 "도입하는 것"을 포함한다. iRNA의 흡수 또는 섭취는 비보조 확산 또는 활성 세포 과정을 통해, 또는 보조제 또는 장치에 의해 일어날 수 있다. iRNA를 세포내로 도입하는 것은 시험관 내에서 또는 생체 내에서 있을 수 있다. 예를 들어, 생체내 도입을 위해, iRNA는 조직 부위에 주사될 수 있거나 전신 투여될 수 있다. 세포 내로의 시험관내 도입은 전기 천공 및 리포펙션과 같은 당해 분야에 공지된 방법을 포함한다. 추가의 접근법은 본 출원에서 하기에 기재되어 있거나 당해 분야에 공지되어 있다.

[0166] "지질 나노 입자" 또는 "LNP"라는 용어는 핵산 분자, 예를 들어, iRNA 또는 iRNA를 전사하는 플라스미드와 같은 약제학적 활성 분자를 캡슐화하는 지질 층을 포함하는 소포이다. LNP는, 예를 들어, 미국 특허 US 6,858,225, US 6,815,432, US 8,158,601 및 US 8,058,069에 기재되어 있으며, 이들의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0167] 본 출원에서 사용되는 "대상체"는 표적 유전자를 내인성으로 또는 이종성으로 발현하는 영장류 (예를 들어, 사람, 비사람 영장류, 예를 들어, 원숭이 및 침팬지), 비영장류(예를 들어, 소, 돼지, 말, 염소, 토끼, 양, 햄스터, 기니피그, 고양이, 개, 래트 또는 마우스)를 비롯한 포유 동물과 같은 동물이다. 한 실시 형태에서, 상기 대상체는 사람, 예를 들어, AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 질환 또는 장애에 대해 치료 또는 평가되는 사람; AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 질환 또는 장애에 대한 위험이 있는 사람; AGT 발현로부터 이익을 얻을 질환 또는 장애를 갖는 사람; 또는 본 출원에서 기재된 바와 같이 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 질환 또는 장애에 대해 치료받은 사람이다. AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압에 대한 진단 기준은 하기에서 제공된다. 일부 실시 형태에서, 상기 대상체는 여성 사람이다. 다른 실시 형태에서, 상기 대상체는 남성 사람이다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 염 민감성에 취약한 그룹, 예를 들어, 흑인 또는 노인 (≥ 65 세)의 일부이다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 과체중 또는 비만, 예를 들어, 중심성 비만을 앓고 있는 대상체이다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 몸을 많이 움직이지 않는다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 임신 중이거나 임신할 계획을 갖고 있다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 감소된 신장 기능을 갖는다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 제1형 당뇨병을 갖는다. 특정 실시 형태에서, 상기 대상체는 제2형 당뇨병을 갖는다.

[0168] 본 출원에서 사용되는 "치료하는" 또는 "치료"라는 용어는 대상체에서 AGT 관련 장애의 적어도 하나의 징후 또는 증상, 예를 들어, 고혈압을 감소시키는 것과 같은 유익한 또는 목적하는 결과를 지칭한다. 치료는 또한 검출 가능하거나 불가능하든지 간에 원치 않는 AGT 발현, 예를 들어, 안지오텐신 II 유형 1 수용체 (AT₁R) 활성화와 관련된 하나 이상의 징후 또는 증상 (예를 들어, 고혈압, 만성 신장 질환, 뇌졸중, 심근 경색, 심부전, 동맥류, 말초 동맥 질환, 심장 질환, 산화적 스트레스 증가, 예를 들어, 과산화물 형성 증가, 염증, 혈관 수축, 나트륨 및 수분 보존, 칼륨 및 마그네슘 손실, 레닌 억제, 근 세포 및 평활근 비대, 콜라겐 합성 증가, 혈관 자극, 심근 및 신장 섬유증, 심장 수축의 속도 및 힘 증가, 심박수 변화, 예를 들어, 부정맥 증가, 플라스미노겐 활성 인자 억제제 1 (plasminogen activator inhibitor 1: PAI1) 자극, 교감 신경계 활성화 및 엔도텔린 분비 증가), 자궁내 성장 제한 (intrauterine growth restriction: IUGR) 또는 태아 성장 제한을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 임신 관련 고혈압의 증상 (예를 들어, 자간 전증 및 자간증), 악성 고혈압과 관련된 증상, 고알도스테론증; 원치 않는 AT₁R 활성화 정도의 감소; 만성 AT₁R 활성화 상태의 안정화 (즉, 악화되지 않음); 원치 않는 AT₁R 활성화의 개선 또는 완화와 관련된 증상 (예를 들어, 고혈압, 만성 신장 질환, 뇌졸중, 심근 경색, 심부전, 동맥류, 말초 동맥 질환, 심장 질환, 산화적 스트레스 증가, 예를 들어, 과산화물 형성 증가, 염증, 혈관 수축, 나트륨 및 수분 보존, 칼륨 및 마그네슘 손실, 레닌 억제, 근 세포 및 평활근 비대, 콜라겐 합

성 증가, 혈관 자극, 심근 및 신장 섬유증, 심장 수축의 속도 및 힘 증가, 심박수 변화, 예를 들어, 부정맥 증가, 플라스미노겐 활성 인자 억제제 1 (PAI1) 자극, 교감 신경계 활성화 및 엔도텔린 분비 증가)의 감소를 포함한다. AGT 관련 장애는 또한 비만, 간 지방증/지방간, 예를 들어, 비알코올성 지방 간염 (NASH) 및 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD); 포도당 불내성, 제2형 당뇨병 및 대사 증후군을 포함할 수 있다. "치료"는 또한 치료의 부재하의 예상 생존과 비교하여 생존을 연장하는 것을 의미할 수 있다.

[0169] 본 출원에서 사용되는 "감소된 신장 기능" 등은 다수의 인정된 기준, 예를 들어, 사구체 여과율 (glomerular filtration rate: GFR), 알부민뇨, 크레아티닌 또는 BUN 중 임의의 것을 사용하여 진단될 수 있다. 본 출원에서 사용된 바와 같이, 감소된 신장 기능은 일시적 또는 만성적일 수 있다. 적어도 60의 GFR은 정상인 것으로 간주된다. 60 이하의 GFR은 감소된 신장 기능을 나타내고, >15 ~ 60의 GFR은 신장 질환을 나타내고, 15 미만의 GFR은 신부전을 나타낸다. GFR은 전형적으로 소변 크레아티닌 수준을 기준으로 결정되며, 보다 높은 수준의 크레아티닌은 보다 낮은 신장 기능을 나타낸다. 소변 중 알부민의 존재는 감소된 신장 기능을 나타낸다. 알부민의 절대 수준을 결정하여 감소된 신장 기능을 진단할 수 있다. 크레아티닌에 대한 알부민의 비를 또한 결정하여 신장 기능을 평가할 수 있다. 30 mg/g 이하의 소변 크레아티닌에 대한 알부민 비는 정상적인 신장 기능을 나타낸다. 30 mg/g 초과 소변 크레아티닌에 대한 알부민 비는 감소된 신장 기능을 나타낸다.

[0170] 대상체에서 AGT 유전자 발현 또는 agt 단백질 생산의 수준, 또는 질환 마커 또는 증상의 맥락에서의 "보다 낮은"이라는 용어는 이러한 수준의 통계상으로 유의한 감소를 지칭한다. 상기 감소는, 예를 들어, 적어도 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95%, 또는 관련 세포 또는 조직, 예를 들어, 간 세포 또는 다른 대상체 샘플, 예를 들어, 이로부터 유래된 혈액 또는 혈청, 소변에서 검출 방법을 위한 검출 수준 미만일 수 있다. 특정 실시 형태에서, "보다 낮은"은 임의의 용량의 본 출원에서 제공된 iRNA 작용제의 투여 전 혈청 중의 AGT 단백질 수준에 비해 1회 이상의 용량의 본 출원에서 제공된 iRNA 작용제의 투여 후 혈청 중의 AGT 단백질의 감소이다.

[0171] 본 출원에서 사용되는 "예방" 또는 "예방하는"은, 예를 들어, 노화, 유전적 요인, 호르몬 변화, 식습관, 및 몸을 많이 움직이지 않는 생활 방식으로 인한 AGT 관련 장애에 취약한 대상체에서 AGT 유전자 발현 또는 agt 단백질 생산의 감소로부터 이익을 얻을 질환 또는 장애와 관련하여 사용되며, 여기서, 상기 대상체는 AGT 관련 장애에 대한 진단 기준을 아직 충족하지 못한다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 예방은 AGT 관련 장애에 대한 진단 기준을 아직 충족하지 못한 대상체에게 작용제를 투여하여 상기 대상체가 AGT 관련 장애를 발병할 가능성을 지연시키거나 감소시키는 것으로 이해될 수 있다. 상기 작용제는 약제학적 제제이기 때문에, 투여는 전형적으로 AGT 관련 장애에 대한 진단 기준을 아직 충족하지 못하는 대상체를 AGT 관련 장애의 발병에 취약한 것으로 식별할 수 있는 전문 의료진의 지시하에 이루어지는 것으로 이해된다. 고혈압에 대한 진단 기준과 고혈압에 대한 위험 요인은 하기에서 제공된다. 특정 실시 형태에서, 상기 질환 또는 장애는, 예를 들어, 원치 않는 AT1R 활성화의 증상, 예를 들어, 고혈압, 만성 신장 질환, 뇌졸중, 심근 경색, 심부전, 동맥류, 말초 동맥 질환, 심장 질환, 산화적 스트레스 증가, 예를 들어, 과산화물 형성 증가, 염증, 혈관 수축, 나트륨 및 수분 보존, 칼륨 및 마그네슘 손실, 레닌 억제, 근 세포 및 평활근 비대, 콜라겐 합성 증가, 혈관 자극, 심근 및 신장 섬유증, 심장 수축의 속도 및 힘 증가, 심박수 변화, 예를 들어, 부정맥 증가, 플라스미노겐 활성 인자 억제제 1 (PAI1) 자극, 교감 신경계 활성화 및 엔도텔린 분비 증가이다. AGT 관련 장애는 또한 비만, 간 지방증/지방간, 예를 들어, 비알코올성 지방 간염 (NASH) 및 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD); 포도당 불내성, 제2형 당뇨병 및 대사 증후군을 포함할 수 있다. 예를 들어, 고혈압에 대한 하나 이상의 위험 요인을 갖는 개체가 동일한 위험 요인을 갖고 본 출원에서 기재된 바와 같은 치료를 받지 않는 집단에 비해 덜 중증도의 고혈압을 발생하거나 고혈압을 발생하지 않을 때, 예를 들어, 고혈압을 발생할 가능성이 감소한다. AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압 발생의 실패 또는 고혈압 발생 시간의 수개월 또는 수년까지 지연은 효과적인 예방으로 간주된다. iRNA 작용제의 경우, 예방은 1회 이상의 용량을 투여를 필요로 할 수 있다. 상기 AGT 관련 질환 중 임의의 것을 발병할 위험이 있는 대상체를 식별하기 위한 적절한 방법이 제공되면, 본 출원에서 제공된 iRNA 작용제는 AGT 관련 질환을 위한 또는 이의 예방 방법에서 약제학적 제제로서 사용될 수 있다. 다양한 AGT 관련 질환에 대한 위험 요인은 하기에서 논의된다.

[0172] 본 출원에서 사용되는 "안지오텐시노겐 관련 질환" 또는 "AGT 관련 질환"이라는 용어는 레닌-안지오텐신-알도스테론 시스템 (RAAS) 활성화에 기인하거나 이와 관련된 질환 또는 장애, 또는 증상 또는 진행이 RAAS 불활성화에 반응하는 질환 또는 장애이다. "안지오텐시노겐 관련 질환"이라는 용어는 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 질환, 장애 또는 병태를 포함한다. 이러한 질환은 전형적으로 높은 혈압과 관련이 있다. 안지오텐시노겐 관련 질환의 비제한적 예로는 고혈압, 예를 들어, 경계성 고혈압 (또한 고혈압 전단계로도 공지됨), 일차성 고혈압

(또한 본태성 고혈압 또는 특발성 고혈압으로도 공지됨), 이차성 고혈압 (또한 비본태성 고혈압으로도 공지됨), 고립성 수축기 또는 이완기 고혈압, 임신 관련 고혈압 (예를 들어, 자간 전증, 자간증, 분만후 자간 전증), 당뇨병성 고혈압, 저항성 고혈압, 불응성 고혈압, 발작성 고혈압, 신혈관성 고혈압 (또한 신성 고혈압이라고도 공지됨), 골드블라트 고혈압, 안구 고혈압, 녹내장, 폐 고혈압, 문맥 고혈압, 전신 정맥 고혈압, 수축기 고혈압, 불안정성 고혈압; 고혈압성 심장 질환, 고혈압성 신병증, 죽상 동맥 경화증, 동맥 경화증, 혈관병증 (말초 혈관 질환 포함), 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 만성 심부전, 심근병증, 당뇨병성 심근병증, 사구체 경화증, 대동맥 축착, 대동맥류, 심실 섬유증, 수면 무호흡증, 심부전 (예를 들어, 좌심실 수축기 기능 장애, 박출률 감소를 동반한 심부전), 심근 경색증, 협심증, 뇌졸중, 신장 질환, 예를 들어, 임의로 임신의 맥락에서의 만성 신장 질환 또는 당뇨병성 신병증, 신부전, 예를 들어, 만성 신부전 및 전신 경화증 (예를 들어, 경피증 신장 위기)이 포함된다. 특정 실시 형태에서, AGT 관련 질환은 자궁내 성장 제한 (IUGR) 또는 태아 성장 제한을 포함한다. 특정 실시 형태에서, AGT 관련 장애는 또한 비만, 간 지방증/지방간, 예를 들어, 비알코올성 지방 간염 (NASH) 및 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD); 포도당 불내성, 제2형 당뇨병 및 대사 증후군 및 야간 저혈압을 포함할 수 있다.

- [0173] 높은 혈압에 대한 역치와 고혈압의 단계는 하기에서 상세히 논의된다.
- [0174] 하나의 실시 형태에서, 안지오텐시노겐 관련 질환은 일차성 고혈압이다. "일차성 고혈압"은 환경적 또는 유전적 원인의 결과 (예를 들어, 명백한 근본적인 의학적 원인이 없는 결과)이다.
- [0175] 하나의 실시 형태에서, 안지오텐시노겐 관련 질환은 이차성 고혈압이다. "이차성 고혈압"은 신장, 혈관 및 내분비 원인, 예를 들어, 신장 실질 질환 (예를 들어, 다낭성 신장, 사구체 또는 간질 질환), 신장 혈관 질환 (예를 들어, 신동맥 협착증, 섬유근성 이행성증), 내분비 장애 (예를 들어, 부신 피질 스테로이드 또는 무기질 코르티코이드 과잉, 크롬 친화 세포종, 갑상선 기능 항진증 또는 갑상선 기능 저하증, 성장 호르몬 과잉, 부갑상선 기능 항진증), 대동맥 축착 또는 경구 피임약 사용을 비롯한 복합 병인을 가질 수 있는 식별 가능한 기저 장애를 가질 수 있다.
- [0176] 하나의 실시 형태에서, 안지오텐시노겐 관련 질환은 임신 관련 고혈압, 예를 들어, 임신의 만성 고혈압, 임신성 고혈압, 자간 전증, 자간증, 만성 고혈압에 중첩된 자간 전증, HELLP 증후군 및 임신성 고혈압 (또한 임신의 일과성 고혈압으로도 공지됨, 임신 후반기에 확인된 만성 고혈압 및 임신 유발성 고혈압 (pregnancy-induced hypertension: PIH))이다. 임신 관련 고혈압에 대한 진단 기준은 하기에서 제공된다.
- [0177] 하나의 실시 형태에서, 안지오텐시노겐 관련 질환은 저항성 고혈압이다. "저항성 고혈압"은 상이한 클래스의 3가지 항고혈압제 (그 중 하나는 티아지드 이뇨제임)의 동시 사용에도 불구하고 목표를 초과하는 혈압 (예를 들어, 130 mmHg 초과 수축기 혈압 또는 90 mmHg 초과 이완기 혈압)을 유지하는 혈압이다. 4가지 이상의 약물로 혈압을 조절하는 대상체도 또한 저항성 고혈압을 갖는 것으로 간주된다.
- [0178] "치료학적 유효량" 또는 "예방적 유효량"은 또한 임의의 치료에 적용 가능한 합리적인 이익/위험 비율로 일부 목적하는 효과를 생성하는 RNAi 작용제의 양을 포함한다. 본 발명의 방법에 사용되는 iRNA는 이러한 치료에 적용 가능한 합리적인 이익/위험 비율을 생성하기에 충분한 양으로 투여될 수 있다.
- [0179] "약제학적으로 허용되는"이라는 문구는, 타당한 의학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 알러지 반응 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 사람 대상체 및 동물 대상체의 조직과의 접촉에 사용하기에 적합하고 합리적인 이익/위험 비율에 부합하는 화합물, 물질, 조성물 또는 투여 형태 (dosage form)를 지칭하도록 본 출원에서 사용된다.
- [0180] 본 출원에서 사용되는 "약제학적으로 허용되는 담체"라는 문구는 하나의 장기 또는 신체의 부위로부터 또 다른 장기 또는 신체의 부위로 화합물을 운반 또는 수송하는데 관여하는 약제학적으로 허용되는 물질, 조성물 또는 비히클, 예를 들어, 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 제조 보조제 (예를 들어, 윤활제, 탈크 마그네슘, 칼슘 또는 아연 스테아레이트 또는 스테아르산) 또는 용매 캡슐화 물질을 의미한다. 각 담체는 제형의 다른 성분과 상용 가능하고 치료될 대상체에게 손상을 주지 않는 의미에서 "허용되어야" 한다. 이러한 담체는 당해 분야에 공지되어 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는 주사에 의한 투여를 위한 담체를 포함한다.
- [0181] 본 출원에서 사용되는 "샘플"이라는 용어는 대상체로부터 단리된 유사한 체액, 세포 또는 조직 뿐만 아니라 대상체 내에 존재하는 체액, 세포 또는 조직의 집합체를 포함한다. 생물학적 유체의 예로는 혈액, 혈청 및 장액, 혈장, 뇌척수액, 안구 유체, 림프액, 소변, 타액 등이 포함된다. 조직 샘플은 조직, 장기 또는 국소 영역 유래의 샘플을 포함할 수 있다. 예를 들어, 샘플은 특정 장기, 장기의 일부, 또는 이러한 장기 내의 체액이나 세포

로부터 유래될 수 있다. 특정 실시 형태에서, 샘플은 간 (예를 들어, 온전한 간 또는 간의 특정 분절 또는 간 중의 특정 유형의 세포, 예를 들어, 간 세포)으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시 형태에서, "대상체로부터 유래된 샘플"은 대상체로부터 수득된 소변을 지칭한다. "대상체로부터 유래된 샘플"은 대상체 유래의 혈액 또는 혈액 유래된 혈청 또는 혈장을 지칭할 수 있다.

II. 본 발명의 방법

본 발명은 안지오텐시노젠 (AGT) 유전자의 발현을 저해하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체 (예를 들어, AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 발병할 위험이 있는 대상체)를 치료하거나 대상체에서 AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 갖는 대상체와 같은 대상체에서 혈압 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 본 출원에서 기재된 바와 같이 고정 용량, 예를 들어, 약 50 mg 내지 약 800 mg의 AGT를 표적화하는 이중 가닥 RNAi 작용제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

따라서, 하나의 양태에서, 본 발명은 대상체에서 안지오텐시노젠 (AGT) 유전자의 발현을 저해하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg, 예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg의 고정 용량의 AGT의 발현을 저해하는 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 상기 인용된 값에 대한 중간 값 및 범위도 또한 본 발명의 일부인 것으로 의도된다.

본 출원에서 사용되는 "저해하는"이라는 용어는 "감소시키는", "침묵시키는", "하향 조절하는", "억제하는" 및 기타 유사 용어와 상호 교환적으로 사용되며, 임의의 저해 수준을 포함한다.

"AGT의 발현을 저해하는"이라는 문구는 AGT 유전자의 변이체 또는 돌연변이체 뿐만 아니라 임의의 AGT 유전자 (예를 들어, 마우스 AGT 유전자, 래트 AGT 유전자, 원숭이 AGT 유전자 또는 사람 AGT 유전자)의 발현의 저해를 지칭하는 것으로 의도된다. 따라서, 상기 AGT 유전자는 유전학적으로 조작된 세포, 세포 그룹 또는 유기체의 맥락에서 야생형 AGT 유전자, 돌연변이체 AGT 유전자 또는 유전자 이식 AGT 유전자일 수 있다.

"AGT 유전자의 발현을 저해하는"는 AGT 유전자의 임의의 저해 수준, 예를 들어, AGT 유전자의 발현의 적어도 부분적 억제를 포함한다. 상기 AGT 유전자의 발현은 AGT 유전자 발현과 관련된 임의의 변수의 수준, 예를 들어, AGT mRNA 수준 또는 AGT 단백질 수준 또는 이들의 변화를 기준으로 평가될 수 있다. 이러한 수준은, 예를 들어, 대상체로부터 유래된 샘플을 비롯하여 개별 세포 또는 세포 그룹에서 평가될 수 있다. AGT는 주로 간에서 발현되지만 뇌, 담낭, 심장 및 신장에서도 또한 발현되며 순환계에 존재하는 것으로 이해된다.

저해는 대조군 수준과 비교하여 AGT 발현과 관련되어 있는 하나 이상의 변수의 절대적 또는 상대적 수준의 감소에 의해 평가될 수 있다. 상기 대조군 수준은 당해 분야에서 사용되는 임의의 유형의 대조군 수준, 예를 들어, 투여 전 기준선 수준, 또는 처리되지 않거나 대조군 (예를 들어, 완충제 단독 대조군 또는 불활성화제 대조군)으로 처리된 유사한 대상체, 세포 또는 샘플로부터 결정된 수준일 수 있다.

본 발명의 방법의 일부 실시 형태에서, AGT 유전자의 발현은 적어도 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95%, 또는 검정의 검출 수준 미만으로 저해된다. 바람직한 실시 형태에서, AGT 유전자의 발현은 적어도 70% 저해된다. 다른 조직, 예를 들어, 뇌에서의 발현의 유의한 저해 없이 특정 조직, 예를 들어, 간에서의 AGT 발현의 저해가 바람직할 수 있는 것으로 추가로 이해된다. 바람직한 실시 형태에서, 발현 수준은 적절한 종 일치 세포주에서 10 nM siRNA 농도로 PCT 출원 PCT/US2019/032150의 실시예 2에 제공된 검정 방법을 사용하여 결정된다.

특정 실시 형태에서, 생체내 발현의 저해는, 예를 들어, 단일 용량으로, 예를 들어, RNA 발현의 최하점에서 3 mg/kg으로 투여될 때, 사람 유전자를 발현하는 설치류, 예를 들어, 사람 표적 유전자 (즉, AGT)를 발현하는 AAV 감염된 마우스에서 사람 유전자의 녹다운에 의해 결정된다. 모델 동물 시스템에서의 내인성 유전자의 발현 녹다운은 또한, 예를 들어, RNA 발현의 최하점에서 3 mg/kg으로 단일 용량의 투여 후 결정될 수 있다. 이러한 시스템은 사람 iRNA가 모델 동물 유전자의 효과적인 녹다운을 제공하도록 사람 유전자와 모델 동물 유전자의 핵산 서열이 충분히 밀접할 때 유용하다. 간에서의 RNA 발현은 PCT 출원 PCT/US2019/032150의 실시예 2에 제공된 PCR 방법을 사용하여 결정된다.

[0191] AGT 유전자의 발현의 저해는 AGT 유전자가 전사되고 처리되거나 처리된 (예를 들어, 세포 또는 세포들을 본 발명의 iRNA와 접촉시킴으로써 또는 본 발명의 iRNA를 세포가 존재하거나 존재한 대상체에게 투여함으로써) 제1 세포 또는 세포 그룹 (이러한 세포는, 예를 들어, 대상체로부터 유래된 샘플 중에 존재할 수 있음)에 의해 발현되는 mRNA의 양의 감소에 의해 나타날 수 있으므로, AGT 유전자의 발현은 제1 세포 또는 세포 그룹과 실질적으로 동일하지만 그렇게 처리되지 않거나 처리되지 않은 제2 세포 또는 세포 그룹 (iRNA로 처리되지 않거나 관심 대상 유전자에 표적화된 iRNA로 처리되지 않은 대조군 세포(들))과 비교하여 저해된다. 바람직한 실시 형태에서, 상기 저해는 종 일치된 세포주에서 10 nM siRNA 농도를 사용하고 하기 수확식을 사용하여 대조군 세포 중의 mRNA 수준의 백분율로서 처리된 세포 중의 mRNA 수준을 발현하는 PCT 출원 PCT/US2019/032150의 실시예 2에 제공된 방법에 의해 평가된다:

$$\frac{(\text{대조군 세포에서 mRNA}) - (\text{처리된 세포에서 mRNA})}{(\text{대조군 세포에서 mRNA})} \cdot 100\%$$

[0192]

[0193] 다른 실시 형태에서, AGT 유전자의 발현 저해는 AGT 유전자 발현에 기능적으로 연결된 파라미터, 예를 들어, 대상체 유래의 혈액 또는 혈청 중의 AGT 단백질 수준의 감소 측면에서 평가될 수 있다. AGT 유전자 침묵은 발현 작제물로부터 내인성 또는 이중성의 AGT를 발현하는 임의의 세포에서 당해 분야에 공지된 임의의 검정에 의해 결정될 수 있다.

[0194] AGT 단백질의 발현 저해는 세포 또는 세포 그룹에 의해 또는 대상체 샘플에서 발현되는 AGT 단백질의 수준 (예를 들어, 대상체로부터 유래된 혈액 샘플 중의 단백질 수준)의 감소로 나타날 수 있다. 상기에서 설명한 바와 같이, mRNA 억제의 평가를 위해, 처리된 세포 또는 세포 그룹에서의 단백질 발현 수준의 저해는 유사하게 대조군 세포 또는 세포 그룹에서 단백질 수준의 백분율 또는 대상체 샘플, 예를 들어, 혈액 또는 이로부터 유래된 혈청에서 단백질 수준의 변화로서 유사하게 표현될 수 있다.

[0195] AGT 유전자의 발현 저해를 평가하는데 사용될 수 있는 대조군 세포, 세포 그룹 또는 대상체 샘플은 아직 본 발명의 RNAi 작용제와 접촉되지 않은 세포, 세포 그룹 또는 대상체 샘플을 포함한다. 예를 들어, 상기 대조군 세포, 세포 그룹 또는 대상체 샘플은 RNAi 작용제 또는 적절하게 일치된 집단 대조군에 의한 대상체의 처리 전에 개별 대상체 (예를 들어, 사람 또는 동물 대상체)로부터 유래될 수 있다.

[0196] 세포 또는 세포 그룹에 의해 발현되는 AGT mRNA의 수준은 mRNA 발현을 평가하기 위해 당해 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 하나의 실시 형태에서, 샘플 중 AGT의 발현 수준은 전사된 폴리뉴클레오타이드 또는 이의 일부, 예를 들어, AGT 유전자의 mRNA를 검출함으로써 결정된다. RNA는, 예를 들어, 산 페놀/구아니딘 이소티오시아네이트 추출 (RNAzol B; Biogenesis), RNeasyTM RNA 제조 키트 (Qiagen®) 또는 PAXgeneTM (PreAnalytixTM, Switzerland)을 사용하는 것을 비롯하여 RNA 추출 기술을 사용하여 세포로부터 추출될 수 있다. 리보핵산 하이브리드화를 사용하는 전형적인 검정 형식은 핵 런-온 (run-on) 검정, RT-PCR, RNase 보호 검정, 노던 블롯팅, 제자리 하이브리드화 및 마이크로어레이 분석을 포함한다.

[0197] 일부 실시 형태에서, AGT의 발현 수준은 핵산 프로브를 사용하여 결정된다. 본 출원에서 사용되는 "프로브"라는 용어는 특정 AGT에 선택적으로 결합할 수 있는 임의의 분자를 지칭한다. 프로브는 당해 분야의 통상의 기술자에 의해 합성될 수 있거나 적당한 생물학적 제제로부터 유래될 수 있다. 프로브는 특이적으로 라벨링되도록 설계될 수 있다. 프로브로서 사용될 수 있는 분자의 예로는 RNA, DNA, 단백질, 항체 및 유기 분자가 포함되지만, 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0198] 단리된 mRNA는 서던 또는 노던 분석, 폴리머라아제 연쇄 반응 (polymerase chain reaction: PCR) 분석 및 프로브 어레이를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 하이브리드화 또는 증폭 검정에 사용될 수 있다. mRNA 수준의 결정을 위한 하나의 방법은 단리된 mRNA를 AGT mRNA에 하이브리드화할 수 있는 핵산 분자 (프로브)와 접촉시키는 것을 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 예를 들어, 상기 단리된 mRNA를 아가로오스 겔 상에 전개시키고 겔로부터의 mRNA를 니트로셀룰로오스와 같은 막에 전달함으로써 상기 mRNA를 고체 표면 상에 고정시키고 프로브와 접촉시킨다. 대안적인 실시 형태에서, 상기 프로브(들)를 고체 표면 상에 고정화시키고, 예를 들어, Affymetrix® 유전자 칩 어레이에서 상기 mRNA를 프로브(들)와 접촉시킨다. 통상의 기술자는 AGT mRNA의 수준을 결정하는데 사용하기 위해 공지된 mRNA 검출 방법을 용이하게 채택할 수 있다.

[0199] 샘플 중의 AGT의 발현 수준을 결정하기 위한 대체 방법은, 예를 들어, RT-PCR (Mullis, 1987, 미국 특허 US

4,683,202에 제시된 실험 실시 형태), 리가아제 연쇄 반응 (문헌 [Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189-193]), 자가 지속적 서열 복제 (문헌 [Guatelli *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878]), 전사 증폭 시스템 (문헌 [Kwoh *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177]), Q-베타 레플리카아제 (문헌 [Lizardi *et al.* (1988) *Bio/Technology* 6:1197]), 롤링 서클 복제 (Lizardi 등, 미국 특허 US 5,854,033) 또는 임의의 다른 핵산 증폭 방법에 이어서, 당해 분야의 통상의 기술자들에게 널리 공지된 기술을 사용하는 증폭된 분자의 검출에 의해, 샘플 중에서, 예를 들어, mRNA의 핵산 증폭 또는 역전사 효소 (cDNA를 제조하기 위함)의 과정을 포함한다. 이러한 검출 계획은, 핵산 분자가 매우 적은 수로 존재하는 경우, 핵산 분자의 검출에 특히 유용하다. 본 발명의 특별한 양태에서, AGT의 발현 수준은 정량적 형광원성 RT-PCR (즉, TaqMan™ 시스템)에 의해 결정된다. 바람직한 실시 형태에서, 발현 수준은 종 일치 세포주에서 10 nM siRNA 농도를 사용하여 PCT 출원 PCT/US2019/032150의 실시예 2에 제공된 방법에 의해 결정된다.

[0200] AGT 단백질 발현의 수준은 단백질 수준의 측정에 대해 당해 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 이러한 방법은, 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피 (high performance liquid chromatography: HPLC), 흡수 분광법, 비색 검정, 분광 광도 측정 검정, 유세포 측정, 면역 전기 영동, 웨스턴 블롯팅, 방사선 면역 검정 (radioimmunoassay: RIA), 효소 결합 면역 흡착 검정 (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), 면역 형광 검정, 전기 화학 발광 검정 등을 포함한다.

[0201] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 방법의 효능은 (예를 들어, 간 생검에서) AGT mRNA 또는 단백질 수준의 감소에 의해 평가된다. 특정 실시 형태에서, 천자 간 생검 샘플은 AGT 유전자 또는 단백질 발현의 감소를 모니터링하기 위한 조직 물질의 역할을 한다. 다른 실시 형태에서, 혈액 샘플은 agt 단백질 발현의 감소를 모니터링하기 위한 대상체 샘플의 역할을 한다.

[0202] 본 발명의 방법의 일부 실시 형태에서, 상기 iRNA는 iRNA가 대상체 내의 특정 부위에 전달되도록 대상체에게 투여된다. AGT의 발현 저해는 대상체 내의 특정 부위로부터의 유체 또는 조직 (예를 들어, 간 또는 혈액)으로부터 유래된 샘플 중의 AGT mRNA 또는 agt 단백질의 수준 또는 수준의 변화의 측정을 사용하여 평가될 수 있다.

[0203] 본 출원에서 사용되는 분석물의 수준을 검출 또는 결정하는이라는 용어는 물질, 예를 들어, 단백질, RNA가 존재하는지 여부를 결정하기 위한 단계를 수행하는 것을 의미하는 것으로 이해된다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 검출 또는 결정하는 방법은 사용된 방법에 대한 검출 수준 미만인 임의의 분석물 수준의 검출 또는 측정을 포함한다.

[0204] 또 다른 양태에서, 본 발명은 AGT 관련 장애, 예를 들어, 높은 혈압, 예를 들어, 고혈압을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg, 예를 들어, 약 50~200 mg, 약 200~400 mg, 약 400~800 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg의 고정 용량의 AGT의 발현을 저해하는 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 상기 인용된 값에 대한 중간 값 및 범위도 또한 본 발명의 일부인 것으로 의도된다.

[0205] 일부 실시 형태에서, 상기 AGT 관련 장애는 높은 혈압, 고혈압, 경계성 고혈압, 일차성 고혈압, 이차성 고혈압, 고립성 수축기 또는 이완기 고혈압, 임신 관련 고혈압, 당뇨병성 고혈압, 저항성 고혈압, 불응성 고혈압, 발작성 고혈압, 신혈관성 고혈압, 골드블라트 고혈압, 안구 고혈압, 녹내장, 폐 고혈압, 문맥 고혈압, 전신 정맥 고혈압, 수축기 고혈압, 불안정성 고혈압; 고혈압성 심장 질환, 고혈압성 신병증, 죽상 동맥 경화증, 동맥 경화증, 혈관병증, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 만성 심부전, 심근병증, 당뇨병성 심근병증, 야간 저혈압, 사구체 경화증, 대동맥 축착, 대동맥류, 심실 섬유증, 심부전, 심근 경색, 협심증, 뇌졸중, 신장 질환, 신부전, 전신 경화증, 자궁내 성장 제한 (IUGR), 태아 성장 제한, 비만, 간 지방증/지방간, 비알코올성 지방 간염 (NASH), 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD); 포도당 불내성, 제2형 당뇨병 및 대사 증후군으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0206] 하나의 실시 형태에서, 상기 AGT 관련 장애는 고혈압이다. 하나의 실시 형태에서, 상기 고혈압은 경계성 고혈압, 일차성 고혈압, 이차성 고혈압, 고립성 수축기 또는 이완기 고혈압, 임신 관련 고혈압, 당뇨병성 고혈압, 저항성 고혈압, 불응성 고혈압, 발작성 고혈압, 신혈관성 고혈압, 골드블라트 고혈압, 안구 고혈압, 녹내장, 폐 고혈압, 문맥 고혈압, 전신 정맥 고혈압, 수축기 고혈압, 불안정성 고혈압; 고혈압성 심장 질환 또는 고혈압성 신병증이다.

[0207] 추가의 양태에서, 본 발명은 AGT 발현의 감소로부터 이익을 얻을 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg, 예를 들어, 약 50~200 mg, 약 200~400 mg, 약 400~800 mg, 예를 들어, 약 50,

100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg의 고정 용량의 AGT의 발현을 저해하는 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 상기 인용된 값에 대한 중간 값 및 범위도 또한 본 발명의 일부인 것으로 의도된다.

[0208] 추가의 양태에서, 본 발명은 대상체에서 혈압 수준, 예를 들어, 수축기 혈압 및/또는 확장기 혈압을 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 약 50 mg 내지 약 800 mg, 예를 들어, 약 50~200 mg, 약 200~400 mg, 약 400~800 mg, 예를 들어, 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg의 고정 용량의 AGT의 발현을 저해하는 이중 가닥 리보핵산 (RNAi) 작용제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 상기 인용된 값에 대한 중간 값 및 범위도 또한 본 발명의 일부인 것으로 의도된다.

[0209] 본 발명의 방법에서, 세포, 예를 들어, 사람 대상체 (예를 들어, 이를 필요로 하는 대상체, 예를 들어, AGT 관련 장애를 갖는 대상체)와 같은 대상체 내의 세포는 시험관 내에서 또는 생체 내에서 siRNA와 접촉될 수 있는데, 즉, 상기 세포는 대상체 내에 있을 수 있다.

[0210] 본 발명의 방법을 사용하는 치료에 적합한 세포는 AGT 유전자를 발현하는 임의의 세포, 예를 들어, 간 세포, 뇌 세포, 담낭 세포, 심장 세포 또는 신장 세포일 수 있지만, 바람직하게는 간 세포일 수 있다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 세포는 포유 동물 세포, 예를 들어, 영장류 세포 (예를 들어, 키메라 비사람 동물에서의 사람 세포를 비롯한 사람 세포, 또는, 예를 들어, 원숭이 세포 또는 침팬지 세포), 또는 비영장류 세포일 수 있다. 특정 실시 형태에서, 상기 세포는 사람 세포, 예를 들어, 사람 간 세포이다. 본 발명의 방법에서, AGT 발현은 상기 세포에서 적어도 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95%, 또는 검정의 검출 수준 미만의 수준으로 저해된다.

[0211] 하나의 실시 형태에서, AGT를 표적화하는 dsRNA 작용제는, 예를 들어, 대상체의 세포, 조직, 혈액, 소변 또는 기타 조직 또는 체액 중의 AGT 수준이 적어도 약 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 62%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상 감소되도록 상기 대상체에게 투여된다.

[0212] 또 다른 실시 형태에서, AGT를 표적화하는 dsRNA 작용제는 대상체의 혈압 수준, 예를 들어, 수축기 혈압 및/또는 이완기 혈압이 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 mmHg 또는 그 이상 감소되도록 대상체에게 투여된다.

[0213] 본 발명의 방법 및 용도에 따른 dsRNA 작용제의 투여는 원발성 고옥살산뇨증 환자에서 이러한 질환 또는 장애의 중증도, 징후, 증상 및/또는 마커의 감소를 초래할 수 있다. 이러한 맥락에서의 "감소"는 이러한 수준의 통계상으로 유의한 감소를 의미한다. 상기 감소는, 예를 들어, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 약 100%일 수 있다.

[0214] 질환의 치료 또는 예방의 효능은, 예를 들어, 질환 진행, 질환 관해, 증상 중증도, 통증 감소, 삶의 질, 치료 효과를 지속하는데 필요한 약물의 용량, 질환 마커의 수준, 또는 치료되거나 예방을 위해 표적화되는 주어진 질환에 적절한 다른 측정 가능한 임의의 파라미터를 측정하여 평가될 수 있다. 이러한 파라미터들 중 어느 하나 또는 파라미터들의 임의의 조합을 측정하여 치료 또는 예방의 효능을 모니터링하는 것은 당해 분야의 통상의 기술자의 능력 이내이다. 예를 들어, 원발성 고옥살산뇨증의 치료 효능은, 예를 들어, 치료되는 대상체에서 옥살레이트 수준의 주기적 모니터링에 의해 평가될 수 있다. 초기 측정값과 나중 측정값의 비교는 의사에게 치료가 효과적인지 여부에 대한 지표를 제공한다. 이러한 파라미터 또는 파라미터들의 임의의 조합을 측정하여 치료 또는 예방의 효능을 모니터링하는 것은 당해 분야의 통상의 기술자의 능력 이내이다. AGT를 표적화하는 dsRNA 작용제 또는 이의 약제학적 조성물의 투여와 관련하여, 원발성 고옥살산뇨증"에 대해 효과적인"은 임상적으로 적절한 방식으로의 투여가 환자의 적어도 통계상으로 유의한 일부에 대한 유의한 효과, 예를 들어, 증상의 개선, 치유, 질환 감소, 수명 연장, 삶의 질 개선, 또는 원발성 고옥살산뇨증 및 관련 원인의 치료에 정통한 의사에 의해 긍정적인 것으로 일반적으로 인정되는 기타 효과를 초래한다는 것을 나타낸다.

[0215] 치료 또는 예방 효과는 질환 상태의 하나 이상의 파라미터의 통계상으로 유의한 개선, 또는 예상될 수 있는 증상의 악화 또는 발병의 실패가 존재할때 명백하다. 일례로, 질환의 측정가능한 파라미터의 적어도 10% 및 바람직하게는 적어도 20%, 30%, 40%, 50% 또는 그 이상의 유리한 변화는 효과적인 치료의 지표가 될 수 있다. 주어진

dsRNA 작용제 약물 또는 이러한 약물의 제형의 효능은 또한 당해 분야에 공지된 바와 같은 주어진 질환에 대한 실험용 동물 모델을 사용하여 판단될 수 있다. 실험 동물 모델을 사용할 때, 치료 효능은 마커 또는 증상의 통계상으로 유의한 감소가 관찰될 때 입증된다.

- [0216] 예를 들어, 적절한 척도를 사용하여 측정된 질환의 중증도의 감소를 초래하는 임의의 양성 변화는 본 출원에 기재된 바와 같은 RNAi 작용제 또는 RNAi 작용제 제형을 사용하는 적절한 치료를 나타낸다.
- [0217] 본 발명의 생체내 방법은 iRNA를 함유하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있는데, 여기서, 상기 iRNA는 RNAi 작용제가 투여되어야 하는 포유 동물의 AGT 유전자의 RNA 전사물의 적어도 일부에 대해 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 상기 조성물은 경구, 복강내 또는 비경구 경로, 예를 들어, 두개내 (예를 들어, 뇌실내, 실질내 및 척수강내), 정맥내, 근육내, 피하, 경피, 기도 (에어로졸), 비강, 직장 및 국소 (협착 및 설하 포함) 투여를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 당해 분야에 공지된 임의의 수단에 의해 투여될 수 있다. 특정 실시 형태에서, 상기 조성물은 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여된다. 특정 실시 형태에서, 상기 조성물은 피하 주사에 의해 투여된다. 특정 실시 형태에서, 상기 조성물은 근육내 주사에 의해 투여된다.
- [0218] 일부 실시 형태에서, 상기 투여는 데포 주사를 통해 이루어진다. 데포 주사는 장기간에 걸쳐 일관된 방식으로 RNAi 작용제를 방출할 수 있다. 따라서, 데포 주사는 목적하는 효과, 예를 들어, 목적하는 AGT 저해, 또는 치료학적 또는 예방적 효과를 수득하는데 필요한 투여의 빈도를 감소시킬 수 있다. 데포 주사는 또한 보다 일관된 혈청 농도를 제공할 수 있다. 데포 주사는 피하 주사 또는 근육내 주사를 포함할 수 있다. 바람직한 실시 형태에서, 상기 데포 주사는 피하 주사이다.
- [0219] 일부 실시 형태에서, 상기 투여는 펌프를 통해 이루어진다. 상기 펌프는 외부 펌프 또는 수술적으로 이식된 펌프일 수 있다. 특정 실시 형태에서, 상기 펌프는 피하 이식된 삼투압 펌프이다. 다른 실시 형태에서, 상기 펌프는 주입 펌프이다. 주입 펌프는 정맥내, 피하, 동맥 또는 경막의 주입을 위해 사용될 수 있다. 바람직한 실시 형태에서, 상기 주입 펌프는 피하 주입 펌프이다. 다른 실시 형태에서, 상기 펌프는 RNAi 작용제를 간에 전달하는 수술적으로 이식된 펌프이다.
- [0220] 기타 투여 방식은 경막외, 뇌내, 뇌실내, 비강 투여, 동맥내, 심장내, 골내 주입, 척수강내 및 유리체내 및 폐를 포함한다. 상기 투여 방식은 국소 또는 전신 치료가 요구되는지 여부 및 치료될 부위에 기초하여 선택될 수 있다. 상기 투여 경로 및 부위는 표적화를 증진시키도록 선택될 수 있다.
- [0221] iRNA는 바람직하게는 피하, 즉, 피하 주사에 의해 투여된다. 하나 이상의 주사를 사용하여 목적하는 용량의 iRNA를 대상체에게 전달할 수 있다. 상기 주사는 일정 기간에 걸쳐 반복될 수 있다.
- [0222] 상기 투여는 정기적으로 반복될 수 있다. 특정 실시 형태에서, 상기 iRNA는 월 약 1회 내지 분기 당, 즉, 약 3개월 마다 약 1회, 또는 분기 당 약 1회 내지 연간 약 2회, 즉, 6개월 마다 약 1회 투여된다. 특정 실시 형태에서, 상기 iRNA는 월 1회 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 iRNA는 3개월 마다 또는 분기 당 1회 투여된다. 더 또 다른 실시 형태에서, 상기 iRNA는 6개월 마다 또는 반년 마다 투여된다.
- [0223] 본 발명의 dsRNA 작용제는 "네이키드 (naked)" 형태로, 또는 "유리 dsRNA 작용제"로서 투여될 수 있다. 네이키드 dsRNA 작용제는 약제학적 조성물의 부재하에 투여된다. 상기 네이키드 dsRNA 작용제는 적절한 완충 용액 중에 존재할 수 있다. 상기 완충 용액은 아세테이트, 시트레이트, 프롤라민, 카보네이트 또는 포스페이트 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 하나의 실시 형태에서, 상기 완충 용액은 포스페이트 완충 식염수 (PBS)이다. dsRNA 작용제를 함유하는 완충 용액의 pH 및 삼투질 농도는 대상체에게 투여하기에 적합하도록 조정될 수 있다.
- [0224] 대안으로, 본 발명의 iRNA는 dsRNA 리포솜 제형과 같은 약제학적 조성물로서 투여될 수 있다. 상기 RNAi 작용제는 완충되지 않은 용액 중의 약제학적 조성물로서 투여될 수 있다. 상기 완충되지 않은 용액은 염수 또는 물을 포함할 수 있다. 대안으로, 상기 RNAi 작용제는 완충 용액 중의 약제학적 조성물로서 투여될 수 있다. 상기 완충 용액은 아세테이트, 시트레이트, 프롤라민, 카보네이트 또는 포스페이트 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 하나의 실시 형태에서, 상기 완충 용액은 포스페이트 완충 식염수 (PBS)이다.
- [0225] AGT 유전자 발현의 저해로부터 이익을 얻을 대상체는 AGT 관련 질환 또는 장애, 예를 들어, 높은 혈압, 예를 들어, 고혈압에 걸리기 쉽거나 이로 진단된 대상체이다. 상기 대상체는 적어도 130, 135, 140, 145, 150, 155 또는 160 mmHg의 수축기 혈압 또는 적어도 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110 mmHg의 이완기 혈압을 가질 수 있다. 상기 대상체는 염 민감성, 과체중, 비만, 임신 또는 임신 계획에 취약할 수 있다. 상기 대상체는 제2형

당뇨병, 제1형 당뇨병을 갖거나 감소된 신장 기능을 가질 수 있다.

[0226] 상기 방법은 고혈압 치료를 위한 추가의 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 조합 치료로서 사용하기 위한 예시적인 치료제로는 이뇨제, 안지오텐신 전환 효소 (ACE) 억제제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, 베타-차단제, 혈관 확장제, 칼슘 채널 차단제, 알도스테론 길항제, 알파2 항진제, 레닌 억제제, 알파-차단제, 말초 작용 아드레날린 작용제, 선택적 D1 수용체 부분 항진제, 비선택적 알파-아드레날린 길항제, 합성, 스테로이드성 항미네랄로코르티코이드 작용제; 전술한 것들의 임의의 조합; 및 작용제의 조합으로서 제형화된 고혈압 치료제가 포함될 수 있지만, 이들에 한정되는 것은 아니다. 일부 실시 형태에서, 상기 추가의 치료제는 안지오텐신 II 수용체 길항제, 예를 들어, 로사르탄, 발사르탄, 올메사르탄, 에프로사르탄 및 아질사르탄을 포함한다.

[0227] 본 발명의 방법에 따른 iRNA의 투여는 AGT 관련 장애 장애, 예를 들어, 높은 혈압, 예를 들어, 고혈압의 예방 또는 치료를 초래할 수 있다. 다양한 유형의 높은 혈압에 대한 진단 기준은 하기에서 제공된다.

[0228] III. 고혈압에 대한 진단 기준, 위험 요인 및 치료

[0229] 최근, 고혈압의 예방 및 치료에 대한 진료 지침이 개정되었다. 광범위한 보고서가 공개되었다 (문헌 [Reboussin *et al.*, Systematic Review for the 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol. 2017 Nov 7. pii: S0735-1097(17)41517-8. doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.004]; 및 [Whelton *et al.*, 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol. 2017 Nov 7. pii: S0735-1097(17)41519-1. doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.006]). 새로운 지침의 일부 주요 사항은 하기에서 제공된다. 그러나, 상기 지침은 본 출원을 제출할 당시에 고혈압에 대한 진단 및 모니터링 기준 및 치료에 관한 당해 분야의 통상의 기술자들의 지식을 제공하는 것으로 이해되어야 하며, 본 출원에 참조로 포함된다.

[0230] A. 진단 기준

[0231] 지속적인 연관성이 높은 혈압과 심혈관계 질환 위험 증가 사이에 있지만, 임상 및 공중 보건 의사 결정을 위해 혈압 수준을 범주화하는 것이 유용하다. 혈압은 의료 환경에서 측정된 평균 혈압 (사무실 혈압)을 기준으로 다음과 같이 4 단계로 범주화될 수 있다: 하기 표에 나타난 바와 같이, 정상, 상승, 단계 1 또는 단계 2 고혈압 (문헌 [Whelton *et al.*, 2017]).

혈압 범주	수축기 혈압		이완기 혈압
정상	<120 mmHg	및	<80 mmHg
상승	120~129 mmHg	및	<80 mmHg
고혈압*			
단계 1	130~139 mmHg	또는	80~89 mmHg
단계 2	≥140 mmHg	또는	≥90 mmHg

[0232]

[0233] * 수축기 혈압과 이완기 혈압의 2가지 범주에 속하는 개체는 보다 높은 혈압 범주로 지정되어야 한다.

[0234] 혈압은 2회 이상 획득된 2회 이상의 주의 깊은 판독 값의 평균을 기준으로 한 혈압을 나타낸다. 주의 깊은 혈압 판독값을 획득하기 위한 모범 사례는 문헌 [Whelton *et al.*, 2017]에 상세히 설명되어 있으며, 당해 분야에 공지되어 있다.

[0235] 이러한 범주화는 JNC 7 보고서 (문헌 [Chobanian *et al.*; the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Hypertension. 2003;42:1206-52])에서 이전에 권장된 것과는 상이한데, 단계 1 고혈압은 현재 130~139 수축기 혈압 (SBP) mmHg 또는 80~89 mmHg의 이완기 혈압 (DBP) 으로서 정의되며, 본 문서의 단계 2 고혈압은 JNC 7 보고서의 단계 1과 단계 2에 상응한다. 이러한 범주화에 대한 근거는 SBP/DBP와 심혈관계 질환 위험 사이의 연관성과 관련된 관찰 데이터, 혈압을 낮추기 위한 생활 방식 교정에 대한 무작위 임상 시험, 및 심혈관계 질환을 예방하기 위한 항고혈압 약물 치료에 대한 무작위 임상

시험을 기반으로 한다.

[0236] 단계 2 고혈압을 갖는 성인에서의 심혈관계 질환의 위험 증가는 잘 확립되어 있다. 점점 더 많은 개별 연구와 관찰 데이터에 대한 메타 분석은 정상 혈압에서부터 상승 혈압 및 단계 1 고혈압으로 가면서 점진적으로 보다 높은 심혈관계 질환 위험의 기울기를 보고하였다. 이러한 많은 메타 분석에서, 관상 동맥 심장 질환 및 뇌졸중의 위험 비는 120~129/80~84 mmHg 대 <120/80 mmHg의 SBP/DBP의 비교에 대해 1.1 내지 1.5 및 130~139/85~89 mmHg 대 <120/80 mmHg의 SBP/DBP의 비교에 대해 1.5 내지 2.0이었다. 이러한 위험 구배는 성별 및 인종/민족으로 정의된 하위 그룹에서 일관되었다. 고혈압과 관련된 심혈관계 질환 위험의 상대적 증가는 약화되었지만 노인들 사이에서는 여전히 존재한다. 생활 방식 교정과 약리학적 항고혈압 치료는 상승 혈압 및 단계 1 및 2 고혈압을 갖는 개체에게 권장된다. 혈압이 치료에 의해 정상화되지 않더라도, 상승 혈압의 단계의 감소에 의해 임상적 이점을 수득할 수 있다.

[0237] B. 위험 요인

[0238] 고혈압은 유전, 생활 방식, 식습관 및 이차 위험 요인을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 요인의 조합으로 인해 발생하는 복합 질환이다. 고혈압은 또한 임신과 관련될 수 있다. 고혈압의 복합 특성으로 인해 고혈압 치료를 위해 여러 개입이 필요할 수 있음을 이해한다. 또한, 식습관과 생활 방식의 교정을 비롯한 비약리학적 개입은 고혈압의 예방 및 치료에 유용할 수 있다. 또한, 개입은 개체에서 혈압을 완전히 정상화하지 않고도 임상적 이점을 제공할 수 있다.

[0239] 1. 유전적 위험 요인

[0240] 글루코코르티코이드 치료 가능한 알도스테론증, 리들 증후군, 고든 증후군, 및 단일 유전자 돌연변이가 고혈압의 병태 생리학을 완전히 설명하는 기타와 같은 여러 단일 유전자 형태의 고혈압이 확인되었으며, 이러한 장애는 드물다. 혈압과 고혈압에 기여하는 공지된 유전적 변이체의 현재 표는 25개 초과와 희귀 돌연변이와 120개 단일 뉴클레오타이드 다형태를 포함한다. 그러나, 유전적 요인이 일부 개체에서 고혈압에 기여할 수 있지만, 유전적 변이는 혈압 가변성의 약 3.5%만을 설명하는 것으로 추정된다.

[0241] 2. 식습관 및 알코올 소비

[0242] 고혈압을 유발하는 일반적인 환경 및 생활 방식 위험 요인은 열악한 식습관, 불충분한 신체 활동 및 과도한 알코올 소비를 포함한다. 이러한 요인은 사람이 과체중 또는 비만으로 되도록 하여 고혈압을 발병하거나 악화시킬 가능성을 추가로 증가시킬 수 있다. 상승 혈압은 증가된 허리 대 엉덩이 비율 또는 중심성 지방 분포의 다른 측정과 보다 더 강력한 상관 관계가 있다. 젊은 연령의 비만과 지속적인 비만은 노년기의 고혈압과 강력한 상관 관계가 있다. 정상 체중의 도달은 높은 혈압을 발병할 위험을 비만 경험이 없는 사람의 수준으로 감소시킬 수 있다.

[0243] 나트륨, 칼륨, 마그네슘 및 칼슘의 섭취도 또한 혈압에 상당한 영향을 미칠 수 있다. 나트륨 섭취는 혈압과 양성적인 상관 관계가 있으며, 혈압의 연령 관련 상승의 많은 부분을 설명한다. 특정 그룹은 흑인 및 노인 (≥ 65세)을 포함한 다른 그룹 및 보다 높은 수준의 혈압 또는 만성 신장 질환, 당뇨병 또는 대사 증후군과 같은 동반 질환을 갖는 그룹 보다 나트륨 섭취 증가에 더 민감하다. 전체적으로, 이러한 그룹은 모든 미국 성인의 절반 이상을 구성한다. 염 민감성은 혈압과 무관하게 심혈관계 질환 및 모든 원인 사망률의 증가에 대한 지표일 수 있다. 현재, 염 민감성의 인식 기술은 임상 환경에서 비실용적이다. 따라서, 염 민감성은 그룹 특성으로서 가장 잘 고려된다.

[0244] 칼륨 섭취는 혈압 및 뇌졸중과 역으로 관련되며, 보다 높은 수준의 칼륨은 혈압에 대한 나트륨의 영향을 둔감하게 하는 것으로 보인다. 보다 낮은 나트륨-칼륨 비는 자체적으로 상응하는 나트륨 또는 칼륨의 수준에 대해 기록된 것 보다 낮은 혈압과 관련이 있다. 유사한 관찰이 심혈관계 질환의 위험에 대해서 이루어졌다.

[0245] 알코올 소비는 장기간 높은 혈압과 관련이 있다. 미국에서, 알코올 소비는 고혈압 인구 부담 중 약 10%를 차지하는 것으로 추정되며, 상기 부담은 여성보다 남성에서 더 크다.

[0246] 식습관 또는 알코올 소비의 변화는 고혈압의 예방 또는 치료의 한 양태일 수 있는 것으로 이해된다.

[0247] 3. 신체 활동

[0248] 신체 활동/신체 건강과 혈압 수준 사이에는 잘 확립된 역 상관 관계가 있다. 심지어 적당한 수준의 신체 활동은 고혈압을 감소시키는데 유익한 것으로 입증되었다.

[0249] 신체 활동의 증가는 고혈압의 예방 또는 치료의 한 양태일 수 있는 것으로 이해된다.

[0250] 4. 이차 위험 요인

[0251] 이차성 고혈압은 심각한 혈압 상승, 약리학적 저항성 고혈압, 고혈압의 돌발성 발병, 약물 요법으로 이전에 조절되었던 고혈압 환자의 혈압 상승, 노인에서 이완기 고혈압의 발병, 및 고혈압의 기간 또는 중증도와 균형이 맞지 않는 표적 장기 손상의 기저를 이룰 수 있다. 혈압 상승을 갖는 젊은 환자 (< 30세)에서 이차성 고혈압을 의심해야 하지만, 젊은 연령, 특히, 흑인에서 나타나는 일차성 고혈압은 드문 일이 아니며, 신혈관 질환과 같은 이차성 고혈압의 일부 형태는 고령 (≥ 65 세)에서 보다 흔하다. 이차성 고혈압의 많은 원인은 특정 장애를 시사하는 임상 소견 또는 소견 그룹과 강력하게 관련되어 있다. 이러한 경우, 기저 병태의 치료는 전형적으로 고혈압의 치료에 사용되는 작용제를 투여하지 않고 혈압 상승의 소견을 해결할 수 있다.

[0252] 5. 임신

[0253] 임신은 높은 혈압에 대한 위험 요인이며, 임신 중의 높은 혈압은 심혈관계 질환과 노년기 고혈압의 위험 요인이다. 임신 관련 고혈압에 대한 보고서가 미국 산부인과 학회 (American College of Obstetrics and Gynecology: ACOG)에 의해 2013년에 공개되었다 (문헌 [American College of Obstetricians and Gynecologists, Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. Obstet Gynecol. 2013;122:1122-31]). 상기 보고서의 일부 주요 사항은 하기에서 제공된다. 그러나, 상기 보고서는 본 출원을 제출할 당시에 임신 중의 고혈압에 대한 진단 및 모니터링 기준 및 치료에 관한 당해 분야의 통상의 기술자들의 지식을 제공하는 것으로 이해되어야 하며, 본 출원에 참조로 포함된다.

[0254] 자간 전증에 대한 진단 기준은 하기 표에서 제공된다 (2013년 ACOG 보고서의 표 1).

혈압	- 이전에 정상 혈압을 가졌던 여성에서 임신의 20 주 후 적어도 4 시간 간격으로 2 회의 ≥ 140 mmHg 수축기 또는 ≥ 90 mmHg 이완기 - ≥ 160 mmHg 수축기 또는 ≥ 110 mmHg 이완기, 고혈압이 적시 항고혈압 요법을 용이하게 하기 위해 짧은 간격 (분) 내에 확인될 수 있음
및	
단백뇨	- 24 시간 소변 수집 당 ≥ 300 mg (또는 일정 시간 수집을 위해 의심된 이러한 양) 또는 - 단백질/크레아티닌 비 ≥ 0.3 (각각 mg/dL 로서 측정됨)
또는 단백뇨의 부재하에, 하기 중 새로운 발병을 동반하는 고혈압의 새로운 발병:	
혈소판 감소증	- 혈소판 수 $\leq 100,000$ /마이크로리터
신장 기능 부전	- ≥ 1.1 mg/dL 의 혈청 크레아티닌 농도 또는 다른 신장 질환의 부재하의 혈청 크레아티닌 농도의 2 배
간 기능 손상	- 간 트랜스아미나아제가 정상 농도의 2 배로 되는 경우, 혈중 농도 상승
폐 부종	
뇌 또는 육안 증상	

[0255]

[0256] 임신 중의 혈압 관리는 ACE 억제제 및 ARB를 비롯한 일반적으로 사용되는 많은 항고혈압제가 태아에 대한 잠재적 유해 때문에 임신 동안 금기된다는 사실로 인해 복잡하다. 임신 동안 항고혈압 치료의 목표는 중증 고혈압의 예방과 태아가 출산 전에 성숙할 수 있도록 임신을 연장하는 가능성을 포함한다. 임신 관련 중증 고혈압 치료에 대한 검토는 특정 작용제를 권장하기에 불충분한 증거를 발견하였으며; 오히려, 임상적 경험의 이러한 환경에서 권장되었다 (문헌 [Duley L, Meher S, Jones L. Drugs for treatment of very high blood pressure during pregnancy. Cochrane Database Syst Rev. 2013;7:CD001449]).

[0257] C. 치료

[0258] 높은 혈압의 치료는, 대상체가 또한 치료를 받고 있을 수 있는 감소된 신장 기능을 종종 포함하여 다른 동반 질환과 함께 자주 나타나기 때문에 복잡하다. 높은 혈압을 갖는 성인을 관리하는 임상적 경험의 전반적인 환자 건강에 중점을 두어야 하며, 특히 향후 심혈관계 질환의 부작용 위험을 감소시키는데 중점을 두어야 한다. 모든 환자의 위험 요인은 비약리학적 및 약리학적 전략의 포괄적 세트와 함께 통합된 방식으로 관리되어야 한다. 환자의

혈압과 향후 심혈관계 질환 사례의 위험이 증가함에 따라, 혈압 관리는 강화되어야 한다.

[0259]

혈압 수준 단독에 기초하는 혈압 강하 약물에 의한 높은 혈압의 치료가 비용 효과적인 것으로 간주되는 반면, 이러한 치료를 안내하기 위한 절대 심혈관계 질환 위험과 혈압 수준의 조합의 사용은 혈압 수준 단독의 사용 보다 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는데 보다 효율적이고 비용 효과적이다. 단일 작용제로 시작한 많은 환자는 이후에 혈압 목표에 도달하기 위해 상이한 약리학적 클래스로부터의 ≥ 2 개의 약물을 필요로 한다. 각각의 작용제의 약리학적 작용 기전에 대한 지식이 중요하다. 제2 항고혈압제를 사용하여 초기 작용제에 대한 보상 반응을 차단하거나 상이한 승압 기전에 영향을 미치는 상보적 활성을 갖는 약물 요법은 혈압의 추가의 강하를 초래할 수 있다. 예를 들어, 티아지드 이뇨제는 레닌-안지오텐신-알도스테론 시스템을 자극할 수 있다. ACE 억제제 또는 ARB를 티아지드에 첨가함으로써, 추가적인 혈압 강하 효과를 수득할 수 있다. 조합 요법의 사용은 또한 순응도를 개선시킬 수 있다. 성분 사이에 보완적 작용 기전을 갖는 항고혈압 약물 요법의 여러 2개 및 3개 고정 용량 약물 조합이 이용 가능하다.

[0260]

경구용 항고혈압 약물을 열거하는 문헌 [Whelton *et al.* 2017]의 표 18는 하기에서 제공된다. 높은 혈압의 치료를 위한 치료제의 클래스와 이러한 클래스에 속하는 약물이 제공된다. 용량 범위, 빈도 및 코멘트도 또한 제공된다.

클래스	약물	사용량, 범위 (mg/d) [*]	일일 빈도	코멘트
일차 작용제				
티아지드 또는 티아지드 유형 이뇨제	클로르탈리돈	12.5~25	1	- 클로르탈리돈은 반감기 연장과 CVD의 시험 감소 입증에 근거하여 선호된다. - 저나트륨혈증 및 저칼륨혈증, 요산 및 칼슘 수준을 모니터링한다. - 환자가 요산 강하 요법을 받지 않는 경우, 급성 통풍의 병력이 있는 환자에게 주의해서 사용한다.
	하이드로클로로 티아지드	25~50	1	
	인다파마이드	1.25~2.5	1	
	메톨라손	2.5~10	1	
ACE 억제제	베나제프릴	10~40	1 또는 2	- ARB 또는 직접 레닌 억제제와 조합하여 사용하지 않는다. - 특히 CKD 환자에서 또는 K⁺ 보충제 또는 K⁺ 보전 약물 투여 중인 환자에서 고칼륨혈증의 위험 증가가 있다. - 중증 양측 신동맥 협착증 환자에서 급성 신부전의 위험이 있다. - 환자가 ACE 억제제로 인한 혈관 부종의 병력을 갖는 경우에는 사용하지 않는다. - 임신 중에는 피한다.
	캅토프릴	12.5~150	2 또는 3	
	에날라프릴	5~40	1 또는 2	
	포시노프릴	10~40	1	
	리스노프릴	10~40	1	
	모엑시프릴	7.5~30	1 또는 2	
	페린도프릴	4~16	1	
	퀴나프릴	10~80	1 또는 2	
	라미프릴	2.5~10	1 또는 2	
	트란돌라프릴	1~4	1	
ARB	아질사르탄	40~80	1	- ACE 억제제 또는 직접 레닌 억제제와 조합하여 사용하지 않는다. - CKD에서 또는 K⁺ 보충제 또는 K⁺ 보전 약물 투여 중인 환자에서 고칼륨혈증의 위험 증가가 있다. - 중증 양측 신동맥 협착증 환자에서 급성 신부전의 위험이 있다.
	칸테사르탄	8~32	1	
	에프로사르탄	600~800	1 또는 2	
	이르베사르탄	150~300	1	
	로사르탄	50~100	1 또는 2	
	올메사르탄	20~40	1	
	텔미사르탄	20~80	1	
	발사르탄	80~320	1	

[0261]

클래스	약물	사용량, 범위 (mg/d)*	일일 빈도	코멘트
				- 환자가 ARB 로 인한 혈관 부종의 병력을 갖는 경우에는 사용하지 않는다. ACE 억제제로 인한 혈관 부종의 병력을 갖는 환자는 ACE 억제제를 중단한 후 6 주부터 시작하여 ARB 를 투여받을 수 있다. - 임신 중에는 피한다.
CCB- 디하이드로피리딘	암로디핀	2.5~10	1	- HF/rEF 환자에서 사용을 피하고; 필요한 경우, 암로디핀 또는 페로디핀을 사용할 수 있다. - 이들은 남성 보다 여성에서 보다 흔한 용량 관련 폐달 부종과 관련이 있다.
	페로디핀	5~10	1	
	이스라디핀	5~10	2	
	니카르디핀 SR	5~20	1	
	니페디핀 LA	60~120	1	
	니솔디핀	30~90	1	
CCB- 논디하이드로피리딘	딜티아젬 SR	180~360	2	- 서맥 및 심장 차단의 위험 증가 때문에 베타 차단제와의 일상적 사용을 피한다. - HF/rE 환자에서 사용하지 않는다. - 딜티아젬 및 베라파밀 (CYP3A4 주요 기질 및 중등도 억제제)과의 약물 상호 작용이 있다.
	딜티아젬 ER	120~480	1	
	베라파밀 IR	40~80	3	
	베라파밀 SR	120~480	1 또는 2	
	베라파밀 지연된 발병 ER (다양한 형태)	100~480	1 (저녁)	
이차 작용제				
이뇨제-루프	부메타나이드	0.5~4	2	이들은 증상성 HF 환자에서 선호되는 이뇨제이다. 이들은 중등도 내지 중증 CKD 환자 (예를 들어, GFR <30 mL/분)에서 티아지드보다 선호된다.
	프로세마이드	20~80	2	
	토르세마이드	5~10	1	
이뇨제-칼륨 보전	아밀로라이드	5~10	1 또는 2	이들은 단독 요법제와 최소한으로 효과적인

[0262]

클래스	약물	사용량, 범위 (mg/d)*	일일 빈도	코멘트
	트리암테렌	50~100	1 또는 2	항고혈압제이다. - 칼륨 보전 이뇨제와 티아지드의 조합 요법이 티아지드 단독 요법 투여 중인 저칼륨혈증 환자에서 고려될 수 있다. - 심각한 CKD 환자 (예를 들어, GFR <45 mL/분)에서 피한다.
이뇨제-알도스테론 길항제	에플레레논	50~100	12	- 이들은 원발성 알도스테론증 및 저항성 고혈압에서 선호되는 작용제이다. - 스피로노락톤은 에플레레논과 비교하여 여성형 유방증 및 발기 부전의 보다 큰 위험과 관련이 있다. - 이것은 저항성 고혈압에서 혼한 부가적 치료이다. - K⁺ 보충제, 기타 K⁺ 보전 이뇨제 또는 심각한 신장 기능 장애와 함께 사용하지 않는다. - 에플레레논은 적절한 BP 강화를 위해 종종 1일 2회 투여를 필요로 한다.
	스피로노락톤	25~100	1	
베타 차단제 - 심장 선택적	아테놀롤	25~100	12	- 환자가 IHD 또는 HF를 갖지 않는 경우, 베타 차단제는 최우선 작용제로서 권장되지 않는다. - 이들은 베타 차단제를 필요로 하는 기관지 경련성 기도 질환 환자에서 선호된다. - 비소프롤롤과 메토프롤롤 석시네이트는 HFrEF 환자에서 선호된다. - 갑작스러운 증단을 피한다.
	베타솔롤	5~20	1	
	비소프롤롤	2.5~10	1	
	메토프롤롤	100~400	2	
	타르트레이트			
	메토프롤롤 석시네이트	50~200	1	

[0263]

클래스	약물	사용량, 범위 (mg/d) [*]	일일 빈도	코멘트
베타 차단제-심장 선택적 및 혈관 확장	네비볼롤	5~40	1	• 네비볼롤은 산화 질소 유도된 혈관 확장을 유발한다. • 갑작스러운 중단을 피한다.
베타 차단제- 비심장 선택적	나돌롤	40~120	1	• 반응성 기도 질환 환자에서 피한다. • 갑작스러운 중단을 피한다.
	프로프라놀롤 IR	160~480	2	
	프로프라놀롤 LA	80~320	1	
베타 차단제- 내인성 교감 신경 활성화	아세부톨롤	200~800	2	• 특히 IHD 또는 HF 환자에서 일반적으로 피한다. • 갑작스러운 중단을 피한다.
	카르테올롤	2.5~10	1	
	펜부톨롤	10~40	1	
	핀돌롤	10~60	2	
베타 차단제 결합된 알파 및 베타 수용체	카르베딜롤	12.5~50	2	• 카르베딜롤은 HF/EF 환자에서 선호된다. • 갑작스러운 중단을 피한다.
	카르베딜롤 포스페이트	20~80	1	
	라베탈롤	200~800	2	
직접 레닌 억제제	알리스키렌	150~300	1	• ACE 억제제 또는 ARB 와 조합하여 사용하지 않는다. • 알리스키렌은 매우 오랫동안 작용한다. • CKD 에서 또는 K⁺ 보충제 또는 K⁺ 보전 약물 투여 중인 환자에서 고칼륨혈증의 위험 증가가 있다. • 알리스키렌은 중증 양측 신동맥 협착증 환자에서 급성 신부전을 유발할 수 있다. • 임신 중에는 피한다.
알파-1 차단제	독사조신	1~8	1	• 이들은 특히 노인에서 기립성 저혈압과 관련이 있다. • 이들은 BPH 를 동반한 환자에서 차선 작용제로서 간주될 수 있다.
	프라조신	2~20	2 또는 3	
	테라조신	1~20	1 또는 2	
중추 알파 ₁ 항진제 및 기타 중추 작용 약물	경구 클로니딘	0.1~0.8	2	• 이들은 특히 노인에서 상당한 CNS 부작용 때문에 일반적으로 최후로서 유보된다.
	클로니딘 패치	0.1~0.3	주 1 회	
	메틸도파	250~1000	2	

[0264]

클래스	약물	사용량, 범위 (mg/d)*	일일 빈도	코멘트
	구안파신	0.5~2	1	고혈압 위기를 유발할 수 있는 클로니딘의 갑작스러운 중단을 피하고; 클로니딘은 반동성 고혈압을 피하기 위해 감량되어야 한다.
직접 혈관 확장제	하이드랄라진	250~200	2 또는 3	- 이들은 나트륨 및 수분 보존 및 반사성 빈맥과 관련이 있으며; 이뇨제 및 베타 차단제와 함께 사용한다. - 하이드랄라진은 고용량에서 약물 유발된 루푸스 유사 증후군과 관련이 있다. - 미녹시딜은 다모증과 관련이 있으며, 루프 이뇨제를 필요로 한다. 미녹시딜은 심낭 삼출을 유발할 수 있다.
	미녹시딜	5~100	1~3	

[0265]

[0266]

* 투약량은 FDA 승인 라벨에 나열된 것들과 다를 수 있다 (<https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/>에서 이용 가능). ACE는 안지오텐신 전환 효소를 나타내고; ARB는 안지오텐신 수용체 차단제를 나타내고; BP는 혈압을 나타내고; BPH는 양성 전립선 비대증을 나타내고; CCB는 칼슘 채널 차단제를 나타내고; CKD는 만성 신장 질환을 나타내고; CNS는 중추 신경계를 나타내고; CVD는 심혈관계 질환을 나타내고; ER은 연장된 방출을 나타내고; GFR은 사구체 여과율을 나타내고; HF는 심부전을 나타내고; HF/EF는 박출률 감소를 동반한 심부전을 나타내고; IHD는 허혈성 심장 질환을 나타내고; IR은 즉시 방출을 나타내고; LA는 장기간 작용을 나타내고; SR은 지속 방출을 나타낸다.

[0267]

문헌 [Chobanian *et al.* (2003) The JNC 7 Report. *JAMA* 289(19):2560]을 참조한다.

[0268]

IV. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 iRNA 작용제의 전달

[0269]

세포, 예를 들어, 대상체, 예를 들어, 사람 대상체 (예를 들어, 이를 필요로 하는 대상체, 예를 들어, AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 갖는 대상체) 내의 세포로의 본 발명의 iRNA의 전달은 다수의 상이한 방식으로 달성될 수 있다. 예를 들어, 전달은 세포를 본 발명의 iRNA와 시험관 내에서 또는 생체 내에서 접촉시킴으로써 수행될 수 있다. 생체내 전달은 또한 iRNA, 예를 들어, dsRNA를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여함으로써 직접적으로 수행될 수 있다. 대안으로, 생체내 전달은 iRNA를 인코딩하고 이의 발현을 지시하는 하나 이상의 벡터를 투여함으로써 간접적으로 수행될 수 있다. 이들 대안은 하기에서 추가로 논의된다.

[0270]

일반적으로, 핵산 분자를 전달하는 임의의 방법 (시험관내 또는 생체내)은 본 발명의 iRNA와 함께 사용하기 위해 채택될 수 있다 (예를 들어, 그 전문이 본 출원에 참조로 포함되는 문헌 [Akhtar S. and Julian RL. (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144] 및 국제공개공보 WO 94/02595 참조). 생체내 전달의 경우, iRNA 분자를 전달하기 위해 고려할 요인은, 예를 들어, 전달된 분자의 생물학적 안정성, 비특이적 효과의 예방, 및 표적 조직에서의 전달된 분자의 축적을 포함한다. iRNA의 비특이적 효과는 국소 투여에 의해, 예를 들어, 조직 내로의 직접 주사에 의해 또는 이식 또는 제제를 국소 투여함으로써 최소화될 수 있다. 치료 부위에 대한 국소 투여는 작용제의 국소 농도를 최대화하고, 작용제에 의해 손상될 수 있거나 작용제를 분해할 수 있는 전신 조직에 대한 작용제의 노출을 제한하고, 투여될 iRNA 분자의 보다 낮은 총 용량을 가능하게 한다. 여러 연구는 iRNA가 국소적으로 투여될 때 유전자 산물의 성공적인 녹다운을 나타냈다. 예를 들어, 시노물구스 원숭이에서의 유리체내 주사 (문헌 [Tolentino, MJ., *et al* (2004) *Retina* 24:132-138]) 및 마우스에서의 망막하 주사 (문헌 [Reich, SJ., *et al* (2003) *Mol. Vis.* 9:210-216])에 의한 VEGF dsRNA의 안내 전달은 둘 다 노인성 황반 변성의 실험 모델에서 신생 혈관 형성을 예방하는 것으로 나타났다. 또한, 마우스에서 dsRNA의 직접 종양내 주사는 종양 체적을 감소시키고 (문헌 [Pille, J., *et al* (2005) *Mol. Ther.* 11:267-274]), 종양 보유 마우스의 생존을 연장시킬 수 있다 (문헌 [Kim, WJ., *et al* (2006) *Mol. Ther.* 14:343-350]; [Li, S., *et al* (2007) *Mol. Ther.* 15:515-523]). RNA 간섭은 또한 직접적인 주사에 의한 CNS (문헌 [Dorn, G., *et al.* (2004) *Nucleic Acids*

32:e49]; [Tan, PH., *et al* (2005) *Gene Ther.* 12:59-66]; [Makimura, H., *et al* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18]; [Shishkina, GT., *et al* (2004) *Neuroscience* 129:521-528]; [Thakker, ER., *et al* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:17270-17275]; [Akaneya, Y., *et al* (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602]) 및 비강내 투여에 의한 폐 ([Howard, KA., *et al* (2006) *Mol. Ther.* 14:476-484]; [Zhang, X., *et al* (2004) *J. Biol. Chem.* 279:10677-10684]; [Bitko, V., *et al* (2005) *Nat. Med.* 11:50-55])로의 성공적인 국소 전달을 나타냈다. 질환의 치료를 위해 iRNA를 전신적으로 투여하기 위해, RNA는 변형되거나 그렇지 않으면 약물 전달 시스템을 사용하여 전달될 수 있으며; 두 방법 모두는 생체 내에서 엔도-뉴클레아제 및 엑소-뉴클레아제에 의한 dsRNA의 신속한 분해를 방지하는 역할을 한다. RNA 또는 약제학적 담체의 변형은 또한 표적 조직에 대한 iRNA 조성물의 표적화를 가능하게 하고 바람직하지 않은 오프 표적 (off-target) 효과를 회피할 수 있다. iRNA 분자는 콜레스테롤과 같은 친유성 기에 대한 화학적 컨쥬게이트화에 의해 변형되어 세포 흡수를 증진시키고 분해를 방지할 수 있다. 예를 들어, 친유성 콜레스테롤 모이어티에 컨쥬게이트된 ApoB에 대해 지시된 iRNA는 마우스에 전신 주사되어 간과 공장 둘 다에서 apoB mRNA의 녹다운을 초래하였다 (문헌 [Soutschek, J., *et al* (2004) *Nature* 432:173-178]). 압타머에 대한 iRNA의 컨쥬게이트화는 전립선암 마우스 모델에서 종양 성장을 억제하고 종양 퇴행을 매개하는 것으로 나타났다 (문헌 [McNamara, JO., *et al* (2006) *Nat. Biotechnol.* 24:1005-1015]). 대안적인 실시 형태에서, 상기 iRNA는 나노 입자, 덴드리머, 중합체, 리포솜 또는 양이온성 전달 시스템과 같은 약물 전달 시스템을 사용하여 전달될 수 있다. 양으로 하전된 양이온성 전달 시스템은 iRNA 분자 (음으로 하전됨)의 결합을 용이하게 하고, 또한 음으로 하전된 세포막에서 상호 작용을 증진시켜 세포에 의한 iRNA의 효율적인 흡수를 가능하게 한다. 양이온성 지질, 덴드리머 또는 중합체는 iRNA에 결합되거나 iRNA를 감싸는 소포 또는 미셀 (예를 들어, 문헌 [Kim SH., *et al* (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116] 참조)을 형성하도록 유도될 수 있다. 소포 또는 미셀의 형성은 전신 투여될 때 iRNA의 분해를 추가로 방지한다. 양이온성 iRNA 복합체를 제조하고 투여하는 방법은 당해 분야의 통상의 기술자의 능력 내에 있다 (예를 들어, 그 전문이 본 출원에 참조로 포함되는 문헌 [Sorensen, DR., *et al* (2003) *J. Mol. Biol.* 327:761-766]; [Verma, UN., *et al* (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300]; [Arnold, AS *et al* (2007) *J. Hypertens.* 25:197-205] 참조). iRNA의 전신 전달에 유용한 약물 전달 시스템의 일부 비제한적인 예로는 DOTA (문헌 [Sorensen, DR., *et al* (2003), 상기와 동일]; [Verma, UN., *et al* (2003), 상기와 동일]), 올리고펩타이드, "고체 핵산 지질 입자" (문헌 [Zimmermann, TS., *et al* (2006) *Nature* 441:111-114]), 카디오리핀 (문헌 [Chien, PY., *et al* (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328]; [Pal, A., *et al* (2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091]), 폴리에틸렌이민 (문헌 [Bonnet ME., *et al* (2008) *Pharm. Res.* Aug 16 Epub ahead of print]; [Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 7:1659]), Arg-Gly-Asp (RGD) 펩타이드 (문헌 [Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487]) 및 폴리아미도아민 (문헌 [Tomalia, DA., *et al* (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67]; [Yoo, H., *et al* (1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804])이 포함된다. 일부 실시 형태에서, iRNA는 전신 투여를 위해 사이클로텍스트린과 복합체를 형성한다. iRNA 및 사이클로텍스트린의 약제학적 조성물을 투여하는 방법은 그 전문이 본 출원에 참조로 포함되는 미국 특허 US 7,427,605에서 발견될 수 있다.

[0271] A. 본 발명의 방법에 사용하기 위해 벡터인코딩된 iRNA

[0272] AGT 유전자를 표적화하는 iRNA는 DNA 또는 RNA 벡터 내로 삽입된 전사 유닛으로부터 발현될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Couture, A, *et al.*, *TIG.* (1996), 12:5-10]; Skillern, A. 등의 국제공개공보 WO 00/22113, Conrad의 국제공개공보 WO 00/22114 및 Conrad의 미국 특허 US 6,054,299 참조). 발현은 사용되는 특이적 작제물 및 표적 조직 또는 세포 유형에 따라 일과성 (대략 수시간 내지 수주) 또는 지속적 (수주 내지 수개월 또는 그 이상)일 수 있다. 이러한 이식 유전자는 선형 작제물, 원형 플라스미드 또는 바이러스 벡터로서 도입될 수 있으며, 이는 통합 또는 비통합 벡터일 수 있다. 이식 유전자는 또한 염색체의 플라스미드로서 유전될 수 있도록 작제될 수 있다 (문헌 [Gassmann, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995) 92:1292]).

[0273] iRNA의 개별 가닥 또는 가닥들은 발현 벡터 상의 프로모터로부터 전사될 수 있다. 2개의 개별 가닥이, 예를 들어, dsRNA를 생성하기 위해 발현되어야 하는 경우, 2개의 개별 발현 벡터가 표적 세포 내로 (예를 들어, 형질 감염 또는 감염에 의해) 공동 도입될 수 있다. 대안으로, dsRNA의 각각의 개별 가닥은 동일한 발현 플라스미드에 둘 다 위치한 프로모터에 의해 전사될 수 있다. 하나의 실시 형태에서, dsRNA는 dsRNA가 스템 및 루프 구조를 갖도록 링커 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 연결된 역위 반복 폴리뉴클레오타이드로서 발현된다.

[0274] RNAi 발현 벡터는 일반적으로 DNA 플라스미드 또는 바이러스 벡터이다. 진핵 세포와 상용 가능한 발현 벡터, 바람직하게 척추 동물 세포와 상용 가능한 것들을 사용하여 본 출원에서 기재된 바와 같은 RNAi의 발현을 위한 재조합 작제물을 제조할 수 있다. 진핵 세포 발현 벡터는 당해 분야에 널리 공지되어 있으며, 다수의 상업적

공급원으로부터 입수 가능하다. 전형적으로, 목적하는 핵산 분질의 삽입을 위한 간편한 제한 부위를 포함하는 이러한 벡터가 제공된다. RNAi 발현 벡터의 전달은, 예를 들어, 정맥내 또는 근육내 투여, 환자로 부터 외식된 표적 세포에 대한 투여 후 환자에 대한 재도입에 의해, 또는 목적하는 표적 세포로의 도입을 가능하게 하는 임의의 다른 수단에 의해 전신성일 수 있다.

[0275] iRNA 발현 플라스미드는 양이온성 지질 담체 (예를 들어, 올리고펙타민) 또는 비양이온성 지질 기반 담체 (예를 들어, Transit-TKO™)와의 복합체로서 표적 세포 내로 형질 감염될 수 있다. 일주일 이상의 기간에 걸쳐 표적 RNA의 상이한 영역을 표적화하는 iRNA 매개성 녹다운을 위한 다중 지질 형질 감염이 또한 본 발명에 의해 고려된다. 숙주 세포 내로의 벡터의 성공적인 도입은 다양한 공지된 방법을 사용하여 모니터링될 수 있다. 예를 들어, 일시적 형질 감염은 형광 마커, 예를 들어, 녹색 형광 단백질 (Green Fluorescent Protein: GFP)과 같은 리포터로 표시될 수 있다. 생체의 세포의 안정한 형질 감염은 형질 감염된 세포에 하이그로마이신 B 내성과 같은 특정 환경적 요인 (예를 들어, 항생제 및 약물)에 대한 내성을 제공하는 마커를 사용하여 보장될 수 있다.

[0276] 본 출원에서 기재된 방법 및 조성물에 사용될 수 있는 바이러스 벡터는 (a) 아데노바이러스 벡터; (b) 렌티바이러스 벡터, 모로니 쥐과 동물 백혈병 바이러스 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 레트로바이러스 벡터; (c) 아데노 관련 바이러스 벡터; (d) 단순 헤르페스 바이러스 벡터; (e) SV 40 벡터; (f) 폴리오마 바이러스 벡터; (g) 유두종 바이러스 벡터; (h) 피코르나바이러스 벡터; (i) 폭스 바이러스 벡터, 예를 들어, 오르토폭스, 예를 들어, 백시니아 바이러스 벡터 또는 아비포크스, 예를 들어, 카나리 포크스 또는 파울 포크스; 및 (j) 헬퍼 의존적 또는 거트리스 (gutless) 아데노바이러스를 포함하지만, 이들에 한정되는 것은 아니다. 복제 결함 바이러스가 또한 유리할 수 있다. 상이한 벡터는 세포의 계놈 내로 도입되거나 도입되지 않을 것이다. 상기 작제물은 경우에 따라 형질 감염을 위한 바이러스 서열을 포함할 수 있다. 대안으로, 상기 작제물은 에피솜 복제 가능한 벡터, 예를 들어, EPV 및 EBV 벡터 내로 도입될 수 있다. iRNA의 재조합 발현을 위한 작제물은 일반적으로 표적 세포에서 iRNA의 발현을 보장하기 위해 조절 요소, 예를 들어, 프로모터, 인핸서 등을 필요로 한다. 벡터 및 작제물을 위해 고려되는 기타 양태는 당해 분야에 공지되어 있다.

[0277] iRNA의 전달에 유용한 벡터는 목적하는 표적 세포 또는 조직에서 iRNA의 발현에 충분한 조절 요소 (프로모터, 인핸서 등)를 포함할 것이다. 상기 조절 요소는 항시성 또는 조절성/유도성 발현을 제공하도록 선택될 수 있다.

[0278] iRNA의 발현은, 예를 들어, 순환 포도당 수준 또는 호르몬과 같은 특정 생리학적 조절 인자에 민감한 유도성 조절 서열을 사용하여 정확하게 조절될 수 있다 (문헌 [Docherty *et al.*, 1994, *FASEB J.* 8:20-24]). 세포 또는 포유 동물에서의 dsRNA 발현의 제어에 적합한 이러한 유도성 발현 시스템은, 예를 들어, 엑디손, 에스트로젠, 프로게스테론, 테트라사이클린, 이량체화의 화학적 유도 물질, 및 이소프로필-베타-D1-티오갈락토피라노사이드 (IPTG)에 의한 조절을 포함한다. 당해 분야의 통상의 기술자는 iRNA 이식 유전자의 의도된 용도에 기초하여 적절한 조절/프로모터 서열을 선택할 수 있을 것이다.

[0279] iRNA를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 바이러스 벡터가 사용될 수 있다. 예를 들어, 레트로바이러스 벡터가 사용될 수 있다 (문헌 [Miller *et al.*, *Meth. Enzymol.* 217:581-599 (1993)] 참조). 이러한 레트로바이러스 벡터는 바이러스 계놈의 올바른 패키징 및 숙주 세포 DNA 내로의 통합에 필요한 성분을 포함한다. iRNA를 인코딩하는 핵산 서열이 환자 내로의 핵산의 전달을 용이하게 하는 하나 이상의 벡터 내로 클로닝된다. 레트로바이러스 벡터에 대한 보다 상세한 내용은, 예를 들어, 줄기 세포가 화학 요법에 대해 보다 내성을 갖도록 하기 위해 *mdr1* 유전자를 조절 줄기 세포에 전달하기 위한 레트로바이러스 벡터의 사용을 기술하는 문헌 [Boesen *et al.*, *Biotherapy* 6:291-302 (1994)]에서 발견될 수 있다. 유전자 요법에서 레트로바이러스 벡터의 사용을 예시하는 기타 참고 문헌은 문헌 [Clowes *et al.*, *J. Clin. Invest.* 93:644-651 (1994)]; [Kiem *et al.*, *Blood* 83:1467-1473 (1994)]; [Salmons and Gunzberg, *Human Gene Therapy* 4:129-141 (1993)]; 및 [Grossman and Wilson, *Curr. Opin. in Genetics and Devel.* 3:110-114 (1993)]이다. 사용이 고려되는 렌티바이러스 벡터는, 예를 들어, 본 출원에 참조로 포함되는 미국 특허 US 6,143,520; US 5,665,557; 및 US 5,981,276에 기재된 HIV 기반 벡터를 포함한다.

[0280] 아데노바이러스는 또한 본 발명의 iRNA의 전달에 사용하기 위해 고려된다. 아데노바이러스는, 예를 들어, 호흡기 상피에 유전자를 전달하기 위한 특히 매력적인 비히클이다. 아데노바이러스는 자연적으로 호흡기 상피를 감염시켜 경미한 질환을 유발한다. 아데노바이러스 기반 전달 시스템의 다른 표적은 간, 중추 신경계, 내피 세포 및 근육이다. 아데노바이러스는 비분열 세포를 감염시킬 수 있는 장점을 갖는다. 문헌 [Kozarsky and Wilson, *Current Opinion in Genetics and Development* 3:499-503 (1993)]은 아데노바이러스 기반 유전자 요법에 대한

검토를 제시한다. 문헌 [Bout *et al.*, *Human Gene Therapy* 5:3-10 (1994)]은 붉은털 원숭이의 호흡기 상피로 유전자를 전달하기 위한 아데노바이러스 벡터의 사용을 입증하였다. 유전자 요법에서 아데노바이러스의 사용에 대한 기타 사례는 문헌 [Rosenfeld *et al.*, *Science* 252:431-434 (1991)]; [Rosenfeld *et al.*, *Cell* 68:143-155 (1992)]; [Mastrangeli *et al.*, *J. Clin. Invest.* 91:225-234 (1993)]; 국제공개공보 WO 94/12649; 및 문헌 [Wang, *et al.*, *Gene Therapy* 2:775-783 (1995)]에서 발견될 수 있다. 본 발명에서 특징으로 하는 iRNA를 발현시키기 위해 적합한 AV 벡터, 재조합 AV 벡터를 작제하는 방법, 및 상기 벡터를 표적 세포 내로 전달하는 방법은 문헌 [Xia H *et al.* (2002), *Nat. Biotech.* 20: 1006-1010]에 기술되어 있다.

[0281] 아데노 관련 바이러스 (adeno-associated virus: AAV) 벡터도 또한 본 발명의 iRNA를 전달하는데 사용될 수 있다 (문헌 [Walsh *et al.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 204:289-300 (1993)]; 미국 특허 US 5,436,146). 하나의 실시 형태에서, 상기 iRNA는, 예를 들어, U6 또는 H1 RNA 프로모터, 또는 사이토메갈로바이러스 (CMV) 프로모터를 갖는 재조합 AAV 벡터로부터 2개의 별개의 상보적 단일 가닥 RNA 분자로서 발현될 수 있다. 본 발명에서 특징으로 하는 dsRNA를 발현하는데 적합한 AAV 벡터, 재조합 AV 벡터를 구성하는 방법, 및 표적 세포 내로 벡터를 전달하는 방법은 문헌 [Samulski R *et al.* (1987), *J. Virol.* 61: 3096-3101]; [Fisher K J *et al.* (1996), *J. Virol.* 70: 520-532]; [Samulski R *et al.* (1989), *J. Virol.* 63: 3822-3826]; 미국 특허 US 5,252,479; US 5,139,941; 국제공개공보 WO 94/13788; 및 국제공개공보 WO 93/24641에 기술되어 있으며, 이들의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0282] 본 발명의 iRNA의 전달에 적합한 또 다른 바이러스 벡터는 백시니아 바이러스와 같은 폭스 바이러스, 예를 들어, 변형된 바이러스 앙카라 (Modified Virus Ankara: MVA) 또는 NYVAC와 같은 약독화 백시니아, 파울 폭스 또는 카나리 폭스와 같은 아비폭스이다.

[0283] 바이러스 벡터의 지향성은 다른 바이러스의 외피 단백질 또는 다른 표면 항원으로 벡터를 위형화 (pseudotyping)하거나 상이한 바이러스 캡시드 단백질을 적절하게 대체하여 변형될 수 있다. 예를 들어, 렌티 바이러스 벡터는 수포성 구내염 바이러스 (vesicular stomatitis virus: VSV), 광견병, 에볼라, 모콜라 등의 표면 단백질로 위형화될 수 있다. AAV 벡터는 상이한 캡시드 단백질 혈청형을 발현하도록 벡터를 조작함으로써 상이한 세포를 표적화하도록 제조될 수 있고; 예를 들어, 문헌 [Rabinowitz J E *et al.* (2002), *J Virol* 76:791-801]을 참조하며, 이의 전체 개시 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0284] 벡터의 약제학적 제제는 허용되는 희석제에 벡터를 포함할 수 있거나, 유전자 전달 비히클이 매립된 서방성 매트릭스를 포함할 수 있다. 대안으로, 완전한 유전자 전달 벡터가 재조합 세포, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터로부터 온전하게 생산될 수 있는 경우, 약제학적 제제는 유전자 전달 시스템을 생산하는 하나 이상의 세포를 포함할 수 있다.

[0285] V. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 이중 가닥 iRNA 작용제

[0286] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 적합한 이중 가닥 RNAi 작용제는 AGT 유전자의 발현에서 형성된 mRNA의 적어도 일부에 대해 상보적인 상보성 영역을 갖는 안티센스 가닥을 포함한다. 상보성 영역은 약 19~30개 뉴클레오타이드 길이 (예를 들어, 약 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 또는 19개 뉴클레오타이드 길이)이다. AGT 유전자를 발현하는 세포와 접촉될 때, 상기 iRNA는 AGT 유전자 (예를 들어, 사람, 영장류, 비영장류 또는 래트 AGT 유전자)의 발현을, 예를 들어, PCR 또는 분지형 DNA (bDNA) 기반 방법에 의해 또는 단백질 기반 방법에 의해, 예를 들어, 웨스턴 블롯팅 또는 유세포 측정 기술을 사용하는 면역 형광 분석에 의해 검정될 때 적어도 50% 저해한다. 바람직한 실시 형태에서, 발현 저해는 본 출원에서 제공된 적당한 유기체 세포주에서 10 nM 농도의 siRNA를 사용하는 실시예, 특히, PCT 출원 PCT/US2019/032150의 실시예 2에서 제공된 qPCR 방법에 의해 결정된다. 바람직한 실시 형태에서, 생체내 발현의 저해는, 예를 들어, RNA 발현의 최하점에서 3 mg/kg의 단일 용량으로 투여될 때, 사람 유전자를 발현하는 설치류, 예를 들어, 사람 표적 유전자를 발현하는 마우스 또는 AAV 감염된 마우스에서 사람 유전자의 녹다운에 의해 결정된다. 간에서의 RNA 발현은 PCT 출원 PCT/US2019/032150의 실시예 2에 제공된 PCR 방법을 사용하여 결정된다.

[0287] dsRNA는 상보적인 2개의 RNA 가닥을 포함하고, 하이브리드화하여 dsRNA가 사용되는 조건하에 듀플렉스 구조를 형성한다. dsRNA의 하나의 가닥 (안티센스 가닥)은 표적 서열과 실질적으로 상보적이고 일반적으로 완전히 상보적인 상보성 영역을 포함한다. 상기 표적 서열은 AGT 유전자의 발현 동안에 형성된 mRNA의 서열로부터 유래될 수 있다. 다른 가닥 (안티센스 가닥)은 안티센스 가닥에 대해 상보적인 영역을 포함하므로, 2개의 가닥은 적합한 조건하에 조합될 때 하이브리드화하여 듀플렉스 구조를 형성한다. 본 출원의 다른 곳에 기재되고 당해 분야에서 공지된 바와 같이, dsRNA의 상보적 서열은 또한 별개의 올리고뉴클레오타이드 상에 존재하는 것과는

반대로 단일 핵산 분자의 자가 상보성 영역으로서 포함될 수 있다.

- [0288] 일반적으로, 듀플렉스 구조는 19 내지 30개 염기 쌍 길이이다. 유사하게, 상기 표적 서열에 대한 상보성 영역은 19 내지 30개 뉴클레오타이드 길이이다.
- [0289] 일부 실시 형태에서, 상기 dsRNA는 약 19 내지 약 23개의 뉴클레오타이드 길이 또는 약 25 내지 약 30개의 뉴클레오타이드 길이이다. 일반적으로, 상기 dsRNA는 다이스 효소에 대한 기질의 역할을 하기에 충분히 길다. 예를 들어, 약 21~23개 뉴클레오타이드 길이 보다 긴 dsRNA는 다이스에 대한 기질의 역할을 할 수 있는 것으로 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 당해 분야의 통상의 기술자가 또한 인식하는 바와 같이, 절단을 위해 표적화된 RNA의 영역은 가장 흔히 보다 큰 RNA 분자, 종종 mRNA 분자의 일부일 것이다. 관련되는 경우, mRNA 표적의 "일부"는 RNAi 지시된 절단 (즉, RISC 경로를 통한 절단)을 위한 기질이 되도록 하기에 충분한 길이의 mRNA 표적의 연속 서열이다.
- [0290] 당해 분야의 통상의 기술자는 또한 상기 듀플렉스 영역이 dsRNA의 1차 기능적 부분인 것을 인식할 것이며, 예를 들어, 듀플렉스 영역은 약 19 내지 약 30개 염기 쌍, 예를 들어, 약 19~30, 19~29, 19~28, 19~27, 19~26, 19~25, 19~24, 19~23, 19~22, 19~21, 19~20, 20~30, 20~29, 20~28, 20~27, 20~26, 20~25, 20~24, 20~23, 20~22, 20~21, 21~30, 21~29, 21~28, 21~27, 21~26, 21~25, 21~24, 21~23, 또는 21~22개 염기 쌍이다. 특정 실시 형태에서, 상기 듀플렉스 영역은 19~21개 염기 쌍이다. 따라서, 하나의 실시 형태에서, 절단을 위해 목적하는 RNA를 표적화하는, 예를 들어, 15~30개 염기 쌍의 기능적 듀플렉스로 가공되는 정도로, 30개 초과 염기 쌍의 듀플렉스 영역을 갖는 RNA 분자 또는 RNA 분자의 복합체는 dsRNA이다. 따라서, 하나의 실시 형태에서, 당해 분야의 통상의 기술자는 miRNA가 dsRNA이라는 것을 인식할 것이다. 또 다른 실시 형태에서, dsRNA는 자연 발생 miRNA가 아니다. 또 다른 실시 형태에서, AGT 유전자 발현을 표적화하는데 유용한 iRNA 작용제는 보다 큰 dsRNA의 절단에 의해 표적 세포에서 생성되지 않는다.
- [0291] 본 출원에서 기재된 바와 같은 dsRNA는 하나 이상의 단일 가닥 뉴클레오타이드 오버행, 예를 들어, 1~4, 2~4, 1~3, 2~3, 1, 2, 3 또는 4개 뉴클레오타이드를 추가로 포함할 수 있다. 적어도 하나의 뉴클레오타이드 오버행을 갖는 dsRNA는 이들의 평활 말단화된 대응물에 비해 우수한 억제 성질을 가질 수 있다. 뉴클레오타이드 오버행은 데옥시뉴클레오타이드/뉴클레오사이드를 비롯한 뉴클레오타이드/뉴클레오사이드 유사체를 포함하거나 이로 이루어질 수 있다. 상기 오버행(들)은 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 이들의 임의의 조합 상에 있을 수 있다. 또한, 오버행의 뉴클레오타이드(들)는 dsRNA의 안티센스 또는 센스 가닥의 5'-말단, 3'-말단 또는 양쪽 말단에 존재할 수 있다.
- [0292] 오버행은 하나의 가닥이 다른 가닥보다 길거나 동일한 길이의 두 가닥이 엇갈려서 생긴 결과일 수 있다. 오버행은 표적 mRNA와 불일치를 형성할 수 있거나, 표적화되는 유전자 서열에 상보적일 수 있거나, 또 다른 서열일 수 있다. 제1 및 제2 가닥은 또한, 예를 들어, 추가의 염기에 의해 연결되어 헤어핀을 형성하거나, 다른 비염기 링커에 의해 연결될 수 있다.
- [0293] 하나의 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제의 오버행 영역 내의 뉴클레오타이드는 각각 독립적으로 2'-F, 2'-O-메틸, 티미딘 (T), 2'-O-메톡시에틸-5-메틸우리딘 (Teo), 2'-O-메톡시에틸아데노신 (Aeo), 2'-O-메톡시에틸-5-메틸사이티딘 (m5Ceo) 및 이들의 임의의 조합과 같은 변형된 2'-당을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 변형되거나 변형되지 않은 뉴클레오타이드일 수 있다. 예를 들어, TT는 어느 한 가닥의 어느 한 말단에 대한 오버행 서열일 수 있다. 오버행은 표적 mRNA와 불일치를 형성할 수 있거나, 표적화되는 유전자 서열에 상보적일 수 있거나, 또 다른 서열일 수 있다.
- [0294] 상기 RNAi 작용제의 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 이들 가닥 둘 다에서 5'- 또는 3'-오버행은 인산화될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 오버행 영역(들)은 2개의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트를 갖는 2개의 뉴클레오타이드를 함유하는데, 여기서, 상기 2개의 뉴클레오타이드는 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 오버행은 상기 센스 가닥, 상기 안티센스 가닥, 또는 이들 가닥 둘 다의 3'-말단에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 상기 3'-오버행은 상기 안티센스 가닥에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 상기 3'-오버행은 상기 센스 가닥에 존재한다.
- [0295] 상기 RNAi 작용제는 전체 안정성에 영향을 미치지 않으면서 RNAi의 간섭 활성을 강화할 수 있는 단일 오버행만을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 단일 가닥 오버행은 상기 센스 가닥의 3'-말단 또는 그렇지 않으면 상기 안티센스 가닥의 3'-말단에 위치할 수 있다. 상기 RNAi는 또한 상기 안티센스 가닥의 5'-말단 (또는 상기 센스 가닥의 3'-말단) 또는 그 반대로 위치한 평활 말단을 가질 수 있다. 일반적으로, 상기 RNAi의 안티센스 가닥은

상기 3'-말단에 뉴클레오타이드 오버행을 갖고 상기 5'-말단은 평활하다. 이론에 구속시키고자 하는 것은 아니지만, 상기 안티센스 가닥의 5'-말단에서 및 상기 안티센스 가닥의 3'-말단 오버행에서의 비대칭 평활 말단은 RISC 공정으로의 가이드 가닥 부하를 선호한다.

[0296] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 이중 가닥 RNAi 작용제는 변형되지 않는다. 다른 실시 형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 이중 가닥 RNAi 작용제는 변형되며, 예를 들어, 생체내 표적 유전자(즉, AGT 유전자)의 발현을 억제하거나 상기 작용제의 안정성 또는 다른 유익한 특성을 증진시킬 수 있는 화학적 변형을 포함한다. 또 다른 실시 형태에서, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제는 열 탈안정화 뉴클레오타이드 변형을 포함한다.

[0297] 하기에서 보다 상세히 기재된 바와 같이, 본 발명의 특정 양태에서, 본 발명의 iRNA의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 변형된다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA의 모든 뉴클레오타이드는 변형된다. "실질적으로 모든 뉴클레오타이드가 변형되는" 본 발명의 iRNA는 대부분 변형되지만 완전히 변형되지는 않으며, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 변형되지 않은 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0298] dsRNA는 당해 분야에 공지된 표준 방법에 의해 합성될 수 있다. 본 발명의 이중 가닥 RNAi 화합물은 2단계 과정을 사용하여 제조될 수 있다. 첫번째로, 상기 이중 가닥 RNA 분자의 개별 가닥은 별도로 제조된다. 그 다음, 성분 가닥은 어닐링된다. siRNA 화합물의 개별 가닥은 용액상 또는 고체상 유기 합성 또는 둘 다를 사용하여 제조될 수 있다. 유기 합성은 비천연 또는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 가닥이 용이하게 제조될 수 있다는 이점을 제공한다. 유사하게, 본 발명의 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드는 용액상 또는 고체상 유기 합성 또는 둘 다를 사용하여 제조될 수 있다.

[0299] VI. 본 발명의 변형된 iRNA

[0300] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA, 예를 들어, dsRNA의 RNA는 변형되지 않으며, 예를 들어, 당해 분야에 공지되고 본 출원에서 기재된 화학적 변형 또는 컨주게이트를 포함하지 않는다. 다른 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA, 예를 들어, dsRNA의 RNA는 화학적으로 변형되어 안정성 또는 다른 유익한 특징을 증진시킨다. 본 발명의 특정 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 변형된다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, iRNA의 모든 뉴클레오타이드 또는 iRNA의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 변형되는데, 즉, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 변형되지 않은 뉴클레오타이드는 상기 iRNA의 가닥에 존재한다.

[0301] 본 발명에서 특징으로 하는 핵산은 본 출원에 참조로 포함되는 문헌 ["Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S.L. et al. (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA]에 기재된 것들과 같은 당해 분야에서 널리 확립된 방법에 의해 합성되거나 변형될 수 있다. 변형은, 예를 들어, 말단 변형, 예를 들어, 5'-말단 변형(인산화, 컨주게이트, 역위 연결) 또는 3'-말단 변형(컨주게이트, DNA 뉴클레오타이드, 역위 연결 등); 염기 변형, 예를 들어, 안정화 염기, 탈안정화 염기, 또는 파트너의 확장된 레퍼토리와 염기 쌍을 형성하는 염기에 의한 대체, 염기의 제거(무염기성 뉴클레오타이드), 또는 컨주게이트된 염기; 당 변형(예를 들어, 2'-위치 또는 4'-위치에서) 또는 당의 대체; 또는 포스포디에스테르 연결의 변형 또는 대체를 포함하는 백본 변형을 포함한다. 본 출원에서 기재된 실시 형태에 유용한 iRNA 화합물의 특정 예는 변형된 백본을 함유하거나 어떠한 천연 뉴클레오타이드간 연결을 함유하지 않는 RNA를 포함하지만, 이들에 한정되는 것은 아니다. 변형된 백본을 갖는 RNA는 무엇 보다 백본 중에 인 원자를 갖지 않는 것들을 포함한다. 본 명세서의 목적을 위해서 및 당해 분야에서 가끔 언급되는 바와 같이, 이들의 뉴클레오타이드간 백본 중에 인 원자를 갖지 않는 변형된 RNA는 또한 올리고뉴클레오타이드인 것으로 고려될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 변형된 iRNA는 이의 뉴클레오사이드간 백본 중에 인 원자를 갖는다.

[0302] 변형된 RNA 백본은, 예를 들어, 포스포로티오에이트, 카이럴 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3' 알킬렌 포스포네이트 및 카이럴 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 기타 알킬 포스포네이트, 포스포네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상적인 3'-5' 결합을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결된 유사체, 및 뉴클레오사이드 단위의 인접 쌍이 3'-5'에서 5'-3'로 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결되는 반전 극성을 갖는 것들을 포함한다. 다양한 염, 예를 들어, 나트륨 염, 혼합 염 및 유리산 형태도 또한 포함된다.

[0303] 상기 인 함유 연결의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 미국 특허 US 3,687,808; US 4,469,863; US 4,476,301; US 5,023,243; US 5,177,195; US 5,188,897; US 5,264,423; US 5,276,019; US 5,278,302; US

5,286,717; US 5,321,131; US 5,399,676; US 5,405,939; US 5,453,496; US 5,455,233; US 5,466,677; US 5,476,925; US 5,519,126; US 5,536,821; US 5,541,316; US 5,550,111; US 5,563,253; US 5,571,799; US 5,587,361; US 5,625,050; US 6,028,188; US 6,124,445; US 6,160,109; US 6,169,170; US 6,172,209; US 6,239,265; US 6,277,603; US 6,326,199; US 6,346,614; US 6,444,423; US 6,531,590; US 6,534,639; US 6,608,035; US 6,683,167; US 6,858,715; US 6,867,294; US 6,878,805; US 7,015,315; US 7,041,816; US 7,273,933; US 7,321,029; 및 미국 특허 US RE39464를 포함하지만 이들에 한정되지 않으며, 이들 각각의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0304] 상기에서 인 원자를 포함하지 않는 변형된 RNA 백본은 단쇄 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오타이드간 연결, 혼합된 헤테로 원자 및 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오타이드간 연결, 또는 하나 이상의 단쇄 헤테로 원자 또는 헤테로사이클릭 뉴클레오타이드간 연결에 의해 형성된 백본을 갖는다. 이들은 모르폴리노 연결 (뉴클레오사이드의 당 부분으로부터 부분적으로 형성됨); 실록산 백본; 설펜사이드, 설펜사이드 및 설펜 백본; 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본; 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본; 알켄 함유 백본; 설펜메이트 백본; 메틸렌이미노 및 메틸렌하이드라지노 백본; 설펜네이트 및 설펜아미드 백본; 아마이드 백본; 및 혼합된 N, O, S 및 CH₂ 성분 일부를 갖는 기타를 갖는 것들을 포함한다.

[0305] 상기 올리고뉴클레오사이드의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 미국 특허 US 5,034,506; US 5,166,315; US 5,185,444; US 5,214,134; US 5,216,141; US 5,235,033; US 5,64,562; US 5,264,564; US 5,405,938; US 5,434,257; US 5,466,677; US 5,470,967; US 5,489,677; US 5,541,307; US 5,561,225; US 5,596,086; US 5,602,240; US 5,608,046; US 5,610,289; US 5,618,704; US 5,623,070; US 5,663,312; US 5,633,360; US 5,677,437; 및 US 5,677,439를 포함하지만 이들에 한정되지 않으며, 이들 각각의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0306] 적합한 RNA 모방체는 당 및 뉴클레오사이드간 연결, 즉, 뉴클레오타이드 단위의 백본 둘 다가 신규한 기로 대체된 본 출원에서 제공되는 iRNA에 사용하기 위해 고려된다. 염기 단위는 적절한 핵산 표적 화합물과의 하이브리드화를 위해 유지된다. 우수한 하이브리드화 특성을 갖는 것으로 밝혀진 이러한 올리고머 화합물 중 하나인 RNA 모방체는 펩타이드 핵산 (peptide nucleic acid: PNA)으로 지칭된다. PNA 화합물에서, RNA의 당 백본은 백본, 특히, 아미노에틸글리신 백본을 포함하는 아마이드로 대체된다. 상기 핵 염기는 유지되며, 상기 백본의 아마이드 부분의 아자 질소 원자에 직접 또는 간접적으로 결합된다. PNA 화합물의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 미국 특허 US 5,539,082; US 5,714,331; 및 US 5,719,262를 포함하지만, 이들에 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전문은 본 출원에 참조로 포함된다. 본 발명의 iRNA에 사용하기에 적합한 추가의 PNA 화합물은, 예를 들어, 문헌 [Nielsen *et al.*, *Science*, 1991, 254, 1497-1500]에 기재되어 있다.

[0307] 본 발명에서 특징으로 하는 일부 실시 형태는 포스포로티오에이트 백본, 및 헤테로원자 백본 및 특히 미국 특허 US 5,489,677의 --CH₂--NH--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)--O--CH₂-- [메틸렌(메틸아미노) 또는 MMI 백본으로서 공지됨], --CH₂--O--N(CH₃)--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)--N(CH₃)--CH₂-- 및 -N(CH₃)--CH₂--CH₂-- [여기서, 상기 본래의 포스포디에스테르 백본은 --O--P--O--CH₂--로서 표시됨], 및 상기에서 언급된 미국 특허 US 5,602,240의 아마이드 백본을 갖는 올리고뉴클레오타이드를 갖는 RNA를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 출원에서 특징으로 하는 RNA는 상기에서 언급된 미국 특허 US 5,034,506의 모르폴리노 백본 구조를 갖는다.

[0308] 변형된 RNA는 또한 하나 이상의 치환된 당 모이어티를 함유할 수 있다. iRNA, 예를 들어, 본 출원에서 특징으로 하는 dsRNA는 2'-위치에서, OH; F; O-, S- 또는 N-알킬; O-, S- 또는 N-알케닐; O-, S- 또는 N-알킬닐; 또는 O-알킬-O-알킬 중 하나를 포함하는데, 여기서, 상기 알킬, 알케닐 및 알킬닐은 치환되거나 비치환된 C₁ 내지 C₁₀ 알킬 또는 C₂ 내지 C₁₀ 알케닐 및 알킬닐일 수 있다. 예시적인 적합한 변형으로는 O[(CH₂)_nO]CH₃, O(CH₂)_nOCH₃, O(CH₂)_nNH₂, O(CH₂)_nCH₃, O(CH₂)_nONH₂ 및 O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂이 포함되며, 여기서, n 및 m은 1 내지 약 10이다. 다른 실시 형태에서, dsRNA는 2' 위치에서 C₁ 내지 C₁₀ 저급 알킬, 치환된 저급 알킬, 알크아릴, 아르알킬, O-알크아릴 또는 O-아르알킬, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, 헤테로사이클로알킬, 헤테로사이클로알크아릴, 아미노알킬아미노, 폴리알킬아미노, 치환된 실릴, RNA 절단기, 리포터기, 삽입제, iRNA의 약동학적 특성을 개선하기 위한 기, 또는 iRNA의 약력학적 특성을 개선하기 위한 기, 및 유사한 특성을 갖는 기타 치환기 중 하나를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 변형은 2'-메톡시에톡시 (2'-O--CH₂CH₂OCH₃; 2'-O-(2-메톡시에틸) 또는 2'-MOE로도 또한 공지됨) (문헌 [Martin *et al.*, *Helv. Chim.*

Acta, 1995, 78:486-504]), 즉, 알콕시-알콕시기를 포함한다. 또 다른 예시적인 변형은 2'-디메틸아미노옥시에톡시, 즉, 본 출원에서 하기 실시예에 개시된 바와 같은 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 기 (2'-DMAOE로도 또한 공지됨), 및 2'-디메틸아미노에톡시에톡시 (2'-O-디메틸아미노에톡시에틸 또는 2'-DMAEOE로도 또한 당해 분야에서 공지됨), 즉, 2'-O-CH₂-O-CH₂-N(CH₂)₂이다. 추가의 예시적인 변형은 5'-Me-2'-F 뉴클레오타이드, 5'-Me-2'-OMe 뉴클레오타이드, 5'-Me-2'-데옥시뉴클레오타이드, (이들 3개의 계열 중 R 및 S 이성체 둘 다); 2'-알콕시알킬; 및 2'-NMA (N-메틸아세트아미드)를 포함한다.

[0309] 기타 변형은 2'-메톡시 (2'-OCH₃), 2'-아미노프로폭시 (2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) 및 2'-플루오로 (2'-F)를 포함한다. 유사한 변형은 또한 iRNA의 RNA 상의 다른 위치, 특히, 3' 말단 뉴클레오타이드 상의 당의 3' 위치 또는 2'-5' 연결된 dsRNA 및 5' 말단 뉴클레오타이드의 5' 위치에서 이루어질 수 있다. iRNA는 또한 펜토푸라노실 당 대신에 사이클로부틸 모이어티와 같은 당 모방체를 가질 수 있다.

[0310] iRNA는 또한 핵염기 (당해 분야에서는 간단히 "염기"로서 종종 지칭됨) 개질 또는 치환을 포함할 수 있다. 본 출원에서 사용되는 "비변형된" 또는 "천연" 핵 염기는 퓨린 염기인 아데닌 (A) 및 구아닌 (G), 및 피리미딘 염기인 티민 (T), 사이토신 (C) 및 우라실 (U)을 포함한다. 변형된 핵염기는 데옥시-티민 (dT), 5-메틸사이토신 (5-me-C), 5-하이드록시메틸 사이토신, 크산틴, 하이포크산틴, 2-아미노아데닌, 아데닌 및 구아닌의 6-메틸 및 다른 알킬 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-프로필 및 다른 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오사이토신, 5-할로우라실 및 사이토신, 5-프로피닐 우라실 및 사이토신, 6-아조 우라실, 사이토신 및 티민, 5-우라실 (슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-하이드록실 및 다른 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 특히, 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 다른 5-치환된 우라실 및 사이토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌 및 7-데아자아데닌 및 3-데아자구아닌 및 3-데아자아데닌과 같은 기타 합성 및 천연 핵염기를 포함한다. 추가의 핵염기는 미국 특허 3,687,808에 개시된 것들, 문헌 [Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008]에 개시된 것들; 문헌 [The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990]에 개시된 것들, 문헌 [Englisch *et al.*, *Angewandte Chemie*, International Edition, 1991, 30, 613]에 개시된 것들; 및 문헌 [Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993]에 개시된 것들을 포함한다. 특정 핵 염기는 본 발명에서 특성화된 올리고머 화합물의 결합 친화도를 증가시키는데 특히 유용하다. 이들로는 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실 및 5-프로피닐사이토신을 비롯하여 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린이 포함된다. 5-메틸시토신 치환은 핵산 듀플렉스 안정성을 0.6~1.2° C까지 증가시키는 것으로 나타났고 (문헌 [Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278]), 예시적으로 염기 치환, 보다 더 특히 2'-O-메톡시에틸 당 변형과 조합될 때이다.

[0311] 상기에서 언급된 변형된 핵 염기 및 기타 변형된 핵 염기의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 상기 언급된 미국 특허 US 3,687,808; US 4,845,205; US 5,130,30; US 5,134,066; US 5,175,273; US 5,367,066; US 5,432,272; US 5,457,187; US 5,459,255; US 5,484,908; US 5,502,177; US 5,525,711; US 5,552,540; US 5,587,469; US 5,594,121, 5,596,091; US 5,614,617; US 5,681,941; US 5,750,692; US 6,015,886; US 6,147,200; US 6,166,197; US 6,222,025; US 6,235,887; US 6,380,368; US 6,528,640; US 6,639,062; US 6,617,438; US 7,045,610; US 7,427,672; 및 US 7,495,088을 포함하지만 이들에 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0312] iRNA의 RNA는 또한 하나 이상의 잠금 핵산 (LNA)을 포함하도록 변형될 수 있다. 잠금 핵산은 변형된 리보오스 모이어티를 갖는 뉴클레오타이드이고, 여기서, 상기 리보오스 모이어티는 2' 및 4' 탄소를 연결하는 여분의 브릿지를 포함한다. 이러한 구조는 3'-엔드 구조 입체 형태에서 리보오스를 효과적으로 "잠근다". siRNA에 대한 잠금 핵산의 첨가는 혈청에서 siRNA 안정성을 증가시키고 오프 표적 효과를 감소시키는 것으로 나타났다 (문헌 [Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447]; [Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843]; [Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193]).

[0313] 상기 잠금 핵산 뉴클레오타이드의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 미국 특허 US 6,268,490; US 6,670,461; US 6,794,499; US 6,998,484; US 7,053,207; US 7,084,125; 및 US 7,399,845를 포함하지만 이들에 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

- [0314] 일부 실시 형태에서, iRNA의 RNA는 또한 하나 이상의 바이사이클릭 당 모이어티를 포함하도록 변형될 수 있다. "바이사이클릭 당"은 2개 원자의 브릿징에 의해 변형된 푸라노실 환이다. "바이사이클릭 뉴클레오사이드" ("BNA")는 당 환의 2개의 탄소 원자를 연결하여 바이사이클릭 환 시스템을 형성하는 브릿지를 포함하는 당 모이어티를 갖는 뉴클레오사이드이다. 특정 실시 형태에서, 상기 브릿지는 당 환의 4'-탄소 및 2'-탄소를 연결한다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 발명의 작용제는 하나 이상의 잠금 핵산 (LNA)을 포함할 수 있다. 잠금 핵산은 변형된 리보오스 모이어티를 갖는 뉴클레오타이드이고, 여기서, 상기 리보오스 모이어티는 2' 및 4' 탄소를 연결하는 여분의 브릿지를 포함한다. 환원하자면, LNA는 4'-CH₂-O-2' 브릿지를 포함하는 바이사이클릭 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오타이드이다. 이러한 구조는 3'-엔도 구조 입체 형태에서 리보오스를 효과적으로 "잠근다". siRNA에 대한 잠금 핵산의 첨가는 혈청에서 siRNA 안정성을 증가시키고 오프 표적 효과를 감소시키는 것으로 나타났다 (문헌 [Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447]; [Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843]; [Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193]). 본 발명의 폴리뉴클레오타이드에 사용하기 위한 바이사이클릭 뉴클레오사이드의 예는 4' 리보실 고리 원자와 2' 리보실 고리 원자 사이에 브릿지를 포함하는 뉴클레오사이드를 포함하지만, 이들에 한정되는 것은 아니다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 안티센스 폴리뉴클레오타이드 작용제는 4'에서 2'로의 브릿지를 포함하는 하나 이상의 바이사이클릭 뉴클레오사이드를 포함한다. 상기 4'에서 2'로 브릿지된 바이사이클릭 뉴클레오사이드의 예는 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (또한 "속박된 에틸" 또는 "cEt"로서 언급됨) 및 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (및 이의 유사체; 예를 들어, 미국 특허 US 7,399,845 참조); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (및 이의 유사체; 예를 들어, 미국 특허 US 8,278,283 참조); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (및 이의 유사체; 예를 들어, 미국 특허 US 8,278,425 참조); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (예를 들어, 미국 특허 US 2004/0171570 참조); R이 H, C1-C12 알킬 또는 보호기인 4'-CH₂-N(R)-O-2' (예를 들어, 미국 특허 US 7,427,672 참조); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (예를 들어, 문헌 [Chattopadhyaya *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134]); 및 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (및 이의 유사체; 예를 들어, 미국 특허 US 8,278,426 참조)를 포함하지만, 이들에 한정되는 것은 아니다.
- [0315] 임의의 전술한 바이사이클릭 뉴클레오사이드는, 예를 들어, α-L-리보푸라노오스 및 β-D-리보푸라노오스를 포함하는 하나 이상의 입체 화학적 당 배열 형태를 갖도록 제조될 수 있다 (국제공개공보 WO 99/14226 참조).
- [0316] iRNA의 RNA는 또한 하나 이상의 속박된 에틸 뉴클레오타이드를 포함하도록 변형될 수 있다. 본 출원에서 사용되는 "속박된 에틸 뉴클레오타이드" 또는 "cEt"는 4'-CH(CH₃)-O-2' 브릿지를 포함하는 바이사이클릭 당 모이어티를 포함하는 잠금 핵산이다. 하나의 실시 형태에서, 속박된 에틸 뉴클레오타이드는 본 출원에서 "S-cEt"로 지칭되는 S 형태로 있다.
- [0317] 본 발명의 iRNA는 또한 하나 이상의 "입체 형태적으로 제한된 뉴클레오타이드" ("CRN")를 포함할 수 있다. CRN은 리보오스의 C2' 및 C4' 탄소 또는 리보오스의 C3 및 -C5' 탄소를 연결하는 링커를 갖는 뉴클레오타이드 유사체이다. CRN은 리보오스 환을 안정한 형태로 잠그고 mRNA에 대한 하이브리드화 친화성을 증가시킨다. 상기 링커는 안정성과 친화성을 위한 최적의 위치에 산소를 배치하여 리보오스 환 퍼커링 (pucker ing)을 감소시키기에 충분한 길이이다.
- [0318] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 잠금 해제된 핵산 (unlocked nucleic acid: UNA) 뉴클레오타이드인 하나 이상의 단량체를 포함한다. UNA는 잠금 해제된 비환형 핵산이고, 여기서, 당의 임의의 결합은 제거되어 잠금 해제된 "당" 잔기를 형성한다. 하나의 예에서, UNA는 또한 C1'-C4' 사이의 결합 (즉, C1'과 C4' 탄소 사이의 공유 탄소-산소-탄소 결합)이 제거된 단량체를 포함한다. 또 다른 예에서, 당의 C2'-C3' 결합 (즉, C2'와 C3' 탄소 사이의 공유 탄소-탄소 결합)이 제거되었다 (본 출원에 참조로 포함되는 문헌 [*Nuc. Acids Symp. Series*, 52, 133-134 (2008)] 및 [Fluiter *et al.*, *Mol. Biosyst.*, 2009, 10, 1039] 참조).
- [0319] RNA 분자의 말단으로 잠재적으로 안정화된 변형은 N-(아세틸아미노카프로일)-4-하이드록시프롤리놀 (Hyp-C6-NHAc), N-(카프로일-4-하이드록시프롤리놀 (Hyp-C6), N-(아세틸-4-하이드록시프롤리놀 (Hyp-NHAc), 티미딘-2'-O-데옥시티미딘 (에테르), N-(아미노카프로일)-4-하이드록시프롤리놀 (Hyp-C6-아미노), 2-도코사노일-우리딘-3'-포스페이트, 역위 염기 dT (idT) 등을 포함할 수 있다. 이러한 변형의 개시 내용은 국제공개공보 WO 2011/005861에서 발견될 수 있다.
- [0320] 본 발명의 iRNA의 뉴클레오타이드의 기타 변형은 iRNA의 안티센스 가닥 상의 5' 포스페이트 또는 5' 포스페이트

모방체, 예를 들어, 5'-말단 포스페이트 또는 포스페이트 모방체를 포함한다. 적합한 포스페이트 모방체는, 예를 들어, 미국 출원공개 US 2012/0157511에 기재되어 있으며, 이의 전문은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0321] A. 본 발명의 모티프를 포함하는 변형된 iRNA

[0322] 본 발명의 특정 양태에서, 본 발명의 이중 가닥 RNA 작용제는, 예를 들어, 이의 전체 내용이 본 출원에 참조로 포함되는 국제공개공보 WO 2013/075035에 기재된 바와 같은 화학적 변형을 갖는 작용제를 포함한다. 국제공개공보 WO 2013/075035는 dsRNAi 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥으로, 특히, 절단 부위에서 또는 이의 부근에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 모티프를 제공한다. 일부 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 다르게는 완전히 변형될 수 있다. 이들 모티프의 도입은, 존재하는 경우, 센스 또는 안티센스 가닥의 변형 패턴을 방해한다. 상기 dsRNAi 작용제는, 예를 들어, 센스 가닥 상에서 GalNAc 유도체 리간드와 임의로 컨쥬게이트될 수 있다.

[0323] 보다 구체적으로, 상기 이중 가닥 RNA 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 완전히 변형되어 dsRNAi 작용제의 적어도 하나의 가닥에서 또는 이의 부근에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프를 갖는 경우, dsRNAi 작용제의 유전자 침묵 활성이 관찰되었다.

[0324] 따라서, 본 발명은 표적 유전자 (즉, AGT 유전자)의 발현을 생체내 억제할 수 있는 이중 가닥 RNA 작용제를 제공한다. 상기 RNAi 작용제는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함한다. 상기 RNAi 작용제의 각각의 가닥은, 예를 들어, 17~30개 뉴클레오타이드 길이, 25~30개 뉴클레오타이드 길이, 27~30개 뉴클레오타이드 길이, 19~25개 뉴클레오타이드 길이, 19~23개 뉴클레오타이드 길이, 19~21개 뉴클레오타이드 길이, 21~25개 뉴클레오타이드 길이 또는 21~23개 뉴클레오타이드 길이일 수 있다.

[0325] 상기 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 전형적으로 듀플렉스 이중 가닥 RNA ("dsRNA")를 형성하며, 이는 본 출원에서 "dsRNAi 작용제"로서도 지칭된다. dsRNAi 작용제의 듀플렉스 영역은, 예를 들어, 27~30개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 19~25개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 19~23개 뉴클레오타이드 쌍, 19~21개 뉴클레오타이드 쌍 길이, 21~25개 뉴클레오타이드 쌍 길이 또는 21~23개 뉴클레오타이드 쌍 길이일 수 있다. 또 다른 예에서, 상기 듀플렉스 영역은 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 및 27개 뉴클레오타이드 길이로부터 선택된다.

[0326] 특정 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제는 가닥 하나 또는 둘 다의 3'-말단, 5'-말단 또는 말단 둘 다에서 하나 이상의 오버행 영역 또는 캠퍼 영역을 함유할 수 있다. 상기 오버행은 독립적으로 1~6개 뉴클레오타이드 길이, 예를 들어, 2~6개 뉴클레오타이드 길이, 1~5개 뉴클레오타이드 길이, 2~5개 뉴클레오타이드 길이, 1~4개 뉴클레오타이드 길이, 2~4개 뉴클레오타이드 길이, 1~3개 뉴클레오타이드 길이, 2~3개 뉴클레오타이드 길이 또는 1~2개 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 특정 실시 형태에서, 상기 오버행 영역은 상기 제공된 바와 같이 연장된 오버행 영역을 포함할 수 있다. 오버행은 하나의 가닥이 다른 가닥보다 길거나 동일한 길이의 두 가닥이 엮여서 생긴 결과일 수 있다. 오버행은 표적 mRNA와 불일치를 형성할 수 있거나, 표적화되는 유전자 서열에 상보적일 수 있거나, 또 다른 서열일 수 있다. 제1 및 제2 가닥은 또한, 예를 들어, 추가의 염기에 의해 연결되어 헤어핀을 형성하거나, 다른 비염기 링커에 의해 연결될 수 있다.

[0327] 특정 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제의 오버행 영역 내의 뉴클레오타이드는 각각 독립적으로 2'-F, 2'-O-메틸, 티미딘 (T), 2'-O-메톡시에틸-5-메틸우리딘 (Teo), 2'-O-메톡시에틸아데노신 (Aeo), 2'-O-메톡시에틸-5-메틸사이티딘 (m5Ceo) 및 이들의 임의의 조합과 같은 변형된 2'-당을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 변형되거나 변형되지 않은 뉴클레오타이드일 수 있다. 예를 들어, TT는 어느 한 가닥의 어느 한 말단에 대한 오버행 서열일 수 있다. 오버행은 표적 mRNA와 불일치를 형성할 수 있거나, 표적화되는 유전자 서열에 상보적일 수 있거나, 또 다른 서열일 수 있다.

[0328] 상기 dsRNAi 작용제의 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 이들 가닥 둘 다에서 5'- 또는 3'-오버행은 인산화될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 오버행 영역(들)은 2개의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트를 갖는 2개의 뉴클레오타이드를 함유하는데, 여기서, 상기 2개의 뉴클레오타이드는 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 오버행은 상기 센스 가닥, 상기 안티센스 가닥, 또는 이들 가닥 둘 다의 3'-말단에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 이러한 3'-오버행은 상기 안티센스 가닥에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 이러한 3'-오버행은 상기 센스 가닥에 존재한다.

[0329] 상기 dsRNAi 작용제는 전체 안정성에 영향을 미치지 않으면서 RNAi의 간섭 활성을 강화할 수 있는 단일 오버행만을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 단일 가닥 오버행은 상기 센스 가닥의 3'-말단 또는 그렇지 않으면 상기 안티센스 가닥의 3'-말단에 위치할 수 있다. 상기 RNAi는 또한 상기 안티센스 가닥의 5'-말단 (또는 상기

센스 가닥의 3'-말단) 또는 그 반대로 위치한 평활 말단을 가질 수 있다. 일반적으로, 상기 dsRNAi 작용제의 안티센스 가닥은 상기 3'-말단에 뉴클레오타이드 오버행을 갖고 상기 5'-말단은 평활하다. 이론에 구속시키고자 하는 것은 아니지만, 상기 안티센스 가닥의 5'-말단에서 및 상기 안티센스 가닥의 3'-말단 오버행에서의 비대칭 평활 말단은 RISC 공정으로의 가이드 가닥 부하를 선호한다.

[0330] 특정 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제는 19개 뉴클레오타이드 길이의 이중 말단 평활 말단체이고, 여기서 센스 가닥은 5' 말단으로부터 7, 8, 9번 위치에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-F 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함한다. 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 11, 12, 13번 위치에 있는 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-O-메틸 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함한다.

[0331] 다른 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제는 20개 뉴클레오타이드 길이의 이중 말단 평활 말단체이고, 여기서 센스 가닥은 5' 말단으로부터 8, 9, 10번 위치에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-F 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함한다. 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 11, 12, 13번 위치에 있는 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-O-메틸 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함한다.

[0332] 더 다른 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제는 21개 뉴클레오타이드 길이의 이중 말단 평활 말단체이고, 여기서 센스 가닥은 5' 말단으로부터 9, 10, 11번 위치에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-F 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함한다. 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 11, 12, 13번 위치에 있는 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-O-메틸 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함한다.

[0333] 특정 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제는 21개 뉴클레오타이드 센스 가닥 및 23개 뉴클레오타이드 안티센스 가닥을 포함하고, 여기서, 상기 센스 가닥은 5' 말단으로부터 9, 10, 11번 위치에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-F 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함하고; 상기 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 11, 12, 13번 위치에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-O-메틸 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함하고, 상기 RNAi 작용제의 하나의 말단은 평활 말단이고 다른 말단은 2개 뉴클레오타이드 오버행을 포함한다. 바람직하게, 2개 뉴클레오타이드 오버행은 안티센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0334] 2개 뉴클레오타이드 오버행이 안티센스 가닥의 3'-말단에 있는 경우, 말단 3개의 뉴클레오타이드 사이의 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결일 수 있고, 3개의 뉴클레오타이드 중 2개는 오버행 뉴클레오타이드이고, 3번째의 뉴클레오타이드는 오버행 뉴클레오타이드 옆에 쌍을 형성한 뉴클레오타이드이다. 하나의 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제는 추가로 센스 가닥의 5'-말단에서 및 안티센스 가닥의 5'-말단 둘 다에서 말단 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 갖는다. 특정 실시 형태에서, 모티프의 일부인 뉴클레오타이드를 포함하는 dsRNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다. 특정 실시 형태에서, 각각의 잔기는 독립적으로 예를 들어, 교호(alternating) 모티프에서 2'-O-메틸 또는 3'-플루오로로 변형된다. 임의로, 상기 dsRNAi 작용제는 리간드(바람직하게는 GaINAc₃)를 추가로 포함한다.

[0335] 특정 실시 형태에서, dsRNAi 작용제는 센스 및 안티센스 가닥을 포함하고, 여기서, 상기 센스 가닥은 길이가 25-30개의 뉴클레오타이드 잔기이고, 여기서, 5' 말단 뉴클레오타이드(위치 1)로부터 출발하여 제1 가닥의 위치 1 내지 23은 적어도 8개의 리보뉴클레오타이드를 포함하고; 상기 안티센스 가닥은 길이가 36-66개 뉴클레오타이드 잔기이고, 3' 말단 뉴클레오타이드에서 시작하여 센스 가닥의 1-23번 위치와 쌍을 형성하는 위치에 적어도 8개의 리보뉴클레오타이드를 포함하여 듀플렉스를 형성하고; 안티센스 가닥의 적어도 3' 말단 뉴클레오타이드는 센스 가닥과 쌍을 형성하지 않고, 최대 6개의 연속 3' 말단 뉴클레오타이드가 센스 가닥과 쌍을 형성하지 않아 1-6개 뉴클레오타이드의 3' 단일 가닥 오버행을 형성하고; 여기서 안티센스 가닥의 5' 말단은 센스 가닥과 쌍을 형성하지 않는 10-30개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하여 10-30개의 뉴클레오타이드 단일 가닥 5' 오버행을 형성하고; 여기서 적어도 센스 가닥 5' 말단 및 3' 말단 뉴클레오타이드는 센스 가닥과 안티센스 가닥이 최대 상보성을 위해 정렬될 때 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 형성하여 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이에 실질적으로 듀플렉스 영역을 형성하고; 안티센스 가닥은 이중 가닥 핵산이 포유 동물 세포 내로 도입될 때 표적 유전자 발현을 감소시키기 위해 안티센스 가닥 길이의 적어도 19개의 리보뉴클레오타이드를 따라 표적 RNA에 충분히 상보적이며; 센스 가닥은 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함하고, 모티프 중 적어도 하나는 절단 부위에서 또는 그 부근에 존재한다. 상기 안티센스 가닥은 안티센스 절단 부위에서 또는 그 부근에 있는 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-O-메틸 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함한다.

[0336] 특정 실시 형태에서, dsRNAi 작용제는 센스 및 안티센스 가닥을 포함하고, 여기서 dsRNAi 작용제는 적어도 25개

및 최대 29개 뉴클레오타이드인 길이를 갖는 제1 가닥 및 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-O-메틸 변형의 적어도 하나의 모티프를 갖는 최대 30개 뉴클레오타이드인 길이를 갖는 제2 가닥을 포함하고; 여기서 제1 가닥의 3' 말단과 제2 가닥의 5' 말단은 평활 말단을 형성하고 제2 가닥은 제1 가닥보다 이의 3' 말단에서 1-4개 뉴클레오타이드 더 길며, 여기서 듀플렉스 영역은 적어도 25개 뉴클레오타이드 길이이고, 제2 가닥은 제2 가닥 길이의 적어도 19개 뉴클레오타이드를 따라 표적 mRNA에 충분히 상보적이어서 RNAi 작용제가 포유 동물 세포 내로 도입될 때 표적 유전자 발현을 감소시키고, 여기서 dsRNAi 작용제의 다이버절단이 우선적으로 제2 가닥의 3'-말단을 포함하는 siRNA를 생성하여 포유류에서 표적 유전자의 발현을 감소시킨다. 임의로, 상기 dsRNAi 작용제는 리간드를 추가로 포함한다.

[0337] 특정 실시 형태에서, dsRNAi 작용제의 센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에서 3개의 동일한 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함하고, 여기서 모티프 중 하나는 센스 가닥 내 절단 부위에 존재한다.

[0338] 특정 실시 형태에서, dsRNAi 작용제의 안티센스 가닥은 또한 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에서 3개의 동일한 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함할 수 있고, 여기서 모티프 중 하나는 안티센스 가닥 내 절단 부위에 또는 그 부근에 존재한다.

[0339] 19~23개 뉴클레오타이드 길이의 듀플렉스 영역을 갖는 dsRNAi 작용제에 대해, 안티센스 가닥의 절단 부위는 전형적으로 5'-말단으로부터 10, 11 및 12번 위치 주변에 있다. 따라서, 3개의 동일한 변형의 모티프는 안티센스 가닥의 9, 10, 11 위치; 10, 11, 12 위치; 11, 12, 13 위치; 12, 13, 14 위치; 또는 13, 14, 15 위치에 존재할 수 있고, 계수는 안티센스 가닥의 5'-말단에서 첫 번째 뉴클레오타이드에서 개시하거나, 계수는 안티센스 말단의 5'-말단에서 듀플렉스 영역 내 첫 번째 쌍을 형성하는 뉴클레오타이드에서 개시한다. 안티센스 가닥 내 절단 부위는 또한 5'-말단에서 dsRNAi 작용제의 듀플렉스 영역의 길이에 따라 변화할 수 있다.

[0340] dsRNAi 작용제의 센스 가닥은 가닥의 절단 부위에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 적어도 하나의 모티프를 포함할 수 있고; 안티센스 가닥은 가닥의 절단 부위에서 또는 그 근처에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 적어도 하나의 모티프를 가질 수 있다. 상기 센스 가닥과 안티센스 가닥이 dsRNA 듀플렉스를 형성할 때, 센스 가닥과 안티센스 가닥은 센스 가닥상에 3개의 뉴클레오타이드의 하나의 모티프와 안티센스 가닥상에 3개의 뉴클레오타이드 하나의 모티프가 적어도 하나의 뉴클레오타이드 중복을 갖도록 정렬될 수 있고, 즉, 상기 센스 가닥에서 모티프의 3개의 뉴클레오타이드의 적어도 하나는 안티센스 가닥에서 모티프의 3개의 뉴클레오타이드의 적어도 하나와 염기 쌍을 형성한다. 대안으로, 적어도 2개의 뉴클레오타이드는 중복될 수 있거나, 모든 3개의 뉴클레오타이드는 중복될 수 있다.

[0341] 일부 실시 형태에서, dsRNAi 작용제의 센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 하나 초과 모티프를 포함할 수 있다. 제1 모티프는 가닥의 절단 부위에 또는 그 부근에 존재할 수 있고, 다른 모티프는 윙(wing) 변형일 수 있다. 본 출원의 "윙 변형"이라는 용어는 동일한 가닥의 절단 부위에 또는 그 부근에 모티프로부터 분리된 가닥의 다른 부분에 존재하는 모티프를 지칭한다. 윙 변형은 첫 번째 모티프에 인접하거나 적어도 하나 이상의 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 모티프가 서로 바로 인접해 있는 경우, 모티프의 화학은 서로 구별되며, 모티프가 하나 이상의 뉴클레오타이드에 의해 분리되어 있는 경우 상기 화학과 동일하거나 상이할 수 있다. 2개 이상의 윙 변형이 존재할 수 있다. 예를 들어, 2개의 윙 변형이 존재하는 경우, 각각의 윙 변형은 절단 부위에 또는 그 부근에 있는 첫 번째 모티프에 대해 하나의 말단에 존재하거나 리드 모티프의 어느 한 측면상에 존재할 수 있다.

[0342] 센스 가닥과 마찬가지로, dsRNAi 작용제의 안티센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 하나 초과 모티프를 함유할 수 있으며, 모티프 중 적어도 하나는 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다. 이러한 안티센스 가닥은 또한 센스 가닥에 존재할 수 있는 윙 변형과 유사한 정렬로 하나 이상의 윙 변형을 포함할 수 있다.

[0343] 일부 실시 형태에서, dsRNAi 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 상의 윙 변형은 전형적으로 가닥의 3'-말단, 5'-말단, 또는 양쪽 말단에서 처음 1개 또는 2개의 말단 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[0344] 다른 실시 형태에서, dsRNAi 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 상의 윙 변형은 전형적으로 가닥의 3'-말단, 5'-말단, 또는 양쪽 말단에서 듀플렉스 영역 내 처음 1개 또는 2개의 쌍 형성 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[0345] dsRNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 각각 적어도 하나의 윙 변형을 포함하는 경우, 윙 변형은 듀플렉스 영역의 동일한 말단에 가해질 수 있고 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드의 중복을 가질 수 있다.

- [0346] dsRNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 각각 적어도 2개의 쌍 변형을 포함하는 경우, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 한 가닥의 2개의 변형이 각각 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드가 중복된 듀플렉스 영역의 하나의 말단상에 가해지고; 하나의 가닥으로부터 각각 2개의 변형이 1, 2, 또는 3개의 뉴클레오타이드를 갖는 듀플렉스 영역의 다른 말단에 가해지도록 하고; 한 가닥의 2개의 변형은 듀플렉스 영역에서 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드를 갖는 리드 모티프의 각 측면에 가해지도록 정렬될 수 있다.
- [0347] 일부 실시 형태에서, 모티프의 일부인 뉴클레오타이드를 포함하는 dsRNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥에서 모든 뉴클레오타이드는 변형될 수 있다. 각각의 뉴클레오타이드는 비-연결 포스페이트 산소의 하나 또는 둘 다 또는 연결 포스페이트 산소의 하나 이상의 하나 이상의 변경; 리보오스 당의 성분, 예를 들어, 리보오스 당 상에 2'-하이드록실의 변경; 포스페이트 모이어티의 "탈포스포" 링커로의 다수의 대체; 천연적으로 존재하는 염기의 변형 또는 대체; 및 리보오스-포스페이트 백본의 대체 또는 변형을 포함할 수 있는 동일하거나 상이한 변형으로 변형될 수 있다.
- [0348] 핵산은 서브유닛의 중합체임으로, 많은 변형은 핵산 내 반복되는 위치에서 일어나고, 예를 들어, 염기 또는 포스페이트 모이어티의 변형, 또는 포스페이트 모이어티의 비-연결 O가 있다. 일부 경우에 핵산의 모든 대상 위치에서 변형이 일어나지만 많은 경우에는 일어나지 않을 것이다. 예를 들어, 변형은 3'- 또는 5' 말단 위치에서만 발생할 수 있고, 말단 영역, 예를 들어, 말단 뉴클레오타이드 상의 위치 또는 가닥의 마지막 2, 3, 4, 5, 또는 10개 뉴클레오타이드에서만 발생할 수 있다. 변형은 이중 가닥 영역, 단일 가닥 영역 또는 둘 다에서 발생할 수 있다. 변형은 RNA의 이중 가닥 영역에서만 발생할 수 있거나 RNA의 단일 가닥 영역에서만 발생할 수 있다. 예를 들어, 비-연결 O 위치에서 포스포로티오에이트 변형은 한쪽 또는 양쪽 말단에서만 발생할 수 있고, 말단 영역, 예를 들어, 말단 뉴클레오타이드 상의 위치에서 또는 가닥의 마지막 2, 3, 4, 5, 또는 10개 뉴클레오타이드에서만 발생할 수 있거나, 이중 가닥 및 단일 가닥 영역, 특히 말단에서 발생할 수 있다. 5'-말단 또는 말단들은 인산화될 수 있다.
- [0349] 예를 들어, 안정성을 증진시키거나, 오버행에 특정 염기를 포함하거나, 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 대용물을 단일 가닥 오버행, 예를 들어, 5'- 또는 3'-오버행에 포함하거나, 둘 다에 포함하는 것이 가능할 수 있다. 예를 들어, 오버행에 퓨린 뉴클레오타이드를 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 3' 또는 5' 오버행의 염기 모두 또는 일부는, 예를 들어, 본 출원에서 기재된 변형으로 변형될 수 있다. 변형은, 예를 들어, 당해 분야에 공지된 변형을 갖는 리보오스 당의 2' 위치에서의 변형의 사용, 예를 들어, 테옥시 리보뉴클레오타이드, 2'-테옥시-2'-플루오로 (2'-F) 또는 뉴클레오염기의 리보당 대신 변형된 2'-O-메틸의 사용, 및 포스페이트 그룹에서의 변형, 예를 들어, 포스포로티오에이트 변형의 사용을 포함할 수 있다. 오버행은 표적 서열과 상동일 필요는 없다.
- [0350] 일부 실시 형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 각각의 잔기는 LNA, CRN, cET, UNA, HNA, CeNA, 2'-메톡시 에틸, 2'-O-메틸, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-테옥시, 2'-히드록실, 또는 2'-플루오로로 독립적으로 변형된다. 상기 가닥은 하나 초과와 변형을 포함할 수 있다. 하나의 실시 형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 각각의 잔기는 독립적으로 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로로 변형된다.
- [0351] 적어도 2개의 상이한 변형은 전형적으로 센스 가닥 및 안티센스 가닥 상에 존재한다. 상기 2개의 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형 또는 기타일 수 있다.
- [0352] 특정 실시 형태에서, N_a 또는 N_b 는 교호 패턴의 변형을 포함한다. 본 출원에 사용된 용어 "교호 모티프"는 하나 이상의 변형을 갖는 모티프를 지칭하며, 각각의 변형은 한 가닥의 교호 뉴클레오타이드 상에서 발생한다. 교호 뉴클레오타이드는 하나 걸러 뉴클레오타이드 하나 또는 3개의 뉴클레오타이드 당 하나 또는 유사한 패턴을 지칭할 수 있다. 예를 들어, A, B 및 C 각각이 뉴클레오타이드에 대한 하나의 유형의 변형을 나타내는 경우, 교호 모티프는 "ABABABABAB...", "AABBAABBAABB...", "AABAABAABAAB...", "AAABAAABAAAB...", "AAABBBAAABBB...", 또는 "ABCABCABCABC..." 동일 수 있다.
- [0353] 교호 모티프에 포함된 변형의 유형은 동일하거나 상이할 수 있다. 예를 들어, A, B, C, D 각각이 뉴클레오타이드 상에 하나 유형의 변형을 나타내는 경우, 교호 패턴, 즉, 하나 걸러 뉴클레오타이드 상의 변형은 동일할 수 있지만, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 각각은 교호 모티프, 예를 들어, "ABABAB...", "ACACAC..." "BDBDBD..." 또는 "CDCDCD..." 등 내 여러 변형의 가능성으로부터 선택될 수 있다.
- [0354] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 dsRNAi 작용제는 이동된 안티센스 가닥 상의 교대 모티프에 대한 변형 패턴에 비해 센스 가닥 상의 교대 모티프에 대한 변형 패턴을 포함한다. 전환 (shift)은 센스 가닥의 뉴클레오타이드

의 변형된 그룹이 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드의 상이하게 변형된 그룹에 상응하도록할 수 있고 그 반대의 경우도 마찬가지일 수 있다. 예를 들어, 센스 가닥이 dsRNA 듀플렉스 내 안티센스 가닥과 쌍을 형성하는 경우, 센스 가닥 내 교호 모티프는 가닥의 5'에서 3'로 "ABABAB"로 개시할 수 있고 안티센스 가닥 내 교호 모티프는 듀플렉스 영역 내 가닥의 5'에서 3'로 "BABABA"로 개시할 수 있다. 또 다른 예로서, 센스 가닥 내 교호 모티프는 가닥의 5'에서 3'로 "AABBAABB"로 개시할 수 있고, 안티센스 가닥 내 교호 모티프는 듀플렉스 영역 내 가닥의 5'에서 3'로 "BBAABBAA"로 개시할 수 있어 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이의 변형 패턴의 완전하거나 부분적인 전환이 있다.

[0355] 일부 실시 형태에서, dsRNAi 작용제는 센스 가닥 상의 2'-O-메틸 변형 및 2'-F 변형의 교호 모티프의 패턴을 포함하고, 초기에 안티가닥 상의 2'-O-메틸 변형 및 2'-F 변형의 교호 모티프의 패턴에 상대적인 전환을 갖고, 즉 센스 가닥 상의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥 상의 2'-F 변형된 뉴클레오타이드와 쌍을 형성하고 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 센스 가닥의 1 위치는 2'-F 변형으로 개시할 수 있고, 안티센스 가닥의 1 위치는 2'-O-메틸 변형으로 개시할 수 있다.

[0356] 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥으로의 도입은 센스 가닥 또는 안티센스 가닥에 존재하는 초기 변형 패턴을 중단시킨다. 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프를 센스 또는 안티센스 가닥으로 도입함에 의한 센스 또는 안티센스 가닥의 변형 패턴의 이러한 중단은 표적 유전자에 대한 유전자 침묵 활성을 증진시킬 수 있다.

[0357] 일부 실시 형태에서, 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 모티프가 임의의 가닥에 도입되는 경우, 모티프 옆의 뉴클레오타이드의 변형은 모티프의 변형과 상이한 변형이다. 예를 들어, 모티프를 포함하는 서열의 부분은 "...N_aYYYN_b..."이며, 여기서 "Y"는 3개의 연속 뉴클레오타이드에 대한 3개의 동일한 변형의 모티프의 변형을 나타내고, "N_a" 및 "N_b"는 Y의 변형과는 상이한 "YYY" 모티프 옆의 뉴클레오타이드에 대한 변형을 나타내고, 여기서 N_a 및 N_b는 동일하거나 상이한 변형일 수 있다. 대안으로, N_a 또는 N_b는 쌍 변형이 존재하는 경우 존재하거나 부재일 수 있다.

[0358] 상기 iRNA는 추가로 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함할 수 있다. 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결 변형은 가닥의 임의의 위치에서 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 가닥 둘 다의 임의의 뉴클레오타이드에서 발생할 수 있다. 예를 들어, 뉴클레오타이드간 연결 변형은 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 상의 모든 뉴클레오타이드에서 발생할 수 있거나; 각각의 뉴클레오타이드간 연결 변형은 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 상의 교호 패턴으로 발생할 수 있거나; 센스 가닥 또는 안티센스 가닥은 교호 패턴으로 뉴클레오타이드간 연결 변형 둘 다를 포함할 수 있다. 센스 가닥 상의 뉴클레오타이드간 연결 변형의 교호 패턴은 안티센스 가닥과 동일하거나 상이할 수 있고, 센스 가닥 상의 뉴클레오타이드간 연결 변형의 교호 패턴은 안티센스 가닥 상의 뉴클레오타이드간 연결 변형의 교호 패턴에 상대적인 전환을 가질 수 있다. 하나의 실시 형태에서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 6~8개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함하고, 센스 가닥은 5'-말단 또는 3'-말단 중 하나에 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다.

[0359] 일부 실시 형태에서, dsRNAi 작용제는 오버행 영역에 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결 변형을 포함한다. 예를 들어, 오버행 영역은 2개의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결을 갖는 2개의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 뉴클레오타이드간 연결 변형은 또한 듀플렉스 영역 내의 말단 쌍 형성 뉴클레오타이드와 오버행 뉴클레오타이드를 연결하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들어, 적어도 2, 3, 4개, 또는 모든 오버행 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결을 통해 연결될 수 있고, 임의로 오버행 뉴클레오타이드 옆에 있는 쌍 형성 뉴클레오타이드와 오버행 뉴클레오타이드를 연결하는 추가의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결일 수 있다. 예를 들어, 말단 3개의 뉴클레오타이드 사이에 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이 있을 수 있고, 여기서, 3개의 뉴클레오타이드 중 2개는 오버행 뉴클레오타이드이고 세 번째는 오버행 뉴클레오타이드 옆의 쌍 형성 뉴클레오타이드이다. 이들 말단 3개의 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 3'-말단, 센스 가닥의 3'-말단, 안티센스 가닥의 5'-말단, 또는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있을 수 있다.

[0360] 일부 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 오버행은 안티센스 가닥의 3'-말단에 있고, 말단 3개의 뉴클레오타

이드 사이의 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이 있고, 여기서, 3개의 뉴클레오타이드 중 2개는 오버행 뉴클레오타이드이고, 3번째의 뉴클레오타이드는 오버행 뉴클레오타이드 옆의 쌍 형성 뉴클레오타이드이다. 임의로, dsRNAi 작용제는 추가로 센스 가닥의 5'-말단에서 및 안티센스 가닥의 5'-말단 둘 다에서 말단 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 가질 수 있다.

- [0361] 하나의 실시 형태에서, dsRNAi 작용제는 표적과, 듀플렉스 내 및 이의 조합으로 불일치 (들)를 포함한다. 불일치는 오버행 영역 또는 듀플렉스 영역에서 발생할 수 있다. 염기 쌍은 해리 또는 용융을 촉진하는 경향에 따라 순위가 매겨질 수 있다 (예를 들어, 특정 쌍 형성의 결합 또는 해리의 자유 에너지에 따라 가장 간단한 접근법은 개별 쌍을 기준으로 쌍을 검사하는 것인만 다음 이웃 또는 유사한 분석이 사용될 수도 있다). 해리를 촉진시키는 측면에서: A:U는 G:C 보다 선호되고; G:U는 G:C 보다 바람직하고; I:C는 G:C 보다 바람직하다 (I=이노신). 불일치, 예를 들어, 비-카노니칼 또는 카노니칼 이외의 쌍 형성 (본 출원의 다른 곳에 기재된 바와 같이)은 카노니칼 (A:T, A:U, G:C) 쌍 형성 보다 바람직하고; 범용 염기를 포함하는 쌍 형성은 카노니칼 쌍 형성 보다 바람직하다.
- [0362] 특정 실시 형태에서, dsRNAi 작용제는 A:U, G:U, I:C, 및 예를 들어, 듀플렉스의 5'-말단에서 안티센스 가닥의 해리를 촉진시키기 위해 비-카노니칼 또는 카노니칼 이외의 쌍 형성 또는 범용 염기를 포함하는 쌍 형성의 불일치된 쌍의 그룹으로부터 독립적으로 선택된 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 듀플렉스 영역 내 처음 1, 2, 3, 4 또는 5개 염기 쌍 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0363] 특정 실시 형태에서, 안티센스 가닥 내 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 1 위치에 있는 뉴클레오타이드는 A, dA, dU, U, 및 dT로부터 선택된다. 대안으로, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 듀플렉스 영역 내 처음 1, 2 또는 3개의 염기 쌍의 적어도 하나는 AU 염기 쌍이다. 예를 들어, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내 처음 염기 쌍은 AU 염기 쌍이다.
- [0364] 다른 실시 형태에서, 센스 가닥의 3'-말단에서 뉴클레오타이드는 데옥시-티민 (dT)이거나 안티센스 가닥의 3'-말단에서 뉴클레오타이드는 데옥시-티민 (dT)이다. 예를 들어, 센스, 안티센스 가닥 또는 가닥 둘 다의 3'-말단 상에 데옥시-티민 뉴클레오타이드, 예를 들어, 2개의 dT 뉴클레오타이드의 짧은 서열이 있다.
- [0365] 특정 실시 형태에서, 상기 센스 가닥 서열은 하기 화학식 I로 표시될 수 있다:
- [0366] [화학식 I]
- [0367] $5' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-(X X X)}_i\text{-}N_b\text{-Y Y Y -}N_b\text{-(Z Z Z)}_j\text{-}N_a\text{-}n_q \text{ } 3'$
- [0368] 상기 화학식 I에서,
- [0369] i 및 j는 각각 독립적으로 0 또는 1이고;
- [0370] p 및 q는 각각 독립적으로 0-6이고;
- [0371] 각각의 N_a 는 독립적으로 0-25개 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하고;
- [0372] 각각의 N_b 는 독립적으로 0-10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;
- [0373] 각각의 n_p 및 n_q 는 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;
- [0374] 여기서, N_b 및 Y는 동일한 변형을 갖지 않고;
- [0375] XXX, YYY 및 ZZZ 각각은 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 하나의 모티프를 나타낸다. 바람직하게, YYY는 모든 2'-F 변형된 뉴클레오타이드이다.
- [0376] 일부 실시 형태에서, N_a 또는 N_b 는 교호 패턴의 변형을 포함한다.
- [0377] 일부 실시 형태에서, YYY 모티프는 센스 가닥의 절단 부위에서 또는 이의 부근에 존재한다. 예를 들어, 상기 dsRNAi 작용제가 17-23개 뉴클레오타이드 길이의 듀플렉스 영역을 갖는 경우, YYY 모티프는 센스 가닥의 절단 부위에 또는 이의 부근에 존재할 수 있고 (예를 들어, 위치 6, 7, 8; 7, 8, 9; 8, 9, 10; 9, 10, 11; 10, 11, 12; 또는 11, 12, 13에 존재할 수 있다), 계수는 처음 뉴클레오타이드, 5'-말단으로부터 개시하거나; 임의로 계수는 듀플렉스 영역 내 처음 쌍 형성 뉴클레오타이드에서 5'-말단으로부터 개시한다.

- [0378] 하나의 실시 형태에서, i 는 1이고, j 는 0이거나, i 는 0이고 j 는 1이거나, i 및 j 둘 다는 1이다. 그러므로, 상기 센스 가닥은 하기 화학식 Ib 내지 Id로 표시될 수 있다:
- [0379] [화학식 Ib]
- [0380] $5' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-}YYY\text{-}N_b\text{-}ZZZ\text{-}N_a\text{-}n_q \text{ } 3'$;
- [0381] [화학식 Ic]
- [0382] $5' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-}XXX\text{-}N_b\text{-}YYY\text{-}N_a\text{-}n_q \text{ } 3'$; 또는
- [0383] [화학식 Id]
- [0384] $5' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-}XXX\text{-}N_b\text{-}YYY\text{-}N_b\text{-}ZZZ\text{-}N_a\text{-}n_q \text{ } 3'$.
- [0385] 상기 센스 가닥이 화학식 Ib로 표시될 때, N_b 는 0~10, 0~7, 0~5, 0~4, 0~2, 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 각각의 N_b 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0386] 상기 센스 가닥이 화학식 Ic로 표시될 때, N_b 는 0~10, 0~7, 0~10, 0~7, 0~5, 0~4, 0~2, 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 각각의 N_a 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0387] 상기 센스 가닥이 화학식 Id로 표시될 때, 각각의 N_b 는 독립적으로 0~10, 0~7, 0~5, 0~4, 0~2, 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 바람직하게, N_b 는 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고, 각각의 N_a 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0388] X, Y 및 Z 각각은 서로 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0389] 다른 실시 형태에서, i 는 0이고, j 는 0이고, 상기 센스 가닥은 하기 화학식 Ia로 표시될 수 있다:
- [0390] [화학식 Ia]
- [0391] $5' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-}YYY\text{-}N_a\text{-}n_q \text{ } 3'$.
- [0392] 상기 센스 가닥이 화학식 Ia로 표시될 때, 각각의 N_b 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0393] 하나의 실시 형태에서, 상기 RNAi의 안티센스 가닥 서열은 화학식 II로 표시될 수 있다:
- [0394] [화학식 II]
- [0395] $5' \text{ } n_q\text{'-}N_a\text{'-(Z'Z'Z')}_k\text{-}N_b\text{'-}Y\text{'Y'Y'-'-}N_b\text{'-(X'X'X')}_l\text{-}N\text{'}_a\text{-}n_p \text{ } 3'$
- [0396] 상기 화학식 II에서,
- [0397] k 및 l 은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;
- [0398] p' 및 q' 는 각각 독립적으로 0~6이고;
- [0399] 각각의 N_a' 는 독립적으로 0~25개 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하고;
- [0400] 각각의 N_b' 는 독립적으로 0~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;
- [0401] 각각의 n_p' 및 n_q' 는 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;
- [0402] 여기서, N_b' 및 Y' 는 동일한 변형을 갖지 않고;

- [0403] X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 하나의 모티프를 나타낸다.
- [0404] 일부 실시 형태에서, N_a' 또는 N_b' 는 교호 패턴의 변형을 포함한다.
- [0405] 상기 Y'Y'Y' 모티프는 상기 안티센스 가닥의 절단 부위에 또는 이의 부근에 존재한다. 예를 들어, 상기 dsRNAi 작용제가 17~23개 뉴클레오타이드 길이의 듀플렉스 영역을 가질 때, 상기 Y'Y'Y' 모티프는 상기 안티센스 가닥의 9, 10, 11번; 10, 11, 12번; 11, 12, 13번; 12, 13, 14번; 또는 13, 14, 15번 위치에 존재할 수 있고, 계수는 처음 뉴클레오타이드, 5'-말단으로부터 개시하거나; 임의로, 계수는 듀플렉스 영역 내 처음 쌍 형성 뉴클레오타이드에서 5'-말단으로부터 개시한다. 바람직하게, 상기 Y'Y'Y' 모티프는 11, 12, 13번 위치에 존재한다.
- [0406] 특정 실시 형태에서, Y'Y'Y' 모티프는 모두 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드이다.
- [0407] 특정 실시 형태에서, i는 1이고, l은 0이거나, k는 0이고 l은 1이거나, k와 l 둘 다는 1이다.
- [0408] 그러므로, 상기 안티센스 가닥은 하기 화학식 IIb 내지 IID로 표시될 수 있다:
- [0409] [화학식 IIb]
- [0410] 5' $n_q'-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_p'$ 3';
- [0411] [화학식 IIc]
- [0412] 5' $n_q'-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-n_p'$ 3'; 또는
- [0413] [화학식 IID]
- [0414] 5' $n_q'-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-N_a'-n_p'$ 3'.
- [0415] 상기 안티센스 가닥이 화학식 IIb로 표시될 때, N_b' 는 0~10, 0~7, 0~10, 0~7, 0~5, 0~4, 0~2, 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 각각의 N_a' 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0416] 상기 안티센스 가닥이 화학식 IIc로 표시될 때, N_b' 는 0~10, 0~7, 0~10, 0~7, 0~5, 0~4, 0~2, 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 각각의 N_a' 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0417] 상기 안티센스 가닥이 화학식 IID로 표시될 때, 각각의 N_b' 는 독립적으로 0~10, 0~7, 0~10, 0~7, 0~5, 0~4, 0~2, 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 각각의 N_a' 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다. 바람직하게, N_b 는 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다.
- [0418] 다른 실시 형태에서, k는 0이고, l은 0이고, 상기 안티센스 가닥은 하기 화학식 Ia로 표시될 수 있다:
- [0419] [화학식 Ia]
- [0420] 5' $n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q'$ 3'.
- [0421] 상기 안티센스 가닥이 화학식 IIa로 표시될 때, 각각의 N_a' 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.
- [0422] X', Y' 및 Z' 각각은 서로 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0423] 상기 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 각각의 뉴클레오타이드는 LNA, CRN, UNA, cET, HNA, CeNA, 2'-메톡시에틸, 2'-O-메틸, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-하이드록실 또는 2'-플루오로로 독립적으로 변형된다. 예를 들어, 상기 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 각각의 뉴클레오타이드는 독립적으로 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로로 변형된다. 특히, 각각의 X, Y, Z, X' Y', 및 Z'는 2'-O-메틸 변형 또는 2'-플루오로 변형을 나타낼 수 있다.
- [0424] 일부 실시 형태에서, dsRNAi 작용제의 센스 가닥은 듀플렉스 영역이 21개 nt인 경우 가닥의 9, 10 및 11 위치에

존재하는 YYY 모티프를 함유할 수 있고, 계수는 5'-말단으로부터의 처음 뉴클레오타이드로부터 개시하거나 임의로 계수는 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내 처음 쌍 형성 뉴클레오타이드에서 개시하고; Y는 2'-F 변형을 나타낸다. 센스 가닥은 추가로 듀플렉스 영역의 반대 말단에 웅 변형으로서 XXX 모티프 또는 ZZZ 모티프를 함유할 수 있고; XXX 및 ZZZ는 각각 독립적으로 2'-OMe 변형 또는 2'-F 변형을 나타낸다.

[0425] 일부 실시 형태에서, 안티센스 가닥은 가닥의 위치 11, 12, 13에 존재하는 Y'Y'Y' 모티프를 함유할 수 있고, 계수는 5'-말단으로부터의 처음 뉴클레오타이드로부터 개시하거나 임의로 계수는 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내 처음 쌍 형성 뉴클레오타이드에서 개시하고; Y'는 2'-O-메틸 변형을 나타낸다. 안티센스 가닥은 추가로 듀플렉스 영역의 반대 말단에 웅 변형으로서 X'X'X' 모티프 또는 Z'Z'Z' 모티프를 함유할 수 있고; X'X'X' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 2'-OMe 변형 또는 2'-F 변형을 나타낸다.

[0426] 상기 화학식 Ia, Ib, Ic 및 Id 중 어느 하나에 의해 나타낸 센스 가닥은 각각 화학식 IIa, IIb, IIc 및 IId 중 어느 하나에 의해 나타낸 안티센스 가닥과 듀플렉스를 형성한다.

[0427] 따라서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 dsRNAi 작용제는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함할 수 있는데, 각각의 가닥은 14 내지 30개 뉴클레오타이드를 가지며, 상기 iRNA 듀플렉스는 하기 화학식 III으로 표시된다:

[0428] [화학식 III]

[0429] 센스: 5' n_p-N_a-(X X X)_i-N_b-Y Y Y-N_b-(Z Z Z)_j-N_a-n_q 3'

[0430] 안티센스: 3' n_p'-N_a'-(X'X'X')_k-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(Z'Z'Z')_l-N_a'-n_q' 5'

[0431] 상기 화학식 III에서,

[0432] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

[0433] p, p', q 및 q'는 각각 독립적으로 0~6이고;

[0434] 각각의 N_a 및 N_a'는 독립적으로 0~25개 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하고;

[0435] N_b 및 N_b'는 각각 독립적으로 0~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;

[0436] n_p', n_p, n_q' 및 n_q는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;

[0437] XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 하나의 모티프를 나타낸다.

[0438] 하나의 실시 형태에서, i는 0이고, j는 0이거나; i는 1이고 j는 0이거나; i는 0이고, j는 1이거나; i 및 j 둘 다는 0이거나; i 및 j 둘 다는 1이다. 또 다른 실시 형태에서, k는 0이고, l는 0이거나; k는 1이고, l는 0이고; k는 0이고, l는 1이거나; k 및 l 둘 다는 0이거나; k 및 l 둘 다는 1이다.

[0439] iRNA 듀플렉스를 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 예시적인 조합은 하기 화학식 IIIa 내지 IIId를 포함한다:

[0440] [화학식 IIIa]

[0441] 5' n_p-N_a-Y Y Y-N_a-n_q 3'

[0442] 3' n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q' 5'

[0443] [화학식 IIIb]

[0444] 5' n_p-N_a-Y Y Y-N_b-Z Z Z-N_a-n_q 3'

[0445] 3' n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a'-n_q' 5'

- [0446] [화학식 IIIc]
- [0447] $5' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-} X \text{ } X \text{ } X \text{ } \text{-} N_b\text{-} Y \text{ } Y \text{ } Y \text{ } \text{-} N_a\text{-} n_q \text{ } 3'$
- [0448] $3' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-} X'X'X'\text{-} N_b\text{-} Y'Y'Y'\text{-} N_a\text{-} n_q \text{ } 5'$
- [0449] [화학식 IIIId]
- [0450] $5' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-} X \text{ } X \text{ } X \text{ } \text{-} N_b\text{-} Y \text{ } Y \text{ } Y \text{ } \text{-} N_b\text{-} Z \text{ } Z \text{ } Z \text{ } \text{-} N_a\text{-} n_q \text{ } 3'$
- [0451] $3' \text{ } n_p\text{-}N_a\text{-} X'X'X'\text{-} N_b\text{-} Y'Y'Y'\text{-} N_b\text{-} Z'Z'Z'\text{-} N_a\text{-} n_q \text{ } 5'$
- [0452] 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 IIIa로 표시될 때, 각각의 N_a 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.
- [0453] 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 IIIb로 표시될 때, 각각의 N_b 는 독립적으로 1~10, 1~7, 1~5, 또는 1~4개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 각각의 N_a 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0454] 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 IIIc로 표시될 때, 각각의 N_b , N_b' 는 독립적으로 0~10, 0~7, 0~10, 0~7, 0~5, 0~4, 0~2, 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 각각의 N_a 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0455] 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 IIId로 표시될 때, 각각의 N_b , N_b' 는 독립적으로 0~10, 0~7, 0~10, 0~7, 0~5, 0~4, 0~2, 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 각각의 N_a , N_a' 는 독립적으로 2~20, 2~15, 또는 2~10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다. 각각의 N_a , N_a' , N_b 및 N_b' 는 독립적으로 교호 패턴의 변형을 포함한다.
- [0456] 화학식 III, IIIa, IIIb, IIIc 및 IIId에서의 X, Y 및 Z 각각은 서로 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0457] 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 III, IIIa, IIIb, IIIc 및 IIId로 표시될 때, Y 뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 Y' 뉴클레오타이드 중 하나와 염기 쌍을 형성할 수 있다. 대안으로, Y 뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 상응하는 Y' 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 형성하거나; Y 뉴클레오타이드 중 3개 모두는 상응하는 Y' 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 형성한다.
- [0458] 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 IIIb 또는 IIId로 표시될 때, Z 뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 Z' 뉴클레오타이드 중 하나와 염기 쌍을 형성할 수 있다. 대안으로, Z 뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 상응하는 Z' 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 형성하거나; Z 뉴클레오타이드 중 3개 모두는 상응하는 Z' 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 형성한다.
- [0459] 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 IIIc 또는 IIId로 표시될 때, X 뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 X' 뉴클레오타이드 중 하나와 염기 쌍을 형성할 수 있다. 대안으로, X 뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 상응하는 X' 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 형성하거나; X 뉴클레오타이드 중 3개 모두는 상응하는 X' 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 형성한다.
- [0460] 특정 실시 형태에서, Y 뉴클레오타이드 상의 변형은 Y' 뉴클레오타이드 상의 변형과는 상이하거나, Z 뉴클레오타이드 상의 변형은 Z' 뉴클레오타이드 상의 변형과는 상이하거나, X 뉴클레오타이드 상의 변형은 X' 뉴클레오타이드 상의 변형과는 상이하다.
- [0461] 특정 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 IIId로 표시될 때, 상기 N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이다. 다른 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제가 화학식 IIId로 표시될 때, 상기 N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, $n_p > 0$ 이고 적어도 하나의 n_p '는 인접 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트 연결을 통해 연결된다. 더 다른 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제가 화학식 IIId로 표시될 때, 상기 N_a 변형은 2'-

0-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, $n_p' > 0$ 이고 적어도 하나의 n_p' 는 인접 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트 연결을 통해 연결되고, 상기 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다 (하기에서 기재됨). 다른 실시 형태에서, 상기 RNAi 작용제가 화학식 IIIId로 표시될 때, 상기 N_a 변형은 2'-0-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, $n_p' > 0$ 이고 적어도 하나의 n_p' 는 인접 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트 연결을 통해 연결되고, 상기 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 연결을 포함하고, 상기 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다.

[0462] 일부 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제가 화학식 IIIa로 표시될 때, 상기 N_a 변형은 2'-0-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, $n_p' > 0$ 이고 적어도 하나의 n_p' 는 인접 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트 연결을 통해 연결되고, 상기 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 연결을 포함하고, 상기 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다.

[0463] 일부 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제는 화학식 III, IIIa, IIIb, IIIc 및 IIIId로 표시된 적어도 2개의 듀플렉스를 함유하는 다량체이고, 여기서, 상기 듀플렉스는 링커에 의해 연결된다. 상기 링커는 절단 가능하거나 절단 가능하지 않을 수 있다. 임의로, 상기 다량체는 리간드를 추가로 포함한다. 상기 듀플렉스 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적화할 수 있거나; 상기 듀플렉스 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전자를 표적화할 수 있다.

[0464] 일부 실시 형태에서, 상기 dsRNAi 작용제는 화학식 III, IIIa, IIIb, IIIc 및 IIIId로 표시된 적어도 3, 4, 5, 6개 또는 그 이상의 듀플렉스를 함유하는 다량체이고, 여기서, 상기 듀플렉스는 링커에 의해 연결된다. 상기 링커는 절단 가능하거나 절단 가능하지 않을 수 있다. 임의로, 상기 다량체는 리간드를 추가로 포함한다. 상기 듀플렉스 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적화할 수 있거나; 상기 듀플렉스 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전자를 표적화할 수 있다.

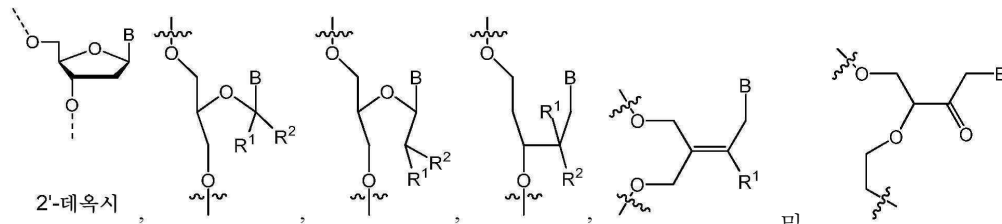
[0465] 하나의 실시 형태에서, 화학식 III, IIIa, IIIb, IIIc 및 IIIId 중 적어도 하나로 표시된 2개의 dsRNAi 작용제는 5' 말단, 및 3' 말단의 하나 또는 둘 다에서 서로 연결되고, 임의로, 리간드에 컨쥬게이트된다. 상기 작용제 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적화할 수 있거나; 상기 작용제 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전자를 표적화할 수 있다.

[0466] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 2'-플루오로 변형을 함유하는 낮은 수의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 2'-플루오로 변형을 갖는 10개 이하의 뉴클레오타이드를 함유할 수 있다. 예를 들어, RNAi 작용제는 2'-플루오로 변형을 갖는 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 또는 0개의 뉴클레오타이드를 함유할 수 있다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 2'-플루오로 변형을 갖는 10개의 뉴클레오타이드를 함유하고, 예를 들어, 센스 가닥에서 2'-플루오로 변형을 갖는 4개 뉴클레오타이드 및 안티센스 가닥에서 2'-플루오로 변형을 갖는 6개 뉴클레오타이드를 함유한다. 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 2'-플루오로 변형을 갖는 6개의 뉴클레오타이드를 함유하고, 예를 들어, 센스 가닥에서 2'-플루오로 변형을 갖는 4개 뉴클레오타이드 및 안티센스 가닥에서 2'-플루오로 변형을 갖는 2개 뉴클레오타이드를 함유한다.

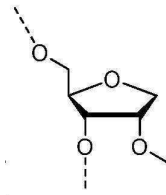
[0467] 다른 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 2'-플루오로 변형을 함유하는 매우 낮은 수의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 2'-플루오로 변형을 함유하는 2개 이하의 뉴클레오타이드를 함유할 수 있다. 예를 들어, RNAi 작용제는 2'-플루오로 변형을 갖는 2, 1, 또는 0개의 뉴클레오타이드를 함유할 수 있다. 특정 실시 형태에서, RNAi 작용제는 2'-플루오로 변형을 갖는 2개의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 센스 가닥에서 2'-플루오로 변형을 갖는 0개 뉴클레오타이드 및 안티센스 가닥에서 2'-플루오로 변형을 갖는 2개 뉴클레오타이드를 함유할 수 있다.

[0468] 다양한 공보는 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 다량체 iRNA를 기재한다. 이러한 공개공보는 국제공개공보 WO 2007/091269, 미국 특허 US 7,858,769, 국제공개공보 WO 2010/141511, WO 2007/117686, WO 2009/014887 및 WO 2011/031520을 포함하고, 이들 각각의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0469] 하기에 보다 상세히 기재된 바와 같이, 하나 이상의 탄수화물 모이어티의 iRNA로의 컨쥬게이트를 함유하는 iRNA는 iRNA의 하나 이상의 성질을 최적화할 수 있다. 많은 경우에, 탄수화물 모이어티는 iRNA의 변형된 서브유닛에 부착된다. 예를 들어, iRNA의 하나 이상의 리보뉴클레오타이드 서브유닛의 리보오스 당은 또 다른 모이어티, 예를 들어, 탄수화물 리간드가 부착된 비-탄수화물 (바람직하게는 환형) 담체로 대체될 수 있다. 서브유닛의 리보오스 당이 그렇게 대체된 리보뉴클레오타이드 서브유닛은 본 출원에서 리보오스 대체 변형 서브유



[0478] 로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 당 변형으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 열 불안정화 변형을 갖고, 여기서 B는 변형되거나 변형되지 않은 뉴클레오염기이고, R^1 및 R^2 는 독립적으로 H, 할로젠, OR_3 , 또는 알킬이고; R_3 은 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴 또는 당이다. 하나의 실시 형태에서, C1에서 열 불안정화 변형은 G:G, G:A, G:U, G:T, A:A, A:C, C:C, C:U, C:T, U:U, T:T, 및 U:T로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 불일치이고, 임의로, 불일치 쌍에서 적어도 하나의 뉴클레오염기는 2'-데옥시 뉴클레오염기이다. 하나의 예에서, C1에



서 열 불안정화 변형은 GNA 또는 이다.

[0479] T1, T1', T2' 및 T3'는 각각 독립적으로 2'-OM 변형의 입체 벌크보다 작거나 동일한 입체 벌크를 뉴클레오타이드에 제공하는 변형을 포함하는 뉴클레오타이드를 나타낸다. 입체 벌크는 변형의 입체 효과의 합을 지칭한다. 뉴클레오타이드 변형의 입체 효과를 결정하는 방법은 당해 분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 변형은 뉴클레오타이드의 리보오스 당의 2' 위치에 있을 수 있거나, 리보오스 당의 2' 위치와 유사하거나 동등한 비-리보오스 뉴클레오타이드, 비환형 뉴클레오타이드, 또는 뉴클레오타이드의 백본에 대한 변형일 수 있고, 뉴클레오타이드에 2'-OMe 변형의 입체 벌크 이하인 입체 벌크를 제공한다. 예를 들어, T1, T1', T2' 및 T3'은 각각 독립적으로 DNA, RNA, LNA, 2'-F, 및 2'-F-5'-메틸로부터 선택된다. 하나의 실시 형태에서, T1은 DNA이다. 하나의 실시 형태에서, T1'은 DNA, RNA 또는 LNA이다. 하나의 실시 형태에서, T2'는 DNA 또는 RNA이다. 하나의 실시 형태에서, T3'는 DNA 또는 RNA이다.

[0480] n^1 , n^3 , 및 q^1 은 독립적으로 길이가 4 내지 15개 뉴클레오타이드이다.

[0481] n^5 , q^3 , 및 q^7 은 독립적으로 길이가 1~6개 뉴클레오타이드 (들)이다.

[0482] n^4 , q^2 , 및 q^6 은 독립적으로 길이가 1~3개 뉴클레오타이드 (들)이고; 대안으로, n^4 는 0이다.

[0483] q^5 는 독립적으로 길이가 0~10개 뉴클레오타이드 (들)이다.

[0484] n^2 및 q^4 은 독립적으로 길이가 0~3개 뉴클레오타이드 (들)이다.

[0485] 대안으로, n^4 는 길이가 0~3개 뉴클레오타이드 (들)이다.

[0486] 하나의 실시 형태에서, n^4 는 0일 수 있다. 하나의 예에서, n^4 는 0이고, q^2 및 q^6 는 1이다. 또 다른 예에서, n^4 는 0이고, q^2 및 q^6 은 1이며, 센스 가닥의 위치 1~5 내에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단부터 계수) 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수)이 있다.

[0487] 하나의 실시 형태에서, n^4 , q^2 및 q^6 은 각각 1이다.

[0488] 하나의 실시 형태에서, n^2 , n^4 , q^2 , q^4 및 q^6 은 각각 1이다.

[0489] 하나의 실시 형태에서, C1은 센스 가닥이 길이가 19~22개 뉴클레오타이드인 경우 센스 가닥의 5'-말단의 위치

14~17에 있고, n^4 는 1이다. 하나의 실시 형태에서, C1은 센스 가닥의 5'-말단의 위치 15에 있다.

[0490] 하나의 실시 형태에서, T3'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 2에서 개시한다. 하나의 예에서, T3'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 2에 있고, q^6 은 1과 동일하다.

[0491] 하나의 실시 형태에서, T1'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 14에서 개시한다. 하나의 예에서, T1'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 14에 있고, q^2 은 1과 동일하다.

[0492] 예시적인 실시 형태에서, T3'은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터의 위치 2에서 개시하고 T1'은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 14에서 개시한다. 하나의 예에서, T3'은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터의 위치 2에서 개시하고 q^6 은 1과 동일하고 T1'은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터의 위치 14에서 개시하고, q^2 은 1과 동일하다.

[0493] 하나의 실시 형태에서, T1' 및 T3'은 11개 뉴클레오타이드 길이에 의해 분리되어 있다 (즉, T1' 및 T3' 뉴클레오타이드를 계수하지 않음).

[0494] 하나의 실시 형태에서, T1'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 14에서 개시한다. 제공한다. 하나의 예에서, T1'은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 14에 있고, q^2 은 1과 동일하고, 비-리보오스, 비환형 또는 백본의 2' 위치 또는 위치들에서의 변형은 2'-OMe 리보오스 보다 덜 입체적 벌크를 제공한다.

[0495] 하나의 실시 형태에서, T3'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 2에서 개시한다. 제공한다. 하나의 예에서, T3'은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2에 있고 q^6 은 1과 동일하고, 비-리보오스, 비환형 또는 백본에서 2' 위치 또는 위치들에서의 변형은 2'-OMe 리보오스 보다 덜하거나 동일한 입체적 벌크를 제공한다.

[0496] 하나의 실시 형태에서, T1은 센스 가닥의 절단 부위에 있다. 하나의 예에서, T1은 센스 가닥이 길이가 19~22개 뉴클레오타이드인 경우 센스 가닥의 5'-말단으로부터 위치 11~17에 있고, n^2 는 1이다. 예시적인 실시 형태에서, T1은 센스 가닥이 길이가 19~22개 뉴클레오타이드인 경우 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 11에서 센스 가닥의 절단 부위에 있고, n^2 는 1이다.

[0497] 하나의 실시 형태에서, T2'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 6에서 개시한다. 하나의 예에서, T2'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 6~10에 있고, q^4 은 1이다.

[0498] 예시적인 실시 형태에서, T1은 센스 가닥이 길이가 19~22개의 뉴클레오타이드인 경우 센스 가닥의 절단 부위, 예를 들어, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 11에 있고 n^2 는 1이고; T1'은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 14에 있고, q^2 은 1과 동일하고, T1'에 대한 변형은 리보오스 당의 2' 위치에 또는 2'-OMe 리보오스 보다 덜 입체적 벌크를 제공하는 비-리보오스, 비환형 또는 백본 내 위치에 있고; T2'는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 6~10에 있고, q^4 은 1이고; T3'은 안티센스 가닥의 5'말단으로부터 위치 2에 있고, q^6 은 1과 동일하고, T3'에 대한 변형은 2'-OMe 리보오스 보다 덜하거나 동일한 입체 벌크를 제공하는 비-리보오스, 비환형 또는 백본내 2'위치 또는 위치들에 있다.

[0499] 하나의 실시 형태에서, T2'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 8에서 개시한다. 하나의 예에서, T2'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 8에서 개시하고, q^4 은 2이다.

[0500] 하나의 실시 형태에서, T2'은 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 9에서 개시한다. 하나의 예에서, T2'는 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 위치 9에 있고, q^4 은 1이다.

[0501] 하나의 실시 형태에서, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 은 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 은 1이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 은 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연

결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

[0502] 하나의 실시 형태에서, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 1이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

[0503] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다.

[0504] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

[0505] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 6이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 7이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다.

[0506] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 6이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 7이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

[0507] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 1이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다.

[0508] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 1이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2

에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

[0509] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 5이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 1이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 임의로 안티센스 가닥의 3'-말단에 적어도 2개의 추가의 TT가 있다.

[0510] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 5이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 1이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 임의로 안티센스 가닥의 3'-말단에 적어도 2개의 추가의 TT가 있고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

[0511] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다.

[0512] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

[0513] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다.

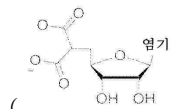
[0514] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

[0515] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고,

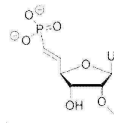
n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다.

[0516] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다.

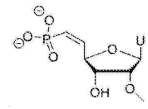
[0517] RNAi 작용제는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 5'-말단에서 인 함유 기를 포함할 수 있다. 5'-말단 인-함유 그룹은 5'-말단 포스페이트 (5'-P), 5'-말단 포스포로티오에이트 (5'-PS), 5'-말단 포스포로티오에이트 (5'-PS2), 5'-말단 비닐포스포네이트 (5'-VP), 5'-말단 메틸포스포네이트 (MePhos), 또는 5'-데옥시-5'-C-말로닐



()일 수 있다. 5'-말단 인-함유 그룹이 5'-말단 비닐포스포네이트 (5'-VP)인 경우, 5'-VP는



5'-E-VP 이성체 (즉, 트랜스-비닐포스포네이트,)



5'-Z-VP 이성체 (즉, 시스-비닐포스포네이트,) 또는 이의 혼합물이다.

[0518] 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 센스 가닥의 5'-말단에서 인 함유 기를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 5'-말단에서 인 함유 기를 포함한다.

[0519] 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 5'-P를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥에서 5'-P를 포함한다.

[0520] 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 5'-PS를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥에서 5'-PS를 포함한다.

[0521] 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 5'-VP를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥에서 5'-VP를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥에서 5'-E-VP를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥에서 5'-Z-VP를 포함한다.

[0522] 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 5'-PS2를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥에서 5'-PS2를 포함한다.

[0523] 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 5'-PS2를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥에서 5'-데옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.

[0524] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS를 포함한다.

- [0525] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-P를 포함한다.
- [0526] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP를 포함한다. 5'-VP는 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합일 수 있다.
- [0527] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2를 포함한다.
- [0528] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-테옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.
- [0529] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-P를 포함한다.
- [0530] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS를 포함한다.
- [0531] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이

고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP를 포함한다. 5'-VP는 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합일 수 있다.

[0532] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2를 포함한다.

[0533] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-데옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.

[0534] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-P를 포함한다.

[0535] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. dsRNAi 작용제는 또한 5'-PS를 포함한다.

[0536] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP를 포함한다. 5'-VP는 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합일 수 있다.

[0537] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2를 포함한다.

- [0538] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-테옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.
- [0539] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-P를 포함한다.
- [0540] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS를 포함한다.
- [0541] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP를 포함한다. 5'-VP는 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합일 수 있다.
- [0542] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2를 포함한다.
- [0543] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형

결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-테옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.

- [0544] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-P를 포함한다.
- [0545] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS를 포함한다.
- [0546] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP를 포함한다. 5'-VP는 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합일 수 있다.
- [0547] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. dsRNAi 작용제는 또한 5'-PS2를 포함한다.
- [0548] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-테옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.
- [0549] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-P를 포함한다.
- [0550] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2

개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS를 포함한다.

[0551] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP를 포함한다. 5'-VP는 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합일 수 있다.

[0552] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2를 포함한다.

[0553] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-데옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.

[0554] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-P를 포함한다.

[0555] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS를 포함한다.

[0556] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP를 포함한다. 5'-VP

는 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합일 수 있다.

[0557] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2를 포함한다.

[0558] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 는 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이다. RNAi 작용제는 또한 5'-데옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.

[0559] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-P를 포함한다.

[0560] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS를 포함한다.

[0561] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP를 포함한다. 5'-VP는 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합일 수 있다.

[0562] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2를 포함한다.

다.

[0563] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-테옥시-5'-C-말로닐을 포함한다.

[0564] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. 상가RNAi 작용제는 또한 5'-P 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-P는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0565] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. 상가 RNAi 작용제는 또한 5'-PS 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-PS는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0566] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP (예를 들어, 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합), 및 표적화 리간드를 포함한다.

[0567] 하나의 실시 형태에서, 5'-VP는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0568] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2

에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-PS2는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0569] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-데옥시-5'-C-말로닐 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-데옥시-5'-C-말로닐은 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0570] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. 상기 RNAi 작용제는 또한 5'-P 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-P는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0571] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. 상기 RNAi 작용제는 또한 5'-PS 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-PS는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0572] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP (예를 들어, 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합), 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-VP는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0573] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이

고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-PS2는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0574] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 7이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-OMe이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-데옥시-5'-C-말로닐 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-데옥시-5'-C-말로닐은 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0575] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. 상기 RNAi 작용제는 또한 5'-P 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-P는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0576] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. 상기 RNAi 작용제는 또한 5'-PS 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-PS는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0577] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP (예를 들어, 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합), 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-VP는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0578] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고,

n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-PS2는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0579] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, T2'는 2'-F이고, q^4 는 2이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 5이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-데옥시-5'-C-말로닐 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-데옥시-5'-C-말로닐은 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0580] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. 상기 RNAi 작용제는 또한 5'-P 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-P는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0581] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. 상기 RNAi 작용제는 또한 5'-PS 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-PS는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0582] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 는 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-VP (예를

들어, 5'-E-VP, 5'-Z-VP, 또는 이의 조합), 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-VP는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0583] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 은 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-PS2 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-PS2는 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0584] 하나의 실시 형태에서, B1은 2'-OMe 또는 2'-F이고, n^1 은 8이고, T1은 2'-F이고, n^2 은 3이고, B2는 2'-OMe이고, n^3 은 7이고, n^4 는 0이고, B3은 2'-OMe이고, n^5 는 3이고, B1'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^1 은 9이고, T1'은 2'-F이고, q^2 는 1이고, B2'는 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^3 은 4이고, q^4 는 0이고, B3'은 2'-OMe 또는 2'-F이고, q^5 는 6이고, T3'은 2'-F이고, q^6 은 1이고, B4'는 2'-F이고, q^7 은 1이고; 센스 가닥의 위치 1~5 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함), 및 위치 1 및 2에서 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 및 안티센스 가닥의 위치 18~23 내 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 변형 (안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 계수함)이 있다. RNAi 작용제는 또한 5'-데옥시-5'-C-말로닐 및 표적화 리간드를 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 5'-데옥시-5'-C-말로닐은 안티센스 가닥의 5'-말단에 있고 표적화 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 있다.

[0585] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:

[0586] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:

[0587] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;

[0588] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드; 및

[0589] (iii) 1, 3, 5, 7, 9 내지 11, 13, 17, 19 및 21번 위치에서 2'-F 변형, 및 2, 4, 6, 8, 12, 14 내지 16, 18 및 20번 위치에서 2'-OMe 변형 (5' 말단으로부터 계수함);

[0590] 및

[0591] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:

[0592] (i) 23개 뉴클레오타이드 길이;

[0593] (iii) 1, 3, 5, 9, 11 내지 13, 15, 17, 19 및 23번 위치에서 2'-OMe 변형, 및 2, 4, 6, 8, 10, 14 내지 18, 20 및 22번 위치에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함);

[0594] (iii) 뉴클레오타이드 21과 22번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 22와 23번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);

[0595] 여기서, 상기 dsRNA 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평활 말단을 갖는다.

[0596] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:

[0597] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:

[0598] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;

[0599] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;

[0600] (iii) 1, 3, 5, 7, 9 내지 11, 13, 15, 17, 19 및 21번 위치에서 2'-F 변형, 및 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 18

및 20번 위치에서 2'-OMe 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및

- [0601] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0602] 및
- [0603] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:
- [0604] (i) 23개 뉴클레오타이드 길이;
- [0605] (ii) 1, 3, 5, 7, 9, 11 내지 13, 15, 17, 19 및 21 내지 23번 위치에서 2'-OMe 변형, 및 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18 및 20번 위치에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및
- [0606] (iii) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이, 뉴클레오타이드 21과 22번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 22와 23번 위치 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0607] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평활 말단을 갖는다.
- [0608] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:
- [0609] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:
- [0610] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;
- [0611] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;
- [0612] (iii) 1 내지 6, 8, 10, 및 12 내지 21번 위치에서 2'-OMe 변형, 7 및 9번 위치에서 2'-F 변형, 및 11번 위치에서 테옥시-뉴클레오타이드 (예를 들어, dT) (5' 말단으로부터 계수함); 및
- [0613] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0614] 및
- [0615] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:
- [0616] (i) 23개 뉴클레오타이드 길이;
- [0617] (ii) 위치 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 및 19 내지 23에서 2'-OMe 변형, 및 위치 2, 4 내지 6, 8, 10, 12, 14, 16, 및 18에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및
- [0618] (iii) 뉴클레오타이드 위치 1과 2 사이, 뉴클레오타이드 위치 2와 3 사이, 뉴클레오타이드 위치 21과 22 사이, 및 뉴클레오타이드 위치 22와 23 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0619] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평활 말단을 갖는다.
- [0620] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:
- [0621] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:
- [0622] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;
- [0623] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;
- [0624] (iii) 위치 1 내지 6, 8, 10, 12, 14, 및 16 내지 21에서 2'-OMe 변형, 및 위치 7, 9, 11, 13, 및 15에서 2' F 변형; 및
- [0625] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0626] 및

- [0627] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:
- [0628] (i) 23개 뉴클레오타이드 길이;
- [0629] (ii) 위치 1, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 및 21에서 2'-OMe 변형, 및 위치 2 내지 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 및 20에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및
- [0630] (iii) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이, 뉴클레오타이드 21과 22번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 22와 23번 위치 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0631] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평할 말단을 갖는다.
- [0632] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:
- [0633] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:
- [0634] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;
- [0635] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;
- [0636] (iii) 위치 1 내지 9, 및 12 내지 21에서 2'-OMe 변형, 및 위치 10, 및 11에서 2' F 변형; 및
- [0637] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0638] 및
- [0639] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:
- [0640] (i) 23개 뉴클레오타이드 길이;
- [0641] (ii) 위치 1, 3, 5, 7, 9, 11 내지 13, 15, 17, 19, 및 21 내지 23에서 2'-OMe 변형, 및 위치 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 및 20에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및
- [0642] (iii) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이, 뉴클레오타이드 21과 22번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 22와 23번 위치 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0643] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평할 말단을 갖는다.
- [0644] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:
- [0645] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:
- [0646] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;
- [0647] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;
- [0648] (iii) 위치 1, 3, 5, 7, 9 내지 11, 및 13에서 2'-F 변형, 및 위치 2, 4, 6, 8, 12, 및 14 내지 21에서 2'-OMe 변형; 및
- [0649] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0650] 및
- [0651] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:
- [0652] (i) 23개 뉴클레오타이드 길이;
- [0653] (ii) 위치 1, 3, 5 내지 7, 9, 11 내지 13, 15, 17 내지 19, 및 21 내지 23에서 2'-OMe 변형, 및 위치 2, 4, 8, 10, 14, 16, 및 20에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및

- [0654] (iii) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이, 뉴클레오타이드 21과 22번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 22와 23번 위치 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0655] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평활 말단을 갖는다.
- [0656] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:
- [0657] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:
- [0658] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;
- [0659] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;
- [0660] (iii) 위치 1, 2, 4, 6, 8, 12, 14, 15, 17 및 19 내지 21에서 2'-OMe 변형, 및 위치 3, 5, 7, 9 내지 11, 13, 16, 및 18에서 2' F 변형; 및
- [0661] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0662] 및
- [0663] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:
- [0664] (i) 25개 뉴클레오타이드 길이;
- [0665] (ii) 위치 1, 4, 6, 7, 9, 11 내지 13, 15, 17, 및 19 내지 23에서 2'-OMe 변형, 및 위치 2, 3, 5, 8, 10, 14, 16, 및 18에서 2' F 변형 및 위치 24 및 25에서 데옥시-뉴클레오타이드 (예를 들어, dT) (5' 말단으로부터 계수함); 및
- [0666] (iii) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이, 뉴클레오타이드 21과 22번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 22와 23번 위치 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0667] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 4개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평활 말단을 갖는다.
- [0668] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:
- [0669] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:
- [0670] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;
- [0671] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;
- [0672] (iii) 위치 1 내지 6, 8 및 12 내지 21에서 2'-OMe 변형, 및 위치 7, 및 9 내지 11에서 2' F 변형; 및
- [0673] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0674] 및
- [0675] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:
- [0676] (i) 23개 뉴클레오타이드 길이;
- [0677] (ii) 위치 1, 3 내지 5, 7, 8, 10 내지 13, 15 및 17 내지 23에서 2'-OMe 변형, 및 위치 2, 6, 9, 14 및 16에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및
- [0678] (iii) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이, 뉴클레오타이드 21과 22번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 22와 23번 위치 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);
- [0679] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의

5'-말단에서 평활 말단을 갖는다.

[0680] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:

[0681] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:

[0682] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;

[0683] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;

[0684] (iii) 위치 1 내지 6, 8 및 12 내지 21에서 2'-OMe 변형, 및 위치 7, 및 9 내지 11에서 2' F 변형; 및

[0685] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);

[0686] 및

[0687] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:

[0688] (i) 23개 뉴클레오타이드 길이;

[0689] (ii) 위치 1, 3 내지 5, 7, 10 내지 13, 15 및 17 내지 23에서 2'-OMe 변형, 및 위치 2, 6, 8, 9, 14 및 16에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및

[0690] (iii) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이, 뉴클레오타이드 21과 22번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 22와 23번 위치 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);

[0691] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평활 말단을 갖는다.

[0692] 또 다른 특정 실시 형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 하기를 포함한다:

[0693] (a) 다음을 갖는 센스 가닥:

[0694] (i) 19개 뉴클레오타이드 길이;

[0695] (ii) 3가 분지형 링커를 통해 부착된 3개의 GalNAc 유도체를 포함하는, 3'-말단에 부착된 ASGPR 리간드;

[0696] (iii) 위치 1 내지 4, 6 및 10 내지 19에서 2'-OMe 변형, 및 위치 5, 및 7 내지 9에서 2' F 변형; 및

[0697] (iv) 뉴클레오타이드 1과 2번 위치 사이, 및 뉴클레오타이드 2와 3번 위치 사이의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);

[0698] 및

[0699] (b) 다음을 갖는 안티센스 가닥:

[0700] (i) 21개 뉴클레오타이드 길이;

[0701] (ii) 위치 1, 3 내지 5, 7, 10 내지 13, 15 및 17 내지 21에서 2'-OMe 변형, 및 위치 2, 6, 8, 9, 14 및 16에서 2' F 변형 (5' 말단으로부터 계수함); 및

[0702] (iii) 뉴클레오타이드 위치 1과 2 사이, 뉴클레오타이드 위치 2와 3 사이, 뉴클레오타이드 위치 19과 20 사이, 및 뉴클레오타이드 위치 20와 21 사이에서 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (5' 말단으로부터 계수함);

[0703] 여기서, 상기 RNAi 작용제는 안티센스 가닥의 3'-말단에서 2개의 뉴클레오타이드 오버행 및 안티센스 가닥의 5'-말단에서 평활 말단을 갖는다.

[0704] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 iRNA는 표 3, 표 5 또는 표 6에 열거된 작용제로부터 선택된 작용제이다. 이들 작용제는 리간드를 추가로 포함할 수 있다.

[0705] VII. 리간드

[0706] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 이중 가닥 RNAi 작용제는 iRNA의 활성, 세포 분포, 또는 예를 들어, iRNA의 세

포로의 세포 흡수를 증진시키는 하나 이상의 리간드, 모이어티 또는 컨쥬게이트에 임의로 컨쥬게이트될 수 있다. 상기 리간드는 상기 3'-말단, 5'-말단 또는 이들 말단 둘 다에서 상기 센스 가닥, 상기 안티센스 가닥 또는 이들 가닥 둘 다에 부착될 수 있다. 예를 들어, 상기 리간드는 상기 센스 가닥에 컨쥬게이트될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 상기 리간드는 상기 센스 가닥의 3' 말단에 컨쥬게이트된다.

[0707] 이러한 모이어티는 콜레스테롤 모이어티와 같은 지질 모이어티를 포함하지만 이에 제한되지 않는다 (문헌 [Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556]). 다른 실시 형태에서, 상기 리간드는 콜산 (문헌 [Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053-1060]), 티오에테르, 예를 들면, 베릴-S-트리틸티올 (문헌 [Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309]; [Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765-2770]), 티오콜레스테롤 (문헌 [Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538]), 지방족 쇠, 예를 들면, 도데칸디올 또는 운테실 잔기 (문헌 [Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J*, 1991, 10:1111-1118]; [Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330]; [Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49-54]), 인지질, 예를 들면, 디-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸-암모늄 1,2-디-O-헥사데실-rac-글리세로-3-포스포네이트 (문헌 [Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654]; [Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783]), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 쇠 (문헌 [Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973]) 또는 아다만탄 아세트산 (문헌 [Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654]), 팔미틸 모이어티 (문헌 [Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237]) 또는 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카보닐옥시콜레스테롤 모이어티 (문헌 [Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937])이다. 하나의 실시 형태에서, 상기 리간드는 GalNAc 리간드이다. 일부 특정 실시 형태에서, 상기 리간드는 GalNAc3이다. 상기 리간드는 개재 테더 (intervening tether)를 통해 직접적으로 또는 간접적으로 바람직하게는 공유적으로 커플링된다.

[0708] 특정 실시 형태에서, 리간드는 이것이 도입되는 iRNA 작용제의 분포, 표적화 또는 수명을 변경시킨다. 바람직한 실시 형태에서 리간드는 예를 들어, 리간드가 부재인 종과 비교하여 선택된 표적, 예를 들어, 분자, 세포 또는 세포 유형, 구획, 예를 들어, 세포 또는 기관 구획, 조직, 기관 또는 신체의 영역에 대해 증진된 친화성을 제공한다. 바람직한 리간드는 듀플렉스된 핵산에서 듀플렉스 쌍 형성에 관여하지 않는다.

[0709] 리간드는 단백질(예를 들어, 사람 혈청 알부민(HSA), 저밀도 지단백질(LDL) 또는 글로불린)과 같은 천연적으로 존재하는 물질; 탄수화물(예를 들어, 텍스트란, 폴루란, 키틴, 키토산, 이눌린, 사이클로덱스트린, N-아세틸글루코사민, N-아세틸갈락토사민 또는 히알루론산); 또는 지질을 포함할 수 있다. 리간드는 또한 합성 중합체, 예를 들어, 합성 폴리아미노산과 같은 재조합 또는 합성 분자일 수 있다. 폴리아미노산의 예로는 폴리리신(PLL), 폴리 L-아스파르트산, 폴리 L-글루탐산, 스티렌-말레산 무수물 공중합체, 폴리(L-락타이드-코-글리콜라이드) 공중합체, 디비닐 에테르-말레산 무수물 공중합체, N-(2-하이드록시프로필)메타크릴아미드 공중합체(HMPA), 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리비닐 알콜(PVA), 폴리우레탄, 폴리(2-에틸아크릴산), N-이소프로필아크릴아미드 중합체 또는 폴리포스파진이 포함된다. 폴리아민의 예로는 폴리에틸렌아민, 폴리리신(PLL), 스펜트미딘, 스펜트민, 폴리아민, 슈도펩타이드-폴리아민, 펩티도미메틱 폴리아민, 텐드리머 폴리아민, 아르기닌, 아미딘, 프로타민, 양이온성 지질, 양이온성 포르피린, 폴리아민의 4차 염 또는 알파 나선 펩타이드가 포함된다.

[0710] 리간드는 표적화 기, 예를 들어, 세포 또는 조직 표적화제, 예를 들어, 렉틴, 당단백질, 지질 또는 단백질, 예를 들어, 신장 세포와 같은 특정 세포 유형에 결합하는 항체를 또한 포함할 수 있다. 표적화 기는 티로트로핀, 멜라노트로핀, 렉틴, 당단백질, 계면 활성제 단백질 A, 뮤신 탄수화물, 다가 락토오스, 다가 갈락토오스, N-아세틸-갈락토사민, N-아세틸-글루코사민, 다가 만노오스, 다가 푸코오스, 글리코실화된 폴리아미노산, 다가 갈락토오스, 트랜스페린, 비스포스포네이트, 폴리글루타메이트, 폴리아스파르테이트, 지질, 콜레스테롤, 스테로이드, 담즙산, 플레이트, 비타민 B12, 비타민 A, 비오틴, 또는 RGD 펩타이드 또는 RGD 펩타이드 모방체일 수 있다. 특정 실시 형태에서, 리간드는 다가 갈락토오스, 예를 들어, N-아세틸-갈락토사민이다.

[0711] 리간드의 다른 예는 염료, 삽입제 (예를 들어, 아크리딘), 가교 결합제 (예를 들어, 소랄렌, 미토마이신 C), 포르피린 (TPPC4, 텍사피린, 사피린), 폴리사이클릭 방향족 탄화수소 (예를 들어, 페나진, 디하이드로페나진), 인공 엔도뉴클레아제 (예를 들어, EDTA), 친지성 분자, 예를 들어, 콜레스테롤, 콜린산, 아다만탄 아세트산, 1-피렌 부티르산, 디하이드로테스토스테론, 1,3-비스-O(헥사데실)글리세롤, 게라닐옥시헥실 기, 헥사데실글리세롤, 보르네올, 멘톨, 1,3-프로판디올, 헵타데실 기, 팔미트산, 미리스트산, 03-(올레오일)리토콜산, 03-(올레오일)콜렌산, 디메톡시트리틸 또는 페녹사진) 및 펩타이드 컨쥬게이트 (예를 들어, 안테나페디아 펩타이드, Tat 펩타이드), 알킬화제, 포스페이트, 아미노, 머캅토, PEG (예를 들어, PEG-40K), MPEG, [MPEG]2, 폴리아미노, 알킬, 치환된 알킬, 방사성 표지된 마커, 효소, 합텐 (예를 들어, 비오틴), 수송/흡수 촉진제 (예를 들어, 아스피린,

비타민 E, 폴산), 합성 리보뉴클레아제 (예를 들어, 이미다졸, 비심 이다졸, 히스타민, 이미다졸 클러스터, 아크리딘-이미다졸 컨쥬게이트, 테트라아자마크로사이클의 Eu3+ 복합체), 디니트로페닐, HRP 또는 AP를 포함한다.

[0712] 리간드는 단백질, 예를 들어, 당단백질, 또는 펩타이드, 예를 들어, 공동-리간드에 대한 특이적 친화성을 갖는 분자, 또는 항체, 예를 들어, 간 세포와 같은 특정 세포 유형에 결합하는 항체일 수 있다. 리간드는 또한 호르몬 및 호르몬 수용체를 포함할 수 있다. 이들은 또한 지질, 핵틴, 탄수화물, 비타민, 보조 인자, 다가 락토오스, 다가 갈락토오스, N-아세틸-갈락토사민, N-아세틸-글루코사민, 다가 만노오스 또는 다가 푸코오스와 같은 비펩타이드성 중을 포함할 수 있다. 리간드는 예를 들어, 리포폴리사카라이드, p38 MAP 키나제의 활성화제 또는 NF- κ B의 활성화제일 수 있다.

[0713] 리간드는 예를 들어, 세포의 세포핵본을 붕괴시킴에 의해, 예를 들어, 세포의 미체소관, 마이크로필라멘트 또는 중간 필라멘트를 붕괴시킴에 의해 iRNA 작용제의 세포로의 흡수를 증가시킬 수 있는 물질, 예를 들어, 약물일 수 있다. 약물은 예를 들어, 탁술, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 사이토칼라신, 노코다졸, 자플라키놀리드, 라트룬쿨린 A, 팔로이딘, 스원홀리드 A, 인다노신 또는 미오세르비닐 수 있다.

[0714] 일부 실시 형태에서, 본 출원에서 기재된 바와 같은 iRNA에 부착된 리간드는 약동학적 조절제 (PK 조절제)로서 작용한다. PK 조절제는 친지질제, 담즙산, 스테로이드, 인지질 유사체, 펩타이드, 단백질 결합제, PEG, 비타민 등을 포함한다. 예시적인 PK 조절제는 콜레스테롤, 지방산, 콜산, 리토콜산, 디알킬글리세리드, 디아실글리세리드, 인지질, 스펅고지질, 나프록센, 이부프로펜, 비타민 E, 비오틴을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 다수의 포스포로티오에이트 연결을 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 또한 혈청 단백질에 결합하는 것으로 공지되어 있고, 따라서, 짧은 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어, 핵본 내 다수의 포스포로티오에이트 연결을 포함하는 약 5개 염기, 10개 염기, 15개 염기 또는 20개 염기의 올리고뉴클레오타이드도 본 발명에 리간드로서 (예를 들어, PK 조절 리간드로서) 적용될 수 있다. 또한, 혈청 성분 (예를 들어, 혈청 단백질)에 결합하는 압타머는 또한 본 출원에서 기재된 실시 형태에서 PK 조절 리간드로서 사용하기 위해 적합하다.

[0715] 본 발명의 리간드-컨쥬게이트된 iRNA는 올리고뉴클레오타이드 상으로 연결 분자의 부착으로부터 유래된 것과 같은 펜던트 관능기를 함유한 올리고뉴클레오타이드의 사용에 의해 합성될 수 있다. 상기 반응성 올리고뉴클레오타이드는 상업적으로 가용한 리간드, 임의의 다양한 보호기를 보유하는 합성된 리간드, 또는 이에 부착된 연결 모이어티를 갖는 리간드와 직접 반응할 수 있다.

[0716] 본 발명의 컨쥬게이트에 사용되는 올리고뉴클레오타이드는 널리 공지된 고체상 합성 기술을 통해 편리하고 통상적으로 제조될 수 있다.

[0717] 본 발명의 리간드-컨쥬게이트된 iRNA 및 리간드-분자 보유 서열-특이적 연결된 뉴클레오타이드에서, 올리고뉴클레오타이드 및 올리고뉴클레오타이드는 표준 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 전구체, 또는 이미 연결 모이어티를 보유하는 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 컨쥬게이트 전구체, 이미 리간드 분자를 보유하는 리간드-뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드-컨쥬게이트 전구체, 또는 비-뉴클레오타이드 리간드-보유 빌딩 블록을 사용하여 적합한 DNA 합성기 상에서 제조될 수 있다.

[0718] 이미 연결 모이어티를 보유하는 뉴클레오타이드-컨쥬게이트 전구체를 사용하는 경우, 서열 특이적 연결된 뉴클레오타이드의 합성은 전형적으로 완료되고 리간드 분자는 연결 모이어티와 반응하여 리간드-컨쥬게이트 올리고뉴클레오타이드를 형성한다. 일부 실시 형태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 연결된 뉴클레오타이드는 상업적으로 입수가 가능하고 올리고뉴클레오타이드 합성에 통상적으로 사용되는 표준 포스포르아미디트 및 비표준 포스포르아미디트에 추가하여 리간드-뉴클레오타이드 컨쥬게이트로부터 유래된 포스포르아미디트를 사용하여 자동화된 합성기에 의해 합성된다.

[0719] A. 지질 컨쥬게이트

[0720] 특정 실시 형태에서, 리간드 또는 컨쥬게이트는 지질 또는 지질 기반 분자이다. 이러한 지질 또는 지질 기반 분자는 바람직하게는 혈청 단백질, 예를 들어, 사람 혈청 알부민 (HSA)에 결합한다. HSA 결합 리간드는 표적 조직, 예를 들어, 신체의 비-신장 표적 조직으로의 컨쥬게이트의 분포를 가능하게 한다. 예를 들어, 표적 조직은 간의 실질 세포를 포함하는 간일 수 있다. HSA에 결합할 수 있는 다른 분자는 또한 리간드로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 나프록센 또는 아스피린이 사용될 수 있다. 지질 또는 지질-기반 리간드는 (a) 컨쥬게이트의 분해에 대한 내성을 증가시킬 수 있거나, (b) 표적 세포 또는 세포막으로의 표적화 또는 수송을 증가시킬 수 있거나, (c) 혈청 단백질, 예를 들어, HSA로의 결합을 조정하기 위해 사용될 수 있다.

[0721] 지질 기반 리간드를 사용하여 컨쥬게이트의 표적 조직으로의 결합을 억제, 예를 들어, 제어할 수 있다. 예를

들어, 보다 강하게 HSA에 결합하는 지질 또는 지질 기반 리간드는 신장으로 표적화될 가능성이 적고 따라서 신체로부터 제거될 가능성이 적다. HSA에 덜 강하게 결합하는 지질 또는 지질 기반 리간드를 사용하여 컨쥬게이트를 신장에 표적화시킬 수 있다.

[0722] 특정 실시 형태에서, 지질 기반 리간드는 HSA에 결합한다. 바람직하게, 이것은 충분한 친화성으로 HSA에 결합하여 컨쥬게이트는 바람직하게 비-신장 조직에 분포된다. 그러나, 친화성은 HSA-리간드 결합이 가역적이지 않을 수 있도록 너무 강하지 않은 것이 바람직하다.

[0723] 다른 실시 형태에서, 지질 기반 리간드는 HSA에 약하게 결합하거나 전혀 결합하지 않아 컨쥬게이트는 바람직하게 신장에 분포된다. 신장 세포에 표적화하는 다른 모이어티는 지질 기반 리간드 대신에 또는 이에 추가로 사용될 수 있다.

[0724] 또 다른 양태에서, 리간드는 모이어티, 예를 들어, 표적 세포, 예를 들어, 증식 세포에 의해 흡수되는 비타민이다. 이들은 특히 예를 들어, 악성 또는 비악성 유형의 원치 않는 세포 증식을 특징으로 하는 장애, 예를 들어, 암세포를 치료하는 데 유용하다. 예시적인 비타민은 비타민 A, E 및 K를 포함한다. 다른 예시적인 비타민은 B 비타민, 예를 들어, 폴산, B12, 리보플라빈, 비오틴, 피리독살 또는 간 세포와 같은 표적 세포에 의해 흡수되는 다른 비타민 또는 영양물을 포함한다. 또한 HSA 및 저밀도 지질단백질(LDL)이 포함된다.

[0725] B. 세포 투과제

[0726] 또 다른 양태에서, 리간드는 세포 투과제, 바람직하게 나선 세포 투과제이다. 바람직하게, 제제는 양친매성이다. 예시적인 제제는 tat 또는 안테노페디아와 같은 펩타이드이다. 작용제가 펩타이드인 경우, 이는 펩티딜 모방체, 인버토머, 비펩타이드 또는 슈도-펩타이드 연결 및 D-아미노산의 사용을 포함하여 변형될 수 있다. 나선 제제는 바람직하게 알파 나선 제제이고, 이는 바람직하게 친지성 및 소수성 (lipophobic) 상을 갖는다.

[0727] 리간드는 펩타이드 또는 펩티도 모방체일 수 있다. 펩타이드 모방체 (또한 본 출원에서 올리고펩타이드 모방체)는 천연 펩타이드와 유사한 한정된 3차원 구조로 폴딩할 수 있는 분자이다. iRNA 작용제로의 펩타이드 및 펩타이드 모방체의 접착은 예를 들어, 세포 인지 및 흡착을 증진시킴에 의해 iRNA의 약동학적 분포에 영향을 미칠 수 있다. 펩타이드 또는 펩타이드 모방체 모이어티는 약 5-50개 아미노산 길이, 예를 들어, 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 또는 50개 아미노산 길이일 수 있다.

[0728] 펩타이드 또는 펩타이드 모방체는 예를 들어, 세포 투과 펩타이드, 양이온성 펩타이드, 양친매성 펩타이드 또는 소수성 펩타이드 (예를 들어, 주로 Tyr, Trp, 또는 Phe로 이루어진)일 수 있다. 펩타이드 모방체는 덴드리머 펩타이드, 속박된 펩타이드 또는 가교결합된 펩타이드일 수 있다. 또 다른 대안에서, 펩타이드 모이어티는 소수성 막 전좌 서열 (MTS)을 포함할 수 있다. 예시적인 소수성 MTS 함유 펩타이드는 아미노산 서열 AAVALLPAVLLALLAP (서열 번호 13)를 갖는 RFGF이다. 소수성 MTS를 함유하는 RFGF 유사체 (예를 들어, 아미노산 서열 AALLPVLLAAP (서열 번호 14)는 또한 표적화 모이어티일 수 있다. 펩타이드 모이어티는 세포막에 걸쳐 펩타이드, 올리고뉴클레오타이드 및 단백질을 포함하는 대형 극성 분자를 운반할 수 있는 "전달" 펩타이드일 수 있다. 예를 들어, HIV Tat 단백질로부터의 서열 (GRKKRRQRRPPQ (서열 번호 15)) 및 드로소필라 안테나페디아 단백질 (RQIKIWFQNRRMKWKK (서열 번호 12))은 전달 펩타이드로서 기능할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 펩타이드 또는 펩타이드 모방체는 DNA의 무작위 서열에 의해 인코딩될 수 있고, 예를 들어, 파아지-디스플레이 라이브러리 또는 하나-비드-하나-화합물 (OBOC) 조합 라이브러리로 부터 동정된 펩타이드이다(문헌 [Lam et al., Nature, 354:82-84, 1991]). 세포 표적화 목적을 위해 혼입된 단량체 유닛을 통한 dsRNA 작용제에 테더링된 펩타이드 또는 펩타이드 모방체의 예는 아르기닌-글라이신-아스파르트산 (RGD)-펩타이드 또는 RGD 모방체이다. 펩타이드 모이어티는 길이가 약 5개 아미노산 내지 약 40개 아미노산 범위일 수 있다. 펩타이드 모이어티는 예를 들어, 안정성을 증가시키거나 형태적 성질을 지시하기 위해 구조적 변형을 가질 수 있다. 하기된 임의의 구조적 변형이 사용될 수 있다.

[0729] 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 RGD 펩타이드는 선형 또는 사이클릭일 수 있고, 변형되어, 예를 들어, 글리코실화되거나 메틸화되어 특이적 조직(들)로의 표적화를 촉진시킬 수 있다. RGD-함유 펩타이드 및 펩타이드 모방체는 합성 RGD 모방체 뿐만 아니라 D-아미노산을 포함할 수 있다. RGD에 추가로, 당해 분야의 통상의 기술자는 인테그린 리간드를 표적화하는 다른 모이어티를 사용할 수 있다. 상기 리간드의 바람직한 컨쥬게이트는 PECAM-1 또는 VEGF를 표적화한다.

[0730] "세포 투과 펩타이드"는 세포, 예를 들어, 미생물 세포, 예를 들어, 세균 또는 진균류 세포 또는 포유 동물 세포, 예를 들어, 사람 세포를 투과할 수 있다. 미생물 세포-투과 펩타이드는 예를 들어, α-나선 선형 펩타이드

(예를 들어, LL-37 또는 세로핀 P1), 디설파이드 결합-함유 펩타이드 (예를 들어, α -데펜신, β -데페닌 또는 박테네신), 또는 단지 하나 또는 2개의 주요 아미노산을 함유하는 펩타이드 (예를 들어, PR-39 또는 인돌리시딘)일 수 있다. 세포 투과 펩타이드는 또한 핵 국소화 신호 (NLS)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 세포 투과 펩타이드는 HIV-1 gp41의 융합 펩타이드 도메인 및 SV40 대형 T 항원의 NLS로부터 유래된 MPG와 같은 이분형 양친매성 펩타이드일 수 있다 (문헌 [Simeoni *et al.*, Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003]).

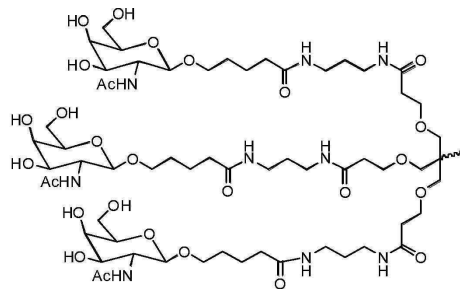
C. 탄수화물 컨쥬게이트

본 발명의 조성물 및 방법의 일부 실시 형태에서, iRNA는 추가로 탄수화물을 포함한다. 탄수화물 컨쥬게이트된 iRNA는 본 출원에서 기재된 바와 같이 생체내 치료학적 사용을 위해 적합한 조성물 뿐만 아니라 핵산의 생체내 전달을 위해 유리하다. 본 출원에 사용된 바와 같은, "탄수화물"은 각각의 탄소 원자에 결합된 산소, 질소 또는 황 원자와 함께 적어도 6개의 탄소 원자를 갖는 하나 이상의 모노사카라이드 단위 (선형, 분지형 또는 사이클릭일 수 있는)으로 구성된 탄수화물 자체인 화합물; 또는 각각의 탄소원자에 결합된 산소, 질소 또는 황 원자와 함께 각각 어도 6개 탄소 원자를 갖는 하나 이상의 모노사카라이드 단위 (선형, 분지형 또는 사이클릭일 수 있는)으로 구성된 탄수화물 모이어티를 일부로서 갖는 화합물을 언급한다. 대표적인 탄수화물은 당 (모노-, 디-, 트리-, 및 약 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개의 모노사카라이드 단위를 함유하는 올리고사카라이드) 및 폴리사카라이드, 예를 들어, 전분, 글리코젠, 셀룰로스 및 폴리사카라이드 검을 포함한다. 특이적 모노사카라이드는 C5 이상 (예를 들어, C5, C6, C7, 또는 C8) 당을 포함하고; 디사카라이드 및 트리사카라이드는 2개 또는 3개의 모노사카라이드 단위 (예를 들어, C5, C6, C7, 또는 C8)를 갖는 당을 포함한다.

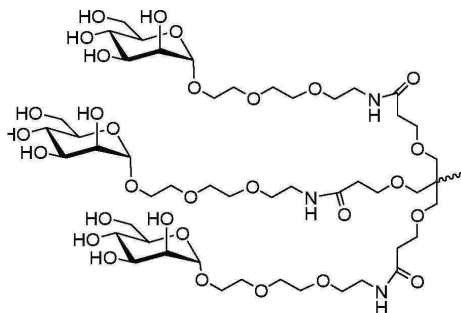
특정 실시 형태에서, 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 탄수화물 컨쥬게이트는 모노사카라이드이다.

하나의 실시 형태에서, 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 탄수화물 컨쥬게이트는 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택된다:

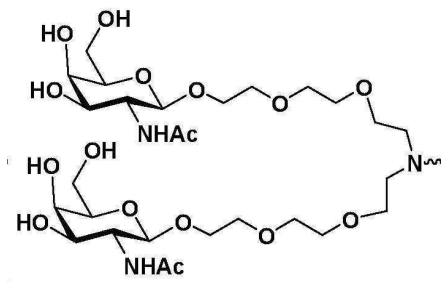
[화학식 II]



[화학식 III]

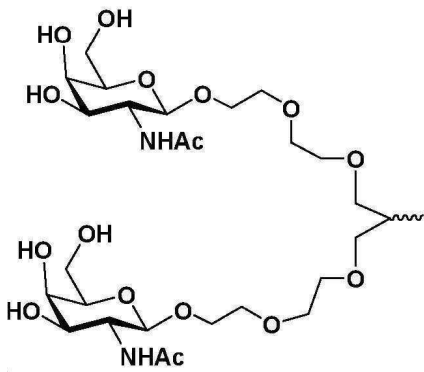


[0739] [화학식 IV]



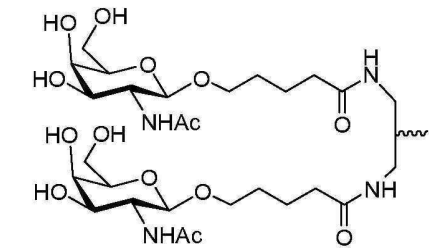
[0740]

[0741] [화학식 V]



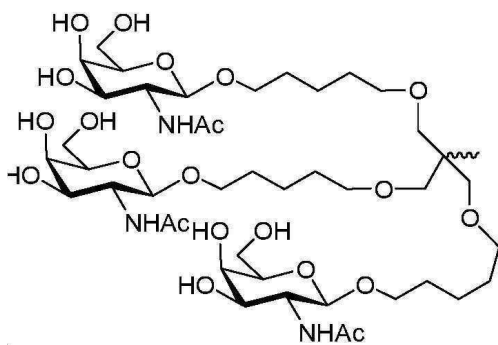
[0742]

[0743] [화학식 VI]



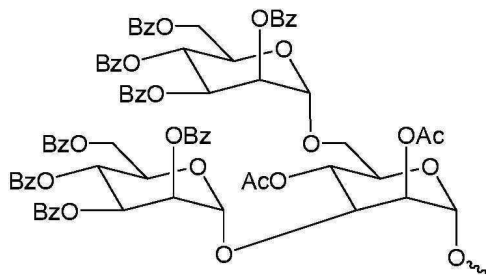
[0744]

[0745] [화학식 VII]



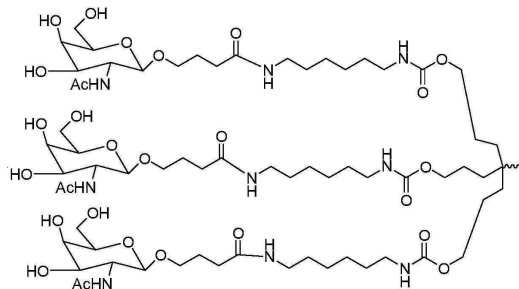
[0746]

[0747] [화학식 VIII]



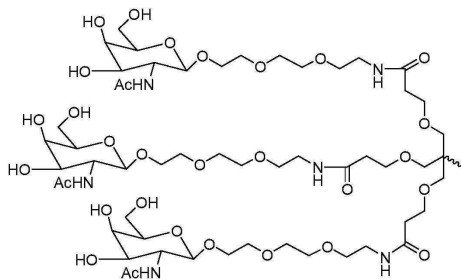
[0748]

[0749] [화학식 IX]



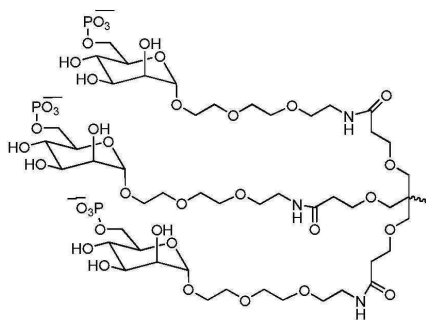
[0750]

[0751] [화학식 X]



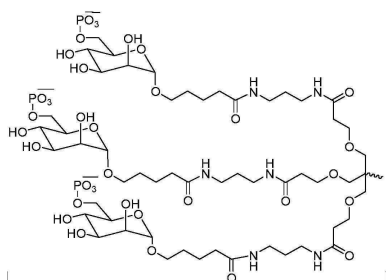
[0752]

[0753] [화학식 XI]



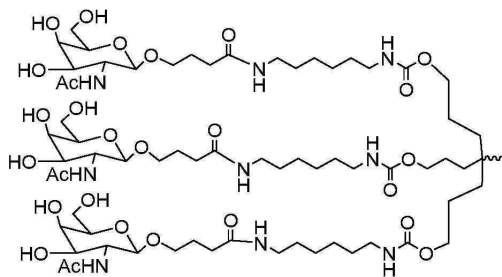
[0754]

[0755] [화학식 XII]



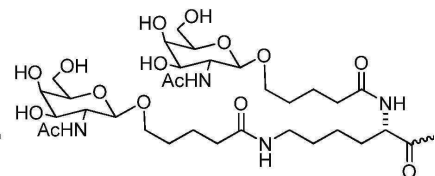
[0756]

[0757] [화학식 XIII]



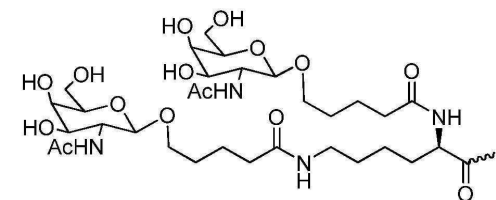
[0758]

[0759] [화학식 XIV]



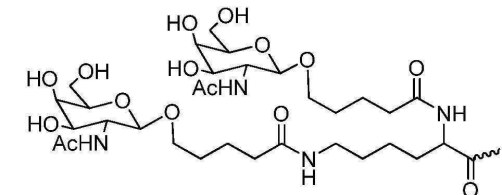
[0760]

[0761] [화학식 XV]



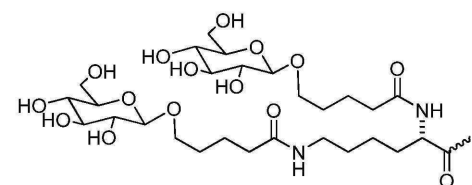
[0762]

[0763] [화학식 XVI]



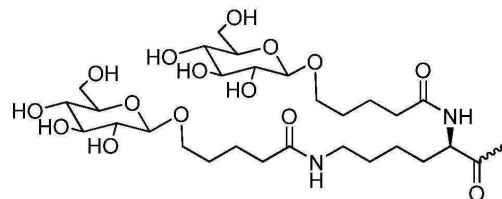
[0764]

[0765] [화학식 XVII]



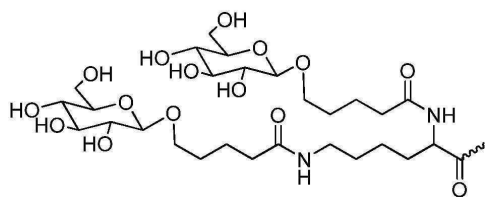
[0766]

[0767] [화학식 XVIII]



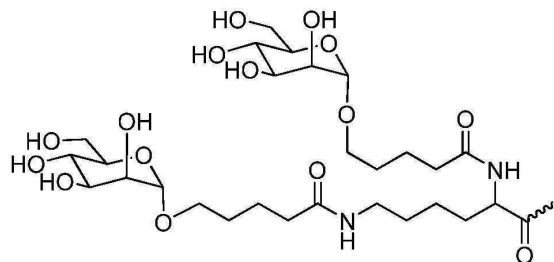
[0768]

[0769] [화학식 XIX]



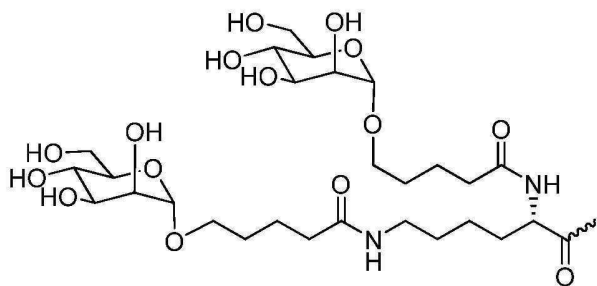
[0770]

[0771] [화학식 XX]



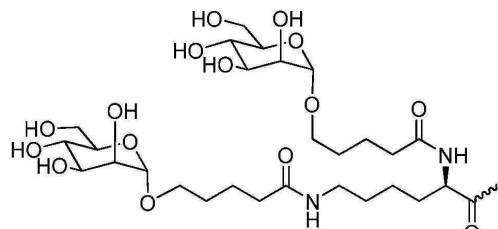
[0772]

[0773] [화학식 XXI]



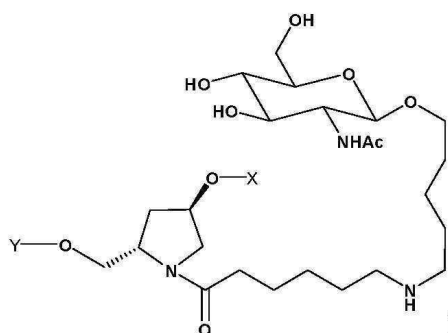
[0774]

[0775] [화학식 XXII]



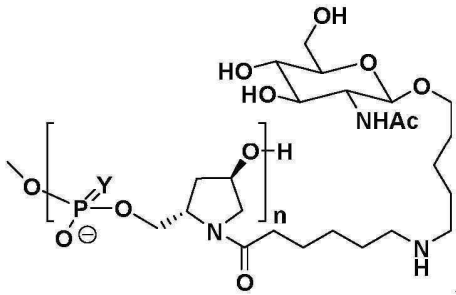
[0776]

[0777] [화학식 XXIII]



[0778]

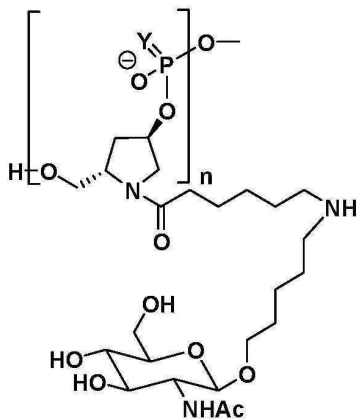
[0779] [화학식 XXIV]



[0780]

[0781] 상기 화학식 XXIV에서, Y는 O 또는 S이고, n은 3~6이다;

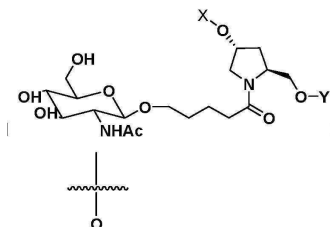
[0782] [화학식 XXV]



[0783]

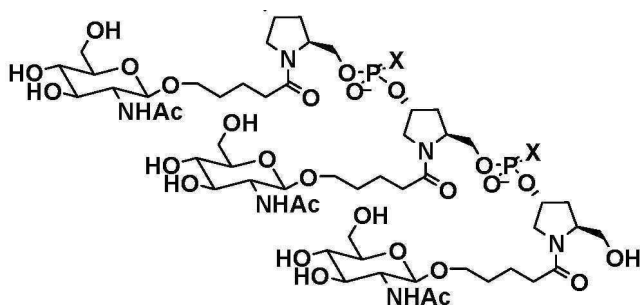
[0784] 상기 화학식 XXV에서, Y는 O 또는 S이고, n은 3~6이다;

[0785] [화학식 XXVI]



[0786]

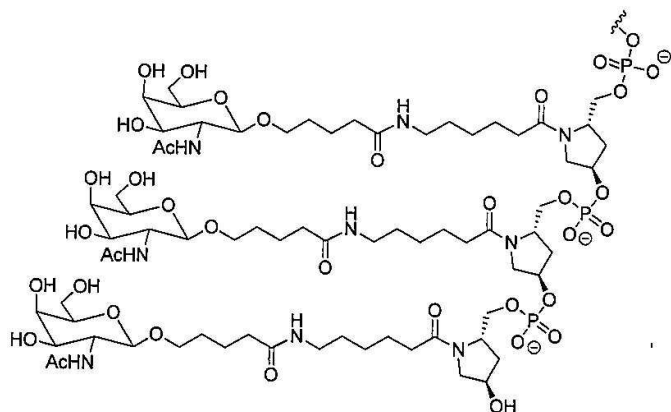
[0787] [화학식 XXVII]



[0788]

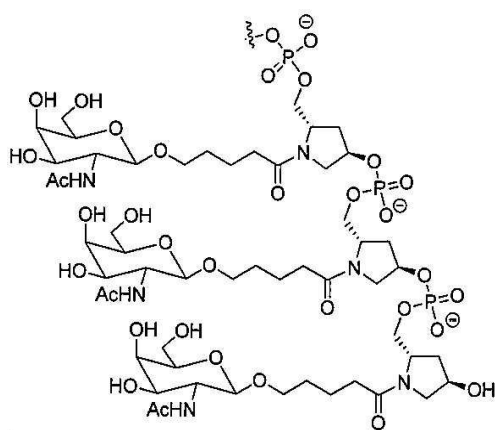
[0789] 상기 화학식 XXVII에서, X는 O 또는 S이다;

[0790] [화학식 XXVIII]



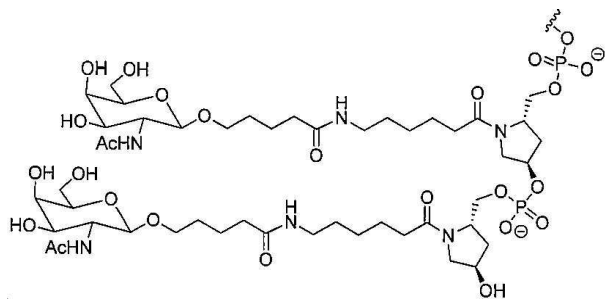
[0791]

[0792] [화학식 XXIX]



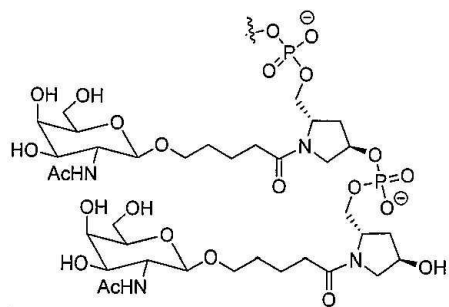
[0793]

[0794] [화학식 XXX]



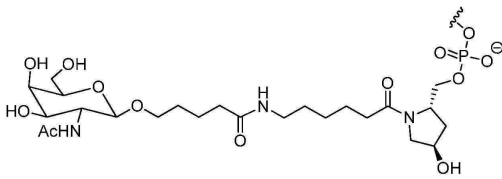
[0795]

[0796] [화학식 XXXI]



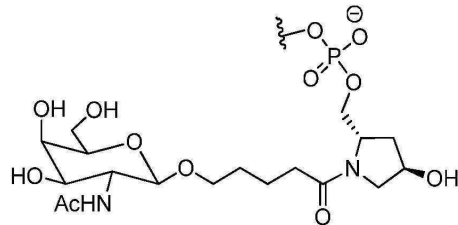
[0797]

[0798] [화학식 XXXII]



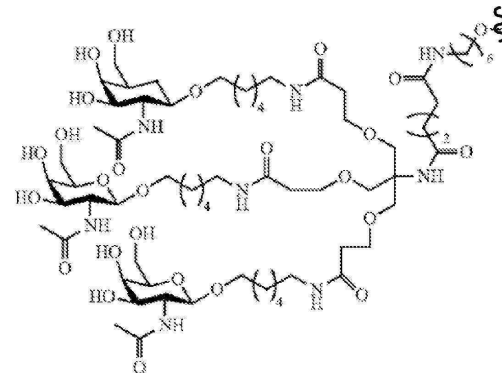
[0799]

[0800] [화학식 XXXIII]



[0801]

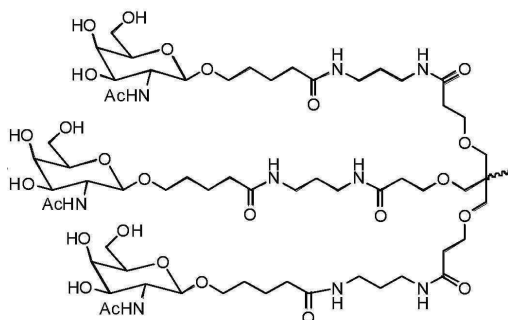
[0802] [화학식 XXXIV]



[0803]

[0804] 또 다른 실시 형태에서, 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 탄수화물 컨쥬게이트는 모노사카라이드이다. 하나의 실시 형태에서, 모노사카라이드는 N-아세틸갈락토사민, 예를 들어, 하기 화학식 II이다:

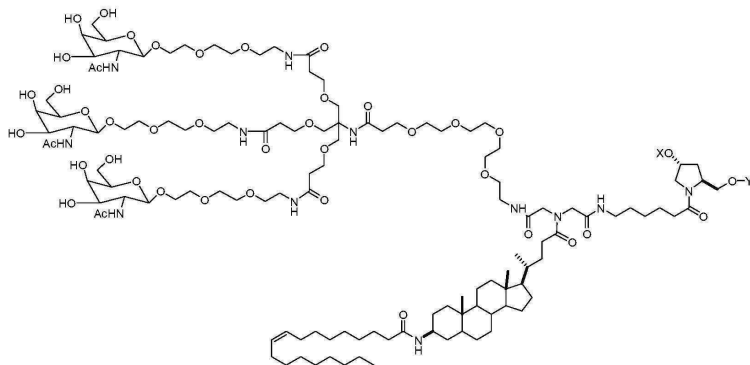
[0805] [화학식 II]



[0806]

[0807] 본 출원에서 기재된 실시 형태에 사용하기 위한 또 다른 대표적인 탄수화물 컨쥬게이트는 하기 화학식 XXXVI을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다:

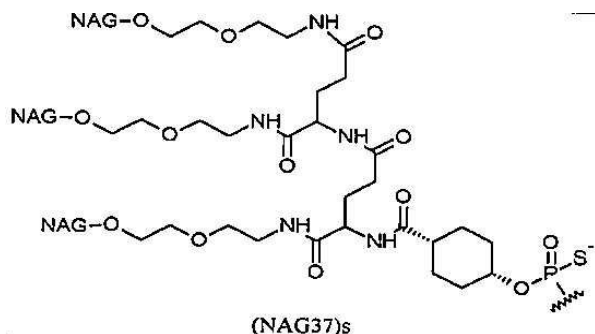
[0808] [화학식 XXXVI]



[0809]

[0810] X 또는 Y 중 하나가 올리고뉴클레오타이드인 경우, 다른 하나는 수소이다.

[0811] 일부 실시 형태에서, 적합한 리간드는 국제공개공보 WO 2019/055633에 개시된 리간드이며, 이의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다. 하나의 실시 형태에서, 상기 리간드는 하기 구조를 포함한다:



[0812]

[0813] 본 발명의 특정 실시 형태에서, 상기 GalNAc 또는 GalNAc 유도체는 1가 링커를 통해 본 발명의 iRNA 작용제에 부착된다. 일부 실시 형태에서, 상기 GalNAc 또는 GalNAc 유도체는 2가 링커를 통해 본 발명의 iRNA 작용제에 부착된다. 본 발명의 더 다른 실시 형태에서, 상기 GalNAc 또는 GalNAc 유도체는 3가 링커를 통해 본 발명의 iRNA 작용제에 부착된다.

[0814] 하나의 실시 형태에서, 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제는 iRNA 작용제, 예를 들어, dsRNA 작용제의 센스 가닥의 5' 말단, 또는 본 출원에서 기재된 바와 같은 이중 표적화 RNAi 작용제의 1개 또는 2개의 센스 가닥의 5' 말단에 부착된 하나의 GalNAc 또는 GalNAc 유도체를 포함한다. 또 다른 실시 형태에서, 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제는 다수의 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 또는 6개) GalNAc 또는 GalNAc 유도체를 포함하고, 각각은 독립적으로 복수의 1가 링커를 통해 이중 가닥 RNAi 작용제의 다수의 뉴클레오타이드에 부착되어 있다.

[0815] 일부 실시 형태에서, 예를 들어, 본 발명의 iRNA 작용제의 2개의 가닥이 한 가닥의 3'-말단과 각각의 다른 가닥의 5'-말단 사이에 중단되지 않은 뉴클레오타이드 세에 의해 연결되어 다수의 쌍을 형성하지 않은 뉴클레오타이드를 포함하는 헤어핀 루프를 형성하는 하나의 더 큰 분자의 일부인 경우, 헤어핀 루프 내의 각각의 쌍을 형성하지 않은 뉴클레오타이드는 1가 링커를 통해 부착된 GalNAc 또는 GalNAc 유도체를 독립적으로 포함할 수 있다.

[0816] 일부 실시 형태에서, 탄수화물 컨쥬게이트는 추가로 상기된 바와 같은 하나 이상의 추가의 리간드, 이에 제한되지 않지만 예를 들어, PK 조절제 또는 세포 투과 펩타이드를 포함한다.

[0817] 본 발명에 사용하기 위해 적합한 추가의 탄수화물 컨쥬게이트 및 링커는 PCT 공개공보 WO 2014/179620 및 WO 2014/179627에 기재된 것들을 포함하고, 이의 각각의 전문은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0818] D. 링커

[0819] 일부 실시 형태에서, 본 출원에서 기재된 컨쥬게이트 또는 리간드는 절단될 수 있거나 절단되지 않을 수 있는 다양한 링커를 사용하여 iRNA 올리고뉴클레오타이드에 부착될 수 있다.

[0820] "링커" 또는 "연결기"라는 용어는 화합물의 두 부분을 연결하는, 예를 들어, 화합물의 두 부분을 공유적으로 부착시키는 유기 모이어티를 의미한다. 링커는 전형적으로 직접적인 결합 또는 산소 또는 황과 같은 원자, 유닛,

예를 들어, NR8, C(O), C(O)NH, SO, SO₂, SO₂NH 또는 원자 쇠를 포함하고, 이제 제한되지 않지만 예를 들어, 치환되거나 비치환된 알킬, 치환되거나 비치환된 알케닐, 치환되거나 비치환된 알키닐, 아릴알킬, 아릴알케닐, 아릴알키닐, 헤테로아릴알킬, 헤테로아릴알케닐, 헤테로아릴알키닐, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로사이클릴알케닐, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알킬아릴알킬, 알킬아릴알케닐, 알킬아릴알키닐, 알케닐아릴알킬, 알케닐아릴알케닐, 알케닐아릴알키닐, 알키닐아릴알킬, 알키닐아릴알케닐, 알키닐아릴알키닐, 알킬헤테로아릴알킬, 알킬헤테로아릴알케닐, 알킬헤테로아릴알키닐, 알케닐헤테로아릴알킬, 알케닐헤테로아릴알케닐, 알케닐헤테로아릴알키닐, 알키닐헤테로아릴알킬, 알키닐헤테로아릴알케닐, 알키닐헤테로아릴알키닐, 알킬헤테로사이클릴알킬, 알킬헤테로사이클릴알케닐, 알킬헤테로사이클릴알키닐, 알케닐헤테로사이클릴알킬, 알케닐헤테로사이클릴알케닐, 알케닐헤테로사이클릴알키닐, 알키닐헤테로사이클릴알킬, 알키닐헤테로사이클릴알케닐, 알키닐헤테로사이클릴알키닐, 알킬아릴, 알케닐아릴, 알키닐아릴, 알킬헤테로아릴, 알케닐헤테로아릴, 알키닐헤테로아릴을 포함하고, 여기서 하나 이상의 메틸렌은 0, S, S(O), SO₂, N(R₈), C(O), 치환되거나 비치환된 아릴, 치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 치환되거나 비치환된 헤테로사이클릭에 의해 중단되거나 말단화될 수 있고; 여기서, R₈은 수소, 아실, 지방족 또는 치환된 지방족이다. 하나의 실시 형태에서, 링커는 약 1~24개 원자, 2~24, 3~24, 4~24, 5~24, 6~24, 6~18, 7~18, 8~18, 7~17, 8~17, 6~16, 7~17, 또는 8~16개 원자이다.

[0821] 절단 가능한 연결기는 세포 외부에서 충분히 안정할 수 있지만 표적 세포로 진입이 절단되어 링커가 함께 유지하고 있는 2개의 부분을 방출시키는 그룹이다. 바람직한 실시 형태에서, 절단 가능한 연결기는 대상체의 혈액에서 또는 제2 참조 조건 (예를 들어, 혈액 또는 혈청 중에서 발견되는 조건을 모방하거나 나타내는 것으로 선택될 수 있는)하에서 보다 표적 세포에서 또는 제1 참조 조건 (예를 들어, 세포내 조건을 모방하거나 나타내도록 선택될 수 있는)하에서 적어도 약 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 이상 또는 적어도 100배 신속하게 절단된다.

[0822] 절단 가능한 연결기는 절단제, 예를 들어, pH, 산화 환원 전위 또는 분해 분자의 존재에 민감할 수 있다. 일반적으로, 절단제는 혈청 또는 혈액에서 보다 세포 내부에서 보다 높은 수준 또는 활성인 상태로 보다 만연되어 있거나 발견된다. 상기 분해제의 예는 다음을 포함한다: 특정 기질에 대해 선택되거나 어떠한 기질 특이성을 갖지 않는 산화 환원제로서, 이는 예를 들어, 산화 또는 환원 효소 또는 환원제, 예를 들어, 환원에 의해 산화 환원 절단 가능한 연결기를 분해시킬 수 있는 세포에 존재하는 머갑탄을 포함하는 산화 환원제; 에스테라아제; 엔도솜 또는 산성 환경을 생성시킬 수 있는 제제, 예를 들어, 5 이하의 pH를 유도하는 것들; 일반산으로서 작용함으로써 산 절단 가능한 연결기를 가수분해시키거나 분해할 수 있는 효소, 펩티다아제 (이는 기질 특이적일 수 있다), 및 포스파타아제.

[0823] 절단 가능한 연결기, 예를 들어, 디설파이드 결합은 pH에 민감할 수 있다. 사람 혈청의 pH는 7.4이고, 평균 세포내 pH는 약간 보다 낮아 약 7.1~7.3이다. 엔도솜은 5.5~6.0의 범위에서 보다 산성의 pH를 갖고, 리소솜은 약 5.0에서 심지어 보다 산성의 pH를 갖는다. 일부 링커는 바람직한 pH에서 절단되어 세포 내부의 리간드로부터 양이온성 지질을 방출하거나 세포의 목적하는 구획으로 양이온성 지질을 방출하는 절단 가능한 연결기를 갖는다.

[0824] 링커는 특정 효소에 의해 절단될 수 있는 절단 가능한 연결기를 포함할 수 있다. 링커로 혼입된 절단 가능한 연결기의 유형은 표적화될 세포에 의존할 수 있다. 예를 들어, 간 표적화 리간드는 에스테르 그룹을 포함하는 링커를 통해 양이온성 지질에 연결될 수 있다. 간 세포에는 에스테라아제가 풍부하고, 따라서 링커는 에스테라아제가 풍부하지 않은 세포 유형에서 보다 간 세포에서 보다 효율적으로 절단된다. 에스테라아제가 풍부한 다른 세포 유형은 폐, 신피질 및 고환의 세포를 포함한다.

[0825] 펩타이드 결합을 함유하는 링커는 간 세포 및 활막세포와 같은 펩티다아제가 풍부한 세포 유형을 표적화하는 경우 사용될 수 있다.

[0826] 일반적으로, 후보 절단 가능한 연결기의 적합성은 후보 연결기를 절단하는 분해제 (또는 조건)의 능력을 시험함으로써 평가될 수 있다. 또한 혈액 내에서 또는 다른 비표적 조직과 접촉할 때 절단에 저항하는 능력에 대해 후보 절단 가능한 연결기를 테스트하는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 당해 분야의 통상의 기술자는 제1 조건과 제2 조건 사이의 절단에 대한 상대적인 감수성을 결정할 수 있고, 여기서 제1 조건은 표적 세포에서 절단을 나타내도록 선택되고, 제2 조건은 다른 조직 또는 생물학적 유체, 예를 들어, 혈액 또는 혈청 내 절단을 나타내도록 선택된다. 평가는 무세포 시스템, 세포, 세포 배양물, 기관 또는 조직 배양물 또는 전체 동물에서 수행될 수 있다. 무세포 또는 배양 조건에서 초기 평가를 수행하고 전체 동물에서 추가의 평가에 의해 확인하기

위해 유용할 수 있다. 바람직한 실시 형태에서, 유용한 후보 화합물은 혈액 또는 혈청 (또는 세포외 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건하에서)과 비교하여 세포 (또는 세포내 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건하에서)에서 적어도 약 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100배 이상 신속하게 절단된다.

[0827] *i. 산화 환원 절단 가능한 연결기*

[0828] 특정 실시 형태에서, 절단 가능한 연결기는 환원 또는 산화시 절단되는 산화 환원 절단 가능한 연결기이다. 환원 절단 가능한 연결기의 예는 디설파이드 연결기 (-S-S-)이다. 후보 절단 가능한 연결기가 적합한 "환원적으로 절단 가능한 연결기"인지 또는 예를 들어, 특정 iRNA 모이어티 및 특정 표적화제와 함께 사용하기에 적합한지의 여부를 결정하기 위해, 당해 분야의 통상의 기술자는 본 출원에서 기재된 방법을 살펴볼 수 있다. 예를 들어, 후보물은 세포, 예를 들어, 표적 세포에서 관찰되는 절단 속도를 모방하는 당해 분야에 공지된 시약을 사용하여 디티오프레이톨(DTT) 또는 기타 환원제를 사용한 항온처리에 의해 평가될 수 있다. 후보물은 또한 혈액 또는 혈청 조건을 모방하도록 선택된 조건 하에서 평가될 수 있다. 하나에서, 후보 화합물은 혈액에서 최대 약 10%까지 절단된다. 다른 실시 형태에서, 유용한 후보 화합물은 혈액 (또는 세포외 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건하에서)과 비교하여 세포(또는 세포내 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건하에서)에서 적어도 약 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 약 100배 보다 신속하게 분해된다. 후보 화합물의 절단 속도는 세포내 배지를 모방하도록 선택된 조건 및 세포외 배지를 모방하도록 선택된 조건과 비교하여 표준 효소 동역학 검정을 사용하여 결정될 수 있다.

[0829] *ii. 포스페이트 기반 절단 가능한 연결기*

[0830] 다른 실시 형태에서, 절단 가능한 링커는 포스페이트 기반 절단 가능한 연결기를 포함한다. 포스페이트 기반 절단 가능한 연결기는 포스페이트 그룹을 분해하거나 가수분해하는 제제에 의해 절단된다. 세포에서 포스페이트 그룹을 절단하는 제제의 예는 세포 내 포스파타아제와 같은 효소이다. 포스페이트 기반 연결기의 예는 -O-P(O)(ORk)-O-, -O-P(S)(ORk)-O-, -O-P(S)(SRk)-O-, -S-P(O)(ORk)-O-, -O-P(O)(ORk)-S-, -S-P(O)(ORk)-S-, -O-P(S)(ORk)-S-, -S-P(S)(ORk)-O-, -O-P(O)(Rk)-O-, -O-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-O-, -S-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-S-, -O-P(S)(Rk)-S-이다. 바람직한 실시 형태는 -O-P(O)(OH)-O-, -O-P(S)(OH)-O-, -O-P(S)(SH)-O-, -S-P(O)(OH)-O-, -O-P(O)(OH)-S-, -S-P(O)(OH)-S-, -O-P(S)(OH)-S-, -S-P(S)(OH)-O-, -O-P(O)(H)-O-, -O-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-O-, -S-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-S-, 및 -O-P(S)(H)-S-이다. 바람직한 실시 형태는 -O-P(O)(OH)-O-이다. 이들 후보물은 상기된 것들과 유사한 방법을 사용하여 평가될 수 있다.

[0831] *iii. 산 절단 가능한 연결기*

[0832] 다른 실시 형태에서, 절단 가능한 링커는 산 절단 가능한 연결기를 포함한다. 산 절단 가능한 연결기는 산성 조건하에서 절단되는 연결기이다. 바람직한 실시 형태에서, 산 절단 가능한 연결기는 pH가 약 6.5 이하 (예를 들어, 약 6.0, 5.5, 5.0 이하)인 산성 환경에서 또는 일반 산으로서 작용할 수 있는 효소와 같은 제제에 의해 절단된다. 세포에서 엔도솜 및 리소솜과 같은 특정 낮은 pH 기관은 산 절단 가능한 연결기에 대한 절단 환경을 제공할 수 있다. 산 절단 가능한 연결기의 예는 하이드라존, 에스테르, 및 아미노산의 에스테르를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 산 절단 가능한 그룹은 화학식 $-C=NN-$, $C(O)O$, 또는 $-OC(O)$ 를 가질 수 있다. 바람직한 실시 형태는 에스테르의 산소에 부착된 탄소 (알콕시 그룹)가 아릴 그룹, 치환된 알킬 그룹 또는 3급 알킬 그룹, 예를 들어, 디메틸 펜틸 또는 t-부틸인 경우이다. 이들 후보물은 상기된 것들과 유사한 방법을 사용하여 평가될 수 있다.

[0833] *iv. 에스테르 기반 연결기*

[0834] 다른 실시 형태에서, 절단 가능한 링커는 에스테르 기반 절단 가능한 연결기를 포함한다. 에스테르 기반 절단 가능한 연결기는 세포내 에스테라아제 및 아마이드제와 같은 효소에 의해 절단된다. 에스테르 기반 절단 가능한 연결기의 예는 알킬렌, 알케닐렌 및 알키닐렌 그룹의 에스테르를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 에스테르 절단 가능한 연결기는 일반식 $-C(O)O-$ 또는 $-OC(O)-$ 를 갖는다. 이들 후보물은 상기된 것들과 유사한 방법을 사용하여 평가될 수 있다.

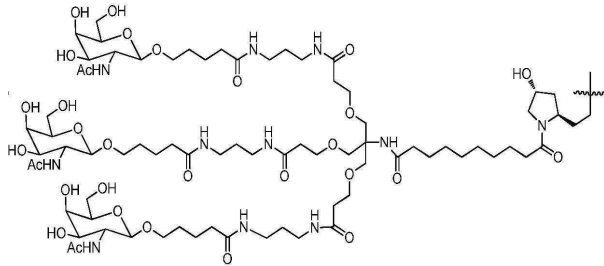
[0835] *v. 펩타이드 기반 절단기*

[0836] 더 다른 실시 형태에서, 절단 가능한 링커는 펩타이드 기반 절단 가능한 연결기를 포함한다. 펩타이드 기반 절단 가능한 연결기는 세포에서 펩티다아제 및 프로테아제와 같은 효소에 의해 절단된다. 펩타이드 기반 절단 가능한 연결기는 아미노산 사이에 형성된 펩타이드 결합이고 올리고펩타이드 (예를 들어, 디펩타이드, 트리펩타이드 등) 및 폴리펩타이드를 생성한다. 펩타이드 기반 절단 가능한 그룹은 아마이드 그룹 ($-C(O)NH-$)을 포함하지

않는다. 아마이드 그룹은 임의의 알킬렌, 알케닐렌 또는 알키넨 사이에서 형성될 수 있다. 펩타이드 결합은 아미노산 사이에 형성된 특별한 유형의 아마이드 결합이고 펩타이드 및 단백질을 생성한다. 펩타이드 기반 절단기는 일반적으로 펩타이드 및 단백질을 생성하는 아미노산 사이에 형성된 펩타이드 결합 (즉, 아마이드 결합)으로 제한되고, 전체 아마이드 기능성 그룹을 포함하지 않는다. 펩타이드-기반 절단 가능한 연결기는 일반 화학식 -NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-을 갖고, 여기서, RA 및 RB는 2개의 인접한 아미노산의 R 그룹이다. 이들 후보물은 상기된 것들과 유사한 방법을 사용하여 평가될 수 있다.

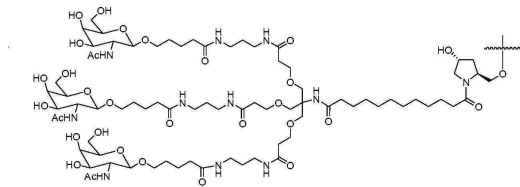
[0837] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 iRNA는 링커를 통해 탄수화물에 컨쥬게이트된다. 본 발명의 조성물 및 방법의 링커와 iRNA 탄수화물 컨쥬게이트의 비제한적인 예는 하기 화학식 XXXVII를 포함하지만 이에 제한되지 않는다:

[0838] [화학식 XXXVII]



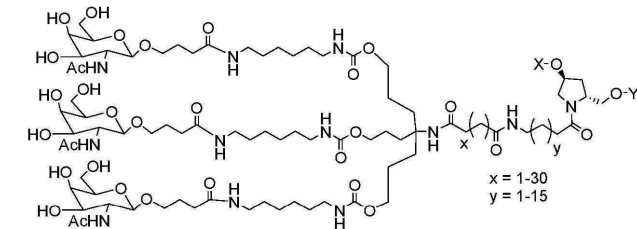
[0839]

[0840] [화학식 XXXVIII]



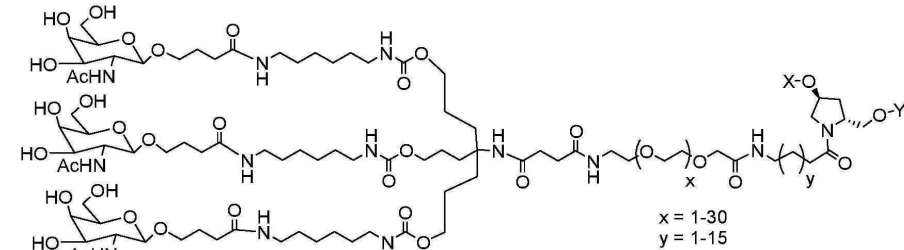
[0841]

[0842] [화학식 XXXIX]



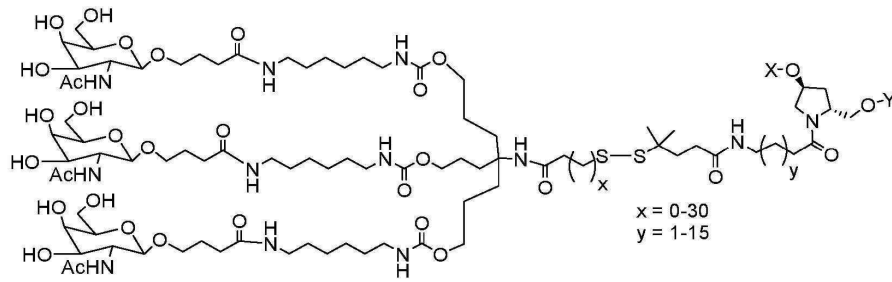
[0843]

[0844] [화학식 XL]



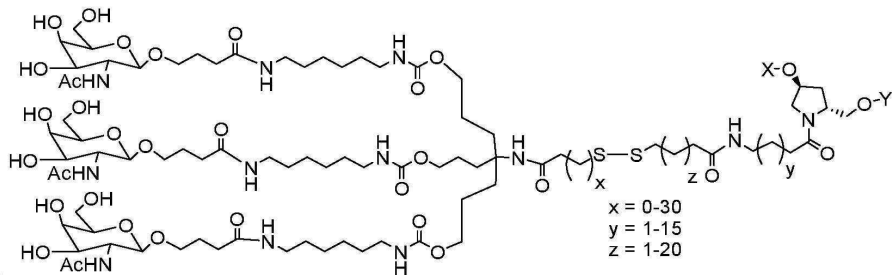
[0845]

[0846] [화학식 XLI]



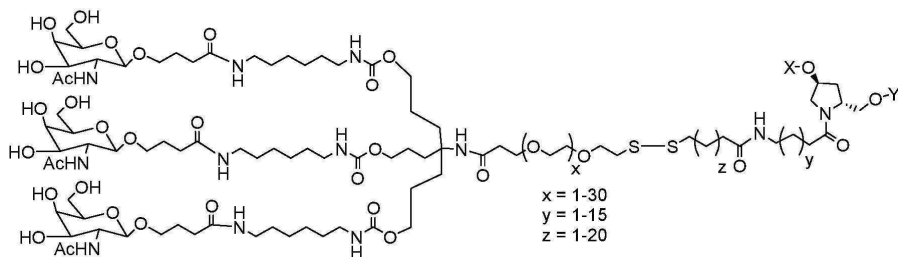
[0847]

[0848] [화학식 XLII]



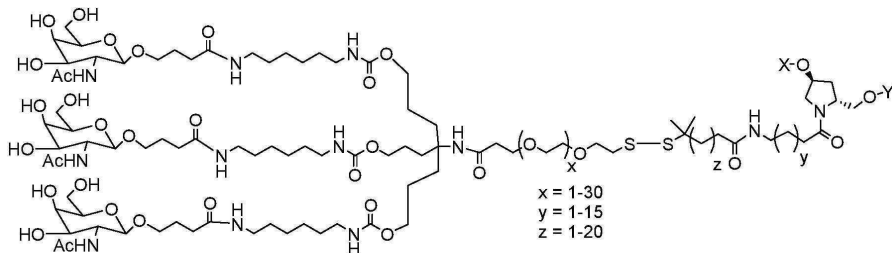
[0849]

[0850] [화학식 XLIII]



[0851]

[0852] [화학식 XLIV]



[0853]

[0854] X 또는 Y 중 하나가 올리고뉴클레오타이드인 경우, 다른 하나는 수소이다.

[0855] 본 발명의 조성물 및 방법의 특정 실시 형태에서, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 "GalNAc" (N-아세틸갈락토사민) 유도체이다.

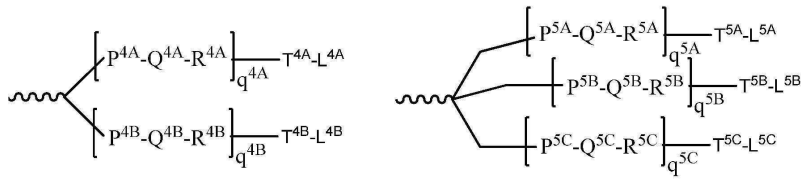
[0856] 하나의 실시 형태에서, 본 발명의 dsRNA는 임의의 화학식 XLV 및 XLVI으로 나타낸 구조의 그룹으로부터 선택된 2가 또는 3가 분지형 링커에 컨쥬게이트된다:

[0857] [화학식 XXXV] [화학식 XLVI]



[0858]

[0859] [화학식 XLVII] [화학식 XLVIII]



[0860]

[0861] 상기 화학식들에서,

[0862] q2A, q2B, q3A, q3B, q4A, q4B, q5A, q5B 및 q5C는 독립적으로 각각 0 내지 20을 나타내고, 여기서, 반복 단위는 동일하거나 상이할 수 있고;

[0863] P^{2A}, P^{2B}, P^{3A}, P^{3B}, P^{4A}, P^{4B}, P^{5A}, P^{5B}, P^{5C}, T^{2A}, T^{2B}, T^{3A}, T^{3B}, T^{4A}, T^{4B}, T^{4A}, T^{5B}, T^{5C}는 각각 독립적으로 부제이거나 CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH₂, CH₂NH 또는 CH₂O이고;

[0864] Q^{2A}, Q^{2B}, Q^{3A}, Q^{3B}, Q^{4A}, Q^{4B}, Q^{5A}, Q^{5B}, Q^{5C}는 각각 독립적으로 부제이거나, 알킬렌, 치환된 알킬렌이고, 여기서 하나 이상의 메틸렌은 O, S, S(O), SO₂, N(R^N), C(R')=C(R''), C≡C 또는 C(O) 중 하나 이상에 의해 중단되거나 말단화될 있고;

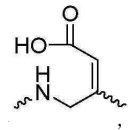
[0865] R^{2A}, R^{2B}, R^{3A}, R^{3B}, R^{4A}, R^{4B}, R^{5A}, R^{5B}, R^{5C}는 각각 독립적으로 부제이거나, NH, O, S, CH₂, C(O)O, C(O)NH,

NHCH(R^a)C(O),

-C(O)-CH(R^a)-NH-,

CO,

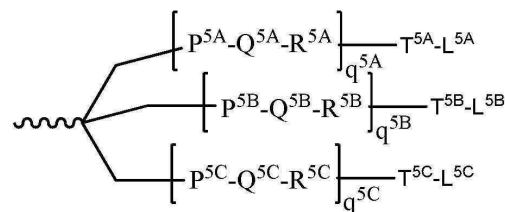
CH=N-O,



또는 헤테로사이클릴이고;

[0866] L^{2A}, L^{2B}, L^{3A}, L^{3B}, L^{4A}, L^{4B}, L^{5A}, L^{5B} 및 L^{5C}는 리간드, 즉, 각각 독립적으로 모노사카라이드 (예를 들어, GalNAc), 디사카라이드, 트리스카라이드, 테트라사카라이드, 올리고사카라이드 또는 폴리사카라이드이고; Ra는 H 또는 아미노산 분지형이다. 3가 컨쥬게이트 GalNAc 유도체는 특히 하기 화학식 XLIX의 것들과 같은 표적 유전자의 발현을 억제하기 위한 RNAi 작용제와 함께 사용하기 위해 유용하다:

[0867] [화학식 XLIX]



[0868]

[0869] 상기 화학식 XLIX에서, L^{5A}, L^{5B} 및 L^{5C}는 GalNAc 유도체와 같은 모노사카라이드를 나타낸다.

[0870] GalNAc 유도체를 컨쥬게이트시키는 적합한 2가 및 3가 분지형 링커 그룹의 예는 화학식 II, VII, XI, X, 및 XIII로서 상기된 구조를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0871] RNA 컨쥬게이트의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 미국 특허 US 4,828,979; US 4,948,882; US 5,218,105; US 5,525,465; US 5,541,313; US 5,545,730; US 5,552,538; US 5,578,717, 5,580,731; US 5,591,584; US 5,109,124; US 5,118,802; US 5,138,045; US 5,414,077; US 5,486,603; US 5,512,439; US 5,578,718; US 5,608,046; US 4,587,044; US 4,605,735; US 4,667,025; US 4,762,779; US 4,789,737; US 4,824,941; US 4,835,263; US 4,876,335; US 4,904,582; US 4,958,013; US 5,082,830; US 5,112,963; US 5,214,136; US 5,082,830; US 5,112,963; US 5,214,136; US 5,245,022; US 5,254,469; US 5,258,506; US

5,262,536; US 5,272,250; US 5,292,873; US 5,317,098; US 5,371,241, 5,391,723; US 5,416,203, 5,451,463; US 5,510,475; US 5,512,667; US 5,514,785; US 5,565,552; US 5,567,810; US 5,574,142; US 5,585,481; US 5,587,371; US 5,595,726; US 5,597,696; US 5,599,923; US 5,599,928; 5,688,941; US 6,294,664; US 6,320,017; US 6,576,752; US 6,783,931; US 6,900,297; US 7,037,646; 및 8,106,022를 포함하지만 이들에 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전체 내용은 본 출원에 참조로 포함된다.

[0872] 주어진 화합물의 모든 위치가 균일하게 변형될 필요는 없고, 실제로 상기한 변형 중 하나 이상은 단일 화합물 또는 심지어 iRNA 내의 단일 뉴클레오타이드에 도입될 수 있다. 본 발명은 또한 키메라 화합물인 iRNA 화합물을 포함한다.

[0873] 본 발명과 관련하여 "키메라" iRNA 화합물 또는 "키메라"는 iRNA 화합물, 바람직하게 dsRNAi 작용제이고 이는 2개 이상의 화학적으로 특유의 영역을 함유하고, 이들 각각은 적어도 하나의 단량체 유닛, 즉 dsRNA 화합물의 경우에 뉴클레오타이드로 구성된다. 이들 iRNA는 전형적으로 적어도 하나의 영역을 함유하고, 여기서, 상기 RNA는 iRNA에 뉴클레아제 분해에 대해 증가된 내성, 표적 핵산에 대한 증가된 세포 취득 또는 증가된 결합 친화성을 부여하도록 변형된다. iRNA의 추가의 영역은 RNA:DNA 또는 RNA:RNA 하이브리드를 절단할 수 있는 효소에 대한 기질로서 작용할 수 있다. 예를 들어, RNase H는 RNA:DNA 듀플렉스의 RNA 가닥을 절단하는 세포 엔도뉴클레아제이다. RNase H의 활성화는 따라서 RNA 표적을 절단하여 유전자 발현의 iRNA 억제의 효율을 증진시킨다. 결과적으로, 상응하는 결과는 흔히 키메라 dsRNA가 사용되는 경우 동일한 표적 영역에 하이브리드화하는 포스포로티오에이트 데옥시 dsRNA와 비교하여, 보다 짧은 iRNA를 사용하여 수득될 수 있다. RNA 표적의 절단은 통상적으로 겔 전기영동 및 필요한 경우, 당해 분야에 공지된 연합된 핵산 하이브리드화 기술에 의해 검출될 수 있다.

[0874] 특정 경우에, iRNA의 RNA는 비-리간드 그룹에 의해 변형될 수 있다. 다수의 비-리간드 분자는 iRNA에 컨쥬게이트되어 iRNA의 활성, 세포 분포 또는 세포 취득을 증진시키고, 상기 컨쥬게이트를 수행하기 위한 과정은 과학 문헌에서 가용하다. 이러한 비-리간드 모이어티는 지질 모이어티, 예를 들어, 콜레스테롤 (Kubo, T. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61; Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:6553), 콜산 (Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053), 티오에테르, 예를 들어, 핵실-S-트리틸티올 (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306; Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765), 티오콜레스테롤 (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533), an 지방족쇄, 예를 들어, 도데칸디올 또는 운데실 잔기 (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J.*, 1991, 10:111; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49), 인지질, 예를 들어, 디-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1,2-디-O-헥사데실-rac-글리세로-3-H-포스포네이트 (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜쇄 (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969) 또는 아다만탄 아세트산 (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651), 팔미틸 모이어티 (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229), 또는 옥타데실아민 또는 핵실아미노-카보닐-옥시콜레스테롤 모이어티 (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923)를 포함하였다. 상기 RNA 컨쥬게이트의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 상기 열거되어 있다. 전형적인 컨쥬게이트 프로토콜은 서열의 하나 이상의 위치에서 아미노링커를 함유하는 RNA의 합성을 포함한다. 아미노 그룹은 이어서 적당한 커플링 또는 활성화 시약을 사용하여 컨쥬게이트된 분자와 반응시킨다. 컨쥬게이트 반응은 고체 지지체에 여전히 결합된 RNA를 사용하거나 용액 상에서 RNA의 절단 후 수행될 수 있다. HPLC에 의한 RNA 컨쥬게이트의 정제는 전형적으로 순수한 컨쥬게이트를 제공한다.

[0875] VIII. 본 발명의 약제학적 조성물

[0876] 본 발명은 또한 본 발명의 방법에 사용하기 위한 iRNA를 포함하는 약제학적 조성물 및 제형을 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 본 출원에서는 본 출원에서 기재된 바와 같은 iRNA 및 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 약제학적 조성물이 제공된다. iRNA를 함유하는 약제학적 조성물은 AGT 관련 장애, 예를 들어, 고혈압을 예방하거나 치료하기 위해 유용하다. 이러한 약제학적 조성물은 전달 방식을 기준으로 제형화된다.

[0877] 본 발명의 RNAi 작용제를 포함하는 약제학적 조성물은, 예를 들어, 완충액을 함유하거나 함유하지 않는 용액, 또는 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 조성물일 수 있다. 이러한 조성물은, 예를 들어, 수성 또는 결정질 조성물, 리포솜 제형, 미셀 제형, 에멀전 및 유전자 요법 벡터를 포함한다.

[0878] 본 발명의 방법에서, 상기 RNAi 작용제는 용액으로 투여될 수 있다. 유리 RNAi 작용제는 완충되지 않은 용액,

예를 들어, 염수 또는 물로 투여될 수 있다. 대안으로, 상기 유리 siRNA는 또한 적합한 완충 용액으로 투여될 수 있다. 상기 완충 용액은 아세트이트, 시트레이트, 프롤라민, 카보네이트 또는 포스페이트 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 하나의 실시 형태에서, 상기 완충 용액은 포스페이트 완충 식염수 (PBS)이다. RNAi 작용제를 함유하는 완충 용액의 pH 및 삼투질 농도는 대상체에게 투여하기에 적합하도록 조정될 수 있다.

[0879] 일부 실시 형태에서, 상기 완충 용액은 용액의 삼투질 농도가 목적하는 값, 예를 들어, 사람 혈장의 생리학적 값으로 유지되도록 상기 삼투질 농도를 제어하기 위한 작용제를 추가로 포함한다. 삼투질 농도를 조절하기 위해 완충 용액에 첨가될 수 있는 용질로는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 대사되지 않은 중합체, 비타민, 이온, 당, 대사 산물, 유기산, 지질 또는 염이 포함되지만, 이들에 한정되는 것은 아니다. 일부 실시 형태에서, 용액의 삼투질 농도를 조절하기 위한 작용제는 염이다. 특정 실시 형태에서, 용액의 삼투질 농도를 조절하기 위한 작용제는 염화 나트륨 또는 염화 칼륨이다.

[0880] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 발열원 부재 또는 비발열원성이다.

[0881] 본 발명의 약제학적 조성물은 국소 또는 전신 치료가 바람직한지의 여부 및 치료될 부위에 따라 다양한 방식으로 투여될 수 있다. 투여는 국소적 (예를 들어, 경피 패치에 의한), 폐, 예를 들어, 분말 또는 에어로졸의 흡입 또는 취입에 의해, 예를 들어, 네블라이저에 의해; 기관내, 비강내, 표피 및 경피, 경구 또는 비경구적일 수 있다. 비경구 투여는 정맥내, 동맥내, 피하, 복강내 또는 근육내 주사 또는 주입; 예를 들어, 이식된 장치를 통한 진피하; 또는 두개내, 예를 들어, 실질내, 척수강내 또는 뇌실내 투여를 포함한다.

[0882] 하나의 예는 비경구 전달을 통한, 예를 들어, 피하 (SC), 근육내 (IM) 또는 정맥내 (IV) 전달에 의한 전신 투여 용으로 제형화된 조성물이다. 본 발명의 약제학적 조성물은 AGT 유전자의 발현을 저해하기에 충분한 용량으로 투여될 수 있다.

[0883] 본 발명의 약제학적 조성물은 AGT 유전자의 발현을 저해하기에 충분한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 고정 용량의 약 50 mg 내지 약 800 mg (예를 들어, 약 50 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 200 mg 내지 약 400 mg, 약 200 mg 내지 약 500 mg, 약 200 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 800 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 4000 mg, 약 400 mg 내지 약 800 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, e.g., 약 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 약 800 mg) 의 상기 iRNA 작용제가 대상체에게 투여된다.

[0884] 반복 투여 요법은 매월 마다, 2 개월 마다, 3 개월 마다, 4 개월 마다, 5 개월 마다, 6 개월 마다, 3~6 개월 마다 1회 또는 연 1회와 같이 정기적으로 치료학적 양의 iRNA의 투여를 포함할 수 있다. 특정 실시 형태에서, 상기 iRNA는 월 약 1회 내지 분기 당 약 1회 내지 6 개월 당 1회 투여된다.

[0885] 초기 치료 용법 후, 상기 치료는 덜 빈번하게 투여될 수 있다. 치료 기간은 질환의 중증도를 기준으로 결정될 수 있다.

[0886] 다른 실시 형태에서, 약제학적 조성물의 단일 용량은 장기간 지속되어 용량은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개월 이하의 간격으로 투여될 수 있다. 본 발명의 일부 실시 형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물의 단일 용량은 약 1 개월 마다 1회 투여된다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물의 단일 용량은 4분기별 (즉 약 3개월 마다)로 투여된다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물의 단일 용량은 1년에 2회(즉, 약 6개월마다 1회) 투여된다.

[0887] 통상의 기술자는, 대상체에 존재하는 돌연변이, 이전 치료, 대상체의 전반적인 건강 및/또는 연령 및 존재하는 다른 질환을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 특정 요인들이 대상체를 효과적으로 치료하기 위해 요구되는 투약량 및 시기에 영향을 줄 수 있다는 것을 인식할 것이다. 또한, 적절하게 예방학적 또는 치료학적 유효량의 조성물을 사용한 대상체의 치료는 단일 치료 또는 일련의 치료를 포함할 수 있다.

[0888] iRNA는 특정 조직 (예를 들어, 간세포)을 표적화하는 방식으로 전달될 수 있다.

[0889] 본 발명의 약제학적 조성물은 용제, 에멀전 및 리포솜 함유 제형을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이들 조성물은 미리 형성된 액체, 자가-유화 고체 및 자가-유화 반고체를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 성분으로부터 생성될 수 있다. 제형은 간을 표적화하는 것들을 포함한다.

[0890] 단위 투여 형태로 편리하게 제시될 수 있는 본 발명의 제약 제제는 제약 산업에 널리 공지된 통상적인 기술에 따라 제조될 수 있다. 상기 기술은 활성 성분을 약제학적 담체(들) 또는 부형제(들)와 혼합시키는 단계를 포함

한다. 일반적으로 제형은 활성 성분을 액체 담체와 균일하고 친밀하게 회합하여 제조된다.

IX. 키트

본 발명은 또한 본 발명의 임의의 방법을 수행하기 위한 키트를 제공한다. 이러한 키트는 하나 이상의 이중 가닥 RNAi 작용제(들) 및 사용 설명서, 예를 들어, 고정 용량의 이중 가닥 RNAi 작용제(들)를 투여하기 위한 설명서를 포함한다. 상기 이중 가닥 RNAi 작용제는 바이알 또는 사전 충전된 주사기에 있을 수 있다. 상기 키트는 임의로 상기 이중 가닥 RNA 작용제를 투여하기 위한 수단 (예를 들어, 사전 충전된 주사기와 같은 주사 장치), 또는 AGT의 저해를 측정하기 위한 수단 (예를 들어, AGT mRNA, AGT 단백질 및/또는 AGT 활성의 저해를 측정하기 위한 수단)을 추가로 포함할 수 있다. AGT의 저해를 측정하기 위한 이러한 수단은, 예를 들어, 혈장 샘플과 같은 대상체 유래의 샘플을 획득하기 위한 수단을 포함할 수 있다. 본 발명의 키트는 임의로 치료학적 유효량 또는 예방적 유효량을 결정하기 위한 수단을 추가로 포함할 수 있다.

달리 정의되지 않는다면, 본 출원에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본 출원에서 기재된 것들과 유사하거나 동등한 방법들 및 재료들이 iRNA의 실시 또는 테스트 및 본 발명에서 특징으로 하는 방법에서 사용될 수 있지만, 적합한 방법들 및 재료들은 이하에서 기재될 것이다. 본 출원에서 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고 문헌은 그 전문이 참조로 포함된다. 상충하는 경우, 정의를 포함하는 본 명세서가 우선할 것이다. 또한, 재료, 방법 및 예는 단지 예시적인 것이며 제한하려는 것은 아니다.

본 발명은 제한으로서 해석되지 말아야 하는 하기의 실시예로 추가로 설명된다. 본 출원 전반에 걸쳐 인용된 모든 참고 문헌, 특허 및 공개 특허출원의 전체 내용과 서열 목록은 본 출원에 참조로 포함된다.

실시예

핵산 서열 제시에 사용되는 뉴클레오타이드 단량체의 약어. 이들 단량체는 올리고뉴클레오타이드에 존재할 때 달리 명시되지 않는다면 5'-3'-포스포디에스테르 결합에 의해 상호 연결되는 것으로 이해될 것이다.

약어	뉴클레오타이드(들)
A	아데노신-3'-포스페이트
Af	2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트
Afs	2'-플루오로아데노신-3'-포스포티오에이트
As	아데노신-3'-포스포티오에이트
C	사이티딘-3'-포스페이트
Cf	2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트
Cfs	2'-플루오로사이티딘-3'-포스포티오에이트
Cs	사이티딘-3'-포스포티오에이트
G	구아노신-3'-포스페이트
Gf	2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트
Gfs	2'-플루오로구아노신-3'-포스포티오에이트
Gs	구아노신-3'-포스포티오에이트
T	5'-메틸우리딘-3'-포스페이트
Tf	2'-플루오로-5-메틸우리딘-3'-포스페이트
Tfs	2'-플루오로-5-메틸우리딘-3'-포스포티오에이트
Ts	5-메틸우리딘-3'-포스포티오에이트
U	우리딘-3'-포스페이트
Uf	2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트
Ufs	2'-플루오로우리딘-3'-포스포티오에이트
Us	우리딘-3'-포스포티오에이트
N	변형되거나 변형되지 않은 임의의 뉴클레오타이드
a	2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트
as	2'-O-메틸아데노신-3'-포스포티오에이트
c	2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트
cs	2'-O-메틸사이티딘-3'-포스포티오에이트
g	2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트
gs	2'-O-메틸구아노신-3'-포스포티오에이트
t	2'-O-메틸-5-메틸우리딘-3'-포스페이트
ts	2'-O-메틸-5-메틸우리딘-3'-포스포티오에이트
u	2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트
us	2'-O-메틸우리딘-3'-포스포티오에이트
s	포스포티오에이트 연결
L96	N-[트리스(GalNAc-알킬)-아미도데카노일]-4-하이드록시프로릴놀 (Hyp-(GalNAc-알킬) ₃)
(Agn)	아데노신-글리콜 핵산 (GNA)
(Cgn)	사이티딘-글리콜 핵산 (GNA)

약어	뉴클레오타이드(들)
(Ggn)	구아노신-글리콜 핵산 (GNA)
(Tgn)	티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체

실시예 1. AGT dsRNA의 임상 1상

고혈압 환자에 대한 AD-85481의 피하 (SC) 투여의 안전성, 내약성, 약동학 (PK) 및 약력학(PD) 효과를 평가하기 위해, 다기관, 무작위, 이중 맹검, 활성 비교군 단일 용량 및 다중 용량 임상 시험을 설계하였다.

본 연구에는 4개의 파트를 포함한다:

파트 A: 고혈압 환자의 단일 상승 용량 (single ascending dose: SAD) 단계;

파트 B: 염 섭취 조절을 갖는 고혈압 환자의 단일 용량 (single dose: SD);

파트 C: 고혈압 환자의 다중 용량 (multiple dose: MD) 단계; 및

[0905] 파트 D: 비만인 고혈압 환자의 다중 용량 (MD) 단계.

[0906] 안전성, 내약성, 이용 가능한 PD 및 PK 데이터에 대한 지속적인 검토를 연구의 모든 파트에서 수집하였다.

[0907] 진단 및 주요 자격 기준

[0908] 본 연구는 고혈압 (>130 및 ≤159 mmHg의 평균 좌위 수축기 혈압 [SBP])을 갖는 18세 내지 65세의 성인을 포함 하였다. 이차성 고혈압 또는 ≥100 mmHg의 평균 좌위 이완기 혈압 [DBP]을 갖는 환자는 제외되었다. 연구 규정 준수 또는 데이터 해석을 방해할 수 있는 임상적으로 유의한 의학적 병태 또는 동반 질환 (당뇨병 또는 임의 의 심혈관계 사례 병력 포함)을 갖거나 혈압에 영향을 미치는 것으로 공지된 약물을 현재 복용 중이거나 사용할 것으로 예상되는 환자도 또한 제외되었다.

[0909] 연구 약물, 용량 및 투여 방식

[0910] 연구 약물 AD-85481은 고혈압 개체에서 혈압을 낮추기 위한 전략으로서 AGT (안지오텐시노젠) 생성을 억제하도록 설계된 화학적으로 변형된 *N*-아세틸갈락토사민 (GalNAc) 컨쥬게이트된 소간섭 RNA (siRNA)이며, 단일 피하 주사 (파트 A 및 B), 또는 1 주차에 1회 및 12 주차에 1회 투여되는 2회의 피하 주사 (파트 C 및 D)로서 투여되었다.

[0911] AD-85481의 변형되지 않은 뉴클레오타이드 및 변형된 뉴클레오타이드 서열

가닥	변형되지 않음 (5'에서 3'으로)	서열 번호	변형됨 (5'에서 3'으로)	서열 번호
안티 센스	UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA	9	usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa	11
센스	GUCAUCCACAAUGAGAGUACA	10	gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca	12

[0912]

[0913] 상기 화학적 변형은 다음과 같이 정의된다: a는 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트이고, c는 2'-O-메틸사이티딘-3'-포스페이트이고, g는 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트이고, u는 2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트이고, Af는 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트이고, Cf는 2'-플루오로사이티딘-3'-포스페이트이고, Gf는 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트이고, Uf는 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고, (Ggn)은 구아노신-글리콜 핵산 (GNA)이고, s는 포스포로티오에이트 연결이다. 상기 센스 가닥의 3' 말단은 N-[트리스(GalNAc-알킬)-아미도데카노일]-4-하이드록시프롤리놀 (또한 Hyp-(GalNAc-알킬)₃ 또는 L96으로도 지칭됨) 리간드에 공유적으로 연결된다.

[0914] 위약 대조군, 용량 및 투여 방식

[0915] 파트 A 및 B에서, AD-85481에 대한 대조군 약물은 위약 (피하 투여에 대해 생리 식염수 0.9%)이었다.

[0916] 파트 C 및 D에서, AD-85481에 대한 모조 치료제는 피하 투여에 대해 생리 식염수 0.9%이다. 이르베사르탄에 대한 모조 치료제는 이르베사르탄의 외관과 일치하는 불활성 모조 정제이다.

[0917] 활성 비교 대조군, 용량 및 투여 방식

[0918] 본 연구의 파트 C와 D에서, 1일 1회 경구 (PO) 용량의 이르베사르탄 150 mg을 활성 비교군으로서 사용한다.

[0919] 치료 기간 및 연구 참여

[0920] 단일 피하 용량의 AD-85481을 파트 A 및 B에서 투여하였다. 파트 C 및 D에서, 2회 피하 용량의 연구 약물을 12주에 걸쳐 투여한다.

[0921] 통계학적 방법

[0922] 샘플 크기는 실제 고려 사항을 기반으로 하였으며, 이러한 유형의 초기 단계 연구와 일치한다.

[0923] 전체 분석 세트 (Full Analysis Set: FAS)는 무작위 배정된 치료에 따라 그룹화된 연구 약물의 임의의 양에 관계 없이 투여받은 모든 환자를 포함하였다. PK 분석 세트는, 적어도 1회 용량의 연구 약물을 투여받았고 AD-85481 농도의 결정을 위한 적어도 1회의 투여 후 혈액 샘플을 가지며 평가 가능한 PK 데이터를 갖는 모든 환자를 포함하였다. PD 분석 세트는, 적어도 1회 용량의 연구 약물을 투여받았고 혈청 AGT의 결정을 위한 적어도 1회의 투여 후 혈액 샘플을 갖는 모든 환자를 포함하였다.

- [0924] FAS를 사용하여 AD-85481 활성을 분석하였다. PK 및 PD 분석 세트를 사용하여 각각 PK 및 PD 분석을 수행하였다.
- [0925] 통계 분석은 본질적으로 주로 설명적이다. 기술 통계량 (예를 들어, 평균, 표준 편차, 중앙값, 최소값 및 최대값)을 연속 변수에 대하여 제시한다. 빈도 및 백분율을 범주형 및 순서형 변수에 대해 제시한다. 기술 통계량은 임상 실험실 데이터, 심전도 (ECG) 및 활력 징후 데이터에 대해 제공된다.
- [0926] **연구 설계 근거**
- [0927] 1상, 다기관, 무작위, 이중 맹검 연구의 AD-85481을 고혈압 환자에게 피하 (SC) 투여하였다. 연구의 1차 목적은 고혈압 환자에서 단일 또는 다중 용량의 AD-85481의 안전성과 내약성을 평가하는 것이었다. 상기 연구를 4개의 파트로 수행하였다: 단일 상승 용량 (SAD) 단계 (파트 A), 염 섭취 조절을 갖는 환자의 단일 용량 (SD) 단계 (파트 B), 다중 용량 (MD) 단계 (파트 C) 및 비만 환자의 MD 단계 (파트 D).
- [0928] AD-85481의 안전성과 내약성에 대한 초기 통찰력을 제공하도록 본 연구를 설계하였다. 승인된 항고혈압제의 공지된 안전성 프로파일에 기초하여, 본 연구는 혈압, 혈청 전해질 및 크레아티닌을 주의 깊게 모니터링하고 AGT의 예상 최하점 동안 (AD-85481 투여 후 4~6주인 것으로 추정됨) 빈번한 데이터를 수집하도록 설계되었다. 임상 실험실 평가 및 혈압 데이터를 AGT 최하점에 상응하도록 연구 약물 투여 후 주기적으로 수집하였다.
- [0929] AD-85481의 안전성에 추가하여, 본 연구는 하기와 같은 2차 또는 탐색 연구 질문에 대한 통찰력을 제공하도록 설계되었다.
- [0930] **AD-85481의 약력학 (PD):** 혈장 AGT 수준에서 기준선 대비 변화를 결정하기 위해, PD 효과를 혈청 AGT의 연속 측정에 의해 직접적으로 입증하였다. AGT의 다운스트림 이펙터 (혈장 레닌 농도, 혈장 레닌 활성, 안지오텐신 I, 안지오텐신 II, 알도스테론)도 또한 탐색 바이오마커로서 혈액 및 소변 검체에서 측정할 수 있다.
- [0931] **D-85481의 약동학 (PK):** AD-85481의 PK 파라미터를, 예를 들어, qPCR에 의한 AD-85481 및 잠재적 대사 산물의 혈장 및 소변 수준의 결정에 의해 평가하였다.
- [0932] **혈압 감소:** 본 연구는 치료학적 혈압 감소의 평가를 가능하게 하기 위해 고혈압 환자 (처음에는 ESC/ESH 기준에 따라 1 등급에 상응함)를 등록하였다. 단일 용량 단계 (파트 A 및 B)는 짧은 기간을 가지며 불활성 위약 그룹을 사용한다. 최상의 윤리 기준을 준수하기 위해, 보다 긴 MD 단계 (파트 C 및 D)는 AD-85481 치료에 대한 활성 비교군으로서 확립된 안지오텐신 II 수용체 차단제 (ARB) (이르베사르탄)를 사용한다. AD-85481의 탐색 평가는 24 시간 활동 혈압 모니터링 (ambulatory blood pressure monitoring: ABPM)에 의해 평가된 SBP 및 DBP의 기준선 대비 변화와 진동계 자동 사무실 혈압 (automated office blood pressure: AOBP) 및 진동계 가정 혈압 모니터링 (home blood pressure monitoring: HBPM)에 의해 평가된 SBP 및 DBP의 기준선 대비 변화를 포함한다.
- [0933] 현재 지침에서 권장하는 바와 같이, 환자는 연구 약물 투여 전 약 3~4주 동안 이전 항고혈압 약물을 중단하고, 혈압을 자동 사무실 혈압 (AOBP) 측정과 외래 환자 24 시간 활동 혈압 모니터링 (ABPM)으로 모니터링하였다. 보다 높은 정확도를 갖는 것에 추가하여, 후자의 방법은 최고-최저 혈압 비와 일주기 리듬 (고혈압 환자 중 24~35%에서 손실되는 정상적인 야간 혈압 덩핑 패턴의 잠재적 회복 포함)을 평가한다. 세 번째 방법인 진동계 가정 혈압 모니터링 (HBPM)을 통해 보다 빈번한 (매일) 측정값을 수집하여 점진적 PD 효과를 특성화하고, 병원에 없는 동안 잠재적인 저혈압에 대한 긴밀한 안전성 모니터링을 제공한다.
- [0934] **AD-85481에 대한 혈압 반응에 미치는 저염 섭취의 영향:** 고혈압이 일부 환자에서 염에 민감하기 때문에, 모든 연구 환자는 스크리닝부터 치료 종료 (end of treatment: EOT)까지 나트륨 소비를 하루 약 2.0 g으로 제한하도록 하는 지침과 함께 식단에 대한 교육 자료를 받는다. 아주 흥미롭게도, 이것은 고혈압 환자와 일반 집단 모두에 대해 2018년 ESC/ESH 가이드라인에서 권장되는 나트륨 섭취량이다.
- [0935] 또한, 염 섭취 조절을 갖는 환자의 파트 B 연구 1 코호트를 연구하여 이전에 다른 RAAS 억제 약물로 입증된 저염 상태 (1일 1.15 g 나트륨)에서 증강 약리학 및 안전성에 대한 가능성을 평가한다. 파트 B 환자는 염에 민감한 혈압 반응에 대해 직접 테스트하기 위해 나트륨 소비를 다르게 하는 2주간 식단 하위 프로토콜을 완료한다. 파트 B 동안, 음식을 공통 프로토콜에 따라 연구/대사 주방에서 준비하여 환자에게 제공한다. 환자는 저염식이 요법 준수를 촉진하고 염 결핍 도입의 시에 잠재적인 증강 AD-85481 약리학에 대한 모니터링을 강화하기 위해 2주 하위 프로토콜의 첫주 동안 입원한다. AGT 강하 및 염 결핍 후, 고염 섭취 단독에 대한 혈압 반응을 특성화한다. AD-85481의 효과에 대한 탐색 평가 변수는 저염 대 고염 조건하에 ABPM 및 AOBP에 의해 평가된 SBP

및 DBP의 기준선 대비 변화의 결정을 포함한다.

[0936] **비만:** 고혈압 환자의 대부분은 과체중 또는 비만일 것으로 예상된다. 또한, 비만 증가는 고혈압과 인과 관계가 있을 가능성이 있다. 파트 D는 PK 및 PD 파라미터에 대한 체중의 영향을 평가하기 위해 클래스 I 내지 III 비만 범위의 체질량 지수 (body mass index: BMI)를 갖는 환자의 1개 코호트를 연구한다.

[0937] AGT가 고전적 RAAS 경로와 구별될 수 있는 기전을 통해 식이 유발 비만 및 간 지방증 모두에 기여하는 것으로 연루됨에 따라, 전임상 연구는 체중 감소를 탐색 평가 변수로서 평가한다. 체중 변화가 체지방 감소로 인한 것인지 여부를 결정하기 위해, 인체 측정 (허리 둘레, 허리 대 엉덩이 비) 및 신체 조성의 방사선학적 평가 (이중 에너지 X선 흡수 측정법, DEXA)를 수집한다. 체중 감소로 개선되는 지질 및 포도당 대사 (지질 프로파일, HbA1c, 공복 혈당)의 생화학적 파라미터를 대략 3 개월 마다 측정한다. 아주 흥미롭게도, 파트 A, B 및 C는 정상 내지 과체중 및 경증 (클래스 I) 비만 범위 ($BMI \geq 18 \text{ kg/m}^2$ 및 $\leq 35 \text{ kg/m}^2$)의 환자를 등록한다. 파트 D의 단일 코호트는 비만 환자 ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ 및 $\leq 50 \text{ kg/m}^2$)로 제한된다. AD-85481의 효과에 대한 탐색 평가 변수는 비만 환자에서 체중, 허리 둘레, 허리 대 엉덩이 비 및 신체 조성 (이중 에너지 X선 흡수 측정법 (DEXA)으로 평가됨)의 기준선 대비 변화 결정을 포함한다.

[0938] 전반적인 연구의 추가 탐색 목적은 HbA1c, 공복 혈장 포도당 및 혈청 지질 프로파일의 기준선 대비 변화를 결정함으로써 대사 증후군 파라미터에 대한 ALN-AD-85481의 효과에 대한 평가와 혈장 레닌 농도, 혈장 레닌 활성, 안지오텐신 I, 안지오텐신 II 및 알도스테론의 기준선 대비 변화를 결정함으로써 RAAS의 탐색 바이오마커에 대한 AD-85481의 효과에 대한 평가를 포함한다.

[0939] **연구 약물 투여 및 진행**

[0940] 파트 A에 대한 용량은 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg 및 $\leq 400 \text{ mg}$ 이다. AD-85481:위약의 2:1 무작위화를 갖는 6개 코호트 (중간 용량 수준, 보다 낮은 용량 수준 또는 이전 코호트의 확장 평가를 위한 3개의 선택적 코호트가 용량 반응 또는 안전성 및 내약성을 보다 잘 특성화하기 위해 파트 A에 등록될 수 있음) 각각에 12명의 환자가 있었다. 최저 용량은 혈압 강하에 영향을 미치지 않을 것으로 예상된다. 혈압 강하 활성은 적어도 80%의 혈청 AGT 강하와 함께 50 mg 용량에서 처음 관찰될 것으로 예상되었다.

[0941] **I 상 - 파트 A**

[0942] **파트 A의 기준선 대비 혈청 AGT의 강하.** 포함 및 제외 기준을 충족하는 대상체는 1 일차에 단일 용량의 AD-85481 또는 위약을 투여받았다. 혈액 샘플을 AD-85481 또는 위약 투여 전, 투여 후 6주 동안 매주, 치료 후 8주차 및 12 주차에, 이어서 추적 기간 동안 3 개월 마다 수집하였다. 혈청 AGT 수준을 고상 샌드위치 ELISA에 의해 결정하고, 기준선 대비 AGT의 강하를 각각의 시점에서 결정하였다.

[0943] 총 60명의 고혈압 환자가 연구의 파트 A에서 치료를 완료하였다. 환자는 위약 (코호트 당 n=4) 또는 AD-85481 (코호트 당 n=8)을 투여받았다. 파트 A에 참여하는 대상체의 인구 통계 및 기준선 특성은 하기 표에 제시되어 있다.

		위약 (N=20)	10 mg (N=8)	25 mg (N=8)	50 mg (N=8)	100 mg (N=8)	200 mg (N=8)
연령, 세; 중앙값 (범위)		52 (36~64)	53 (37~60)	56 (47~63)	41 (35~64)	56 (35~65)	56 (43~64)
성별	남성	9	7	2	7	3	5
	여성	11	1	6	1	5	3
인종	백인	14	6	4	3	4	6
	흑인	5	1	4	4	2	2
	아시아인	0	1	0	0	2	0
	기타	1	0	0	1	0	0
혈압	24h ABPM SBP 중앙값 (범위)	141 (126, 153)	139 (130, 147)	141 (132, 157)	135 (113, 144)	136 (131, 152)	139 (129, 154)
	24h ABPM DBP 중앙값 (범위)	87 (72, 102)	84 (76, 93)	91 (75, 103)	84 (74, 91)	86 (80, 90)	83 (75, 95)

파트 A의 안전성 프로파일. 연구의 1차 목적은 고혈압 환자에서 단일 용량의 AD-85481의 안전성과 내약성을 평가하는 것이었다. 하기 표에서 입증된 바와 같이, AD-85481의 안전성 프로파일은 안전성 문제 없이 허용 가능하였다. 대부분의 이상 반응은 경증 또는 중등도이었으며, 개입 없이 해결되었다. 연구 중단을 초래한 사망이나 이상 반응도 없었으며, 치료 관련 심각한 이상 반응 (serious adverse event: SAE)도 없었다. 전립선암의 심각한 SAE가 200 mg을 투여받은 1명의 환자에서 스크리닝 기간에 수행된 생검에 기초하여 보고되었으며, 투여 후 양성으로 보고되었다. 저혈압에 대한 개입을 필요로 하는 환자는 없었으며, 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라아제 (ALT), 혈청 크레아티닌 또는 혈청 칼륨의 임상적으로 유의한 상승은 연구 과정 동안 관찰되지 않았다. 5 명의 환자가 경미한 주사 부위 반응을 보고하였다.

이상 반응 (AE) 보고 환자, N	위약 (N=20)	10 mg (N=8)	25 mg (N=8)	50 mg (N=8)	100 mg (N=8)	200 mg (N=8)
적어도 1개의 이상 반응	17	5	7	6	7	7
적어도 1개의 심각한 이상 반응	1	0	0	0	0	1
적어도 1개의 중증 이상 반응	1	0	0	0	0	1

혈청 AGT 수준에 대한 단일 용량의 AD-85481의 투여 효과는 도 1에 제시되어 있다.

54%의 평균 최대 AGT 강하가 10 mg 단일 용량에서 52%의 4 주차 평균 강하와 함께 10 mg 용량에서 관찰되었다.

69%의 평균 최대 AGT 강하가 25 mg 단일 용량에서 69%의 4 주차 평균 강하와 함께 25 mg 용량에서 관찰되었다.

74%의 평균 최대 AGT 강하가 50 mg 단일 용량에서 68%의 4 주차 평균 강하와 함께 50 mg 용량에서 관찰되었다.

94%의 평균 최대 AGT 강하가 100 mg 단일 용량에서 92%의 4 주차 평균 강하와 함께 100 mg 용량에서 관찰되었다.

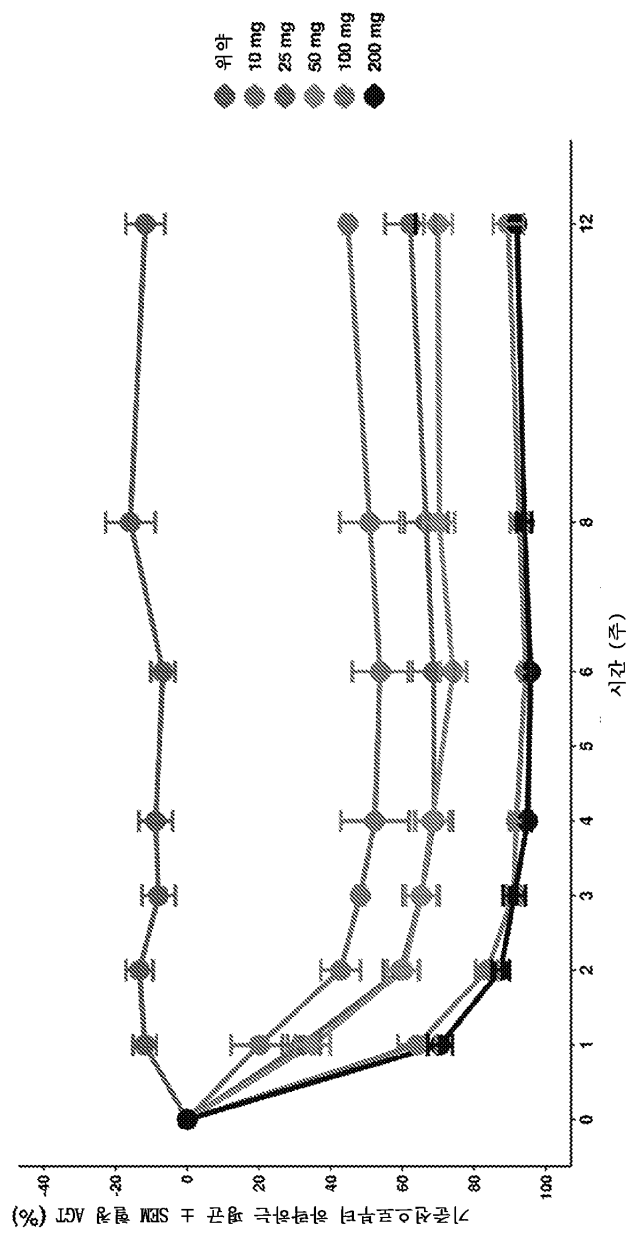
96%의 평균 최대 AGT 강하가 200 mg 단일 용량에서 95%의 4 주차 평균 강하와 함께 200 mg 용량에서 관찰되었다.

이러한 데이터는 단일 용량의 AD-85481에 의한 치료 후 혈청 AGT의 지속적인 용량 의존적 감소를 입증한다. 또한, 혈청 AGT 수준의 90% 초과 감소가 보다 높은 단일 용량의 AD-85481을 투여받은 대상체에서 관찰되었고, AGT의 감소가 3 개월 이상 동안 지속되어, 예를 들어, 이는 분기 당 적어도 1회의 만성 용량 투여 간격이 효과적인 것하다는 것을 입증한다.

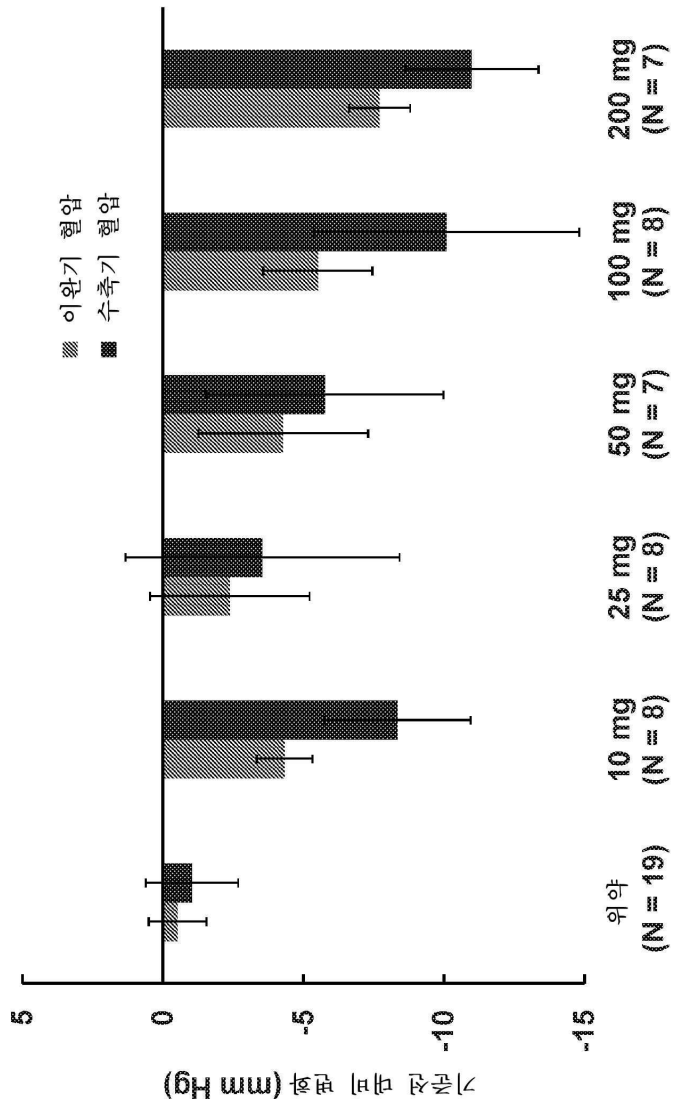
- [0954] **파트 A의 기준선 대비 혈압의 조절.** AD-85481의 탐색 평가는 24 시간 활동 혈압 모니터링 (ABPM)에 의해 평가된 SBP 및 DBP의 기준선 대비 변화와 진동계 자동 사무실 혈압 (AOBP) 및 진동계 가정 혈압 모니터링 (HBPM)에 의해 평가된 SBP 및 DBP의 기준선 대비 변화를 포함하였다.
- [0955] 도 2에서 도시된 바와 같이, 단일 100 mg 용량의 AD-85481은 24 시간 활동 혈압 측정 (ABPM)에 의해 결정될 때 위약과 비교하여 8 주차에 수축기 혈압 및 이완기 혈압을 각각 약 10.1 mmHg 및 약 5.5 mmHg 감소시켰다. 단일 200 mg 용량의 AD-85481 후, 24 시간 활동 혈압 측정 (ABPM)에 의해 결정될 때 위약과 비교하여 8 주차에 각각 약 11 mmHg 및 약 7.7 mmHg의 수축기 혈압 및 이완기 혈압의 감소가 관찰되었다.
- [0956] 이러한 데이터는 단일 용량의 AD-85481을 투여받은 대상체에서 SBP 및 DBP의 용량 의존적 감소를 입증한다. 구체적으로, 24 시간 SBP의 10 mmHg 초과 감소가 단일 용량 (예를 들어, 100 mg 또는 200 mg)의 AD-85481 후 8 주차에 관찰되었다.
- [0957] **요약**
- [0958] 요약하면, 이러한 단일 상승 용량 연구는 AD-85481의 최대 효과를 특성화하고 3 개월 이상의 기간 동안 AD-85481 치료의 지속성을 입증하였다. 이러한 데이터는 단일 피하 용량의 AD-85481 (또한 ALN-AGT01으로도 지칭됨)이 치료 관련 심각한 이상 반응 없이 경증 내지 중등도의 고혈압 환자에서 내약성이 우수하였다는 것을 입증한다. AD-85481의 투여는 혈청 AGT의 용량 의존적이고 지속적인 감소를 초래하였다. 90% 초과 AGT 감소가 ≥ 3 개월 동안 지속된 보다 높은 단일 용량의 AD-85481 후에 관찰되었는데, 이는 빈번하지 않은 투여 간격이 필요하다는 것을 입증한다.
- [0959] 혈압 감소는 단일 고정 용량의 AD-85481의 투여 후 AGT 녹다운을 반영하였으며, 24 시간 SBP의 > 10 mmHg 감소가 100 mg 이상의 단일 용량 후 8주에 관찰되었다.
- [0960] 대부분이 신장 기능에 부정적인 영향과 관련된 고혈압을 치료하기 위한 현재 방법 및 치료제와 비교할 때, 이러한 데이터는 AGT의 간 특이적 침묵이 효과적이므로 개선된 신장 안전성을 제공한다는 것을 추가로 입증한다. AD-85481의 연장된 작용 지속 기간은 일관되고 지속적인 혈압 반응, 일일 BP 변화의 둔화, 및 빈번하지 않은 투여가 필요하고 전체 환약 부담의 감소가 있기 때문에 개선된 순응도를 제공할 수 있다는 점에서 현재 치료제 보다 더 우수하다.
- [0961] **균등물**
- [0962] 당해 분야의 통상의 기술자들이라면 본 출원에서 기재된 특정 실시 형태 및 방법에 대한 다수의 균등물을 인식하거나, 단지 일상적인 실험을 사용하여 이를 확인할 수 있다. 이러한 균등물은 하기 청구범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1



도면2



서열 목록

<110> ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.

<120> METHODS AND COMPOSITIONS FOR TREATING AN ANGIOTENSINOGEN-
(AGT-) ASSOCIATED DISORDER

<130> 121301-11120

<140><141><150> 63/017,854

<151> 2020-04-30

<150> 62/934,695

<151> 2019-11-13

<160> 16

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 2587

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atcccatgag cgggcagcag ggtcagaagt ggccccctg ttgcctaagc aagactctcc	60
cctgcctctt gccctctgca cctccggcct gcatgtccct gtggcctctt gggggtacat	120
ctcccggggc tgggtcagaa ggcctgggtg gttggcctca ggctgtcaca cacctaggga	180
gatgctcccg ttcttgggaa ccttggcccc gactcctgca aacttcggta aatgtgtaac	240
tcgacctgc accggctcac tctgttcagc agtgaaactc tgcacgac actaagactt	300
cctggaagag gtcccagcgt gagtgtcgt tctggcatct gtcttcttgg ccagcctgtg	360
gtctggccaa gtgatgtaac cctcctctcc agcctgtgca caggcagcct gggaacagct	420
ccatccccac cctcagcta taaatagggc atcgtgacct ggccggggga agaagctgcc	480
gttgttctgg gtactacagc agaagggtat gcggaagcga gcaccccagt ctgagatggc	540
tcctgccggt gtgagcctga gggccacat cctctgcctc ctggcctggg ctggcctggc	600
tgcaggtgac cgggtgtaca tacacccctt ccacctcgtc atccacaatg agagtacctg	660
tgagcagctg gcaaaggcca atgccgggaa gcccaaagac cccaccttca tacctgctcc	720
aattcaggcc aagacatccc ctgtggatga aaaggcccta caggaccagc tgggtgctagt	780
cgctgcaaaa cttagacaccg aagacaagtt gagggccgca atggtcggga tgctggccaa	840
cttcttgggc ttccgtatat atggcatgca cagttagcta tggggcgtgg tccatggggc	900
caccgtctc tcccaacgg ctgtcttttg caccctggcc tctctctatc tgggagcctt	960
ggaccacaca gctgacaggc tacaggcaat cctgggtgtt ccttgggaagg acaagaactg	1020
cacctcccg ctggatgcgc acaaggtcct gtctgcctg caggctgtac agggcctgct	1080
agtggcccag ggcagggtg atagccaggc ccagctgctg ctgtccacgg tgggtggcgt	1140
gttcacagcc ccaggcctgc acctgaagca gccgtttgtg cagggcctgg ctctctatac	1200
ccctgtggte ctccacgct ctctggactt cacagaactg gatgttgctg ctgagaagat	1260
tgacaggttc atgcagctg tgacaggatg gaagactggc tgctccctga tgggagccag	1320
tgtggacagc acctggctt tcaacacctc cgtccacttc caagggaaga tgaaggcctt	1380
ctccctgctg gccgagcccc aggagtctg ggtggacaac agcacctcag tgtctgttcc	1440
catgctctct ggcatgggca ccttcagca ctggagtac atccaggaca acttctcgg	1500
gactcaagt cccttactg agagcgctg cctgtgctg atccagctc actatgcctc	1560

tgacctggac aagggtggagg gtctcacttt ccagcaaaac tccctcaact ggatgaagaa 1620
actatctccc cggaccatcc acctgacat gccccaactg gtgctgcaag gatcttatga 1680
cctgcaggac ctgctcgccc aggtgagct gcccgccatt ctgcacaccg agctgaacct 1740
gcaaaaattg agcaatgacc gcatcagggt gggggagggtg ctgaacagca tttttttga 1800
gcttgaagcg gatgagagag agcccacaga gtctaccaa cagcttaaca agcctgaggt 1860

cttggagggtg accctgaacc gcccattcct gtttgctgtg tatgatcaaa gcgccactgc 1920
cctgcacttc ctgggccgcg tggccaaccg gctgagcaca gcatgaggcc agggccccag 1980
aacacagtgc ctggcaagcg ctctgcccct ggcctttgag gcaaaggcca gcagcagata 2040
acaaccccg acaaatcagc gatgtgtcac cccagcttc ccaccttttc ttctaagag 2100
tcgactttga gctggaaagc agccgtttct ccttggtcta agtgtgctgc atggagttag 2160
cagtagaagc ctgcagcgcc acaaatgcac ctcccagttt gctgggttta ttttagagaa 2220
tgggggtggg gaggcaagaa ccagtgttta gcgcgggact actgttcaa aaagaattcc 2280

aaccgaccag cttgtttgtg aaacaaaaaa gtgttcctt ttcaagtga gaacaaaaat 2340
tgggttttaa aattaaagta tacatttttg cattgccttc ggtttgtatt tagtgtcttg 2400
aatgtaagaa catgacctcc gtgtagtgtc tgtaatacct tagtttttc cacagatgct 2460
tgtgattttt gaacaatacg tgaaagatgc aagcacctga atttctgttt gaatgcggaa 2520
ccatagctgg ttattttcc cttgtgttag taataaacgt cttgccacaa taagcctcca 2580
aaaaaaa 2587

<210> 2

<211> 2587

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

tttttttgg aggtttattg tggcaagacg ttattacta acacaaggga gaaataacca 60
gctatgggtc cgcattcaaa cagaaattca ggtgcttgca tctttcacgt attgttcaaa 120
aatcacaagc atctgtggaa aaaactaagg tattacagac actacacgga ggtcatgttc 180
ttacattcaa gacactaat acaaacgaa ggcaatgcaa aatgtatac ttttaattta 240
aaaccaatt tttgtttca acttgaaaag ggaacacttt tttgtttcac aaacaagctg 300
gtcggttgga attctttttg gaacagtagt cccgcgctaa aacttggttc ttgcctcccc 360
acccccattc tctaaaataa acccagcaaa ctgggagggtg catttgtgcc gctgcaggct 420

tctactgctc atccatgca gcacacttag accaaggaga aacggctgct ttccagctca 480

aagtcgactc attagaagaa aagggtgggag actgggggtg acacatcgct gattttgtccg 540
gggtttgttat ctgctgctgg cctttgcctc aaaggccagg ggcagaggcc ttgccaggca 600
ctgtgttctg gggccctggc ctcatgctgt gctcagcggg ttggccacgc ggcccaggaa 660
gtgcagggca gtggcgcttt gatcatacac agcaaacagg aatgggcggt tcagggtcac 720
ctccaagacc tcaggcttgt taagctgttg ggtagactct gtgggctctc tctcatccgc 780
ttcaagctca aaaaaaatgc tgttcagcac ctccccacc ctgatgcggt cattgtctaa 840

tttttgcagg ttcagctcgg tgtgcagaat ggcgggcagc tcagcctggg cgagcaggtc 900
ctgcaggtea taagatcctt gcagcaccag ttggggcatg gtcagggtgga tggtcggggg 960
agatagtttc ttcattccagt tgaggagatt ttgctggaaa gtgagaccct ccacctgtc 1020
caggtcagag gcatagttag gctggatcag cagcaggcag gcgctctcag tgaaggcac 1080
ttgagtacc gagaagtgt cctggatgtc actccagtgc tggaaagtgc ccatgccaga 1140
gagcatggga acagacactg aggtgctgtt gtccaccag aactcctggg gctcgccag 1200
cagggagaag cccttcatct tccttggaa gtggacgtag gtgttgaaag ccagggtgct 1260

gtccacactg gctcccatca gggagcagcc agtcttccat cctgtcacag cctgcatgaa 1320
cctgtcaatc ttctcagcag caacatccag ttctgtgaag tccagagagc gtgggaggac 1380
cacaggggta tagagagcca ggccctgcac aaacggctgc ttcagggtgca ggccctggggc 1440
tgtgaacacg cccaccaccg tggacagcag cagctgggccc tggtatcag ccctgcctg 1500
ggccactagc aggccctgta cagcctgcag ggcagacagg acctgtgtcg catccagccg 1560
ggaggtgcag ttcttgtcct tccaaggaac acccaggatt gcctgtagcc tgtcagctgt 1620
tgtgtccaag gctcccagat agagagaggc cagggtgcca aagacagccg ttggggagag 1680

gacggtggcc ccatggacca cgccccatag ctactgtgc atgcatata tacggaagcc 1740
caagaagttg gccagcatcc cgaccattgc ggccctcaac ttgtcttcgg tgtcaagttt 1800
tgcagcgact agcaccagct ggtcctgtag ggccctttca tccacagggg atgtcttgcc 1860
ctgaattgga gcaggtatga aggtggggtc ttggggcttc ccggcattgg cctttgccag 1920
ctgctcacag gtactctcat tgtggatgac gaggtggaag ggggtgatgt acaccggtc 1980
acctgcagcc aggccagccc aggccaggag gcagaggatg gtggccctca ggctcacacc 2040
ggcaggagcc atctcagact ggggtgctcg ctccgcata cccttctgct gtagtacca 2100

gaacaacggc agcttcttcc cccggccggg tcacgatgcc ctatttatag ctgaggggtg 2160
gggatggagc tgttcccagg ctgcctgtgc acaggctgga gaggagggtt acatcacttg 2220
gccagaccac aggttgcca gaaggacaga tgccagaagc gacactcacg ctgggacctc 2280
ttccaggaag tcttagtgat cgatgcagag ttctactgct gaacagagtg agccggtgca 2340

gggtcgagtt acacatttac cgaagtttgc aggagtcggg gccaaagttc ccagaaacgg 2400

gagcatctcc ctaggtgtgt gacagcctga ggccaaccac ccaggccttc tgaccagcc 2460

ccgggagatg taccccaag aggccacagg gacatgcagg ccggaggtgc agagggcaga 2520

gggcagggga gagtcttgct taggcaacac gggggccact tctgaccctg ctgcccgtc 2580

atgggat 2587

<210> 3

<211> 1834

<212> DNA

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 3

aagaagctgc cattgttctg ggtactacag cagaagggtg tgcagaagcg agcaccccag 60

tccgagatgg ctctgccag cgtgagcctg agggccacca tcctctgcct cctggcctgg 120

gctggcctgg ccacaggtga ccgggtgtac atacaccct tccacctgt catccacaat 180

gagagtacct gtgagcagct ggcaaaggcc gatgctggga agcccaaaga tcccaccttc 240

acacctgttc cgatacaggc caagacgtct cctgtggatg aaaaggccct gcaggaccag 300

ctagtcttgg ttccgcaaa actcgacacc gaggacaagt tgagagccgc gatggtcggg 360

atgctggcca acttcttggg ctccgtata tatggcatgc acagtgagct atggggcgtg 420

gtccatgggg ccaccatct ctcccaacg gctgtctttg gcaccctggc ctctctctac 480

ctgggagcgt tggaccacac agccgacagg ctacaggcaa tcctgggcgt cccttgaag 540

gacaagaact gcacctccg gctggatgcg cacaaggctc tctctgcct gcaggtgta 600

cagggcctgc tgggtggcca gggcagggtc gacggccagt ccagctgct gttgtccaca 660

gtggtgggtc tcttcacagc ccagatctg cacctgaagc agccgtttgt gcagggcctg 720

gctctctatg cccctgtggt cctccacgc tctctggact tcacagacct ggaagtcgt 780

gctgagaaga ttgacaggt catgcaggct gtgacaggat ggaagattag cagccccctg 840

acgggagcca gtgcggacag caccctggtt ttcaacacct acgtccattt ccaagggaag 900

atgagggact tcttctgtc ggctgagccc caggagtctt gggtggacaa cagcacctca 960

gtgtctgtcc ccatgctgtc tggcgtgggc acctccagc actggagcga cggccaggac 1020

aacttctcag tgactcaagt gccctttact gagagcgct gcttgctgct gattcagcct 1080

cactacgct ctgacctgga caaggtggag ggtctcactt tccagcaaaa ctccctcaac 1140

tggatgaaga aactgtctcc ccgggccatc cacctgacca tgccccgact ggtgctgcga 1200

ggatcttatg acctgcagga cctgcttgcc caggctgagc tgcccgcct tctgggcacc 1260

gagctgaacc tgcaaaaatt gagcaatgac aacctcaggg tggggaaggt gctgaacagc 1320
attctttttg aactcgaagc ggatgagaga gagccacag agtctacccg acagctgaac 1380
aggcctgagt tcttgaggt gacctggac cgccattcc tgtttgctgt gtatgatcaa 1440
agtgccactg cctgcactt cctgggccgt gtggccaacc cgctgagccc agcatgaggc 1500

cagggcccca gaacacagcg cctggcaagg cctctgcccc tggcctttga ggcgaaggcc 1560
agcagcagat atgtaactct ggaaaaacca gcgatttgtc acccccagtc tcccaccttt 1620
tcttctaatt agtcaacttc gagctggaaa gcagtcgttt ctccttggtc taagtgggtgc 1680
tgcgtgagca gtaagaaacc tgtggcagca caaatgcgcc tcccaggttg ctgggtttat 1740
ttagagaat gggggtgggg aggcaagaac cagtgtttag cgcgggacca ccgttccaaa 1800
aagaattcca accgaccagc ttgtttgtga aaca 1834

<210> 4

<211> 1834

<212> DNA

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 4

tgtttcacia acaagctggt cggttggaat tctttttgga acggtggtcc cgcgctaaac 60
actggttctt gctccccac cccattctc taaaataaac ccagcaacct gggaggcgca 120
tttgtctgc cacaggttcc ttactgctca cgcagacca cttagaccaa ggagaaacga 180
ctgctttcca gctcgaagtt gactcattag aaaaaaggt gggagactgg gggtgacaaa 240
tcgctggttt ttccagagtt acatatctgc tctggcctt cgcctcaaag gccaggggca 300
gaggccttgc caggcgctgt gttctggggc cctggcctca tctgggctc agcgggttgg 360
ccacacggcc caggaagtgc agggcagtgg cactttgatc atacacagca aacaggaatg 420

ggcgggtccag ggtcacctcc aagaactcag gcctgttcag ctgtcgggta gactctgttg 480
gctctctctc atccgcttcg agttcaaaaa gaatgctgtt cagcaccttc cccaccctga 540
ggttgtcatt gctcaatttt tgcaggttca gctcgggtgc cagaatggcg ggcagctcag 600
cctgggcaag caggtcctgc aggtcataag atcctcgcag caccagtcgg ggcattgtca 660
ggtggatggc ccggggagac agtttcttca tccagttgag ggagttttgc tggaaagtga 720
gacctccac ctgtccagg tcagaggcgt agtgaggctg aatcagcagc aagcaggcgc 780
tctcagtaaa gggcacttga gtcactgaga agttgtcctg ggcgtcgtc cagtgtctga 840

aggtgcccac gccagacagc atggggacag aactgaggt gctgttgtcc acccagaact 900
cctggggctc agccagcagg aagaagtccc tcatttccc ttggaaatgg acgtaggtgt 960

tgaaaaccag gggtgctgtcc gcactggctc ccgtcagggg gctgctaata tccatcctg	1020
tcacagcctg catgaacctg tcaatcttct cagcagcgac ttccaggtct gtgaagtcca	1080
gagagcgtgg gaggaccaca ggggcataga gagccaggcc ctgcacaaac ggctgcttca	1140
gggtgcagatc tggggctgtg aagagaccca ccactgtgga caacagcagc tgggactggc	1200
cgtcagccct gccctgggcc accagcaggc cctgtacagc ctgcagggca gagaggacct	1260
tgtgcgcatc cagccgggag gtgcagttct tgtccttcca agggacgccc aggattgcct	1320
glagcctgtc ggctgtgtgg tccaacgctc ccaggtagag agaggccagg gtgccaaaga	1380
cagccgttgg ggagaggatg gtggcccat ggaccacgcc ccatagctca ctgtgcatgc	1440
catatatacg gaagcccaag aagttagcca gcatcccgac catcgcggt ctcaacttgt	1500
cctcgggtgc gagttttgcg gcaaccagca ctagctggtc ctgcagggcc ttttcatcca	1560
caggagacgt cttggcctgt atcggaacag gtgtgaaggt gggatctttg ggcttcccag	1620
catcgccctt tgccagctgc tcacaggtac tctcattgtg gatgacgagg tggaaggggt	1680
glatgtacac ccggtcacct gtggccaggc cagcccaggc caggaggcag aggatggtgg	1740
ccctcaggct cagctggca ggagccatct cggactgggg tgctcgcttc tgcataacct	1800
tctgctgtag taccagaac aatggcagct tctt	1834
<210> 5	
<211> 1856	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 5	
gatagctgtg ctgtctagg ttggcgtga aggatacaca gaagcaaatg cacagatcgg	60
agatgactcc cacgggggca ggctgaagg ccaccatctt ctgcactttg acctgggtca	120
gcctgacggc tggggaccgc gtatacatcc accccttcca tctcctttac cacaacaaga	180
gcacctgcgc ccagctggag aacccagtg ttgagacact cccagagtca acgttcgagc	240
ctgtgcccac tcaggccaag acctccctg tgaatgagaa gacctgcat gatcagctcg	300
tgctggccgc cgagaagcta gaggatgagg accggaagcg ggctgcccag gtcgcaatga	360
tcgccaactt cgtgggcttc cgcatgtaca agatgctgaa tgaggcagga agtggggcca	420
gtggggccat cctctacca ccagctctct ttggcacct ggtctcttcc taccttggat	480
ccttagatcc cacggccagc cagctgcaga cgctgctgga tgtccctgtg aaggaggag	540
actgcacctc ccgactagat ggacacaagg tcctcgctgc cctgcgggcc attcagggt	600
tgctggtcac ccagggtggg agcagcagcc agacaccct gctacagtcc attgtggtgg	660

ggctcttcac tgctccaggc tttcgtctaa agcactcatt tgttcagagc ctggctctct 720
 ttaccctgc cctcttccca cgctctctgg atttatccac tgaccagtt ctgcccactg 780
 agaaaatcaa caggttcata aaggctgtga cagggtggaa gatgaacttg cactggagg 840
 gggtcagtac agacagcacc ctacttttca acacctacgt tcacttccaa ggaacgatga 900
 gaggtttctc tcagctgcct ggagtcctatg aattctgggt ggacaacagc atctcggtgt 960
 ctgtgcccac gatctccggc actggcaact tccagcactg gagtgacacc cagaacaact 1020

tctccgtgac gtgcgtgccc ctaggtgaga gagccaccct gctgctcatc cagccccact 1080
 gcacctcaga tctcgacagg gtggaggccc tcatcttcg gaacgacctc ctgacttgga 1140
 tagagaaccc gcctcctcgg gccatccgcc tgactctgcc ccagctggaa atccgaggat 1200
 cctacaatct gcaggacctg ctggctgagg acaagctgcc cacccttttg ggtgcggagg 1260
 caaatctgaa caacattggt gacaccaacc cccgagtggg agaggttctc aatagcatcc 1320
 tcctcgaact caaagcagga gaggaggaac agccgaccac gtctgtccag cagcctggct 1380
 caccggaggc actggatgtg accctgagca gccccttctt gttcgccatc tacgagcagg 1440

actcaggcac gctgcacttt ctgggcagag tgaataaccc ccagagtgtg gtgtgaggcc 1500
 ttgtgcctag ccatggagac aaggccggtg tcggagaacc gttctgggca aaactcagtg 1560
 ctgtcacccc tggtcctccc tcacgccttg tagcgcggca gaggccgtct ctttgagac 1620
 tgcgtgacc gagaataaat gatgagcagc agagcctcct gggatgtggg tttgtttgga 1680
 tactggggtg acagccagaa gctggcactc tgcacaggac tgccactctg gaagaaattt 1740
 ggacaaaaaa actgtttgtg acacaaaaaa gcaccccccc tttttttat ttgaggacag 1800
 aaattgggtt ttaacattaa aatgcacatt atccccttaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1856

<210> 6

<211> 1856

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 6

ttttttttt ttttttttaa ggggataatg tgcattttta tgttaaaacc caatttctgt 60
 cctcaataa aaaaaagggg ggggtgctttt tgggtgcaca aacagttttt tgggtccaat 120
 ttcttccaga gtggcagtc tgtgcagagt gccagcttct ggctgtcacc ccagtatcca 180
 aacaaacca catcccagga ggctctgtct ctcacatatt attctcggtc agcgcagtct 240
 ccaaggagac ggcctctgcc gcgtacaag gcgtgatggg gagccagggg tgacagcact 300
 gagttttgcc cagaacggtt ctccgacacc ggccttgtct ccatggctag gcacaaggcc 360

tcacaccaca ctctgggggt tattcactct gccagaaaag tgcagcgtgc ctgagtcctg 420

ctcgtagatg gcgaacagga aggggctgct cagggtcaca tccagtgcct ccggtgagcc 480

aggctgctgg acagacgtgg tcggctgttc ctctctctct gctttgagtt cgaggaggat 540

gctattgaga acctctccca ctcggggggt ggtgtcacca atgttgttca gatttgcctc 600

cgcacccaaa aggggtggga gcttgtcttc agccagcagg tcctgcagat ttaggatcc 660

tcggatttcc agctggggca gagttaggcg gatggccga ggaggcgggt tctctatcca 720

agtcaggagg tcgttcgga agatgagggc ctccacctg tcgagatctg aggtgcagtg 780

gggctggatg agcagcaggg tggctctctc acctaggggc acgcacgtca cggagaagtt 840

gttctgggtg tcactccagt gctggaagtt gccagtccg gagatcatgg gcacagacac 900

cgagatgctg ttgtccacc agaattcatg gactccaggc agctgagaga aacctctcat 960

cgttccttgg aagtgaacgt aggtgttgaa aagtagggtg ctgtctgtac tgacccctc 1020

cagtggcaag ttcatcttc acctgtcac agcctttatg aacctgttga tttctcagt 1080

ggcaagaact gggtcagtgg ataaatccag agagcgtggg aagagggcag gggtaaagag 1140

agccaggctc tgaacaaatg agtgctttag acgaaagcct ggagcagtga agagccccac 1200

cacaatggac ttagcaggg gtgtctggct gctgtccca cctgggtga ccagcaagcc 1260

ctgaatggc cgcagggcag cgaggacctt gtgtccatct agtcgggagg tgcagtctcc 1320

ctcttcaca gggacatcca gcagcgtctg cagctggctg gccgtgggat ctaaggatcc 1380

aaggtagaaa gagaccagg tgccaaagag agctggtggt gagaggatgg cccactggc 1440

cccacttct gcctcattca gcatcttgta catgcggaag cccacgaagt tggcgatcat 1500

tgcgacctgg gcagcccgt tccgtcttc atctctagc ttctcgccgg ccagcacgag 1560

ctgatcatgc aggtcttct cattcacagg ggaggtcttg gcctgaatgg gcacaggctc 1620

gaacgttgac tctgggagtg tctccacact ggggttctcc agctgggcgc aggtgctctt 1680

gttgtggtaa aggagatga aggggtggat gtatacgcg tccccagccg tcaggctgac 1740

ccaggtcaag atgcagaaga tgggtggcctt caggcctgcc cccgtgggag tcattctcga 1800

tctgtgcatt tgcttctgtg tctcttcag cgccaacctg gacaagcaca gctatc 1856

<210> 7

<211> 1958

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 7

ccttgcctca tcttggctaa gcctggattc ccatggctcc ccgacctggg tcttcccca 60

gcctctgtac agagtagcct gggaatagat ccatcttcac cccctcgagt ataaataagg 120

ctgcttgggt caccagggga tagctgtgct tgtctgggct ggagctaaag gacacacaga 180

agcaagtcca cagatccgtg atgactccca cgggggcagg cctgaaggcc accatcttct 240

gcatcctgac ctgggtcagc ctgacagctg gggaccgcgt atacatccac ccctttcatc 300

tccttacta cagcaagagc acctgcgcc agctggagaa cccagtggtg gagacgtcc 360

cagagccaac ctttgagcct gtgccattc aggccaagac ctccccgtg gatgagaaga 420

ccctgcgaga taagctcgtg ctggccactg agaagctaga ggctgaggat cggcagcgag 480

ctgccaggt cgcatgatt gccaacttca tgggtttccg catgtacaag atgctgagtg 540

aggcaagagg tgiagccagt ggggccgtcc tctctccacc ggccctcttt ggcaccctgg 600

tctctttcta ccttggatcg ttggatccca cgccagcca gttgcagggt ctgctgggcg 660

tcctgtgaa ggaggagac tgcacctccc ggctggacgg acataaggtc ctactgccc 720

tgcaggctgt tcagggttg ctggcaccc aggggtggaag cagcagccag acaccctgc 780

tacagtccac cgtggtgggc ctcttactg cccaggtt gcgcctaaaa cagccatttg 840

ttgagagctt gggtccctc accccgcca tctccctcg ctctctggac ttatccactg 900

accagttct tgctgcccag aaaatcaaca ggtttgtgca ggctgtgaca ggttgaaga 960

tgaactigcc actagagggg gtcagcacgg acagcacct attttcaac acctacgttc 1020

acttccaagg gaagatgaga ggcttctccc agctgactgg gctccatgag ttctgggtgg 1080

acaacagcac ctcatgtct gtgcccagtc tctcgggcac tggcaacttc cagcactgga 1140

gtgacccca gaacaacttc tccgtgacac gcgtgccct gggtagagat gtcaccctgc 1200

tgctgatcca gcccagtg gcctcagatc tcgacagggt ggaggctctc gtcttcagc 1260

acgacttct gacttgata aagaaccgc ctctcgggc catcgtctg accctgccgc 1320

agctggaat tcgggatcc tacaacctgc aggacctgt ggctcaggcc aagctgtcta 1380

cccttttggg tgctgaggca aatctgggca agatgggtga caccaacccc cgagtgggag 1440

aggttctcaa cagcatctc cttgaactcc aagcaggcga ggaggagcag cccacagagt 1500

ctgccagca gcctggctca cccgagggtc tggacgtgac cctgagcagt ccgttctgt 1560

tcgcatcta cgagcgggac tcagggtgcg tgcactttct gggcagagt gataaccccc 1620

aaaatgtgt gtgatgcctc ctgtgtagcc atggagacaa ggccagctc agagagctat 1680

cctgggcaaa aatcagtgc ttacccctg gcttccgtc actccttcca gcaaggcaga 1740

ggcgtctcc ttggagatgg cgtaactga gaataaatga tgagcagcag cctcctgggg 1800

tgtgggtttg ttgggacact ggggtgagag ccaggagctg gcactctgta taggaggact	1860
gccatcctgg aaaaaaaaaa tggaccaaac aactgtttgt gaaataaaaa aaaaaaatt	1920
ccctttttat ttgaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa	1958
<210> 8	
<211> 1958	
<212> DNA	
<213> Rattus norvegicus	
<400> 8	
tttttttttt tttttttttt tttttcaaat aaaaaggga tttttttttt tttatttcac	60
aaacagtgtt ttggtccatt ttttttttcc aggatggcag tcctcctata cagagtgcc	120
gctcctggct ctaccccag tgtccaaaca aaccacacc ccaggaggct gctgctcatc	180
atttattctc agttagcgcc atctccaagg agacggcctc tgccttgctg gaaggagtga	240
cgggaagcca ggggtgaagg cactgatttt tgcccaggat agctctctga cgctggcctt	300
gtctccatgg ctacacagga ggcatcacac cacattttgg gggttatcca ctctgcccag	360
aaagtgcagc gcacctgagt cccgctcgta gatggcgaac aggaacggac tgctcagggt	420
cacgtccagc acctcgggtg agccaggctg ctgggcagac tctgtgggct gctcctctc	480
gcctgcttgg agttcaagga ggatgctgtt gagaacctct cccactcggg ggttggtgtc	540
acccatcttg cccagatttg cctcagcacc caaaagggtg gacagcttgg cctgagccag	600
caggtcctgc aggttgtagg atccccgaat ttccagctgc ggcagggtca gacggatggc	660
ccgaggaggc gggttcttta tccaagtcag gaagtcgtgc tggaagacga ggacctccac	720
cctgtcgaga tctgaggcgc actggggctg gatcagcagc agggtagacac tctacccag	780
gggcacgcgt gtcacggaga agttgttctg ggcgtcactc cagtgtgga agttgccagt	840
gcccagagac atgggcacag acactgaggt gctgttgtcc acccagaact catggagccc	900
agtcagctgg gagaagcctc tcattttccc ttggaagtga acgtaggtgt tgaaaaatag	960
ggtgctgtcc gtctgaccc cctctagtgg caagttcacc ttccaccctg tcacagcctg	1020
cacaaacctg ttgattttct gggcagcaag aactgggtca gtggataagt ccagagagcg	1080
agggaagatg gcgggggtga agggacccaa gctctcaaca aatggctgtt ttaggcgcaa	1140
gcctggggca gtgaagagcg ccaccacggt ggactgtagc aggggtgtct ggctgctgct	1200
tccaccttgg gtgaccagca agccctgaac agcctgcagg gcagttagga ccttatgtcc	1260
gtccagccgg gaggtgcagt ctccctctct cacagggacg cccagcagca cctgcaactg	1320
gctggccgtg ggatccaacg atccaaggta gaaagagacc agggtgccaa agagggccgg	1380

tggagagagg acggcccccac tggctacacc tcttgctca ctcagcatct tgtacatgcg 1440

gaaacccatg aagttggcaa tcatcgcgac ctgggcagct cgctgccgat cctcagcctc 1500

tagctttctca gtggccagca cgagcttata tcgcagggtc ttctcatcca cgggggaggt 1560

cttggcctga atgggcacag gctcaaaggt tggctctggg agcgtctcca cactgggggtt 1620

ctccagctgg gcgcagggtc tcttgctgta gtagaggaga tgaaaggggt ggatgtatac 1680

gcggtcccca gctgtcaggc tgaccaggt caggatgcag aagatggtgg ccttcaggcc 1740

tgccccctg ggagtcata cggatctgtg gacttgcttc tgtgtgtcct ttagctccag 1800

cccagacaag cacagctata ccctggtgaa ccaagcagcc ttatttatac tcgagggggt 1860

gaagatggat ctattcccag gctactctgt acagaggctg ggggaggacc caggtcgggg 1920

gaccatggga atccaggctt agccaagatg gagcaagg 1958

<210> 9

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 9

uguacucuca uuguggauga cga 23

<210> 10

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 10

gucauccaca augagaguac a 21

<210> 11

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 11

uguactcuca uuguggauga cga 23

<210> 12

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 12

gucauccaca augagaguac a 21

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:
RFGF peptide"

<400> 13

Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala Pro

1 5 10 15

<210> 14

<211>

11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

RFGF analogue peptide"

<400> 14

Ala Ala Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 15

<211> 13

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus

<400> 15

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln

1 5 10

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Drosophila sp.

<400> 16

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys

1 5 10 15