



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 118922540 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 08

(21) 申请号 202280073696.3

(22) 申请日 2022.09.30

(30) 优先权数据

63/251,571 2021.10.01 US

63/252,554 2021.10.05 US

63/270,504 2021.10.21 US

63/283,175 2021.11.24 US

63/287,969 2021.12.09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.04.30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/077381 2022.09.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/056440 EN 2023.04.06

(71) 申请人 阿达尔克斯制药有限公司

地址 美国

(72) 发明人 李砦 朱瑞 周智清

金伯利·富尔茨 肖恩·斯蒂德

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

11227

专利代理师 张福誉 陈九洲

(51) Int. Cl.

C12N 15/113 (2006.01)

C07H 21/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

A61K 31/7115 (2006.01)

A61K 31/7125 (2006.01)

权利要求书15页 说明书81页

(54) 发明名称

前激肽释放酶调节组合物及其使用方法

(57) 摘要

本公开内容的一些方面提供了用于调节血浆前激肽释放酶 (PKK) 的表达或活性的化合物、组合物和方法。在一些方面中,本公开内容的化合物、组合物和方法可用于降低细胞或动物中 PKK mRNA 的表达。在一些方面中,本公开内容的化合物、组合物和方法可用于降低细胞或动物中 PKK 蛋白的表达。

1. 化合物,其包含长度为14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸,其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。

2. 化合物,其包含长度为14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸,其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。

3. 化合物,其包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列。

4. 权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中所述经修饰寡核苷酸的核碱基序列与SEQ ID NO:1、3、5或6至少80%、至少85%、至少90%或至少95%互补。

5. 权利要求1至4中任一项所述的化合物,其中所述经修饰寡核苷酸包含至少一个选自经修饰核苷间键联、经修饰糖和经修饰核碱基的修饰。

6. 权利要求1至5中任一项所述的化合物,其中所述化合物是双链的。

7. 化合物,其包含:长度为14至23个连接的核苷的第一经修饰寡核苷酸,其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和长度为14至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与所述第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

8. 化合物,其包含:长度为14至23个连接的核苷的第一经修饰寡核苷酸,其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和长度为14至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与所述第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

9. 化合物,其包含:第一经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列;和长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与所述第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

10. 权利要求7至9中任一项所述的化合物,其中所述第一经修饰寡核苷酸的核碱基序列在其长度上与SEQ ID NO:1、3、5或6具有至少80%、至少85%、至少90%或至少95%互补性或同一性。

11. 权利要求7至10中任一项所述的化合物,其中所述第一经修饰寡核苷酸的核碱基序列与SEQ ID NO:1、3、5或6的区域具有至少1个、至少2个、至少3个错配,所述区域与所述第一经修饰寡核苷酸的长度相同。

12. 权利要求7至11中任一项所述的化合物,其中所述第一经修饰寡核苷酸与所述第二经修饰寡核苷酸之间的互补区的长度为14至23个连接的核苷。

13. 权利要求7至11中任一项所述的化合物,其中所述第一经修饰寡核苷酸与所述第二经修饰寡核苷酸之间的互补区的长度为19至23个连接的核苷。

14. 权利要求7至11中任一项所述的化合物,其中所述第一经修饰寡核苷酸与所述第二经修饰寡核苷酸之间的互补区的长度为21至23个连接的核苷。

15. 权利要求7至11中任一项所述的化合物,其中所述第一经修饰寡核苷酸与所述第二经修饰寡核苷酸完全互补。

16. 权利要求7至15中任一项所述的化合物,其中所述第一经修饰寡核苷酸包含至少一个选自经修饰核苷间键联、经修饰糖和经修饰核碱基的修饰。

17. 权利要求7至16中任一项所述的化合物, 其中所述第二经修饰寡核苷酸包含至少一个选自经修饰核苷间键联、经修饰糖和经修饰核碱基的修饰。

18. 权利要求5、16和17中任一项所述的化合物, 其中所述经修饰核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联或甲基磷酸酯核苷间键联。

19. 权利要求18所述的化合物, 其中所述硫代磷酸酯核苷间键联或甲基磷酸酯核苷间键联在所述第一经修饰寡核苷酸或第二经修饰寡核苷酸的3' 端或者在所述第一经修饰寡核苷酸的5' 端。

20. 权利要求5、16和17中任一项所述的化合物, 其中所述经修饰糖包含选自卤素、烷氧基和双环糖的修饰。

21. 权利要求20所述的化合物, 其中所述经修饰糖包含2' -F修饰。

22. 权利要求20所述的化合物, 其中所述经修饰糖包含2' -OMe修饰。

23. 权利要求7至15中任一项所述的化合物, 其中所述第一经修饰寡核苷酸的每个核苷包含经修饰糖。

24. 权利要求7至15中任一项所述的化合物, 其中所述第二经修饰寡核苷酸的每个核苷包含经修饰糖。

25. 权利要求23或24所述的化合物, 其中所述经修饰糖包含选自以下的修饰: 卤素、烷氧基和双环糖、或者其组合。

26. 权利要求25所述的化合物, 其中所述经修饰糖包含选自以下的修饰: LNA、cEt、2' -MOE、2' -F、2' -OMe和2' -脱氧、或者其组合。

27. 权利要求23所述的化合物, 其中所述第一经修饰寡核苷酸包含不多于十个2' -F糖修饰。

28. 权利要求24所述的化合物, 其中所述第二经修饰寡核苷酸包含不多于五个2' -F糖修饰。

29. 前述权利要求中任一项所述的化合物, 其包含缀合基团。

30. 权利要求29所述的化合物, 其中所述缀合基团与所述经修饰寡核苷酸的5' 末端连接。

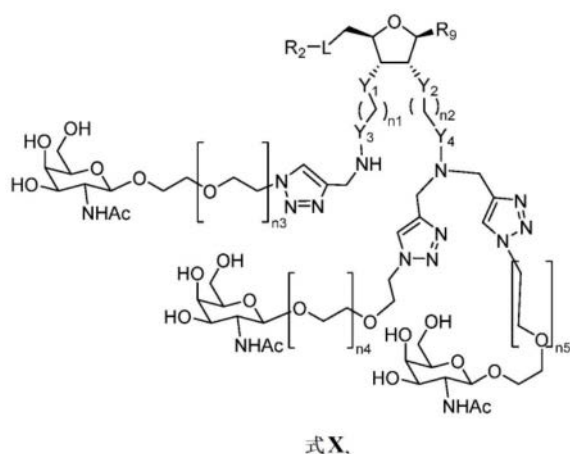
31. 权利要求29或30所述的化合物, 其中所述缀合基团包含靶向部分。

32. 权利要求31所述的化合物, 其中所述靶向部分包含一个或更多个GalNAc。

33. 权利要求32所述的化合物, 其中所述经修饰寡核苷酸是所述第二经修饰寡核苷酸。

34. 权利要求32或33所述的化合物, 其中所述一个或更多个GalNAc与所述经修饰寡核苷酸的5' 核苷的核糖基环的2' 或3' 位连接。

35. 权利要求34所述的化合物, 其中所述5' 核苷具有下式:



其中：

R^9 是H、腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶或尿嘧啶，或者是各自包含保护基(PG)的腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶或尿嘧啶、经修饰核碱基、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的碳环基、任选经取代的杂环基或核碱基电子等排体；

L是键、磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、三唑、四唑、酰胺、反酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、脲、烷基或杂烷基；

R^2 是该寡核苷酸序列；

Y_1 是O、 CH_2 、 CH_2O 或任选经取代的NH；

Y_2 是O、 CH_2 、 CH_2O 或任选经取代的NH；

Y_3 是CO、 SO_2 、 $P(O)O$ 、 $CH_2-O-C(O)$ 、 $CH_2-NH-C(O)$ 、 $CH_2-NH-SO_2$ 或 CH_2 ；

Y_4 是CO、 SO_2 、 $P(O)O$ 、 $CH_2-O-C(O)$ 、 $CH_2-NH-C(O)$ 、 $CH_2-NH-SO_2$ 或 CH_2 ；

n_2 是0、1、2、3、4、5或6；并且

n_1 、 n_3 、 n_4 和 n_5 各自独立地是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

36. 权利要求34所述的化合物，其中所述5'核苷选自式I至VIII中的任一者，并且其中 R' 是S且R是所述经修饰寡核苷酸中除所述5'核苷之外的部分。

37. 权利要求34所述的化合物，其中所述5'核苷选自式I至VIII中的任一者，并且其中 R' 是O且R是所述经修饰寡核苷酸中除所述5'核苷之外的部分。

38. 化合物，其包含：选自Ref ID NO: IA0812至821中任一者的第一经修饰寡核苷酸；以及长度为14至21个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸，其与所述第一经修饰寡核苷酸完全互补。

39. 化合物，其包含选自Ref ID NO: IA0813和IA0818的第一经修饰寡核苷酸，以及选自Ref ID NO: IS1002、IS1007和IS1068的第二经修饰寡核苷酸。

40. 化合物，其包含：选自Ref ID NO: IA0864至866中任一者的第一经修饰寡核苷酸；以及长度为14至21个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸，其与所述第一经修饰寡核苷酸完全互补。

41. 化合物，其包含选自Ref ID NO: IA0818和IA0864的第一经修饰寡核苷酸，以及选自Ref ID NO: IS1058和IS1059的第二经修饰寡核苷酸。

42. 化合物，其包含由Ref ID NO: IA0864组成的第一经修饰寡核苷酸，以及由Ref ID

N0:IS1059组成的第二经修饰寡核苷酸。

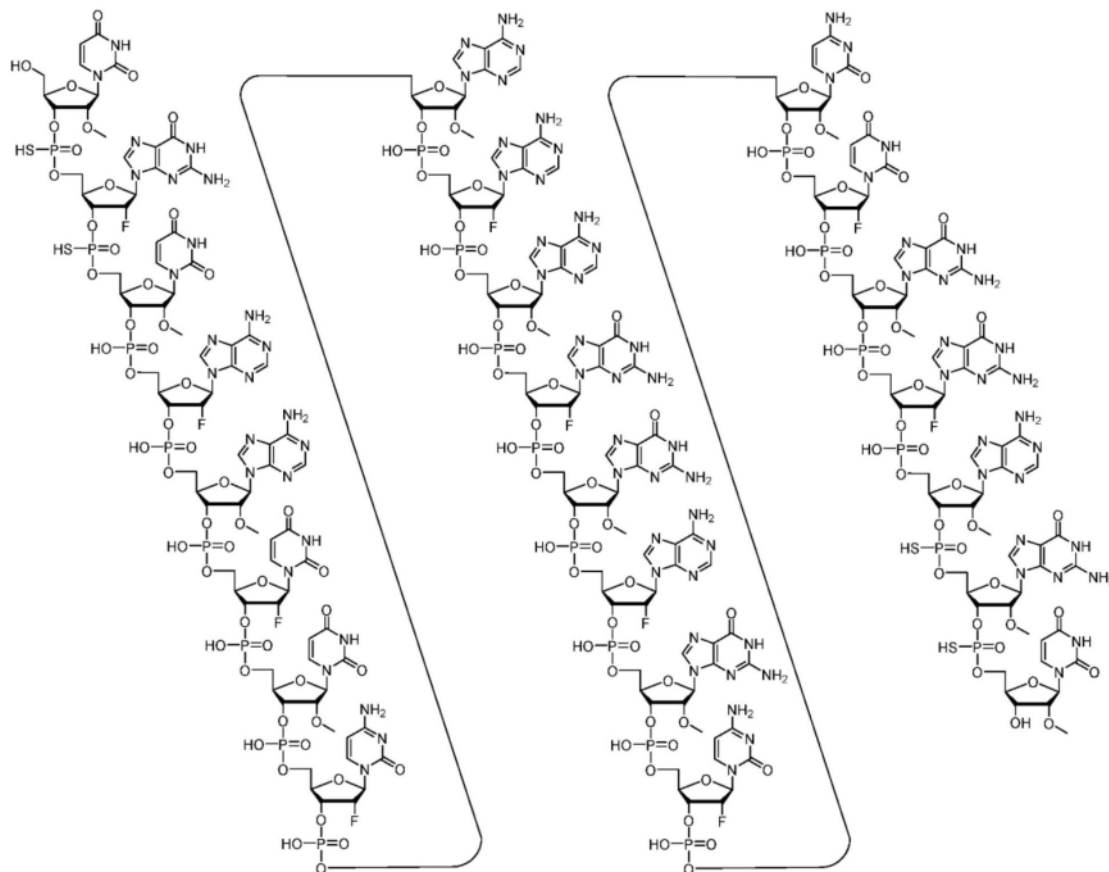
43. 化合物, 其包含由RefID N0:IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸, 以及由Ref ID N0:IS1058组成的第二经修饰寡核苷酸。

44. 权利要求1至41中任一项所述的化合物, 其中所述化合物为可药用盐形式。

45. 权利要求42所述的化合物, 其中所述可药用盐是钠盐。

46. 权利要求42所述的化合物, 其中所述可药用盐是钾盐。

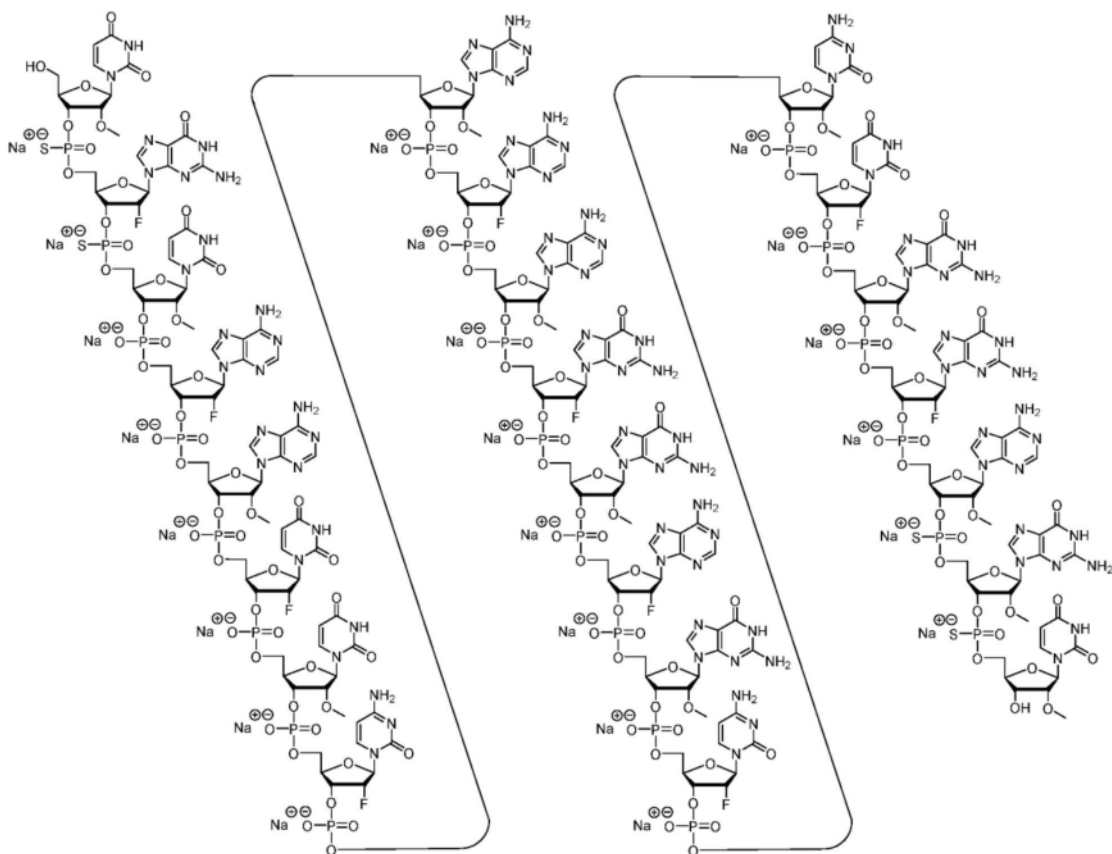
47. 根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸:



或者其可药用盐或立体异构体。

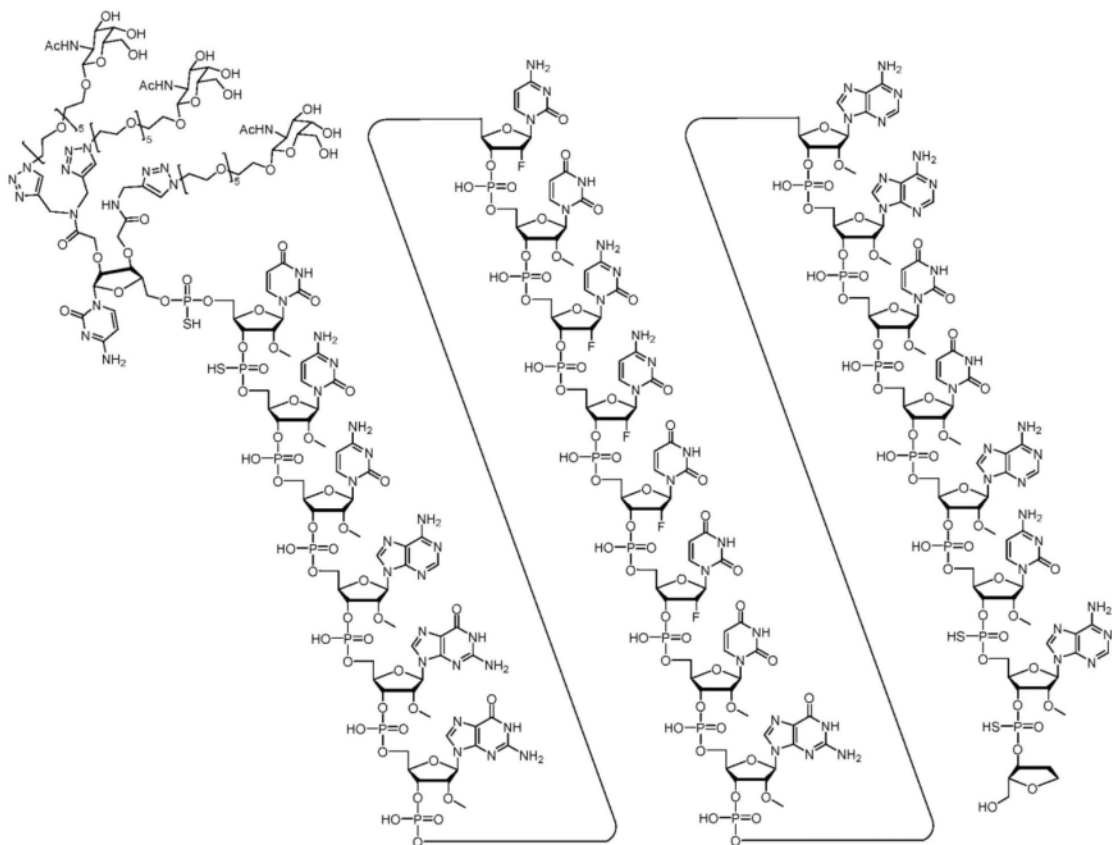
48. 权利要求47所述的经修饰寡核苷酸, 其中所述可药用盐是钠盐或钾盐。

49. 权利要求48所述的经修饰寡核苷酸, 其是根据以下化学结构的钠盐:



或其立体异构体。

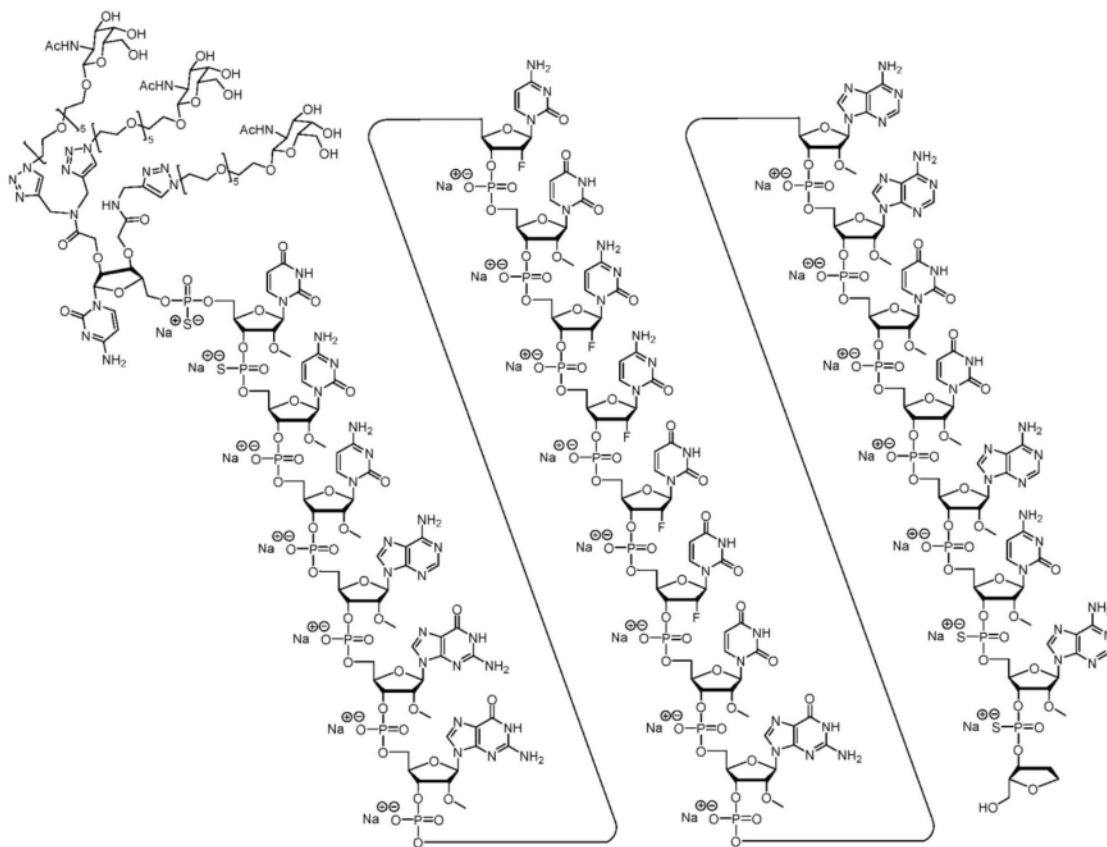
50. 根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸：



或者其可药用盐或立体异构体。

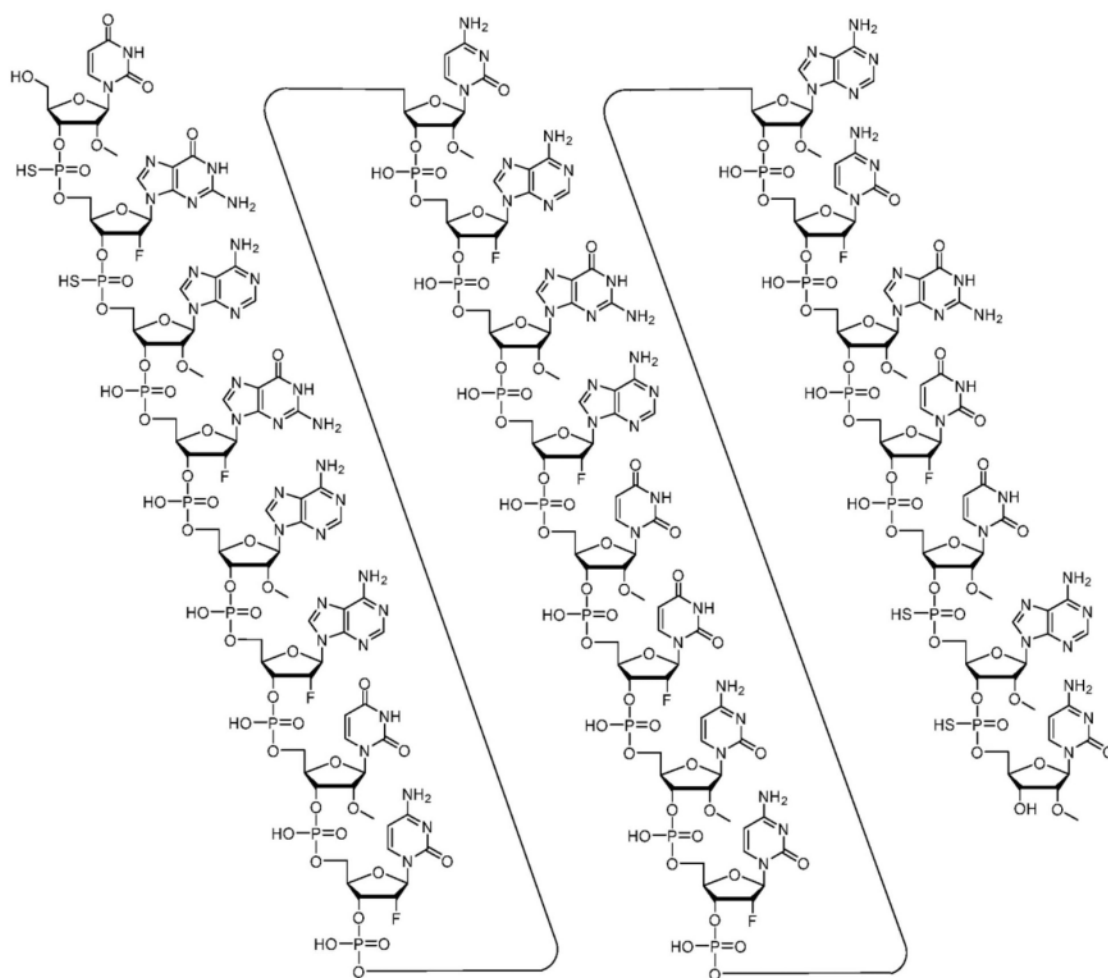
51. 权利要求50所述的经修饰寡核苷酸, 其中所述可药用盐是钠盐或钾盐。

52. 权利要求51所述的经修饰寡核苷酸, 其是根据以下化学结构的钠盐:



或其立体异构体。

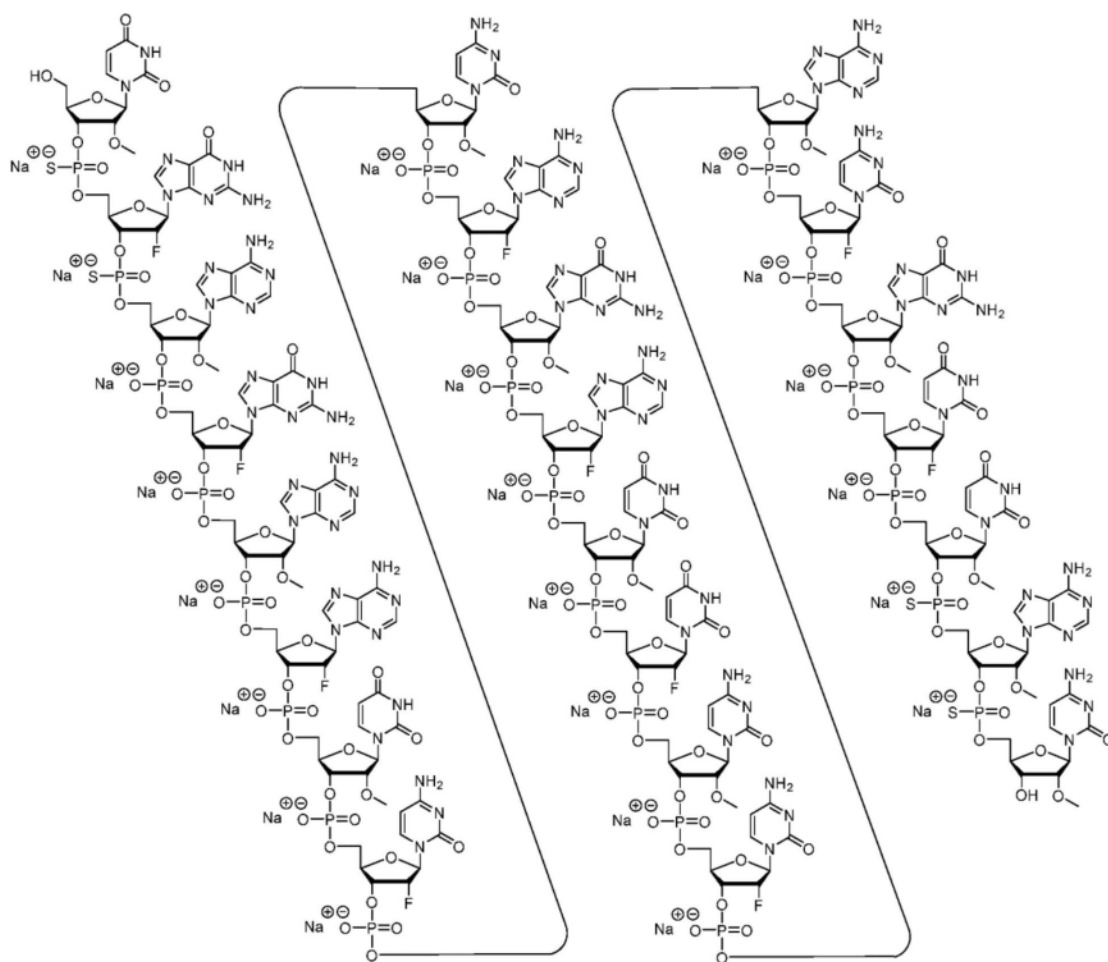
53. 根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸:



或者其可药用盐或立体异构体。

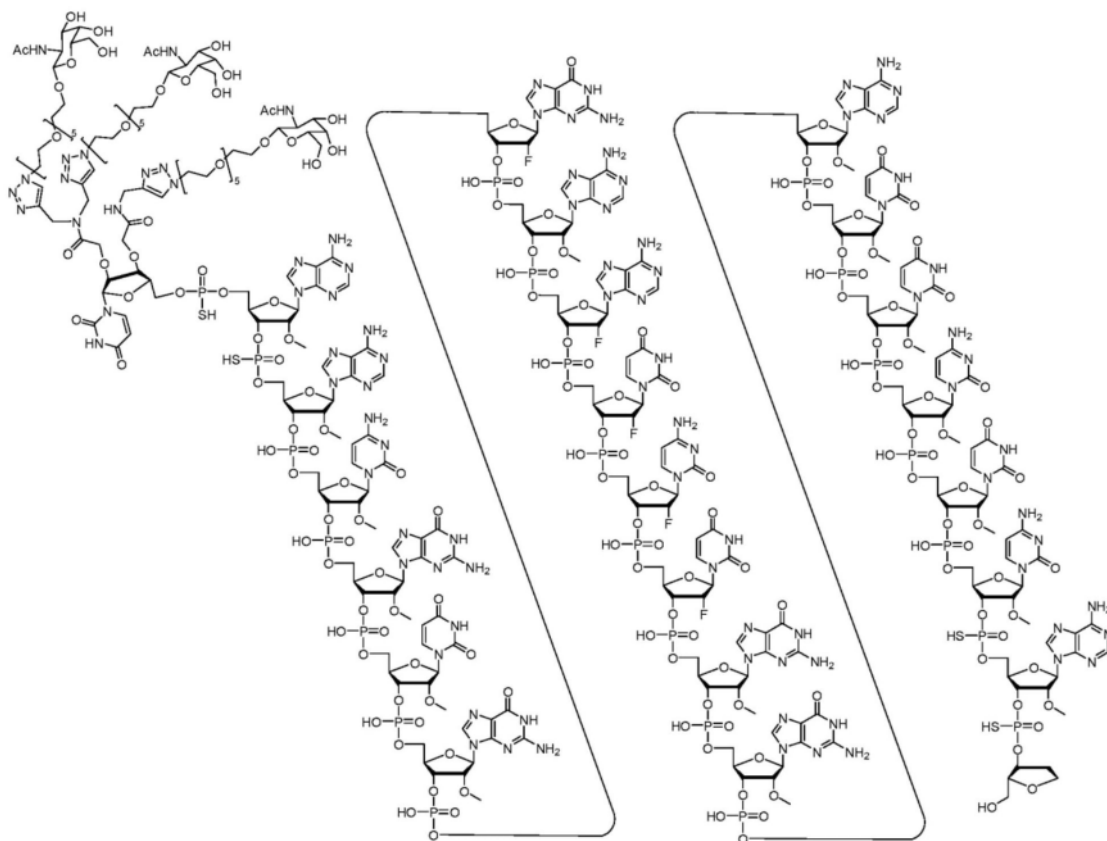
54. 权利要求53所述的经修饰寡核苷酸, 其中所述可药用盐是钠盐或钾盐。

55. 权利要求54所述的经修饰寡核苷酸, 其是根据以下化学结构的钠盐:



或其立体异构体。

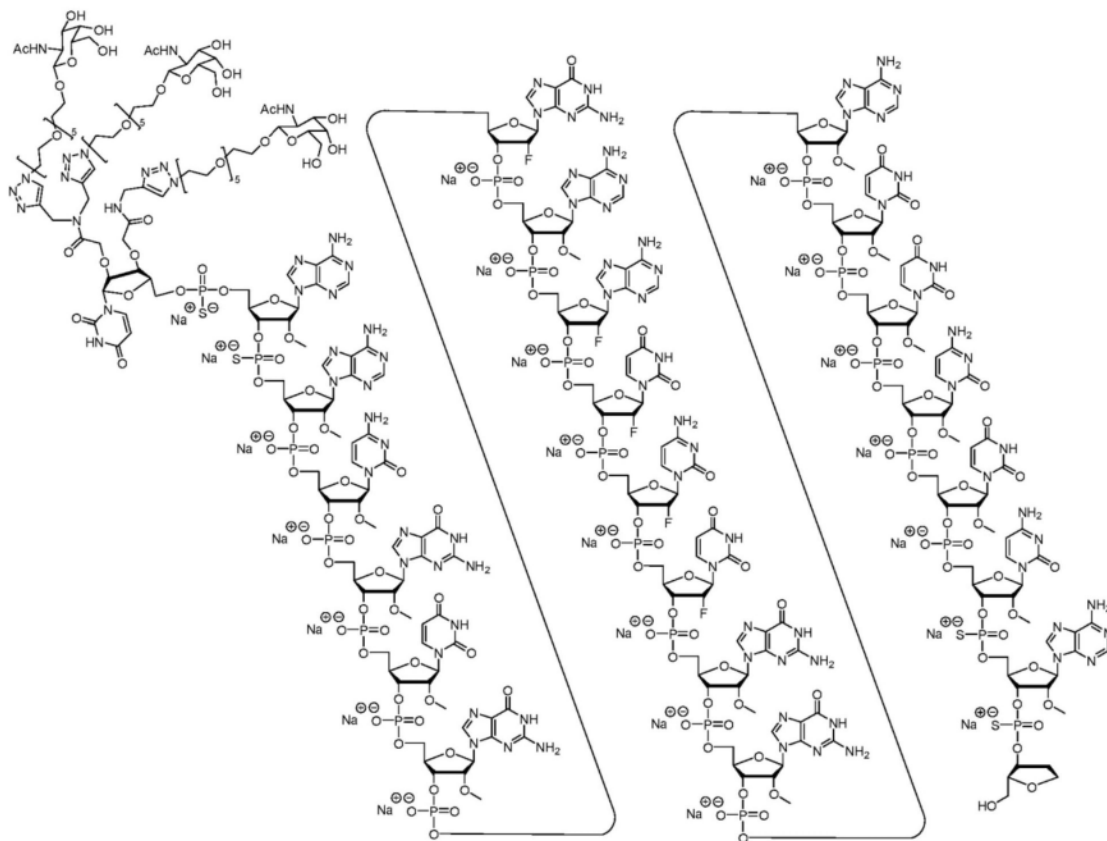
56. 根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸：



或者其可药用盐或立体异构体。

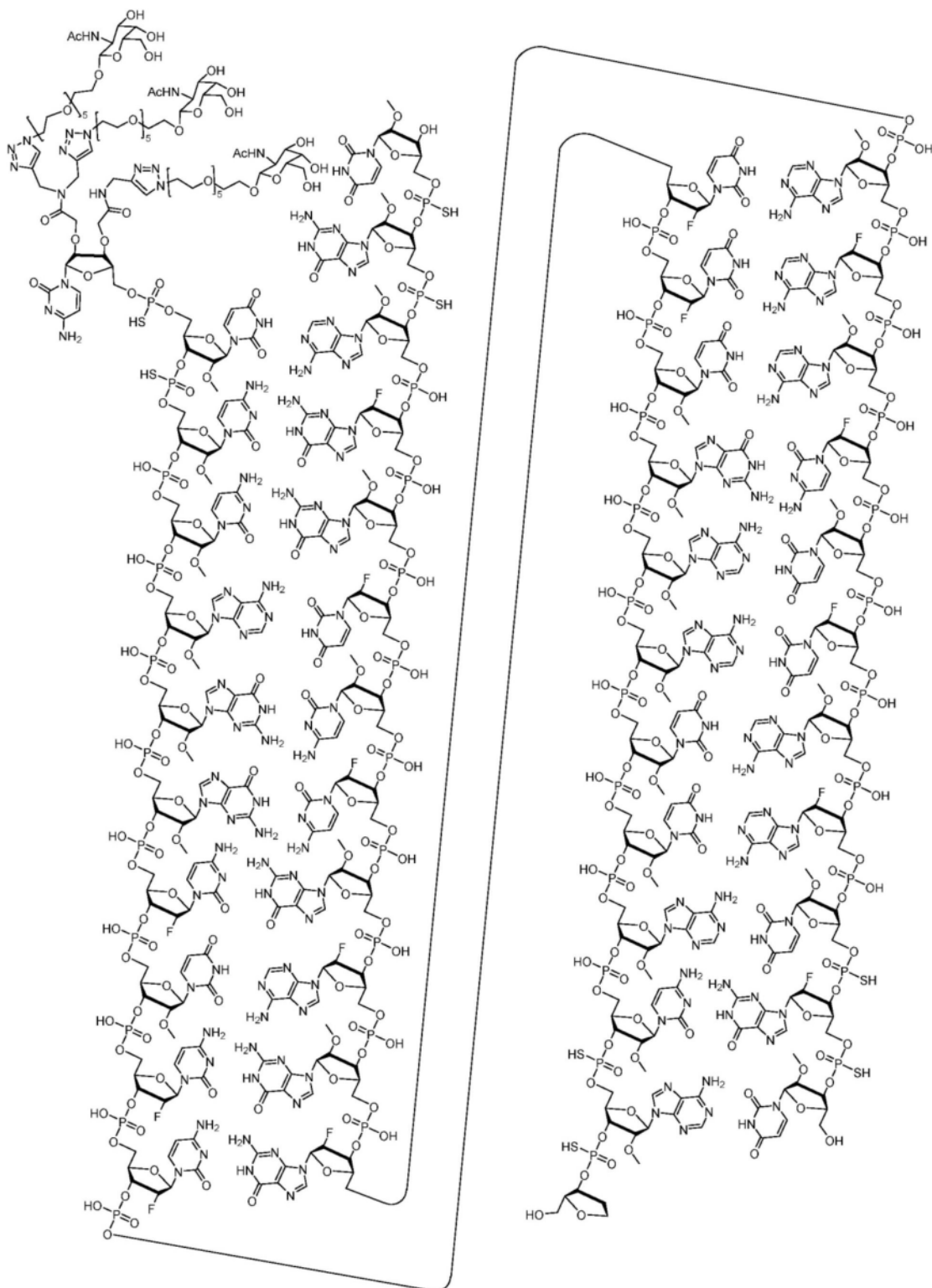
57. 权利要求56所述的经修饰寡核苷酸, 其中所述可药用盐是钠盐或钾盐。

58. 权利要求57所述的经修饰寡核苷酸, 其是根据以下化学结构的钠盐:



或其立体异构体。

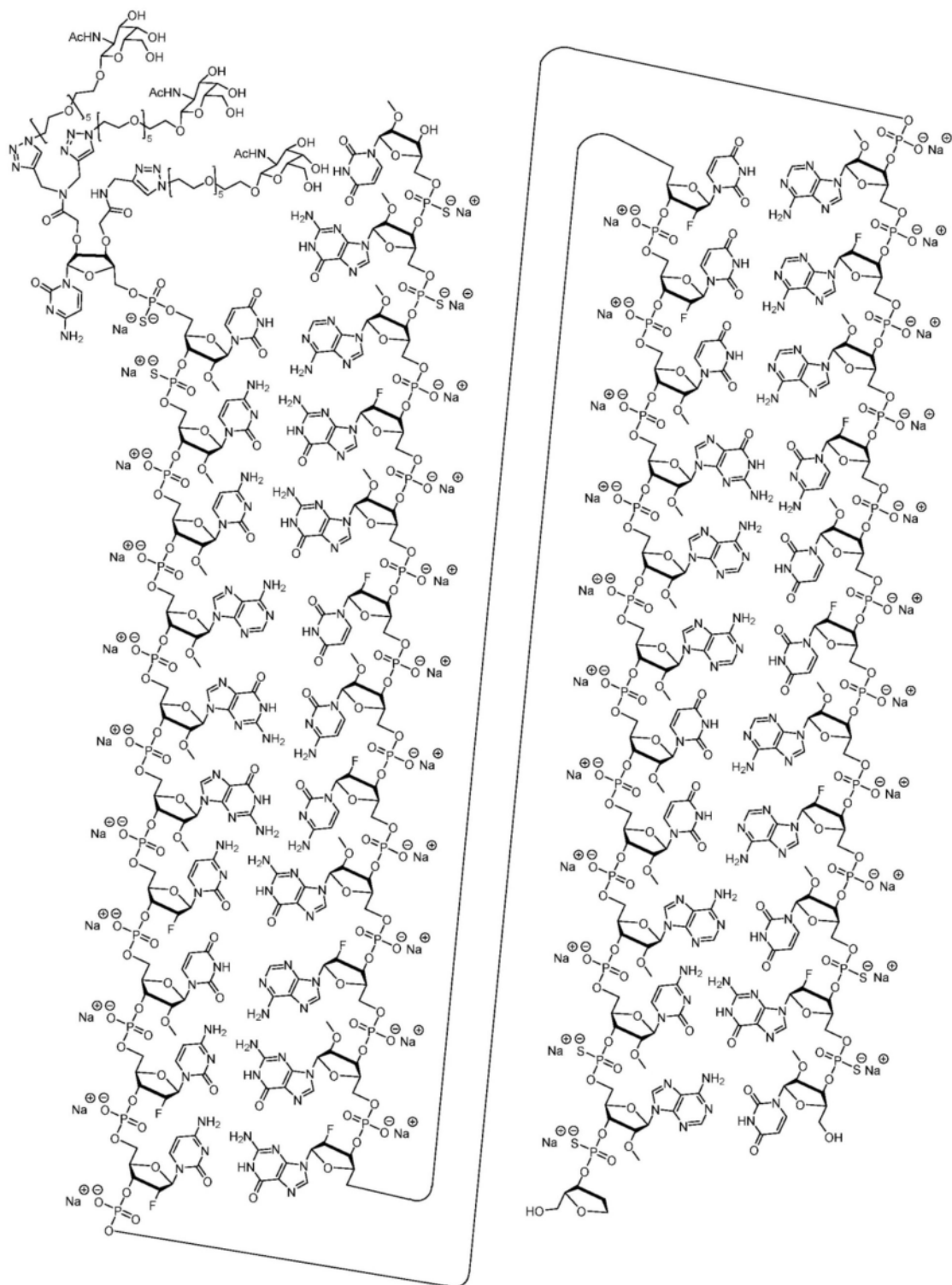
59. 根据以下化学结构的化合物：



或者其可药用盐或立体异构体。

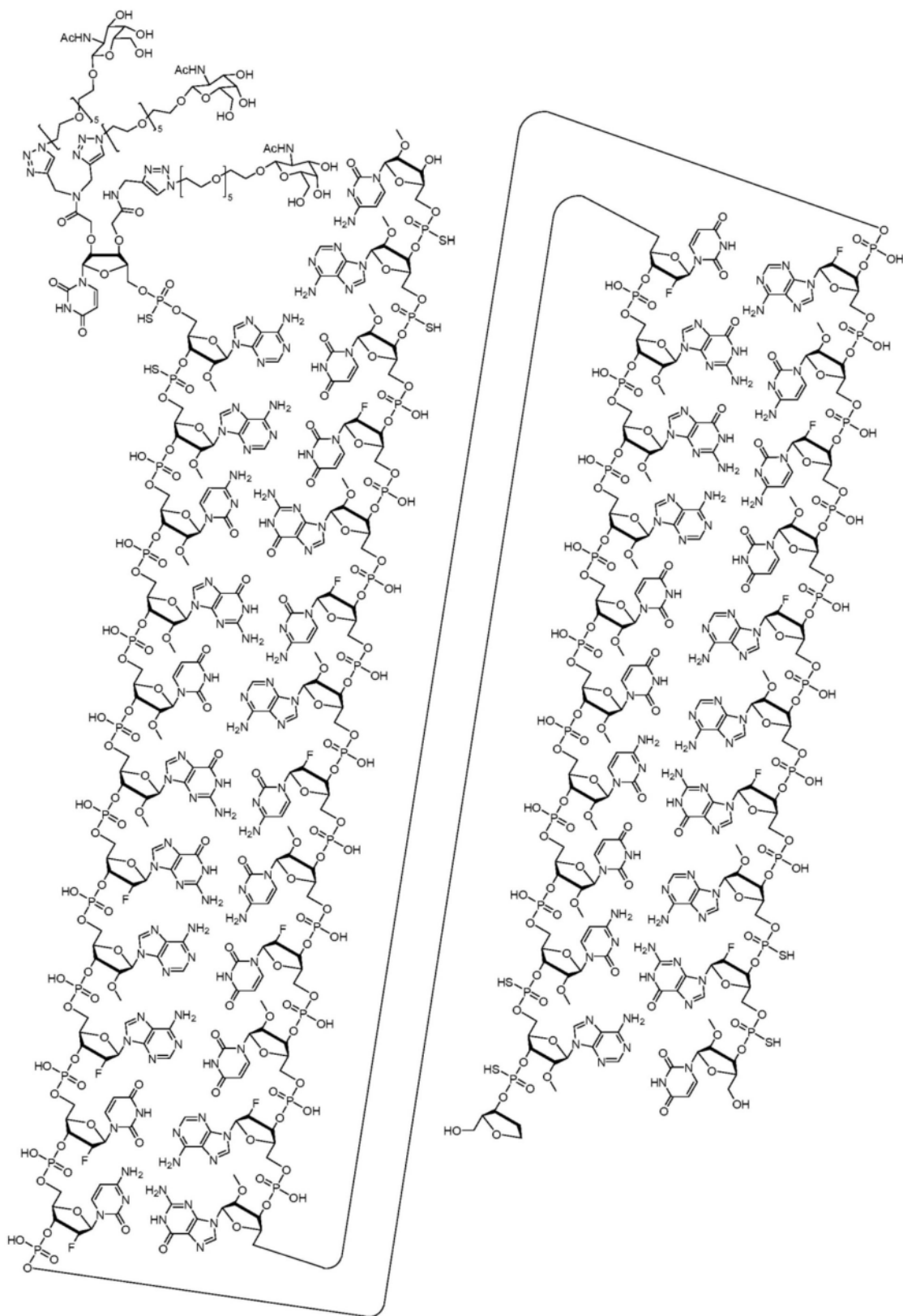
60. 权利要求59所述的化合物,其中所述可药用盐是钠盐或钾盐。

61. 权利要求60所述的化合物,其是根据以下化学结构的钠盐：



或其立体异构体。

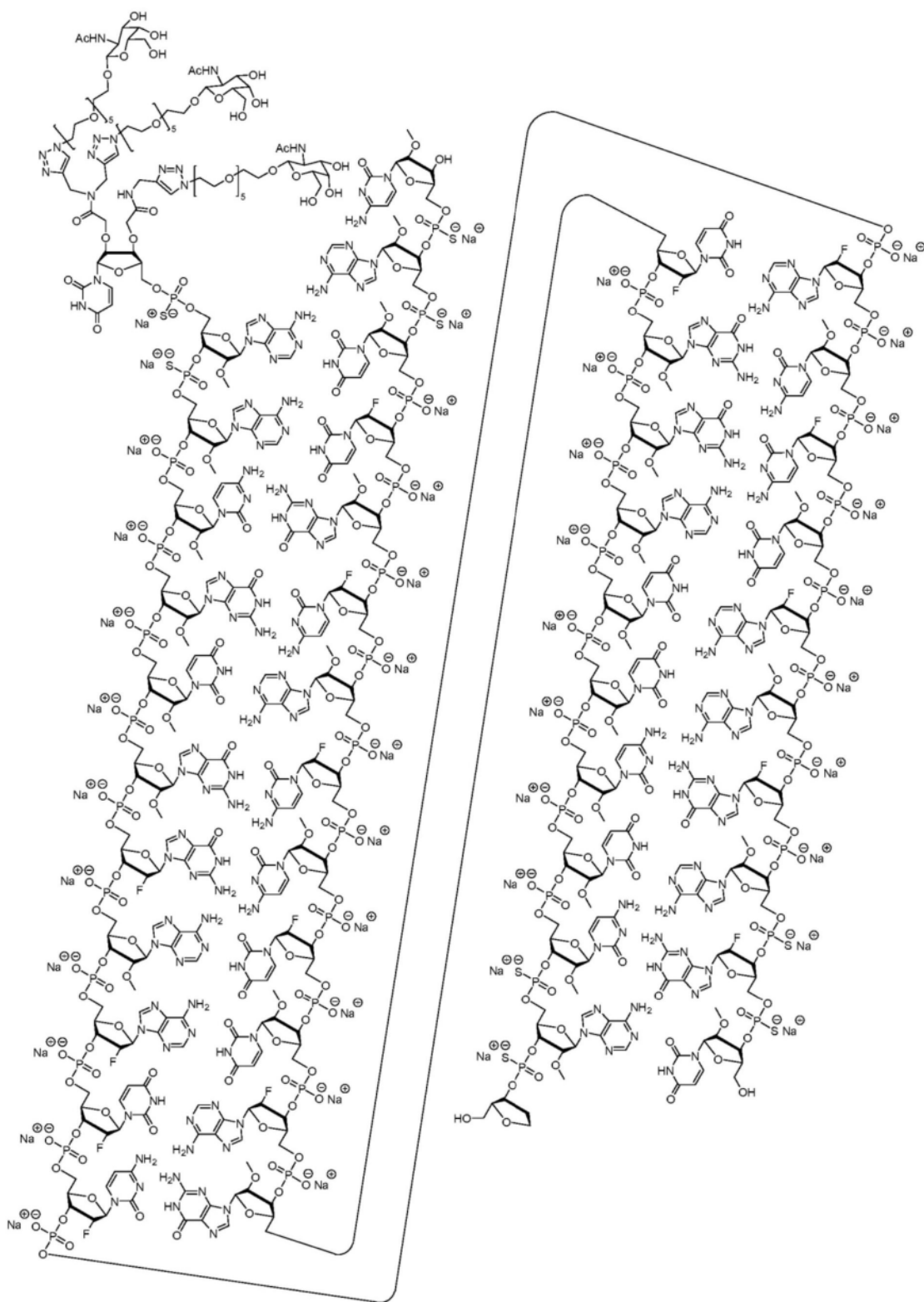
62. 根据以下化学结构的化合物：



或者其可药用盐或立体异构体。

63. 权利要求62所述的化合物, 其中所述可药用盐是钠盐或钾盐。

64. 权利要求63所述的化合物, 其是根据以下化学结构的钠盐:



或其立体异构体。

65. 组合物, 其包含权利要求1至64中任一项所述的化合物或经修饰寡核苷酸以及可药用载体。

66. 包含前述权利要求中任一项所述化合物的组合物, 其用于治疗。

67. 在个体中治疗、预防或改善与PKK相关的疾病、障碍或病症的方法, 其包括向所述个体施用靶向PKK的化合物, 从而治疗、预防或改善所述疾病、障碍或病症。

68. 向个体施用权利要求1至64中任一项所述化合物或经修饰寡核苷酸或者权利要求65或66所述组合物的方法。

69. 权利要求67或68所述的方法, 其中所述疾病、障碍或病症是炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

70. 权利要求67至69中任一项所述的方法, 其中所述化合物的施用抑制或减轻或改善炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

71. 抑制细胞中PKK表达的方法, 其包括使所述细胞与靶向PKK的化合物接触, 从而抑制所述细胞中PKK的表达。

72. 权利要求71所述的方法, 其中所述细胞在个体的肝中。

73. 权利要求72所述的方法, 其中所述个体患有以下或者处于患有以下的风险之中: 炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

74. 在个体中减轻或抑制炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死的方法, 其包括向所述个体施用靶向PKK的化合物, 从而在所述个体中减轻或抑制炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

75. 权利要求74所述的方法, 其中所述个体患有以下或者处于患有以下的风险之中: 炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

76. 权利要求67至75中任一项所述的方法, 其中所述化合物是靶向PKK的化合物。

77. 权利要求67至76中任一项所述的方法, 其中所述化合物是权利要求1至64中任一项所述化合物或者权利要求65或66所述组合物。

78. 权利要求77所述的方法, 其中所述化合物或组合物肠胃外施用。

79. 靶向PKK的化合物用于治疗、预防或改善与PKK相关的疾病、障碍或病症的用途。

80. 权利要求79所述的用途, 其中所述疾病、障碍或病症是炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

81. 权利要求79或80所述的用途, 其中所述化合物是靶向PKK的化合物。

82. 权利要求79至81中任一项所述的用途, 其中所述化合物是权利要求1至64中任一项

所述化合物或者权利要求65或66所述组合物。

83. 靶向PKK的化合物在制备用于治疗、预防或改善与PKK相关的疾病、障碍或病症的药物中的用途。

84. 权利要求83所述的用途,其中所述疾病是炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

85. 权利要求83或84所述的用途,其中所述化合物是靶向PKK的化合物。

86. 权利要求83至85中任一项所述的用途,其中所述化合物是权利要求1至64中任一项所述化合物或者权利要求65或66所述组合物。

87. 前述权利要求中任一项所述的方法或用途,其中所述化合物或组合物约每三个月一次至约每年一次施用于个体。

88. 前述权利要求中任一项所述的方法或用途,其中所述化合物或组合物约每三个月一次、约每六个月一次或约每年一次施用于个体。

前激肽释放酶调节组合物及其使用方法

相关申请的交叉引用

本申请要求于2021年10月1日提交的美国临时申请No.63/251,571;于2021年10月5日提交的美国临时申请No.63/252,554;于2021年10月21日提交的美国临时申请No.63/270,504;于2021年11月24日提交的美国临时申请No.63/283,175;和于2021年12月9日提交的美国临时申请No.63/287,969的权益。在先申请各自的公开内容均被认为是本申请的公开内容的一部分,并通过引用整体并入本申请的公开内容中。

背景技术

血浆前激肽释放酶(prekallikrein,PKK)是参与血液凝固、纤维蛋白溶解、激肽产生和炎症的表面依赖性激活的糖蛋白。PKK,由KLKB1基因编码,是血浆激肽释放酶(kallikrein,PK)的前体。PKK存在于血浆中作为接触因子(contact factor),其与高分子量激肽原形成非共价复合物。PKK由因子XIIa (Factor XIIa)通过切割内部Arg-Ile肽键转化为PK。PK是激肽-激肽释放酶途径的成员,该激肽-激肽释放酶途径由在炎症、血压控制、凝血和疼痛中发挥作用的数种蛋白质组成。PK从激肽原中释放激肽,并且还从纤溶酶原中产生纤溶酶。例如,血浆激肽释放酶切割高分子量激肽原(high molecular weight kininogen,HMWK)以产生缓激肽。激肽,尤其是缓激肽,继续诱导下游效应,包括血管舒张和水肿(参见例如,Schmaier.J.Thromb.Haemost 14:28-39,2016)。

PKK中的某些突变引起PKK缺乏症,也称为Fletcher因子缺乏症,其是罕见的凝血缺乏症,特征在于延长的活化部分凝血活酶时间(partial thromboplastin time,PTT)。PKK缺乏症与炎性和血栓性疾病相关。

PKK中的突变阻止纤溶酶和激肽(例如,缓激肽)的释放,和/或降低纤维蛋白溶解。这导致了血管舒张降低和血凝块形成提高,其继而提高感染炎性或血栓性疾病的可能性。患有PKK缺乏症的患者通常是无症状的,但仍表现出延长的活化PTT,并处于发生这样的疾病的风险之中。

当免疫系统错误地攻击身体自身的细胞或组织时,炎性疾病发生。这引起异常炎症,其可导致慢性疼痛、发红、肿胀、僵硬,以及对其他健康的身体组织的损害。炎性疾病包含大量以炎症为特征的障碍和病症。一些实例包括类风湿性关节炎、变态反应、哮喘、自身免疫病、乳糜泻、肾小球肾炎、肝炎、炎性肠病、灌注前损伤(pre-perfusion injury)和移植排斥。据估计,在美国,超过136万成年人患有类风湿性关节炎以及300万患有炎性肠病。

血栓形成是血管内血凝块的形成,阻塞了血液流动通过循环系统。当血管受到损伤时,身体使用血小板和纤维蛋白来形成血凝块以阻止失血。即使当血管未受到损伤时,在某些情况下,血凝块也可在体内形成。在健康人中,在促凝血(凝血)力与抗凝血和纤维蛋白水解力之间存在稳态平衡。许多遗传、获得性和环境因素可使平衡倾向于凝血,导致静脉中血栓的病理形成(例如,深静脉血栓形成)、动脉中血栓的病理形成(例如,心肌梗死、缺血性卒中)或心腔中血栓的病理形成。血栓可阻塞形成部位处的血流,或者脱离并引起栓塞以堵塞远处的血管(例如,肺栓塞、栓塞性卒中)。仅在美国,每年就有约900,000人受到血凝块的

影响,并且这些人中约100,000将死于血凝块相关的并发症。

遗传性血管性水肿 (hereditary angioedema, HAE) 是罕见的炎性疾病,其特征在于头和四肢周围肿胀的反复发作 (Zuraw, B.L.N. Engl. J. Med. 359:1027-36, 2008)。血管性水肿发作以不可预测的频率发生,并且通常集中在皮肤、以及胃黏膜、口咽黏膜和喉部黏膜。由于喉部肿胀引起的窒息可导致死亡。HAE由丝氨酸蛋白酶抑制剂C1-INH的缺乏或功能异常引起 (Kaplan, A.P. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 109:195-209, 2002)。C1-INH是内源性凝血途径的凝血因子12和11 (因子11) 以及血浆激肽释放酶的主要抑制剂 (Gigli, I. et al. J. Immunol. 104:574-581, 1970)。C1-INH介导的对血浆激肽释放酶和因子12的抑制导致了激肽释放酶途径失活和缓激肽 (bradykinin, BK) 水平降低。C1-INH缺乏或功能障碍导致BK的过量产生,这是被认为HAE发作发生的机制。III型HAE与编码凝血蛋白因子12的因子12基因中的突变相关 (Cichon, S. et al. Am. J. Hum. Genet. 79:1098-1104, 2006)。

目前还没有用于某些炎性疾病例如HAE,或者与PKK或激肽释放酶途径其他成员的失调相关的血栓性病症的治愈措施。因此,需要找到用于PKK相关疾病的有效治疗。

发明概述

本公开内容提供了用于调节PKK的表达或活性的化合物、组合物和方法。在某些实施方案中,所述化合物、组合物和方法可用于降低细胞或动物中PKK mRNA的表达。在某些实施方案中,所述化合物、组合物和方法可用于降低细胞或动物中PKK蛋白的量。

在某些实施方案中,动物患有炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状。在某些实施方案中,疾病是遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。本文中提供的某些化合物、组合物和方法涉及在动物中减轻炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、或遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,本文中提供的化合物和组合物是强效和可耐受的并且抑制PKK表达,其可用于治疗、预防、改善以下或者减慢以下的进展:炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状、或遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

在某些实施方案中,所述化合物和组合物包含对提高效力有效的一种或更多种特征。在某些实施方案中,所述化合物和组合物包含对提高耐受性有效的一种或更多种特征。在某些实施方案中,所述化合物和组合物包含对于将所述化合物或组合物靶向至细胞或组织有效的一种或更多种特征。在某些实施方案中,与向公众公开的化合物相比,所述化合物和组合物是更强效的或具有更大的治疗价值。

发明详述

应当理解,上文发明内容和以下具体实施方式二者仅是示例性和解释性的,并且不对所要求保护的实施方案构成限制。本文中使用的章节标题仅出于组织目的,并且不应理被解释为限制所述主题。

本申请中引用的所有文件或文件的一部分,包括但不限于专利、专利申请、文章、书籍、论文以及GenBank、NCBI和其他序列参考记录,在此通过引用本文中所讨论文件的一

部分,以及以其截至本申请提交之日的整体明确地并入。

应当理解,本文中包含的每个SEQ ID NO中所示的序列是独立于糖部分、核苷间键联或核碱基的任何修饰的,即使在上下文中以经修饰化合物示出的情况下。因此,由SEQ ID NO限定的化合物可独立地包含对糖部分、核苷间键联或核碱基中的一个或更多个修饰。通过化合物编号(Compound Number)或Ref ID NO引用的寡聚化合物表示核碱基序列、化学修饰和基序的组合。

在此,除非另有明确说明,否则单数的使用包括复数。例如,本文中使用的没有数量词修饰的名词是指一个/种或多于一个/种(即,至少一个/种)的语法对象。举例来说,“要素”意指一个要素或多于一个要素,例如多个要素。除非另有说明,否则本文中使用的“或”的使用意指“和/或”。此外,术语“包括/包含”以及其他形式(例如其变化形式)的使用不是限制性的,并且可与短语“包括但不限于”互换使用。

定义

除非另有说明,否则以下术语具有以下含义:

可与术语“PKK”互换使用的“血浆前激肽释放酶”或“激肽释放酶B1”是指PKK的任何核酸或蛋白质。PKK的示例性核苷酸和氨基酸序列可见于,例如,GenBank登录No.NM_000892.5(以SEQ ID NO:1并入本文)、从23529..54493截短的NG_012095.2(以SEQ ID NO:2并入本文)、XM_0170081811(以SEQ ID NO:3并入本文)、从186215714至186258477截短的NC_000004.12(以SEQ ID NO:4并入本文)、NM_001318394.2(以SEQ ID NO:5并入本文)和NM_001318396.2(以SEQ ID NO:6并入本文)。PKK序列的另一些实例可通过可公开获得的数据库(例如,GenBank、UniProt和OMIM)容易地获得。关于PKK的另外的信息可见于,例如ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=PKK。本文中使用的PKK还指PKK基因的变异,包括SNP数据库中提供的变体。已经鉴定了PKK基因内的许多序列变异,并且可见于,例如NCBI dbSNP和UniProt(参见例如,ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term==PKK)。“PKK mRNA”意指编码PKK蛋白的mRNA。PKK可以以大写或小写表示。

“PKK特异性抑制剂”是指能够在分子水平上特异性抑制PKK RNA和/或PKK蛋白表达或活性的任何药剂。例如,PKK特异性抑制剂包括核酸(包括寡核苷酸化合物)、肽、抗体、小分子以及能够抑制PKK RNA和/或PKK蛋白的表达的另一些药剂。

“2'-O-甲氧基乙基”或“2'-MOE”意指2'-O(CH₂)₂-OCH₃修饰。经2'-O-甲氧基乙基修饰的糖是在核糖基环的2'-OH基团的位置具有2'-O(CH₂)₂-OCH₃的经修饰糖。

“5'起始位点”意指与反义寡核苷酸的最3'-核苷对齐的靶核酸或区域的核苷酸。

“3'终止位点”意指与反义寡核苷酸的最5'-核苷对齐的靶核酸或区域的核苷酸。

“大约/约”意指在值的±10%内。例如,如果表述“化合物实现了约70%的PKK抑制”,则意味着PKK水平在60%至80%的范围内抑制。当“约”存在在一组数字或范围之前时,应理解“大约/约”可修饰该系列或范围中的每个数字。

“施用”及其变化形式是指将本文中提供的化合物或组合物引入至个体以实现其预期功能的途径。例如,可使用的施用途径包括但不限于肠胃外施用,例如皮下、静脉内或者肌肉注射或输注。

“改善”是指相关疾病、障碍或病症的至少一种指标、体征或症状的改善或减轻。在某些实施方案中,改善包括延迟或减慢病症或疾病的一种或更多种指标的进展或严重程

度。指标的进展或严重程度可通过本领域技术人员已知的主观或客观测量来确定。

“动物”是指人或非人动物,包括但不限于小鼠、大鼠、兔、狗、猫、猪和非人灵长类,包括但不限于猴和黑猩猩。

“反义寡核苷酸”或“反义链”意指包含与靶核酸(例如,PKK RNA或其区域)互补的区域的寡核苷酸。

关于寡核苷酸的“互补性”意指当两个核碱基序列以相反方向对齐时,这样的寡核苷酸或者其一个或更多个区域的核碱基序列与另一个寡核苷酸或核酸或者其一个或更多个区域的核碱基序列互补。除非另有说明,否则本文中所述的互补核碱基仅限于以下配对:腺嘌呤(A)和胸腺嘧啶(T)、腺嘌呤(A)和尿嘧啶(U)以及胞嘧啶(C)和鸟嘌呤(G)。互补寡核苷酸和/或核酸不需要在每个核苷处具有核碱基互补性,并且可包含一个或更多个核碱基错配。相比之下,关于寡核苷酸的“完全互补”或“100%互补”意指这样的寡核苷酸在没有任何核碱基错配的情况下在每个核苷处均具有核碱基匹配。

“组合物”或“药物组合物”意指适合于施用于个体的物质的混合物。例如,组合物可包含一种或更多种化合物或其盐以及无菌水溶液。

“共施用”意指以任何方式施用两种或更多种化合物,其中两种化合物的药理作用均在患者中显现。共施用不要求两种化合物以单一药物组合物、相同剂型、通过相同施用途径或同时施用。两种化合物的作用不需要其同时显现。作用仅需要在一段时间内重叠,并且不需要共延长。共施用包括一种或更多种化合物的平行或顺序施用。

“缀合基团”意指与寡核苷酸连接的原子团。缀合基团任选通过缀合接头与寡核苷酸连接。例如缀合基团可改变其所并入的化合物的分布、靶向或半衰期。缀合基团包括靶向部分。

“缀合接头”意指包含至少一个将连接部分与寡核苷酸连接的键的原子团。

关于寡核苷酸的“同一性”意指这样的寡核苷酸或者其一个或更多个区域的核碱基序列与另一个寡核苷酸或核酸或者其一个或更多个区域的核碱基序列匹配。一个寡核苷酸与另一个寡核苷酸或核酸的同一性不需要每个核碱基都匹配,并且可包含一个或更多个不同的核碱基。相比之下,关于寡核苷酸的“完全相同”或“100%同一性”意指这样的寡核苷酸在其长度上的每个相对位置处与其他寡核苷酸或核酸具有相同的核碱基。

“个体”意指选择用于处理或治疗的人或非人动物。

关于靶核酸或蛋白质的“抑制表达或活性”意指相对于未经处理或对照样品中的表达或活性,降低或阻断这样的靶标的表达或活性,并且不一定表示表达或活性的完全消除。

本文中使用的,术语“核苷间键联”是寡核苷酸中相邻核苷之间的共价键联。本文中使用的,“经修饰核苷间键联”意指除磷酸二酯核苷间键联之外的任何核苷间键联。“硫代磷酸酯核苷间键联”是这样的经修饰核苷间键联,其中磷酸二酯核苷间键联的一个非桥接氧原子被硫原子代替。

具有手性中心的代表性核苷间键联包括但不限于烷基磷酸酯和硫代磷酸酯。包含具有手性中心的核苷间键联的经修饰寡核苷酸可被制备为包含立构无规核苷间键联的经修饰寡核苷酸群,或者制备为包含特定立体化学构型的硫代磷酸酯键联的经修饰寡核苷酸群,如下文进一步描述。除非另有说明,否则本文中所述的经修饰寡核苷酸的手性核苷间键

联可以是立构无规的或特定的立体化学构型。

本公开内容的化合物还可在构成这样的化合物的一个或更多个原子处包含非天然比例的原子同位素。例如,所述化合物可用放射性同位素(例如氚(^3H)、碘-125(^{125}I)或碳-14(^{14}C))进行放射性标记。本发明化合物的所有同位素变异,无论是否具有放射性,均涵盖在本公开内容的范围内。

术语“同位素变体”是指在构成治疗剂的一个或更多个原子处包含非天然比例同位素的这样的治疗剂(例如,本文中公开的化合物和/或经修饰寡核苷酸)。在某些实施方案中,治疗剂的“同位素变体”包含非天然比例的一种或更多种同位素,包括但不限于氢(H)、氘(^2H)、氚(^3H)、碳-11(^{11}C)、碳-12(^{12}C)、碳-13(^{13}C)、碳-14(^{14}C)、氮-13(^{13}N)、氮-14(^{14}N)、氮-15(^{15}N)、氧-14(^{14}O)、氧-15(^{15}O)、氧-16(^{16}O)、氧-17(^{17}O)、氧-18(^{18}O)、氟-17(^{17}F)、氟-18(^{18}F)、磷-31(^{31}P)、磷-32(^{32}P)、磷-33(^{33}P)、硫-32(^{32}S)、硫-33(^{33}S)、硫-34(^{34}S)、硫-35(^{35}S)、硫-36(^{36}S)、氯-35(^{35}Cl)、氯-36(^{36}Cl)、氯-37(^{37}Cl)、溴-79(^{79}Br)、溴-81(^{81}Br)、碘-123(^{123}I)、碘-125(^{125}I)、碘-127(^{127}I)、碘-129(^{129}I)和碘-131(^{131}I)。在某些实施方案中,治疗剂的“同位素变体”包含非天然比例的一种或更多种同位素,包括但不限于氢(H)、氘(^2H)、氚(^3H)、碳-11(^{11}C)、碳-12(^{12}C)、碳-13(^{13}C)、碳-14(^{14}C)、氮-13(^{13}N)、氮-14(^{14}N)、氮-15(^{15}N)、氧-14(^{14}O)、氧-15(^{15}O)、氧-16(^{16}O)、氧-17(^{17}O)、氧-18(^{18}O)、氟-17(^{17}F)、氟-18(^{18}F)、磷-31(^{31}P)、磷-32(^{32}P)、磷-33(^{33}P)、硫-32(^{32}S)、硫-33(^{33}S)、硫-34(^{34}S)、硫-35(^{35}S)、硫-36(^{36}S)、氯-35(^{35}Cl)、氯-36(^{36}Cl)、氯-37(^{37}Cl)、溴-79(^{79}Br)、溴-81(^{81}Br)、碘-123(^{123}I)、碘-125(^{125}I)、碘-127(^{127}I)、碘-129(^{129}I)和碘-131(^{131}I)。

应当理解,在治疗剂(例如,本文中公开的化合物和/或经修饰寡核苷酸)中,根据技术人员的判断在可行的情况下,例如任何氢都可以是 ^2H ,或例如任何碳都可以是 ^{13}C ,或者例如任何氮都可以是 ^{15}N ,或者例如任何氧都可以是 ^{18}O 。在某些实施方案中,治疗剂的“同位素变体”包含非天然比例的氘(D)。

“错配”或“非互补”意指当第一寡核苷酸/核酸和第二寡核苷酸/核酸以反平行方向对齐时,第一寡核苷酸或核酸的核碱基与第二寡核苷酸或核酸的相应核碱基是非互补的。例如,核碱基,包括但不限于通用核碱基、肌苷和次黄嘌呤,能够与至少一个核碱基杂交,但仍与其所杂交的核碱基错配或非互补。作为另一个实例,当第一寡核苷酸和第二寡核苷酸以反平行方向对齐时,不能与第二寡核苷酸/核酸的相应核碱基杂交的第一寡核苷酸/核酸的核碱基是错配或非互补核碱基。

“经修饰寡核苷酸”意指其中至少一个糖、核碱基或核苷间键联被修饰的寡核苷酸。

“调节”是指改变或调节细胞、组织、器官或生物体中的特征。例如,调节PKK RNA可意指提高或降低细胞、组织、器官或生物体中PKK RNA和/或PKK蛋白的水平。“调节剂”影响细胞、组织、器官或有机体中的变化。例如,PKK化合物可以是降低细胞、组织、器官或生物体中PKK RNA和/或PKK蛋白之量的调节剂。

“基序”意指寡核苷酸中未经修饰和经修饰的糖部分、核碱基和/或核苷间键联的模式。

“核酸”是指由单体核苷酸构成的分子。核酸包括但不限于核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)、脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)、单链核酸和双链核酸。

“核碱基”意指能够与另一核酸的碱基配对的杂环部分。本文中使用的“天然存在的核碱基”是腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)、尿嘧啶(U)和鸟嘌呤(G)。“经修饰核碱基”是经化学修饰的天然存在的核碱基。“通用碱基”或“通用核碱基”是除天然存在的核碱基和经修饰核碱基之外的核碱基,并且能够与任何核碱基配对。

“核碱基序列”意指独立于任何糖或核苷间键联的核酸或寡核苷酸中的连续核碱基的顺序。

“核苷”意指包含核碱基和糖部分的化合物。核碱基和糖部分各自独立地是未经修饰或经修饰的。“经修饰核苷”意指包含经修饰核碱基和/或经修饰糖部分的核苷。经修饰核苷包括缺乏核碱基的无碱基核苷。

“寡聚化合物”意指包含一个或更多个寡核苷酸和任选的一个或更多个另外的特征(例如缀合基团或末端基团)的化合物。寡聚化合物的实例包括单链和双链化合物,例如寡核苷酸、反义寡核苷酸、干扰RNA化合物(interfering RNA compound)(RNAi化合物)、microRNA靶向寡核苷酸、基于占位的化合物(例如,mRNA加工或翻译阻断化合物和剪接化合物)。RNAi化合物包括双链化合物(例如,短干扰RNA(short-interfering RNA, siRNA)和双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA))和单链化合物(例如,单链siRNA(single-stranded siRNA, ssRNA)、单链RNAi(single-stranded RNAi, ssRNAi)、短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)和microRNA模拟物),其至少部分地通过RNA诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)途径发挥作用,从而导致经由称为RNA干扰(RNA interference, RNAi)的过程对靶核酸的序列特异性降解和/或螯合(sequestration)。术语“RNAi化合物”意指等同于用于描述能够介导序列特异性RNA干扰的核酸化合物的其他术语,例如干扰RNA(iRNA)、iRNA剂、RNAi剂、短干扰寡核苷酸、短干扰核酸、短干扰经修饰寡核苷酸、经化学修饰的siRNA等。另外,术语“RNAi”意指等同于用于描述序列特异性RNA干扰的其他术语。

“寡核苷酸”意指彼此独立的连接的核苷的聚合物,所述核苷各自可以是经修饰或未经修饰的。

术语“寡聚双链体”意指由两个具有互补核碱基序列的寡聚化合物形成的双链体。寡聚双链体的每个寡聚化合物可被称为“双链寡聚化合物”。寡聚双链体的每个寡聚化合物的寡核苷酸可包括非互补的突出核苷。在一些实施方案中,术语“双链寡聚化合物”和“经修饰寡核苷酸”可互换使用。在另一些实施方案中,术语“寡聚双链体”和“化合物”可互换使用。

“肠胃外施用”意指通过注射或输注施用。肠胃外施用包括皮下施用、静脉内施用、肌肉施用、动脉内施用、腹膜内施用或颅内施用,例如鞘内或脑室内施用。

“可药用的载体或稀释剂”意指适用于向个体施用的任何物质。在某些实施方案中,可药用的载体或稀释剂有助于将化合物施用于个体并被个体吸收,并且可包含在本公开内容的组合物中,而不会对患者产生显著的不良毒理学作用。可药用赋形剂的非限制性实例包括水、NaCl、正常盐水溶液等。例如,可药用载体可以是无菌水溶液,例如PBS或注射用水。本领域技术人员将认识到另一些药物赋形剂可用于本公开内容。

“可药用盐”意指化合物(例如寡聚化合物或寡核苷酸)的生理学和药理学上可接受的盐,即保留母体化合物的期望的生物活性且不会对其产生不期望的毒理学作用的盐。

本文中使用的,可药用盐是本文中提供的化合物的任何盐,所述盐保留了其生物

特性,并且无毒或在其他方面期望用于药用。本文中公开的治疗剂的可药用盐包括用相对无毒的酸或碱制备的盐,这取决于见于本文中所述化合物或经修饰寡核苷酸的特定取代基。

当本公开内容的化合物包含相对酸性的官能团时,碱加成盐可通过使中性形式的这样的化合物与足量的期望碱(无论是纯的还是合适的惰性溶剂中)接触来获得。

当本公开内容的化合物包含相对碱性的官能团时,酸加成盐可通过使中性形式的这样的化合物与足量的期望酸(无论是纯的还是合适的惰性溶剂中)接触来获得。

因此,本公开内容的化合物可以以盐存在,例如与可药用酸一起存在。这样的盐可来源于本领域公知的多种有机和无机反荷离子。这样的盐包括但不限于:(1)与有机或无机酸形成的酸加成盐,所述酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、氨基磺酸、乙酸、三氟乙酸、三氯乙酸、丙酸、己酸、环戊基丙酸、乙醇酸、戊二酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、山梨酸、抗坏血酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、苦味酸、肉桂酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、月桂酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、苯甲酸、谷氨酸、羟基萘酸、水杨酸、硬脂酸、环己基氨基磺酸、奎宁酸、黏康酸等酸;或者(2)当存在于母体化合物中的酸性质子进行以下(a)或(b)时形成的盐:(a)被金属离子,例如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子,或者碱金属或碱土金属氢氧化物,例如钠、钾、钙、镁、铝、锂、锌和钡氢氧化物、氨代替;(b)与以下配位:有机碱,例如脂族、脂环族或芳香族有机胺,例如氨、甲基胺、二甲基胺、二乙基胺、甲基吡啶、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、乙二胺、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N-苄基苯乙基胺、N-甲基葡萄糖胺哌嗪、三(羟基甲基)-氨基甲烷、四甲基氢氧化铵等(参见例如,Berge et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19)。

可药用盐还包括(仅作为示例而非限制)钠、钾、钙、镁、铵、四烷基铵等,并且当化合物包含碱性官能团时,还包括无毒的有机或无机酸的盐例如氢卤化物,例如盐酸盐和氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、氨基磺酸盐、硝酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、三氯乙酸盐、丙酸盐、己酸盐、环戊基丙酸盐、乙醇酸盐、戊二酸盐、丙酮酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、山梨酸盐、抗坏血酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸盐、苦味酸盐、肉桂酸盐、扁桃酸盐、邻苯二甲酸盐、月桂酸盐、甲磺酸盐(methanesulfonate)(甲磺酸盐(mesylate))、乙磺酸盐、1,2-乙烷-二磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、苯磺酸盐(benzenesulfonate)(苯磺酸盐(besylate))、4-氯苯磺酸盐、2-萘磺酸盐、4-甲苯磺酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸盐、葡庚糖酸盐、3-苯基丙酸盐、三甲基乙酸盐、叔丁基乙酸盐、月桂基硫酸盐、葡萄糖酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、羟基萘酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、环己基氨基磺酸盐、奎尼酸盐、黏康酸盐等。在一些实施方案中,本文中公开的化合物和经修饰寡核苷酸的可药用盐是钠盐或钾盐。在一些实施方案中,本文中公开的化合物和经修饰寡核苷酸的可药用盐是钠盐。

中性形式的化合物优选通过使盐与碱或酸接触并以常规方式分离母体化合物来再生。所述化合物的母体形式在某些物理特性(例如在极性溶剂中的溶解度)中可不同于多

种盐形式。在一些实施方案中,本公开内容的化合物包含允许将化合物转化成碱加成盐或酸加成盐的碱性和酸性官能团二者。中性形式的化合物可通过使盐与碱或酸接触并以常规方式分离母体化合物来再生。化合物的母体形式在某些物理特性(例如在极性溶剂中的溶解度)中不同于多种盐形式,但是,除非特别指出,否则本文中公开的盐等同于出于本公开内容目的的化合物的母体形式。

“药剂”意指当施用于个体时提供治疗益处的化合物。

“硫代磷酸酯键联”意指经修饰磷酸酯键联,其中一个非桥接氧原子被硫原子代替。

“部分”意指核酸的确定数目的连续(即,连接的)核碱基。在某些实施方案中,部分是靶核酸的确定数目的连续核碱基。在某些实施方案中,部分是寡核苷酸的确定数目的连续核碱基。

“预防”是指在一段时间内延迟或阻止疾病、障碍或病症的发作、发生或进展。

“RNA干扰化合物”或“RNAi化合物”意指至少部分地通过RNA诱导的沉默复合物(RISC)途径或Ago2(而不是通过RNA酶H)发挥用来调节靶核酸和/或由靶核酸编码的蛋白质的化合物。RNAi化合物包括但不限于双链siRNA、单链siRNA和microRNA,包括microRNA模拟物。

“有义寡核苷酸”或“有义链”意指双链化合物的链,其包含与化合物反义链的区域基本上互补的区域。

关于靶核酸或蛋白质的“特异性抑制”意指降低或阻断靶核酸或蛋白质的表达或活性,同时使对非靶核酸或蛋白质的影响最小化或消除对非靶核酸或蛋白质的影响。

关于寡核苷酸的“亚基”意指如本文中提供的核苷酸、核苷、核碱基或糖或者经修饰的核苷酸、核苷、核碱基或糖。

“靶核酸”、“靶RNA”和“核酸靶标”全部意指能够被本文中所述化合物靶向的核酸。

“靶区域”意指一种或更多种化合物靶向的靶核酸的一部分。

“靶向部分”意指与例如不含这样的部分的化合物相比,对所选靶标(例如,分子、细胞或细胞类型、隔室(例如,细胞或器官隔室)、组织、器官或身体区域)提供增强的亲和力的缀合基团。

“末端基团”意指与寡核苷酸的末端共价连接的化学基团或原子团。

“治疗有效量”或“有效量”意指向个体提供治疗益处的化合物、药剂或组合物的量。“治疗有效量”或“有效量”是相对于不存在化合物而言,足以使化合物实现所述目的的量(例如,实现其施用针对的作用,治疗、预防或改善疾病或者减轻疾病或病症中的一种或更多种症状)。“治疗有效量”或“有效量”的实例是足以有助于治疗、预防、改善疾病或者减轻疾病的一种或多种症状的量。一种或多种症状(以及该短语的语法等同物)的“减轻”意指一种或多种症状的严重程度或频率的降低,或者一种或多种症状的消除。药物的“预防有效量”是这样的药物的量:当施用于对象时将具有预期的预防作用例如预防或延迟损伤、疾病、病理状况或病症的发作(或复发),或者降低损伤、疾病、病理状况或病症或其症状的发作(或复发)的可能性。本文中使用的术语“治疗有效量”是指足以向个体提供治疗益处的治疗剂的量,例如治疗、预防或改善如上述的疾病或病症或其症状。例如,对于给定的参数,治疗有效量将显示至少5%、10%、15%、20%、25%、40%、50%、60%、75%、80%、90%或至少

100%的提高或降低。治疗作用还可表示为“倍”提高或降低。例如,治疗有效量可具有相对于对照的至少1.2倍、1.5倍、2倍、5倍或更多的作用。

术语“治疗”及其变化形式是指成功治疗或改善损伤、疾病、病理状况或病症的任何标志,包括任何客观或主观参数,例如减轻;缓解;减弱症状或使损伤、病理状况或病症对于患者而言更可忍受;使退化或衰退的速率减慢;使退化的终点不那么使人衰弱;改善患者的身体或心理健康。症状的治疗或改善可基于客观或主观参数,包括身体检查的结果。术语“治疗”及其变化形式可包括损伤、病理状况、病症或疾病的预防。在一些实施方案中,治疗是预防。在一些实施方案中,治疗不包括预防。

本文中使用的“治疗”或其变化形式(和如本领域充分理解的)还广义地包括用于在对象的病症中获得有益或期望的结果(包括临床结果)的任何方法。有益或期望的临床结果可包括但不限于减轻或改善一种或更多种症状或病症、减弱疾病程度、稳定疾病状态(即,不使其恶化)、阻止疾病的传播或扩散、延缓或减慢疾病进展、改善或减轻疾病状态、减少疾病复发以及缓解,无论是部分还是全部,并且无论是可检测的还是不可检测的。换言之,本文中使用的“治疗”包括疾病的任何治愈、改善或预防。治疗可阻止疾病的发生;抑制疾病的传播;缓解疾病的症状、完全或部分消除疾病的潜在原因、缩短疾病的持续时间或进行这些事件的组合。

本文中使用的“治疗”及其变化形式包括预防性治疗。治疗方法包括向对象施用治疗有效量的本文中所述的化合物。施用步骤可由单次施用组成,或者可包括一系列施用。治疗期的长度取决于多种因素,例如病症的严重程度、患者的年龄、化合物的浓度、治疗中所使用组合物的活性或其组合。还应理解,用于治疗或预防的药剂的有效剂量可在特定治疗或预防方案的过程中提高或降低。在一些情况下,可能需要长期施用。例如,以足以治疗患者的量和持续时间向对象施用组合物。

“治疗”是指向动物施用化合物或药物组合物以在动物中实现疾病、障碍或病症的改变或改善。

本公开内容的某些化合物具有非对称碳原子(光学或手性中心)或双键;对映体、外消旋体、非对映体、互变异构体、几何异构体、立体异构形式,其在绝对立体化学方面可限定为(R)-或(S)-或者(D)-或(L)- (对于氨基酸),并且单独异构体均涵盖在本公开内容的范围内。本公开内容的化合物不包括本领域已知的太不稳定而不能合成和/或分离的化合物。本公开内容意指包括外消旋和光学纯形式的化合物。光学活性的(R)-和(S)-或者(D)-和(L)-异构体可使用手性合成子或手性试剂来制备,或者使用常规技术来拆分。当本文中所述的化合物包含烯键或其他几何非对称中心时,并且除非另有说明,否则旨在所述化合物包括E和Z几何异构体二者。

本文中使用的术语“异构体”是指具有相同数目和种类的原子,并因此具有相同分子量,但原子的结构排列或构型不同的化合物。

本文中使用的术语“互变异构体”是指两种或更多种结构异构体中的一种,所述结构异构体以平衡状态存在,并且容易从一种异构形式转化为另一种异构形式。

对本领域技术人员来说明显的是,本公开内容的某些化合物可以以互变异构体形式存在,所有这样的化合物的互变异构体形式均在本公开内容的范围内。

除非另有说明,否则本文中描述的结构也意在包括该结构的所有立体化学形式

(即,每个非对称中心的R和S构型)。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映体和非对映体混合物均在本公开内容的范围内。

本文中使用的,“手性富集群”意指多个相同分子式的分子,其中在特定手性中心处含有特定立体化学构型的群中分子的数目或百分比大于在特定手性中心是立构无规时则预期在群中相同特定手性中心处含有相同特定立体化学构型的分子的数目或百分比。每个分子中具有多个手性中心的手性富集分子群可包含一个或更多个立构无规手性中心。在某些实施方案中,分子是经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,分子是包含经修饰寡核苷酸的化合物。

除非另有说明,否则本文中描述的结构还意在包括仅区别在于一个或更多个同位素富集原子的存在下的化合物。例如,除氢被氘或氚代替或者碳被富含¹³C或¹⁴C的碳代替之外,具有本发明结构的化合物均在本公开内容的范围内。

本文中使用的,“立构无规手性中心”在具有相同分子式的分子群的上下文中意指具有无规的立体化学构型的手性中心。例如,在包含立构无规手性中心的分子群中,具有立构无规手性中心的(S)构型的分子数目可以但不一定与具有立构无规手性中心的(R)构型的分子数目相同。当手性中心的立体化学构型是不旨在控制立体化学构型的合成方法的结果时被认为是无规的。在某些实施方案中,立构无规手性中心是立构无规硫代磷酸酯核苷间键联。

某些实施方案

在某些方面中,本公开内容涉及用于抑制PKK的方法、化合物和组合物。在某些实施方案中,PKK被特异性抑制。在某些实施方案中,PKK被特异性降解。在某些实施方案中,PKK表达被抑制。在某些实施方案中,PKK翻译被抑制。在某些实施方案中,PKK活性被抑制。在某些实施方案中,相对于未经处理或对照样品中的表达、翻译或活性,PKK表达、翻译或活性降低了至少10%。例如,在某些实施方案中,相对于未经处理或对照样品中的表达、翻译或活性,PKK表达、翻译或活性降低了至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、10%至50%、25%至50%、25%至75%、50%至75%、50%至99%或75%至99%。在某些实施方案中,PKK的表达、翻译或活性降低,如通过任何合适的测定(包括但不限于免疫测定、基于杂交的测定或基于测序的测定(例如,RNA-Seq))所测量的。

在某些方面中,本公开内容涉及靶向PKK核酸的化合物。在某些实施方案中,PKK核酸具有以下中所示的序列:GENBANK登录No.NM_000892.5(以SEQ ID NO:1并入本文)、从23529..54493截短的NG_012095.2(以SEQ ID NO:2并入本文)、XM_017008181.1(以SEQ ID NO:3并入本文)、从186215714至186258477截短的NC_000004.12(以SEQ ID NO:4并入本文)、NM_001318394.2(以SEQ ID NO:5并入本文)和NM_0013183962(以SEQ ID NO:6并入本文)。

在某些实施方案中,所述化合物是寡聚化合物。在某些实施方案中,所述化合物是单链的。在某些实施方案中,所述化合物是双链的。

某些实施方案提供了包含经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸)的化合物,其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、

至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。

某些实施方案提供了包含经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸)的化合物,其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。

某些实施方案提供了包含经修饰寡核苷酸的化合物,其具有选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列。

在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸具有与SEQ ID NO:1、3、5或6至少80%、至少85%、至少90%或至少95%互补的核碱基序列。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸包含至少一个选自经修饰核苷间键联、经修饰糖和经修饰核碱基的修饰。在某些实施方案中,所述化合物是双链的。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含:第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸)其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与所述第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

在某些实施方案中,化合物包含:第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含表2至4、6和8中提供的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与所述第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与所述第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与所述第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

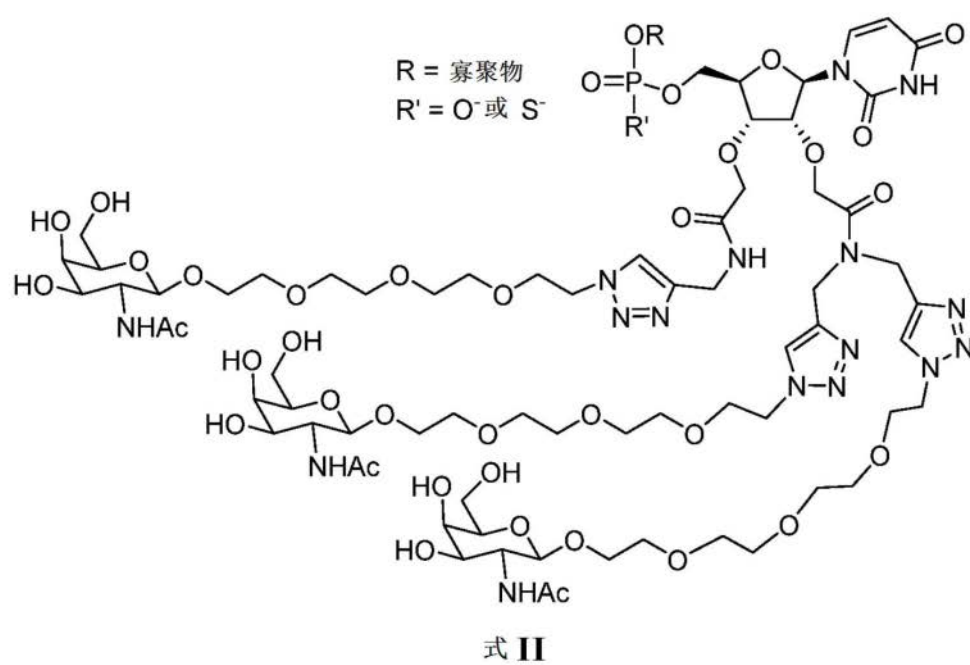
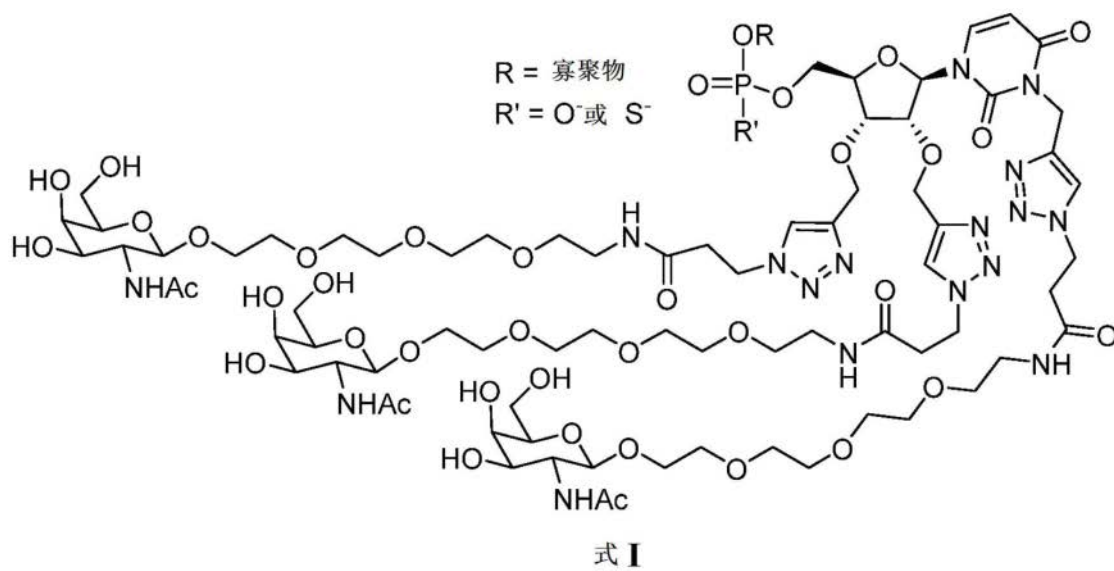
在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:

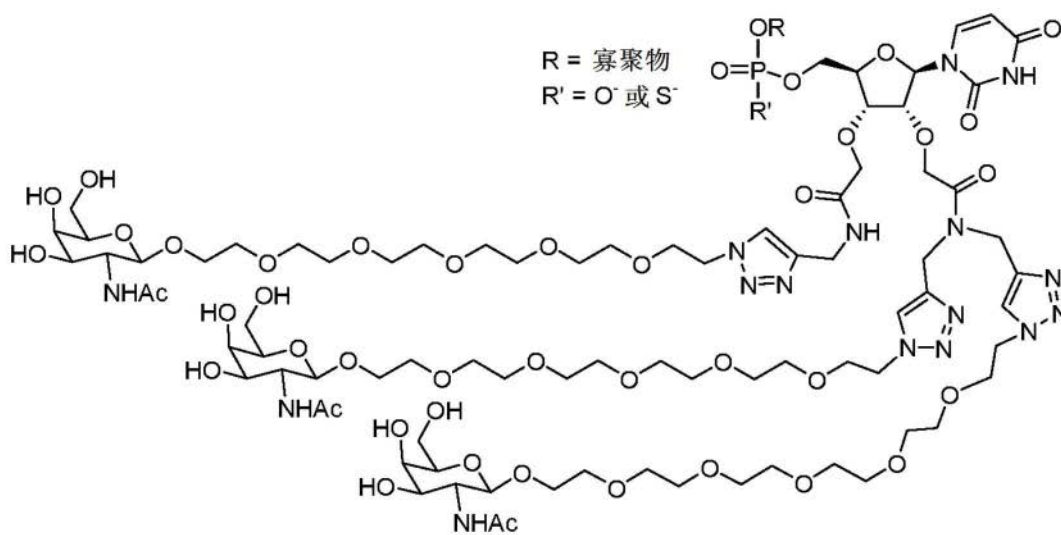
611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。

在某些实施方案中,任何前述化合物的经修饰寡核苷酸或第一经修饰寡核苷酸在其长度上与SEQ ID NO:1、3、5或6具有至少80%、至少85%、至少90%或至少95%互补性或同一性。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸或第一经修饰寡核苷酸与SEQ ID NO:1、3、5或6的区域具有至少1个、至少2个、至少3个错配。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸或第一链与第二经修饰寡核苷酸或第二链之间互补区的长度为14至30个连接的核苷。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸或第一链与第二经修饰寡核苷酸或第二链之间互补区的长度为14至23个连接的核苷。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸或第一链与第二经修饰寡核苷酸或第二链之间互补区的长度为19至23个连接的核苷。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸或第一链与第二经修饰寡核苷酸或第二链之间互补区的长度为21至23个连接的核苷。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸与第二经修饰寡核苷酸完全互补。

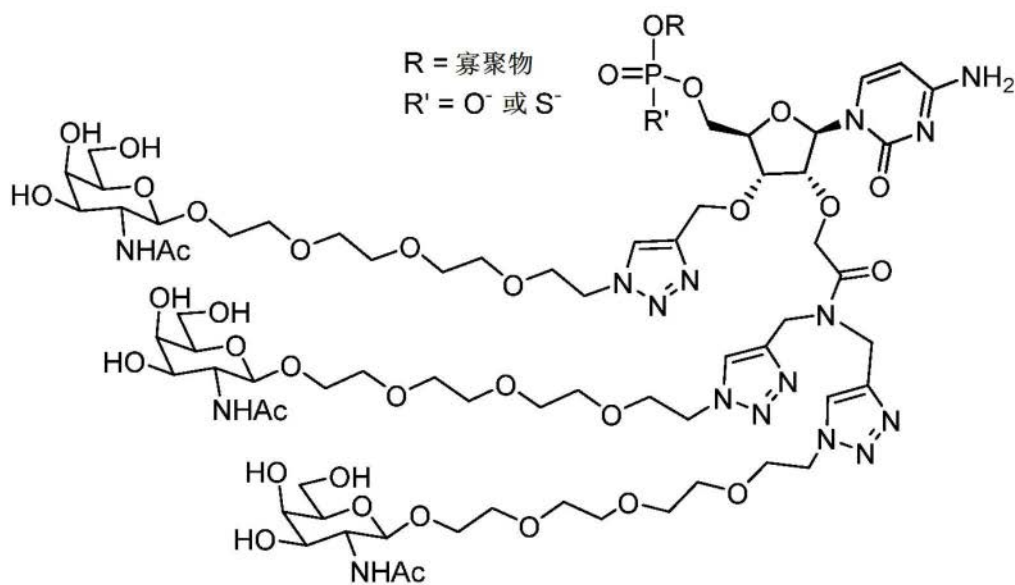
在某些实施方案中,任何前述化合物的经修饰寡核苷酸或第一经修饰寡核苷酸包含至少一个选自经修饰核苷间键联、经修饰糖和经修饰核碱基的修饰。在某些实施方案中,任何前述化合物的第二经修饰寡核苷酸包含至少一个选自经修饰核苷间键联、经修饰糖和经修饰核碱基的修饰。在某些实施方案中,经修饰核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联或甲基膦酸酯核苷间键联。在某些实施方案中,硫代磷酸酯核苷间键联或甲基膦酸酯核苷间键联在第一或第二经修饰寡核苷酸的3'端或者在第一经修饰寡核苷酸的5'端。在某些实施方案中,经修饰糖包含选自以下的修饰:卤素、烷氧基和双环糖。在某些实施方案中,经修饰糖包含2'-F修饰。在某些实施方案中,经修饰糖包含2'-OMe修饰。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸的每个核苷均包含经修饰糖。在某些实施方案中,第二经修饰寡核苷酸的每个核苷均包含经修饰糖。在某些实施方案中,经修饰糖包含选自以下的修饰:卤素、烷氧基和双环糖、或其组合。在某些实施方案中,经修饰糖包含选自以下的修饰:2'-MOE、2'-F和2'-OMe、或其组合。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸包含不多于十个2'-F糖修饰。在某些实施方案中,第二经修饰寡核苷酸包含不多于五个2'-F糖修饰。

在某些实施方案中,任何前述实施方案所述的化合物均包含缀合基团。在某些实施方案中,缀合基团与经修饰寡核苷酸的5'末端连接。在某些实施方案中,缀合基团是靶向部分。在某些实施方案中,靶向部分包含一个或更多个GalNAc。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸是第二经修饰寡核苷酸或有义寡核苷酸。在某些实施方案中,一个或更多个GalNAc与核糖基环的2'或3'位连接。在某些实施方案中,一个或更多个GalNAc与经修饰寡核苷酸的5'核苷连接。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷选自下式或者其盐、溶剂合物或水合物,其中R是经修饰寡核苷酸中除5'核苷之外的部分:

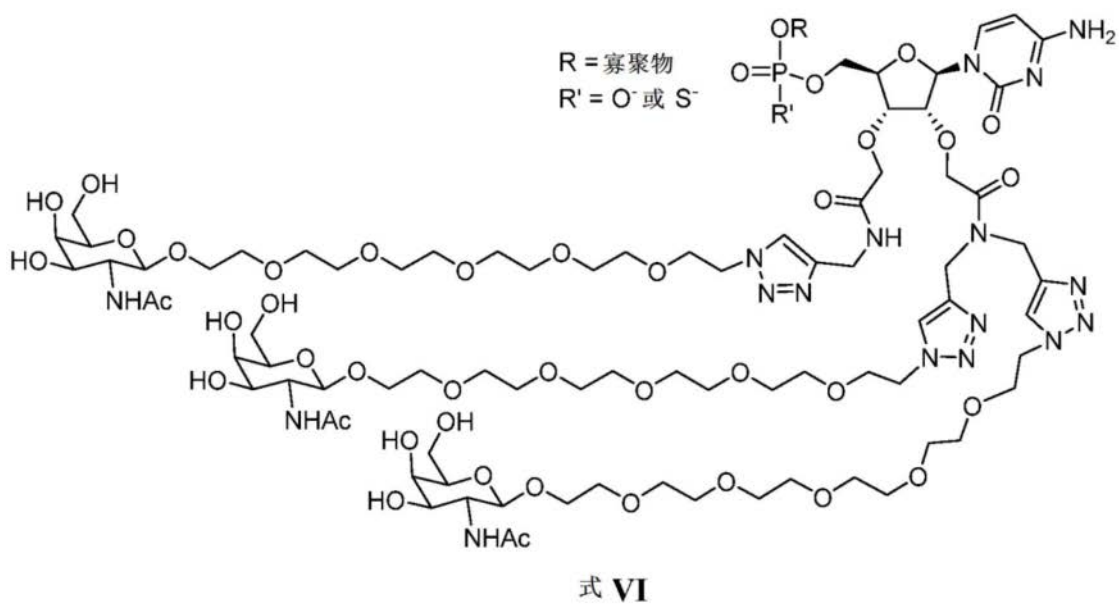
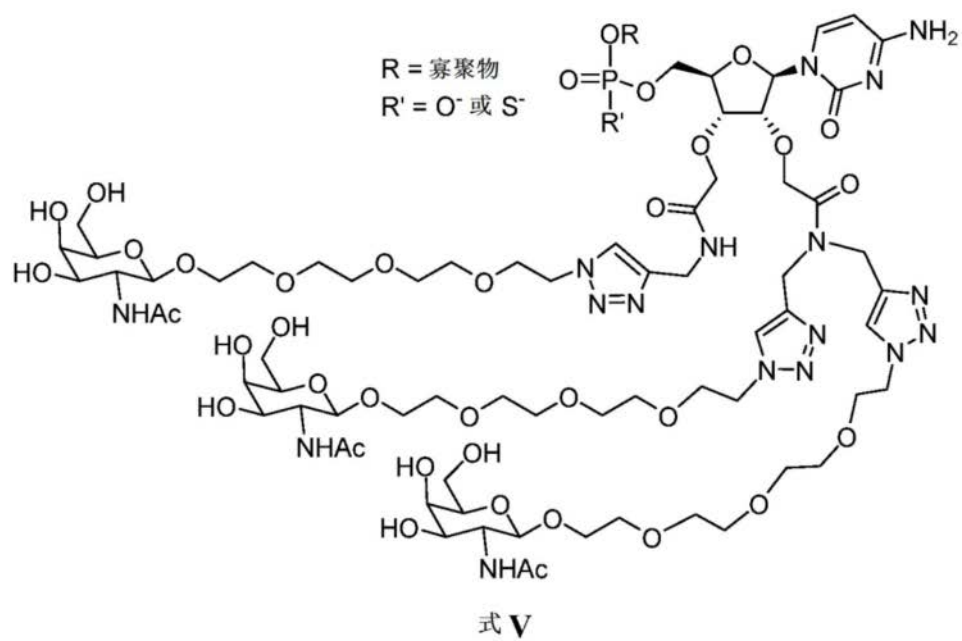


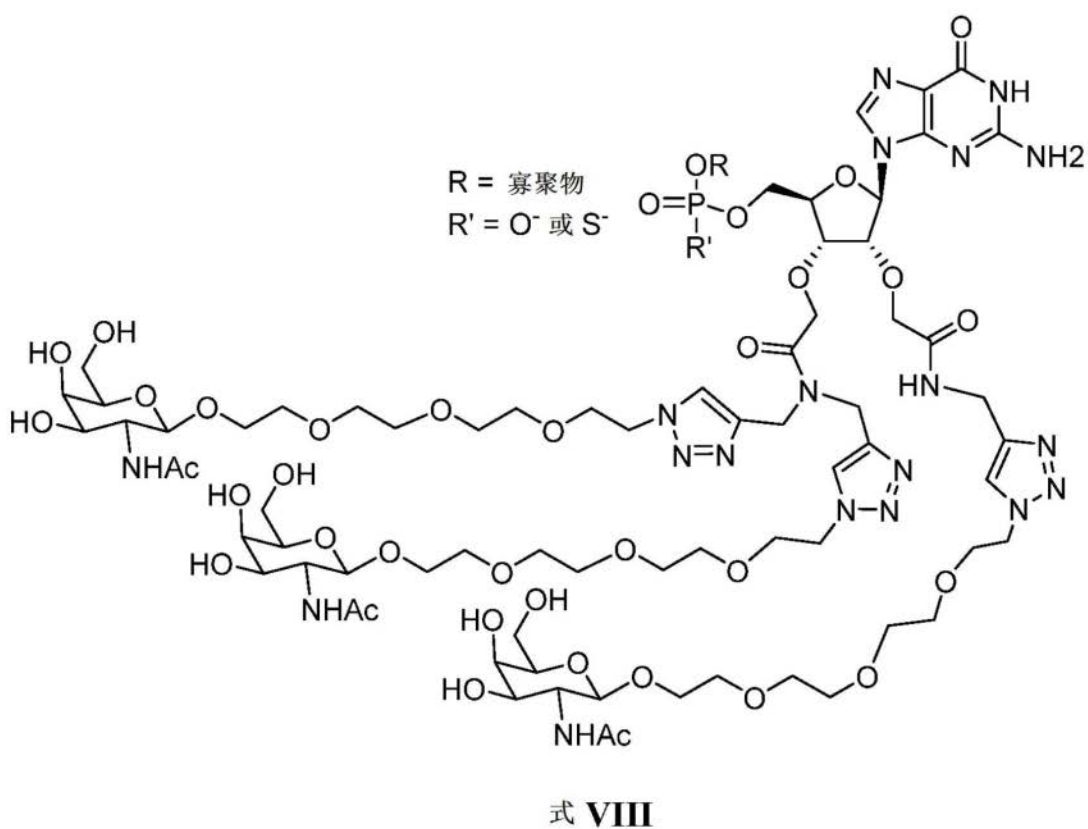
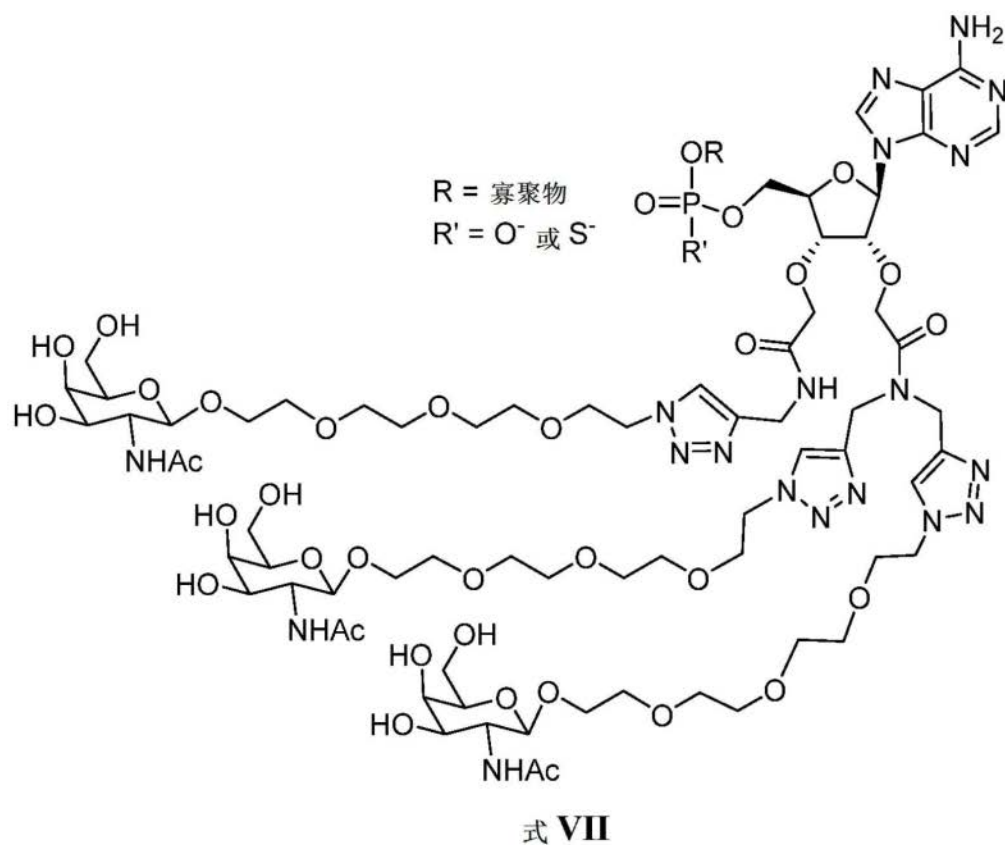


式 III



式 IV





在某些实施方案中, R' 是 O^- 。在某些实施方案中, R' 是 S^- 。在某些实施方案中, 经修饰寡核苷酸的5' 核苷是式I且 R' 是 O^- 。在某些实施方案中, 经修饰寡核苷酸的5' 核苷是式I且 R'

是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式II且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式II且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式III且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式III且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式IV且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式IV且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式V且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式V且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VI且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VI且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VII且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VII且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VIII且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VIII且R'是S。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含选自Ref ID NO:IA0812至821中任一者的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为14至21个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其与所述第一经修饰寡核苷酸完全互补。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含由IA0813组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1002组成的第二经修饰寡核苷酸。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含由IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1007组成的第二经修饰寡核苷酸。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含由IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1068组成的第二经修饰寡核苷酸。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含选自Ref ID NO:IA0864至866中任一者的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为14至21个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其与所述第一经修饰寡核苷酸完全互补。

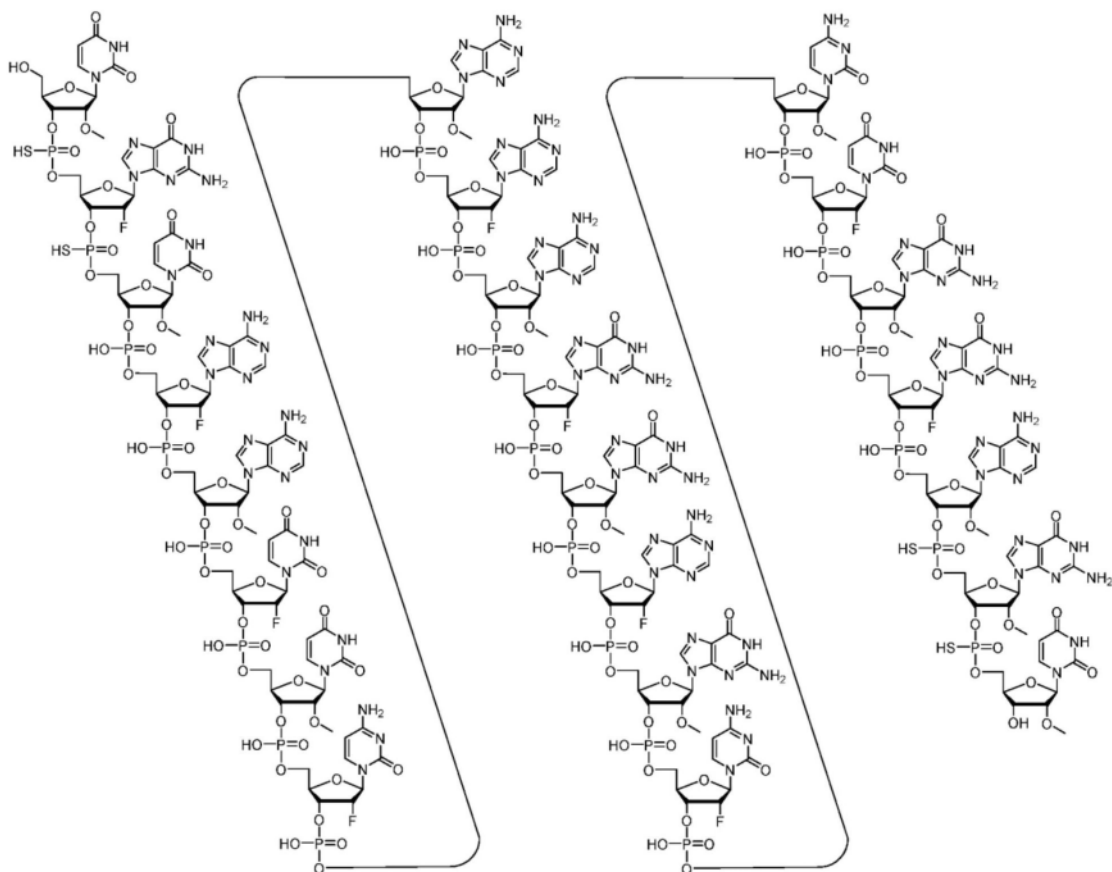
某些实施方案提供了这样的化合物,其包含选自Ref ID NO:IA0818和IA0864的第一经修饰寡核苷酸;以及选自Ref ID NO:IS1058和IS1059的第二经修饰寡核苷酸。

某些实施方案提供了这样的化合物,其包含由IA0864组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1059组成的第二经修饰寡核苷酸。某些实施方案提供了这样的化合物,其包含由IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1058组成的第二经修饰寡核苷酸。

在某些实施方案中,化合物包含由IA0864组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1059组成的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含由IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1058组成的第二经修饰寡核苷酸。

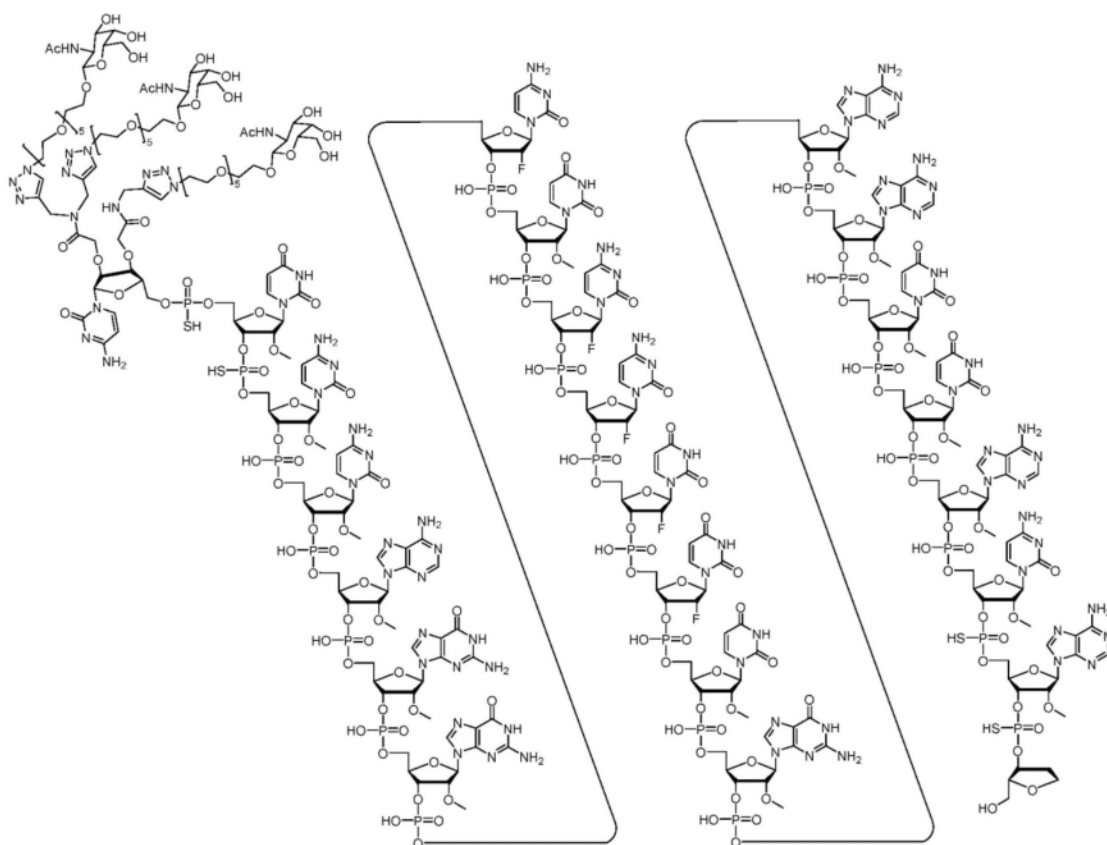
在某些实施方案中,任何前述实施方案所述的化合物均为可药用盐形式。在某些实施方案中,可药用盐是钠盐。在某些实施方案中,可药用盐是钾盐。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸:



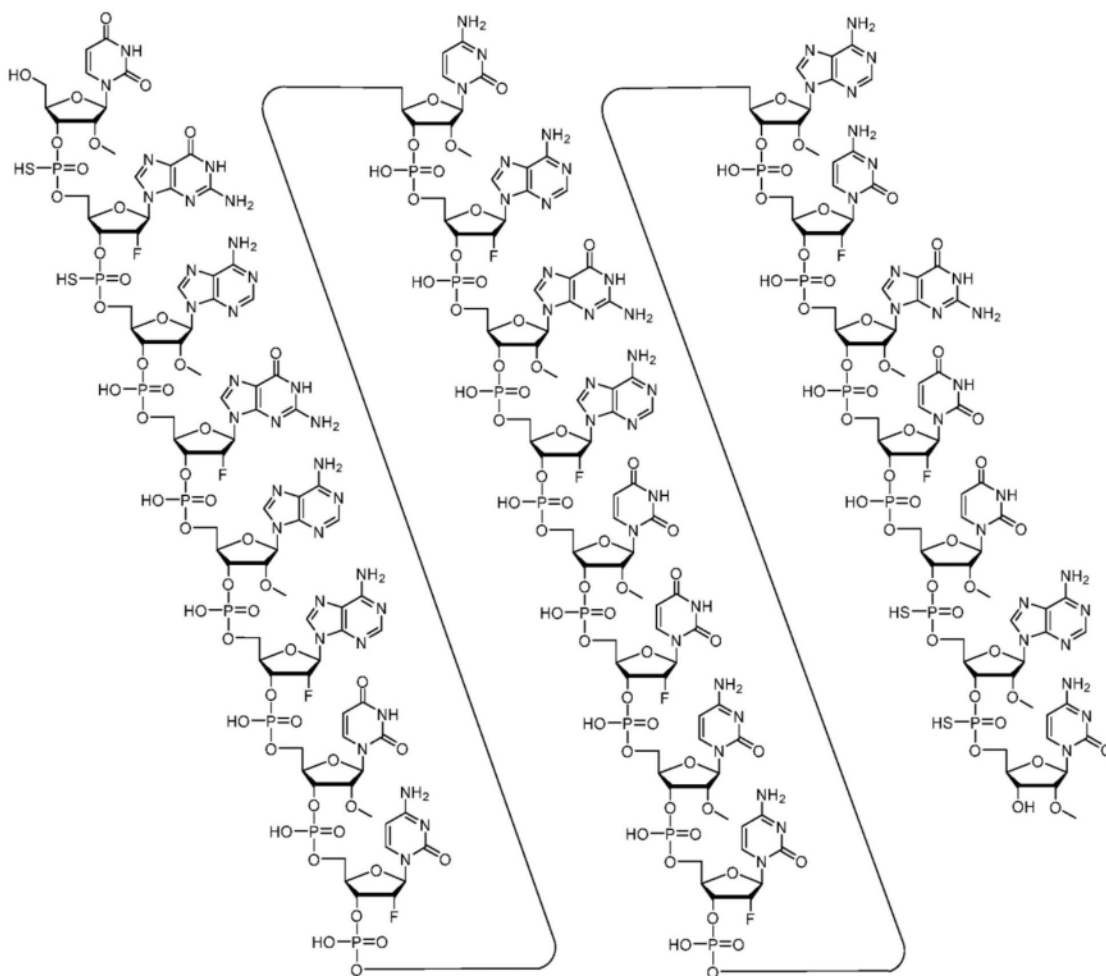
或者其可药用盐或立体异构体。在某些实施方案中,Ref ID N0:IA0818是根据前述化学结构的经修饰寡核苷酸或者其可药用盐或立体异构体。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸:



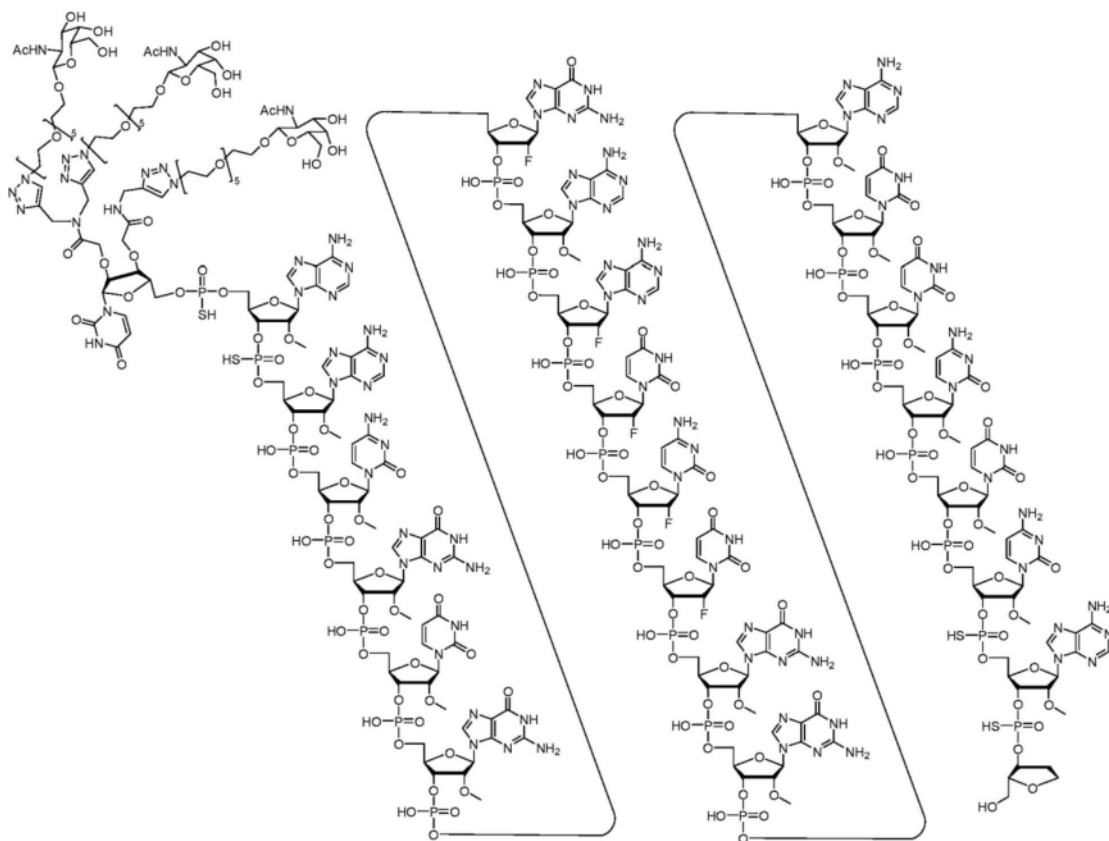
或者其可药用盐或立体异构体。在某些实施方案中,Ref ID N0:IS1058是根据前述化学结构的经修饰寡核苷酸或者其可药用盐或立体异构体。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸:



或者其可药用盐或立体异构体。在某些实施方案中,Ref ID N0:IA0864是根据前述化学结构的经修饰寡核苷酸或者其可药用盐或立体异构体。

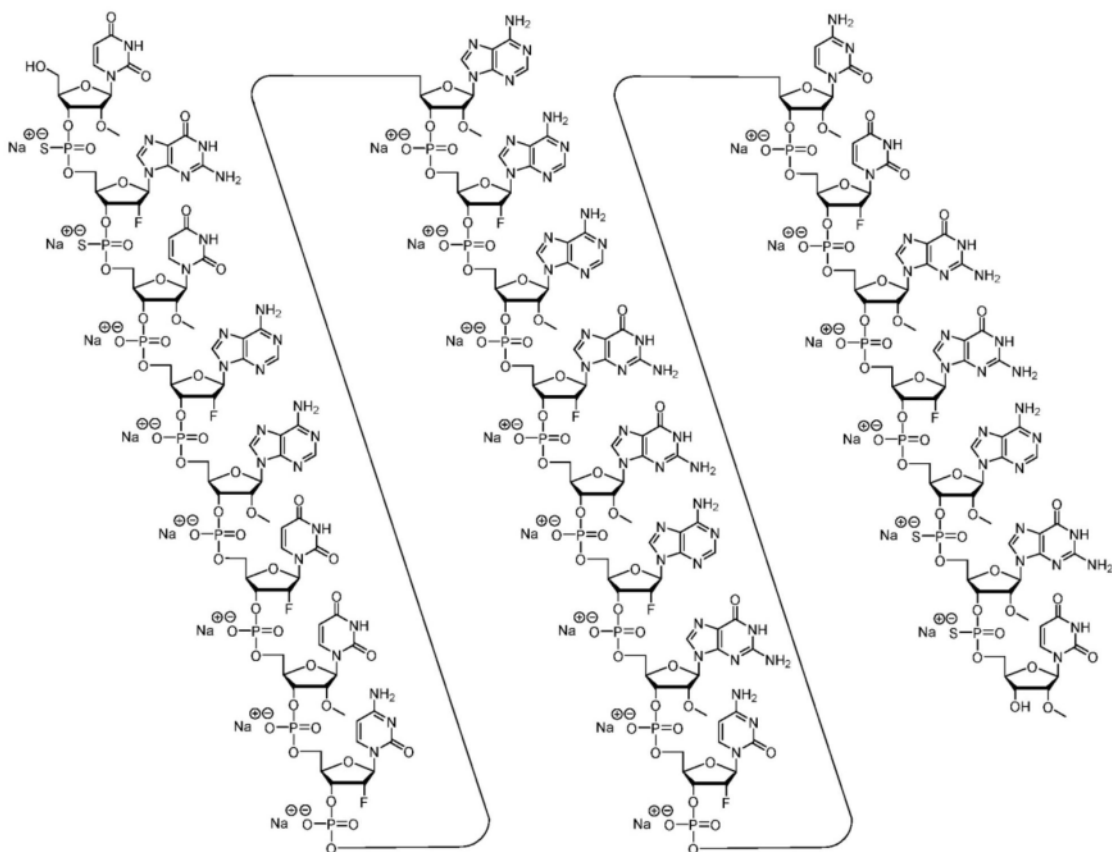
在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸:



或者其可药用盐或立体异构体。在某些实施方案中,Ref ID N0:IS1059是根据前述化学结构的经修饰寡核苷酸或者其可药用盐或立体异构体。

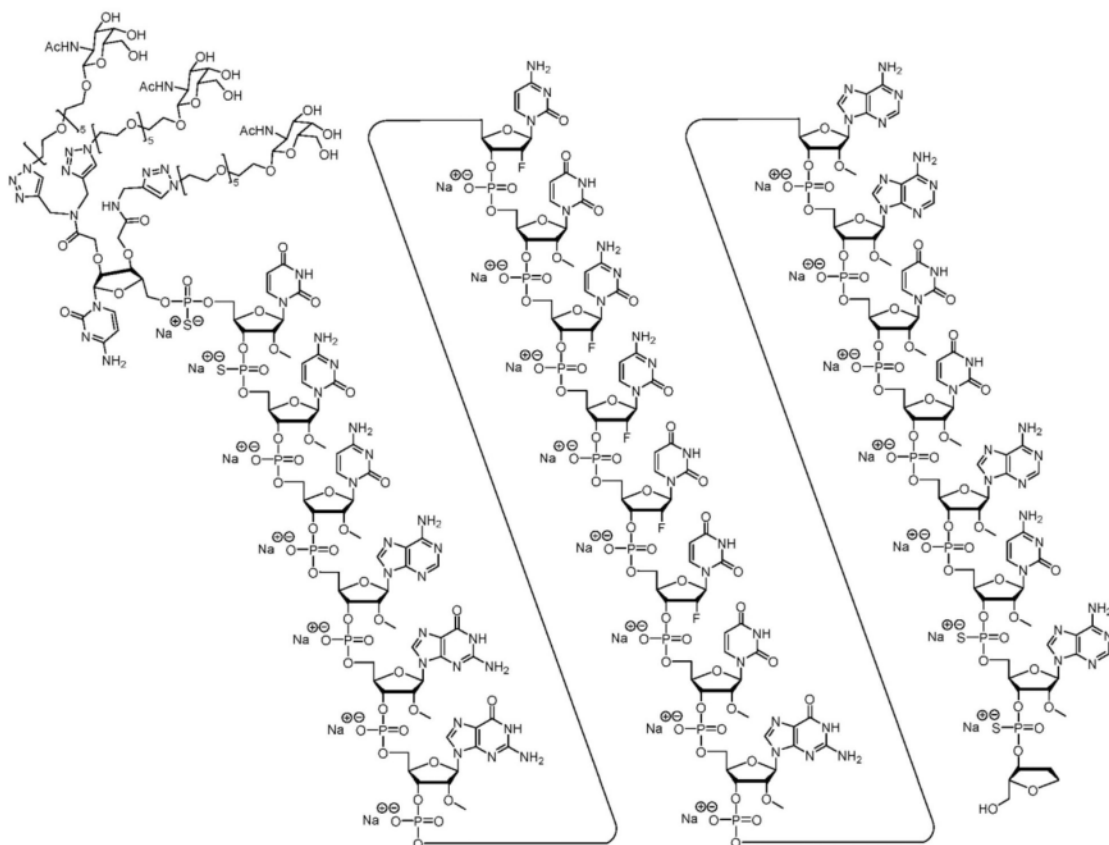
在某些实施方案中,本文中提供的经修饰寡核苷酸的可药用盐是钠盐或钾盐。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸的钠盐:



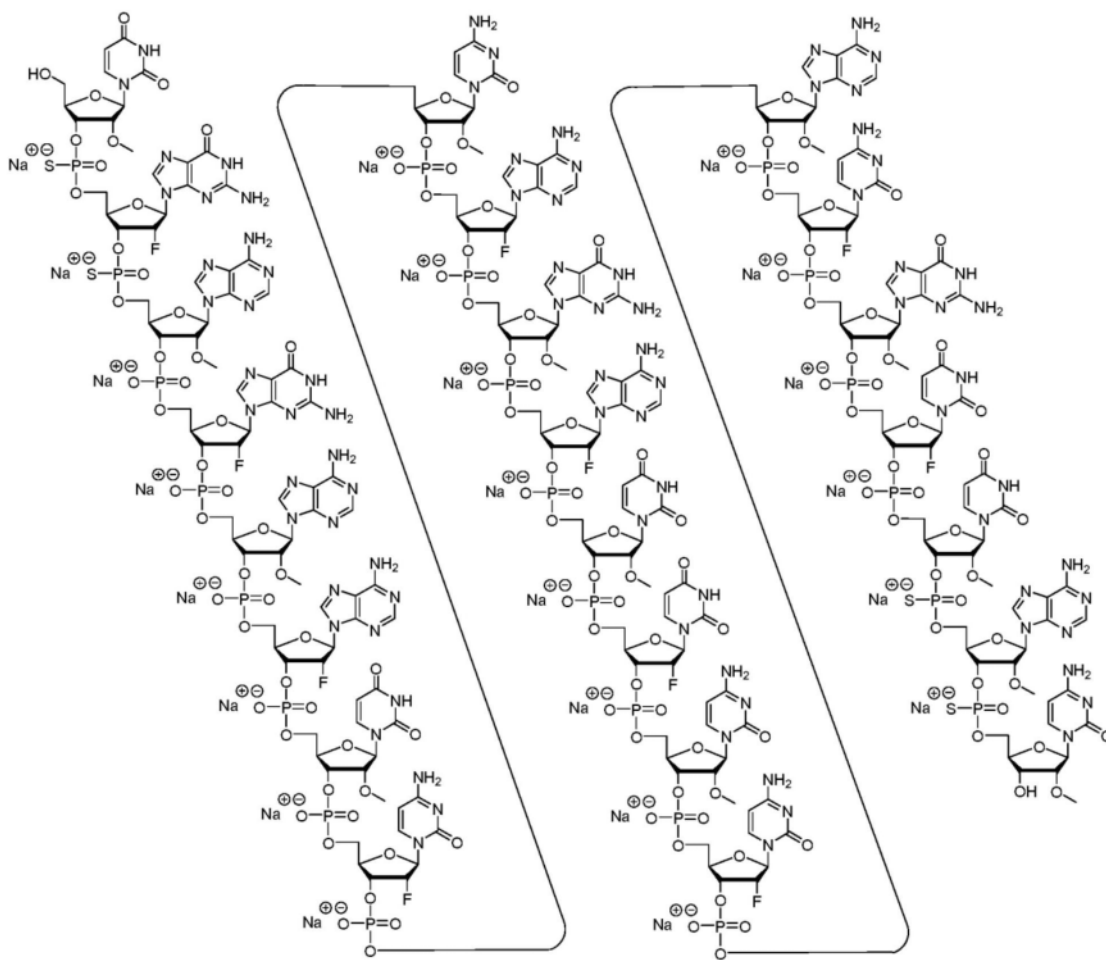
或其立体异构体。在某些实施方案中,Ref ID N0:IA0818是根据前述化学结构的经修饰寡核苷酸或其立体异构体。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸的钠盐:



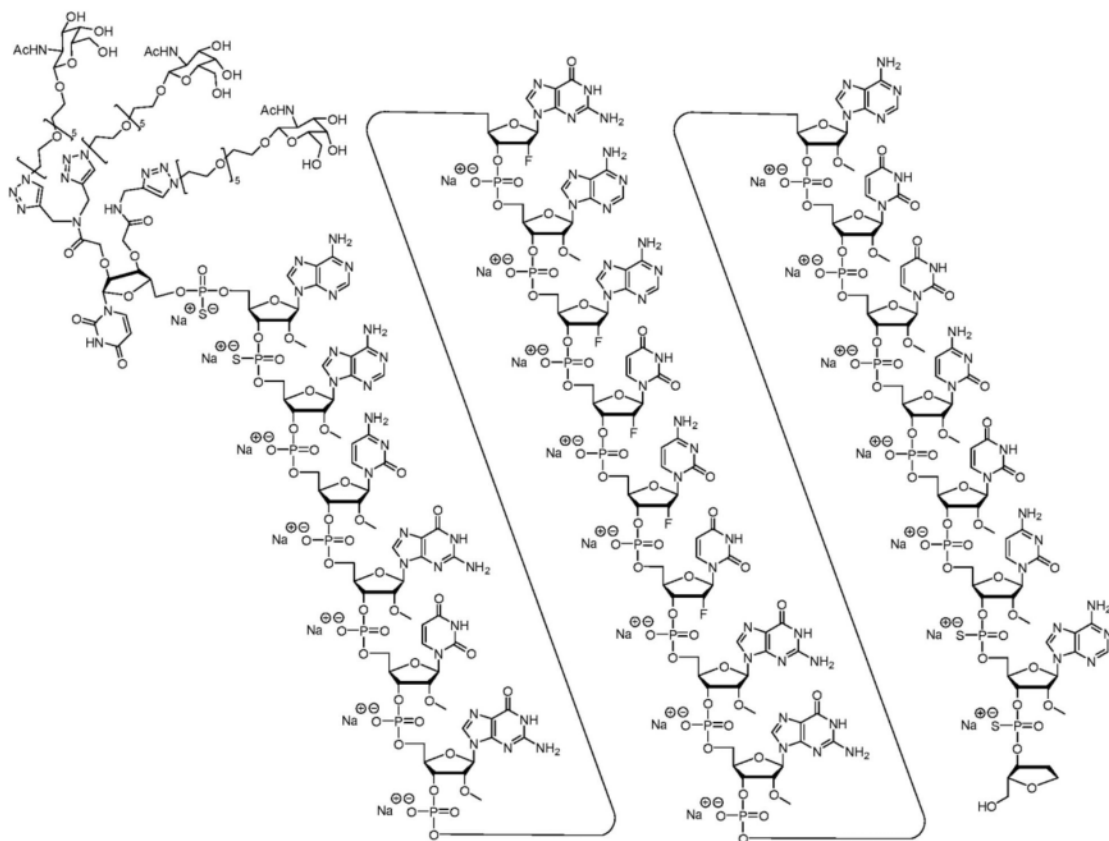
或其立体异构体。在某些实施方案中,Ref ID N0:IS1058是根据前述化学结构的经修饰寡核苷酸或其立体异构体。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸的钠盐:



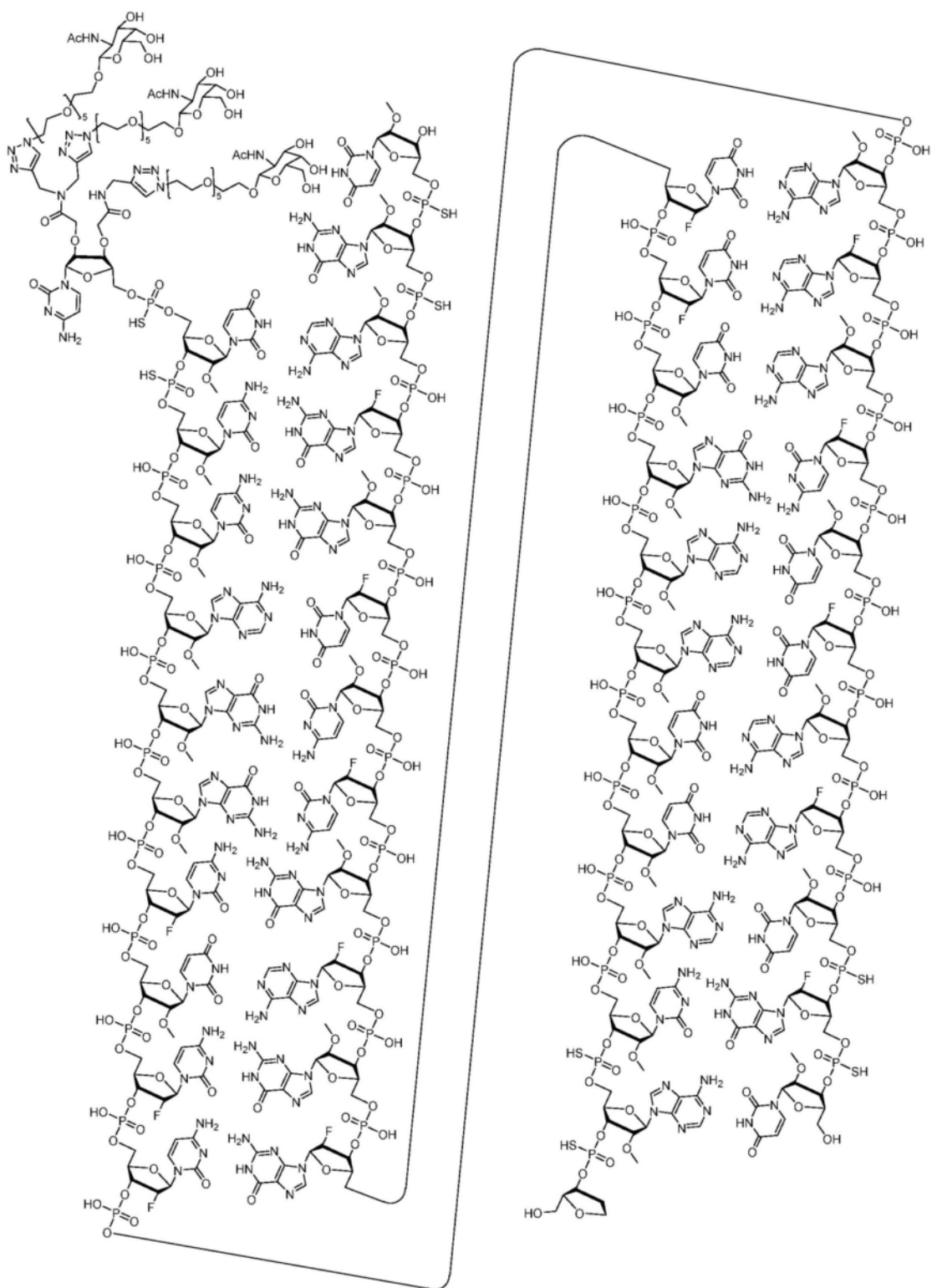
或其立体异构体。在某些实施方案中,Ref ID N0:IA0864是根据前述化学结构的经修饰寡核苷酸或其立体异构体。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的经修饰寡核苷酸的钠盐:



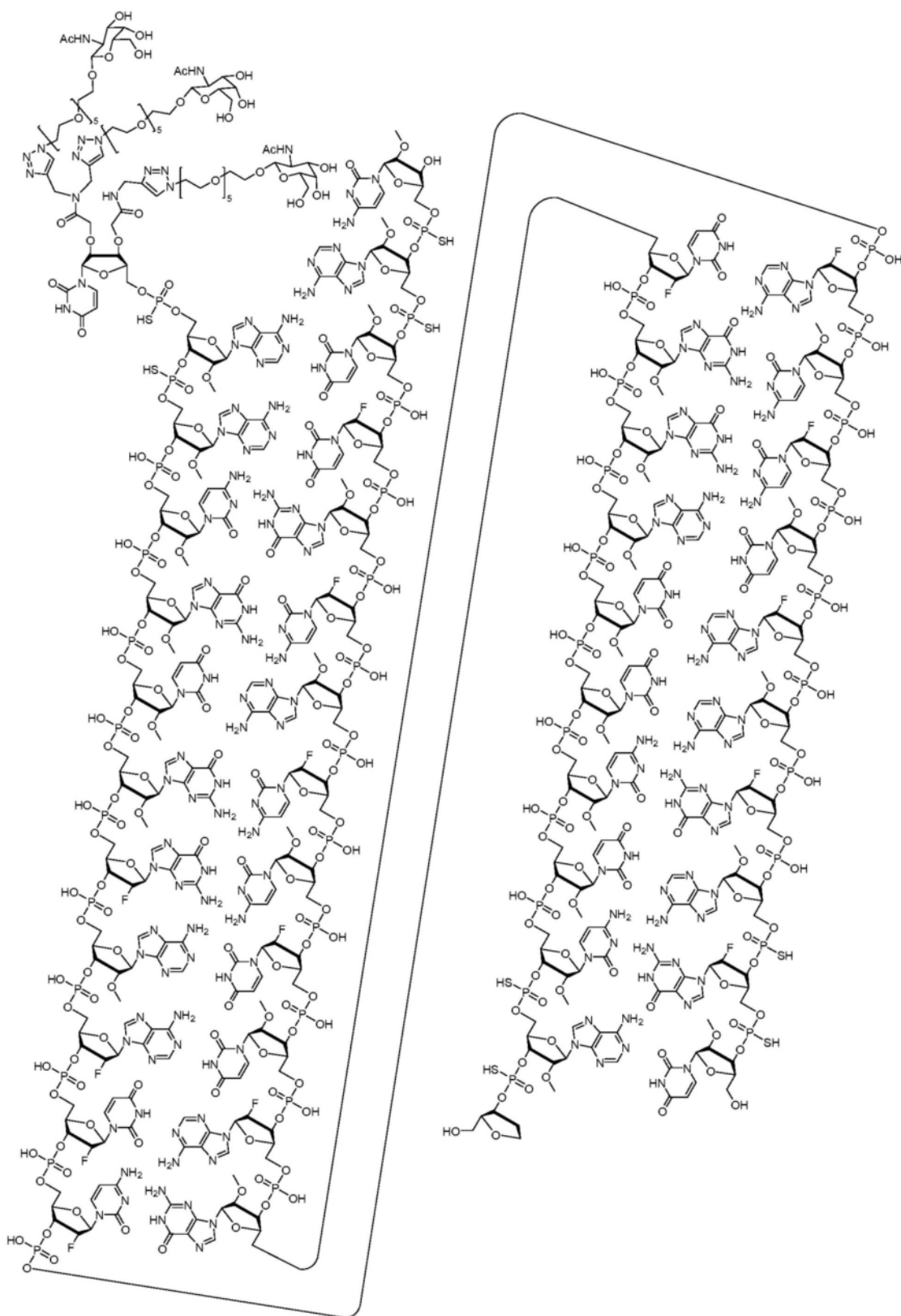
或其立体异构体。在某些实施方案中,Ref ID N0:IS1059是根据前述化学结构的经修饰寡核苷酸或其立体异构体。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的化合物:



或者其可药用盐或立体异构体。在某些实施方案中,化合物编号RD2423是根据前述化学结构的化合物或者其可药用盐或立体异构体。

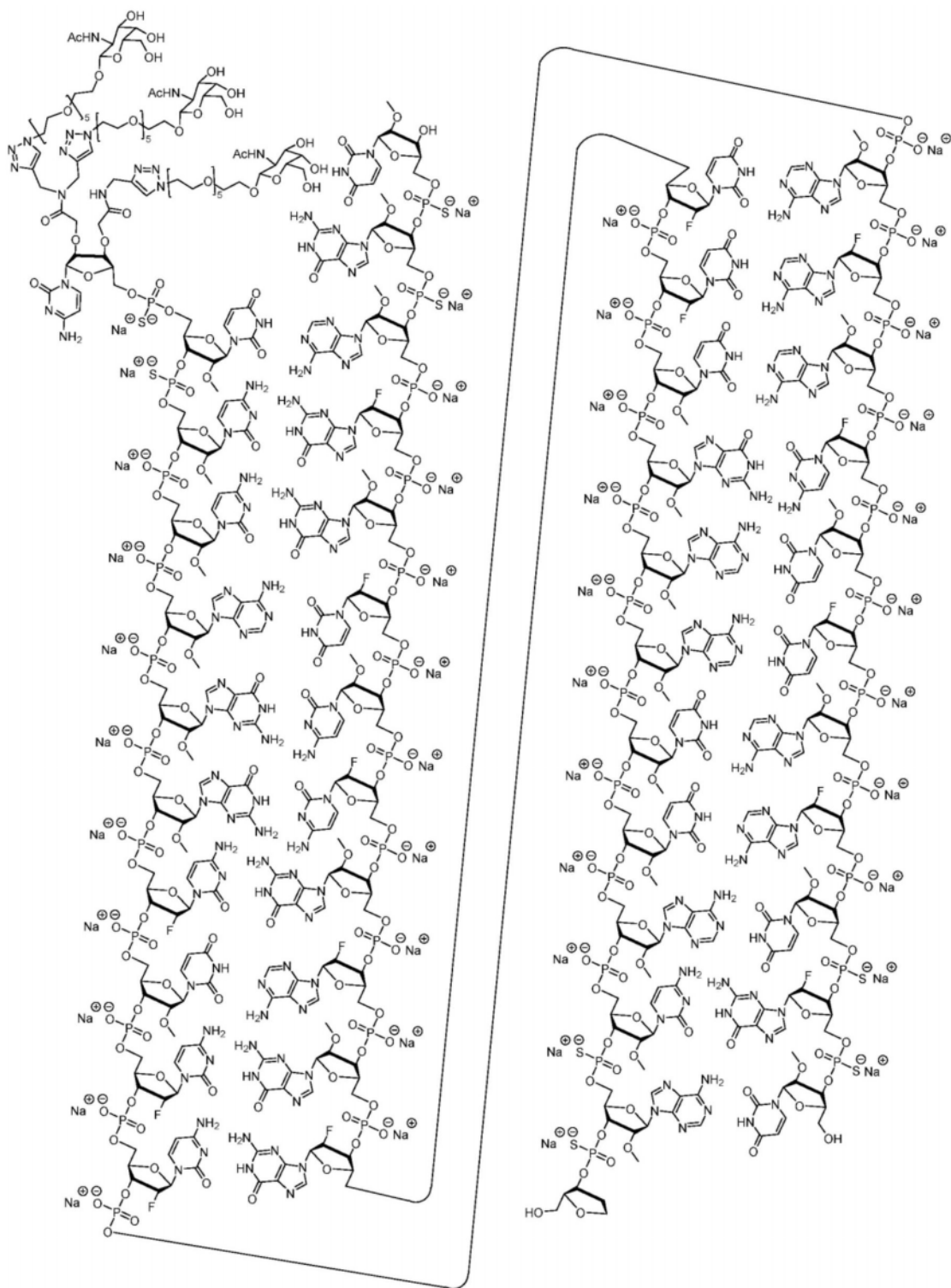
在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的化合物:



或者其可药用盐或立体异构体。在某些实施方案中,化合物编号RD2424是根据前述化学结构的化合物或者其可药用盐或立体异构体。

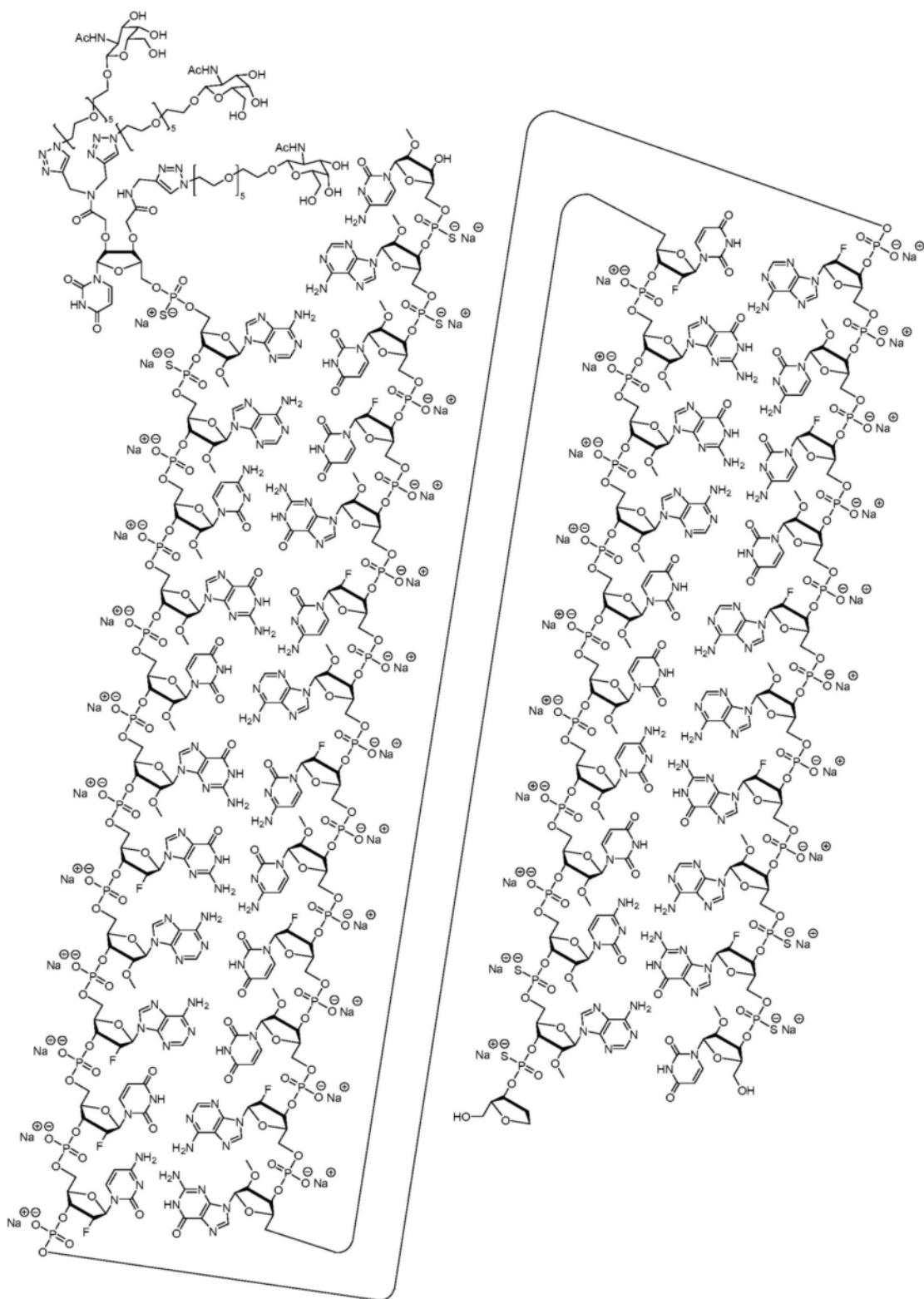
在某些实施方案中,本文中所提供化合物的可药用盐是钠盐或钾盐。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的化合物的钠盐:



或其立体异构体。在某些实施方案中,化合物编号RD2423是根据前述化学结构的化合物或其立体异构体。

在本文中提供的一个方面中,是根据以下化学结构的化合物的钠盐:



或其立体异构体。在某些实施方案中,化合物编号RD2424是根据前述化学结构的化合物或其立体异构体。

在某些实施方案中,本文中提供了经修饰寡核苷酸群,其中经修饰寡核苷酸的所有硫代磷酸酯核苷间键联均是立构无规的。在某些实施方案中,本文中提供了化合物群,其中经修饰寡核苷酸的所有硫代磷酸酯核苷间键联均是立构无规的。

某些实施方案提供了这样的组合物,其包含前述实施方案中任一项所述的化合物

以及可药用载体。

某些实施方案提供了包含任何前述实施方案所述化合物的组合物,其用于治疗。

某些实施方案提供了在个体中治疗、预防或改善与PKK和/或失调的激肽释放酶途径相关的疾病、障碍或病症的方法,其包括向个体施用靶向PKK的化合物,从而治疗、预防或改善该疾病、障碍或病症。在某些实施方案中,向个体施用任何前述实施方案所述的化合物或组合物。在某些实施方案中,疾病、障碍或病症是炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状。在某些实施方案中,疾病、障碍或病症是遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,施用该化合物抑制或减轻或改善炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状。在某些实施方案中,施用该化合物抑制或减轻或改善遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死,或者其症状。

在某些实施方案中,任一前述实施方案所述的化合物或包含该化合物的组合物以治疗有效量施用于个体。在某些实施方案中,包含任一前述实施方案所述化合物的组合物以足以递送约1至100mg/kg个体体重的剂量水平施用于个体。在某些实施方案中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物以约25mg至约1,000mg的固定剂量施用于个体。在某些实施方案中,所述化合物或组合物以多达所述剂量水平或固定剂量在一天中一次或更多次施用于个体。

在某些实施方案中,包含任一前述实施方案所述化合物的组合物每天、每周、每月、每季度或每年施用于个体。在某些实施方案中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物约每季度一次(即,每三个月一次)至约每年一次施用于个体。在某些实施方案中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物约每季度一次、约每六个月一次或约每年一次施用于个体。

某些实施方案提供了抑制细胞中PKK表达的方法,其包括使细胞与靶向PKK的化合物接触,从而抑制细胞中PKK的表达。在某些实施方案中,细胞在个体的肝中。在某些实施方案中,个体患有以下或者处于患有以下的风险之中:炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状。在某些实施方案中,个体患有以下或者处于患有以下的风险之中:遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

某些实施方案提供了在个体中减轻或抑制炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状的方法,其包括向个体施用靶向PKK的化合物,从而在个体中减轻或抑制炎性或血栓性疾病、障碍或病症或者其症状。在某些实施方案中,个体患有以下或者处于患有以下的风险之中:遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物是靶向PKK的化合物。在某些实施方案中,化合物是前述化合物中的任一者。在某些实施方案中,化合物或组合物肠胃外施用。

某些实施方案提供了靶向PKK的化合物用于治疗、预防或改善与PKK相关的疾病、障碍或病症的用途。在某些实施方案中,疾病、障碍或病症是炎性疾病、血栓性疾病、遗传性

血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物是靶向PKK的化合物。在某些实施方案中,化合物是前述化合物中的任一者。

某些实施方案提供了靶向PKK的化合物在制备用于治疗、预防或改善与PKK相关的疾病、障碍或病症的药物中的用途。在某些实施方案中,疾病、障碍或病症是炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物是靶向PKK的化合物。在某些实施方案中,化合物是前述化合物中的任一者。

某些适应证

在某些方面中,本公开内容涉及抑制PKK表达的方法,其可用于通过施用靶向PKK的化合物来在个体中治疗、预防或改善与PKK相关的疾病、障碍或病症。在某些实施方案中,化合物可以是PKK特异性抑制剂。在某些实施方案中,化合物可以是靶向PKK的反义寡核苷酸、寡聚化合物或寡核苷酸。

在某些方面中,本公开内容涉及治疗、预防或改善与PKK相关的疾病、障碍或病症。在某些实施方案中,可用本文中提供的方法治疗、预防和/或改善的与PKK相关的疾病、障碍或病症包括炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。本文中提供的某些化合物涉及这样的化合物和组合物,其在动物中减轻炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

在某些实施方案中,在个体中治疗、预防或改善与PKK相关的疾病、障碍或病症的方法包括向个体施用包含PKK特异性抑制剂的化合物,从而治疗、预防或改善该疾病、障碍或病症。在某些实施方案中,个体被鉴定为患有以下或者处于患有以下的风险之中:与PKK相关的疾病、障碍或病症。在某些实施方案中,疾病、障碍或病症是炎性疾病或血栓性疾病。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有由SEQ ID NO:307、312和626中任一者组成的核碱基序列。

在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在某些实施方案中,单链化合物的长度可以为14至30个、14至23个、14至20个、16至20个、或14至16个连接的核苷。在某些实施方案中,单链化合物的长度可以为14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个连接的核苷。在某些实施方案中,双链化合物可包含相同或不同长度的两个寡核苷酸,如本文中其他地方所述。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。

在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物肠胃外施用于个体。在某些实施方案中,施用该化合物在动物中改善、维持或预防炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

在某些实施方案中,在动物中治疗、预防或改善炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死的方法包括向个体施用包含PKK特异性抑制剂的化合物,从而治疗、预防或改善炎性疾病、血栓性疾病、遗传

性血管性水肿 (HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:

10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,施用该化合物在动物中改善、维持或预防炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,个体被鉴定为患有与PKK相关的疾病或者处于患有与PKK相关的疾病的风险之中。

在某些实施方案中,在患有与PKK相关的疾病、障碍或病症或者处于患有与PKK相关的疾病、障碍或病症的风险之中的个体中抑制PKK表达的方法包括向个体施用包含PKK特异性抑制剂的化合物,从而抑制该个体中PKK的表达。在某些实施方案中,施用该化合物抑制肝中PKK的表达。在某些实施方案中,疾病、障碍或病症是炎性疾病或血栓性疾病。在某些实施方案中,个体患有以下或者处于患有以下的风险之中:炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有选自SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡

核苷酸。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物肠胃外施用于个体。在某些实施方案中,施用该化合物改善、维持或预防炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。

在某些实施方案中,抑制细胞中PKK的表达的方法包括使细胞与包含PKK特异性抑制剂的化合物接触,从而抑制细胞中PKK的表达。在某些实施方案中,细胞是肝细胞。在某些实施方案中,细胞在肝中。在某些实施方案中,细胞在患有以下或者处于患有以下的风险之中的个体的肝中:炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30

个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。

在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

在某些实施方案中,在患有与PKK相关的疾病或者处于患有与PKK相关的疾病的风险之中的个体中减轻或抑制炎症性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死的方法包括向个体施用包含PKK特异性抑制剂的化合物,从而在个体中减轻或抑制炎症性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,个体患有以下或者处于患有以下的风险之中:炎症性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含

SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物肠胃外施用于个体。在某些实施方案中,个体被鉴定为患有与PKK相关的疾病、障碍或病症或者处于患有与PKK相关的疾病、障碍或病症的风险之中。

某些实施方案涉及包含PKK特异性抑制剂的化合物,其用于治疗与PKK相关的疾病、障碍或病症。在某些实施方案中,疾病、障碍或病症是炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案

中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物肠胃外施用于个体。

某些实施方案涉及包含PKK特异性抑制剂的化合物,其用于减轻或抑制炎症性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有

与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO: 10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

某些实施方案涉及包含PKK特异性抑制剂的化合物用于制造或制备用于治疗与PKK相关的疾病、障碍或病症的药物的用途。某些实施方案涉及包含PKK特异性抑制剂的化合物用于制备用于治疗与PKK相关的疾病、障碍或病症的药物的用途。在某些实施方案中,疾病是炎性或血栓性疾病。在某些实施方案中,疾病是遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO: 10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO: 10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO: 10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO: 307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO: 307、312和626中任一者的核碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO: 307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO: 468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO: 307、SEQ ID NO: 312和SEQ ID NO: 626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO: 468、SEQ ID NO: 611、SEQ ID NO: 616、SEQ ID NO: 619和SEQ ID NO: 629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO: 312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO: 619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO: 626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO: 629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO: 10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少

19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

某些实施方案涉及包含PKK特异性抑制剂的化合物用于制造或制备用于在患有与PKK相关的炎性疾病或血栓性疾病或者处于患有与PKK相关的炎性疾病或血栓性疾病的风险之中的个体中减轻或抑制炎性疾病、血栓性疾病的药物的用途。在某些实施方案中,炎性疾病或血栓性疾病是遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。某些实施方案涉及包含PKK特异性抑制剂的化合物用于制备用于治疗与PKK相关的疾病的药物的用途。在某些实施方案中,疾病是炎性疾病、血栓性疾病、遗传性血管性水肿(HAE)、水肿、血管性水肿、肿胀、眼睑血管性水肿、眼部水肿、黄斑水肿、脑水肿、血栓形成、栓塞、血栓栓塞、深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗死、卒中或梗死。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含靶向PKK的寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其选自SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:307、312和626中任一者的核碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:307、312或626的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的核碱基序列的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:312和SEQ ID NO:626的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含这样的

经修饰寡核苷酸,其具有选自SEQ ID NO:468、SEQ ID NO:611、SEQ ID NO:616、SEQ ID NO:619和SEQ ID NO:629的核碱基序列的核碱基序列。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:312的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:619的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含具有SEQ ID NO:626的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸和具有SEQ ID NO:629的核碱基序列的第二经修饰寡核苷酸。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是单链或双链的。在前述实施方案中的任一项中,化合物可以是反义寡核苷酸或寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631的核碱基序列中任一者的至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个连续核碱基的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有包含SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的核碱基序列;和第二经修饰寡核苷酸(例如,长度为14至30个,例如14至23个连接的核苷的经修饰寡核苷酸),其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,化合物包含具有选自SEQ ID NO:10至631中任一者的核碱基序列的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为19至23个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。

在前述方法或用途中的任一者中,化合物可以是寡聚化合物。在前述方法或用途中的任一者中,化合物可以是单链或双链的。在前述方法或用途中的任一者中,化合物可靶向PKK。在某些实施方案中,化合物包含经修饰寡核苷酸或者由其组成。在某些实施方案中,化合物包含一个或更多个经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含第一经修饰寡核苷酸和第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的长度为8至80个连接的核苷,长度为10至30个连接的核苷,长度为14至30个连接的核苷,长度为14至23个连接的核苷,或者长度为19至23个连接的核苷。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸在其长度上与SEQ ID NO:1、3、5或6中所记载核碱基序列中的任一者至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%互补。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸包含至少一个经修饰核苷间键联、至少一个经修饰糖和/或至少一个经修饰核碱基。在某些实施方案中,经修饰核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中,经修饰糖是双环糖、2'-MOE、2'-F或2'-OMe。在某些实施方案中,经修饰核碱基是5-甲基胞嘧啶。在前述实施方案中的任一项中,每个经修饰寡核苷酸的长度独立地为12至30个、14至30个、14至25个、14至24个、14至23个、16至23个、17至23个、18至23个、19至23个、19至22个、或19至20个连接的核苷。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸与SEQ ID NO:1、3、5或6的区域具有至少1个、至少2个、至少3个错配。

在前述方法或用途中的任一者中,化合物包含第一和第二经修饰寡核苷酸,其中在第一经修饰寡核苷酸与第二经修饰寡核苷酸之间存在互补区。在某些实施方案中,第一寡核苷酸与第二寡核苷酸之间的互补区的长度为14至23个、19至23个、或21至23个连接的核苷。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸与第二经修饰寡核苷酸完全互补。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸包含至少一个选自经修饰核苷间键联、经修饰糖和经修饰核碱基的修饰。在某些实施方案中,第二经修饰寡核苷酸包含至少一个选自经修饰核苷间

键联、经修饰糖和经修饰核碱基的修饰。在某些实施方案中,经修饰核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联或甲基磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中,经修饰核苷间键联在第一或第二经修饰寡核苷酸的3'端或者在第一或第二经修饰寡核苷酸的5'端。在某些实施方案中,第一或第二经修饰寡核苷酸包含一个或多个经修饰糖。在某些实施方案中,第一或第二经修饰寡核苷酸的每个核苷包含经修饰糖。在某些实施方案中,经修饰糖包含选自以下的修饰:卤素、烷氧基和双环糖。在某些实施方案中,经修饰糖包含选自以下的修饰:2'-MOE、2'-F和2'-OMe、或其组合。在某些实施方案中,第一或第二经修饰寡核苷酸包含不多于十个2'-F糖修饰。在某些实施方案中,第一或第二经修饰寡核苷酸包含不多于五个2'-F糖修饰。

在前述方法或用途中的任一者中,化合物包含缀合基团。在某些实施方案中,缀合基团与经修饰寡核苷酸的5'末端连接。在某些实施方案中,缀合基团是靶向部分。在某些实施方案中,靶向部分包含一个或多个GalNAc。在某些实施方案中,一个或多个GalNAc与核糖基环的2'或3'位连接。在某些实施方案中,一个或多个GalNAc与经修饰寡核苷酸的5'核苷连接。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷选自式I至VIII,或者其盐、溶剂合物或水合物,其中R是除5'核苷之外的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式I且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式I且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式II且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式II且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式III且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式III且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式IV且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式IV且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式V且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式V且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VI且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VI且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VII且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VII且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VIII且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VIII且R'是S。

在前述方法或用途中的任一者中,化合物包含选自Ref ID NO:IA0812至821中任一者的第一经修饰寡核苷酸,以及长度为14至21个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其与第一经修饰寡核苷酸完全互补。在某些实施方案中,化合物包含由IA0813组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1002组成的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含由IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1007组成的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含由IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1068组成的第二经修饰寡核苷酸。

在前述方法或用途中的任一者中,化合物包含选自Ref ID NO:IA0864至866中任一者的第一经修饰寡核苷酸;以及长度为14至21个连接的核苷的第二经修饰寡核苷酸,其与第一经修饰寡核苷酸完全互补。在某些实施方案中,化合物包含由IA0864组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1059组成的第二经修饰寡核苷酸。某些实施方案提供了这样的化合物,其包含选自Ref ID NO:IA0818和IA0864的第一经修饰寡核苷酸以及选自Ref ID NO:IS1058和IS1059的第二经修饰寡核苷酸。某些实施方案提供了这样的化合物,其包含由

IA0864组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1059组成的第二经修饰寡核苷酸。某些实施方案提供了这样的化合物,其包含由IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1058组成的第二经修饰寡核苷酸。

在某些实施方案中,化合物包含选自Ref ID NO: IA0818和IA0864的第一经修饰寡核苷酸以及选自Ref ID NO: IS1058和IS1059的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含由IA0864组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1059组成的第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含由IA0818组成的第一经修饰寡核苷酸和由IS1058组成的第二经修饰寡核苷酸。

在某些实施方案中,化合物为可药用盐形式。在某些实施方案中,可药用盐是钠盐。在某些实施方案中,可药用盐是钾盐。在某些实施方案中,组合物包含前述实施方案中任一项所述的化合物以及可药用载体。

在前述方法或用途中的任一者中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物以治疗有效量施用于个体。在某些实施方案中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物以足以递送约1至100mg/kg个体体重的剂量水平施用于个体。在某些实施方案中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物以约25mg至约1,000mg的固定剂量施用于个体。在某些实施方案中,所述组合物以多达所述剂量水平或固定剂量在一天中一次或更多次施用于个体。

在前述方法或用途中的任一者中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物每天、每周、每月、每季度或每年施用于个体。在某些实施方案中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物约每季度一次(即,每三个月一次)至约每年一次施用于个体。在某些实施方案中,任一前述实施方案所述化合物或包含该化合物的组合物约每季度一次、约每六个月一次或约每年一次施用于个体。

某些化合物

在某些方面中,本公开内容涉及包含寡聚化合物或由寡聚化合物组成的化合物。在某些实施方案中,寡聚化合物包含与靶核酸的核碱基序列互补的核碱基序列。

在某些方面中,本公开内容涉及包含经修饰寡核苷酸或由经修饰寡核苷酸组成的化合物。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸具有与靶核酸的核碱基序列互补的核碱基序列。

在某些方面中,本公开内容涉及包含反义寡核苷酸或由反义寡核苷酸组成的化合物。在某些实施方案中,反义寡核苷酸具有与靶核酸的核碱基序列互补的核碱基序列。

在某些方面中,本公开内容涉及为单链化合物的化合物。在某些实施方案中,单链化合物包含寡聚化合物或由寡聚化合物组成。在某些实施方案中,这样的寡聚化合物包含寡核苷酸和任选地缀合基团或者由寡核苷酸和任选地缀合基团组成。在某些实施方案中,寡核苷酸是经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,寡核苷酸是反义寡核苷酸。在某些实施方案中,单链化合物的寡核苷酸或经修饰寡核苷酸包含自身互补的核碱基序列。

在某些方面中,本公开内容涉及为双链化合物的化合物。在某些实施方案中,双链化合物包含寡聚化合物或由寡聚化合物组成。在某些实施方案中,双链化合物包含第一寡核苷酸和第二寡核苷酸。在某些实施方案中,第一寡核苷酸具有与靶核酸互补的区域,并且第二寡核苷酸具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,双链化合物包

含经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸具有与靶核酸互补的区域。在某些实施方案中,双链化合物包含第一经修饰寡核苷酸和第二经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,第一经修饰寡核苷酸具有与靶核酸互补的区域,并且第二经修饰寡核苷酸具有与第一经修饰寡核苷酸互补的区域。在某些实施方案中,双链化合物的寡核苷酸或经修饰寡核苷酸是RNA寡核苷酸。在这样的实施方案中,经修饰寡核苷酸中的胸腺嘧啶核碱基被尿嘧啶核碱基代替。

在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含缀合基团。在某些实施方案中,双链化合物的第一寡核苷酸或第一经修饰寡核苷酸包含缀合基团。在某些实施方案中,双链化合物的第二寡核苷酸或第二经修饰寡核苷酸包含缀合基团。在某些实施方案中,双链化合物的第一寡核苷酸或第一经修饰寡核苷酸以及第二寡核苷酸或第二经修饰寡核苷酸各自包含缀合基团。

在某些实施方案中,化合物的长度为14至30个连接的核苷。在某些实施方案中,双链化合物的第一寡核苷酸或第一经修饰寡核苷酸的长度为14至30个连接的核苷。在某些实施方案中,第二寡核苷酸或第二经修饰寡核苷酸的长度为14至30个连接的核苷。在某些实施方案中,双链化合物的寡核苷酸或经修饰寡核苷酸在化合物的一侧末端或两侧末端处是平末端的。在某些实施方案中,双链化合物的寡核苷酸或经修饰寡核苷酸在化合物的一侧末端或两侧末端处包含非互补的突出核苷。

在某些实施方案中,化合物具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的至少14个连续核碱基的核碱基序列。在某些实施方案中,双链化合物的寡核苷酸或经修饰寡核苷酸之一具有包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的至少14个连续核碱基的核碱基序列。

单链和双链化合物的一些实例包括但不限于寡核苷酸、反义寡核苷酸、siRNA、microRNA靶向寡核苷酸、基于占位的化合物(例如,mRNA加工或翻译阻断化合物和剪接化合物)、和单链RNAi化合物(例如,小发夹RNA(small hairpin RNA,shRNA)、单链siRNA(ssRNA)和microRNA模拟物)。

在某些实施方案中,本文中所述化合物具有这样的核碱基序列,当以5'至3'方向书写时,所述序列包含其所靶向的靶核酸的靶区域的反向互补序列。

在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为12至30个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为12至23个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为14至30个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为14至23个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为15至30个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为15至23个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为16至30个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为16至23个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为17至30个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为17至23个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为18至30个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本文中所述的化合物包含长度为18至23个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中，本

文中所述的化合物包含长度为19至30个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为19至23个连接的亚基的寡核苷酸。换言之,这样的寡核苷酸分别是12至30个连接的亚基、12至23个连接的亚基、14至30个连接的亚基、14至23个连接的亚基、15至30个连接的亚基、15至23个连接的亚基、16至30个连接的亚基、16至23个连接的亚基、17至30个连接的亚基、17至23个连接的亚基、18至30个连接的亚基、18至23个连接的亚基、19至30个连接的亚基或19至23个连接的亚基。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为14个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为16个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为17个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为18个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为19个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为20个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为21个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为22个连接的亚基的寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为23个连接的亚基的寡核苷酸。在另一些实施方案中,本文中所述的化合物包含8至80、12至50、13至30、13至50、14至30、14至50、15至30、15至50、16至30、16至50、17至30、17至50、18至23、18至24、18至25、18至50、19至23、19至30、19至50、20至23、或20至30个连接的亚基的寡核苷酸。在某些这样的实施方案中,本文中所述的化合物包含长度为8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个连接的亚基的寡核苷酸,或由上述值中的任何两个所限定的范围。

在某些实施方案中,化合物还可包含另外的部分,例如缀合基团或递送部分。在某些实施方案中,这样的化合物是寡聚化合物,并且另外的部分与寡核苷酸连接。在某些实施方案中,缀合基团与寡核苷酸的核苷连接。

在某些实施方案中,化合物可以是缩短或截短的。例如,一个或更多个亚基可从寡核苷酸的5'末端(5'截短)或替代地从3'末端(3'截短)缺失。

在某些实施方案中,化合物可以被延长。例如,一个或更多个亚基可以与寡核苷酸的3'末端或5'末端连接。在某些实施方案中,至少一个亚基(例如,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50

或更多个亚基)与寡核苷酸的5'末端连接。在某些实施方案中,至少一个亚基(例如,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50

或更多个亚基)与寡核苷酸的3'末端连接。在某些实施方案中,至少一个或更多个亚基可以与双链化合物的寡核苷酸的3'末端或5'末端连接,产生3'和/或5'末端突出端。在某些实施方案中,至少一个亚基(例如,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50

或更多个亚基)与双链化合物的两个寡核苷酸的5'末端连接。在某些实施方案中,至少一个亚基(例如,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,

48,49,50

或更多个亚基)与双链化合物的两个寡核苷酸的3'末端连接。在某些实施方案中,亚基在同一末端与双链化合物的两个寡核苷酸连接(例如,亚基与寡核苷酸中的一个的3'末端连接,并且亚基与另一个寡核苷酸的5'末端连接)。在某些实施方案中,当亚基在同一末端与双链化合物的两个寡核苷酸连接时,与每个寡核苷酸连接的亚基数目可以相同或可以不同。在某些实施方案中,当亚基在同一末端与双链化合物的两个寡核苷酸连接时,与每个寡核苷酸连接的亚基数目是相同的。在某些实施方案中,当亚基在同一末端与双链化合物的两个寡核苷酸连接时,与每个寡核苷酸连接的亚基数目不同。其中亚基在同一末端与双链化合物的两个寡核苷酸连接的情况可以发生在双链化合物的一侧末端或两侧末端。在某些实施方案中,与3'和/或5'末端连接的亚基被修饰。

在某些实施方案中,本文中所述的化合物是寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物是经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物是反义寡核苷酸。在某些实施方案中,本文中所述的化合物是寡聚化合物。在某些实施方案中,本文中所述的化合物是RNAi化合物。在某些实施方案中,本文中所述的化合物是siRNA化合物。

在某些实施方案中,本文中所述的化合物可包含本文中所述的靶向PKK的寡核苷酸序列中的任一者。在某些实施方案中,化合物可以是双链的。

在某些实施方案中,化合物包含这样的寡核苷酸,其包含SEQ ID NO:10至313、626、627和628中任一者的至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个连续核碱基的部分。在某些实施方案中,化合物包含这样的寡核苷酸,其包含SEQ ID NO:307、312或626的至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个连续核碱基的部分。在某些实施方案中,化合物包含第二寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物包含这样的寡核苷酸,其包含SEQ ID NO:468、611、616、619或629的至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个连续核碱基的部分。在某些实施方案中,化合物包含第一寡核苷酸和第二寡核苷酸,所述第一寡核苷酸包含SEQ ID NO:312的至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个连续核碱基的部分,所述第二寡核苷酸包含SEQ ID NO:619的至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个连续核碱基的部分。在某些实施方案中,化合物包含第一寡核苷酸和第二寡核苷酸,所述第一寡核苷酸包含SEQ ID NO:626的至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个连续核碱基的部分,所述第二寡核苷酸包含SEQ ID NO:629的至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个连续核碱基的部分。

在某些实施方案中,化合物包含核糖核苷酸,其中对于在此提供的任何序列,寡核苷酸具有代替胸腺嘧啶(T)的尿嘧啶(U)。在某些实施方案中,化合物包含脱氧核糖核苷酸,其中对于在此提供的任何序列,寡核苷酸具有代替尿嘧啶(U)的胸腺嘧啶(T)。

某些机制

在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含经修饰寡核苷酸或由经修饰寡核苷酸组成。在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含反义寡核苷酸或由反义寡核苷酸组成。在某些实施方案中,化合物包含寡聚化合物或由寡聚化合物组成。在某些实施方案中,本文中所述的化合物能够与靶核酸杂交。在某些实施方案中,本文中所述的化合物选择性地影响一个或更多个靶核酸。这样的化合物包含这样的核碱基序列:与一个或更多个靶核

酸杂交从而产生一种或更多种期望活性,以及不与一个或更多个非靶核酸杂交,或者不以导致显著的不期望活性的这样的方式与一个或更多个非靶核酸杂交。

在某些实施方案中,本文中所述的化合物与靶核酸的杂交导致一个或更多个引起靶核酸切割的蛋白质的募集。例如,将本文中所述的某些化合物或化合物的一部分装载到RNA诱导的沉默复合物(RISC)中,最终导致靶核酸的切割。例如,本文中所述的某些化合物导致靶核酸被Argonaute切割。装载到RISC中的化合物是RNAi化合物。RNAi化合物可以是双链(siRNA)或单链(ssRNA)。

在某些实施方案中,本文中所述的化合物与靶核酸的杂交不会导致切割靶核酸的蛋白质的募集。在某些这样的实施方案中,化合物与靶核酸的杂交导致靶核酸剪接的改变。在某些实施方案中,化合物与靶核酸的杂交导致靶核酸与蛋白质或其他核酸之间结合相互作用的抑制。在某些这样的实施方案中,化合物与靶核酸的杂交导致RNA加工的改变。在某些这样的实施方案中,化合物与靶核酸的杂交导致靶核酸翻译的改变。

可直接或间接观察化合物与靶核酸杂交产生的活性。在某些实施方案中,活性的观察或检测涉及观察或检测靶核酸或由这样的靶核酸编码的蛋白质的量的变化、核酸或蛋白质的剪接变体的比例的变化、和/或者细胞或动物中的表型变化。

某些修饰

在某些方面中,本公开内容涉及包含寡核苷酸或由寡核苷酸组成的化合物。寡核苷酸由连接的核苷组成。在某些实施方案中,寡核苷酸可以是未经修饰的RNA或DNA,或者可以是经修饰的。在某些实施方案中,寡核苷酸是经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,相对于未经修饰的RNA或DNA,经修饰寡核苷酸包含至少一个经修饰糖、经修饰核碱基或经修饰核苷间键联。在某些实施方案中,寡核苷酸具有经修饰核苷。经修饰核苷可包含经修饰糖、经修饰核碱基、或者经修饰糖和经修饰核碱基二者。经修饰寡核苷酸还可包括末端修饰,例如5'-末端修饰和3'-末端修饰。

糖修饰和基序

在某些实施方案中,经修饰糖是经取代呋喃糖基糖或非双环经修饰糖。在某些实施方案中,经修饰糖是双环或三环经修饰糖。在某些实施方案中,经修饰糖是糖替代物。糖替代物可包含一个或更多个本文中所述的取代物。

在某些实施方案中,经修饰糖是经取代呋喃糖基或非双环经修饰糖。在某些实施方案中,呋喃糖基糖是核糖基糖。在某些实施方案中,呋喃糖基糖包含一个或更多个取代基,包括但不限于2'、3'、4'和5'位处的取代基。

在某些实施方案中,2'位处的取代基包括但不限于F和OCH₃ (“OMe”、“O-甲基”或“甲氧基”)。在某些实施方案中,适合于非双环经修饰糖的2'位处的取代基包括但不限于卤素、烯丙基、氨基、叠氮基、SH、CN、OCN、CF₃、OCF₃、F、Cl、Br、SCH₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ON₂、N₂O、N₃和NH₂。在某些实施方案中,2'位处的取代基包括但不限于O-(C₁-C₁₀)烷氧基、烷氧基烷基、O-烷基、S-烷基、N-烷基、O-烯基、S-烯基、N-烯基、O-炔基、S-炔基、N-炔基、O-烷基-O-烷基、炔基,其中烷基、烯基和炔基可以是经取代或未经取代的C₁至C₁₀烷基或者C₂至C₁₀烯基和炔基。在某些实施方案中,2'位处的取代基包括但不限于烷芳基、芳烷基、O-烷芳基和O-芳烷基。在某些实施方案中,这些2'取代基可进一步被一个或更多个独立选自以下的取代基取代:羟基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基(N₂O)、硫醇、硫代烷氧基、硫代烷基、卤素、烷

基、芳基、烯基和炔基。在某些实施方案中,2' 位处的取代基包括但不限于 $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$ 、 $O(CH_2)_nOCH_3$ 、 $O(CH_2)_nCH_3$ 、 $O(CH_2)_nONH_2$ 、 $O(CH_2)_nNH_2$ 、 $O(CH_2)_nSCH_3$ 和 $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3]_2$,其中n和m独立地为1至约10。在某些实施方案中,2' 位处的取代基包括但不限于 $OCH_2CH_2OCH_3$ (“MOE”)、 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ (“DMAOE”)、 $O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ (“DMAEOE”)和 $OCH_2C(=O)-N(H)CH_3$ (“NMA”)。

在某些实施方案中,适合于非双环经修饰糖的在4' 位处的取代基包括但不限于烷氧基(例如,甲氧基)、烷基以及Manoharan et al., WO 2015/106128中描述的那些。在某些实施方案中,适合于非双环经修饰糖的在5' 位处的取代基包括但不限于甲基 (“Me”) (R或S)、乙烯基和甲氧基。在某些实施方案中,2'、4' 和5' 位的本文中所述的取代基可被添加至糖上的其他特定位置。在某些实施方案中,这样的取代基可被添加至3' 端核苷上的糖的3' 位或5' 端核苷的5' 位。在某些实施方案中,非双环经修饰糖可包含多于一个非桥接糖取代基。在某些这样的实施方案中,非双环经修饰糖取代基包括但不限于5' -Me-2' -F、5' -Me-2' -OMe(包括R和S异构体二者)。在某些实施方案中,经修饰糖取代基包括Migawa et al., WO 2008/101157和Rajeev et al., US2013/0203836中描述的那些。

在某些实施方案中,经修饰糖是双环糖。双环糖是包含两个环的经修饰糖,其中第二环通过连接第一环中的两个原子的桥而形成,从而形成双环结构。在某些实施方案中,双环糖包含桥接呋喃糖基环的两个原子以形成第二环的桥接取代基。在某些实施方案中,双环糖不包含呋喃糖基部分。“双环核苷” (“BNA”)是具有双环糖的核苷。在某些实施方案中,双环糖包含4' 与2' 呋喃糖环原子之间的桥。在某些实施方案中,双环糖包含5' 与3' 呋喃糖环原子之间的桥。在某些这样的实施方案中,呋喃糖环是核糖环。在某些实施方案中,4' 至2' 桥接取代基包括但不限于4' -CH₂-2'、4' -(CH₂)₂-2'、4' -(CH₂)₃-2'、4' -CH₂-O-2' (“LNA”)、4' -CH₂-S-2'、4' -(CH₂)₂-O-2' (“ENA”)、4' -CH(CH₃)-O-2' (当处于S构型时为“约束性乙基”或“cEt”)、4' -CH₂-O-CH₂-2'、4' -CH₂-N(R)-2'、4' -CH(CH₂OCH₃)-O-2' (“约束性MOE”或“cMOE”)及其类似物(例如,美国专利No. 7,399,845)、4' -C(CH₃)(CH₃)-O-2' 及其类似物(例如,美国专利No. 8,278,283)、4' -CH₂-N(OCH₃)-2' 及其类似物(例如,美国专利No. 8,278,425)、4' -CH₂-O-N(CH₃)-2' (例如,美国专利公开No. 2004/0171570)、4' -CH₂-N(R)-O-2', 其中R是H、C₁-C₁₂烷基或保护基(例如,美国专利No. 7,427,672)、4' -CH₂-C(H)(CH₃)-2' (例如, Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134和4' -CH₂-C(=CH₂)-2' 及其类似物(例如,美国专利No. 8,278,426)。前述各自的全部内容在此通过引用并入本文。教导制备双环核酸核苷酸的另外的代表性美国专利和美国专利出版物包括但不限于以下:

美国专利No. 6,268,490; 6,525,191; 6,670,461; 6,770,748; 6,794,499; 6,998,484; 7,053,207; 7,034,133; 7,084,125; 7,399,845; 7,427,672; 7,569,686; 7,741,457; 8,022,193; 8,030,467; 8,278,425; 8,278,426; 8,278,283; US 2008/0039618; 和US 2009/0012281, US 2013/0190383; 和WO 2013/036868,

其各自的全部内容在此通过引用并入本文。可制备具有一种或更多种立体化学糖构型的任何前述双环核苷,包括例如 α -L-呋喃核糖和 β -D-呋喃核糖(参见例如WO 99/14226)。除非另有说明,否则本文中指定的双环核苷为 β -D构型。

在某些实施方案中,经修饰糖是糖替代物。在某些实施方案中,糖替代物有氧原子例如被硫、碳或氮原子代替。在某些这样的实施方案中,糖替代物还可包含如本文中所述的

桥接和/或非桥接取代基。在某些实施方案中,糖替代物包含具有除5个原子之外的环。在某些这样的实施方案中,糖替代物包含代替戊呋喃糖基糖的环丁基部分。在某些实施方案中,糖替代物包含代替戊呋喃糖基糖的六元环。在某些实施方案中,糖替代物包含代替戊呋喃糖基糖的四氢吡喃(“THP”)。在某些实施方案中,糖替代物包含代替戊呋喃糖基糖的吗啉代。教导制备这样的经修饰糖结构的代表性美国专利包括但不限于

美国专利No.4,981,957;5,118,800;5,166,315;5,185,444;5,319,080;5,359,044;5,393,878;5,446,137;5,466,786;5,514,785;5,519,134;5,567,811;5,576,427;5,591,722;5,597,909;5,610,300;5,627,053;5,639,873;5,646,265;5,658,873;5,670,633;5,700,920;7,875,733;7,939,677,8,088,904;8,440,803;和9,005,906,

前述各自的全部内容在此通过引用并入本文。

在一些实施方案中,糖替代物包含无环部分(acyclic moiety)。在某些实施方案中,糖替代物是解锁核酸(“UNA(unlocked nucleic acid)”)。UNA是解锁无环核酸,其中糖的任一键已被去除,形成解锁的“糖”残基。在一个实例中,UNA还涵盖其中C1'至C4'之间的键(即C1'与C4'碳之间的共价碳-氧-碳键)已被去除的单体。在另一个实例中,糖的C2'-C3'键(即,C2'与C3'碳之间的共价碳-碳键)已被去除。教导制备UNA的代表性美国出版物包括但不限于美国专利No.8,314,227;和美国专利公开No.2013/0096289、2013/0011922和2011/0313020,其各自的全部内容在此通过引用并入本文。在某些实施方案中,糖替代物包含肽核酸(“PNA(peptide nucleic acid)”)、无环丁基核酸(参见例如,Kumar et al., Org.Biomol.Chem.,2013,11,5853-5865),以及在Manoharan et al.,US2013/130378中描述的核苷和寡核苷酸,其全部内容在此通过引用并入本文。本领域已知的许多其他双环和三环糖和糖替代环系统可用于经修饰核苷。

在某些方面中,本公开内容涉及包含至少一个寡核苷酸的化合物,其中这样的寡核苷酸的核苷包含一种或更多种类型的经修饰糖和/或未经修饰糖,其以限定的模式或“糖基序”沿寡核苷酸或其区域排列。在某些情况下,这样的糖基序包括但不限于本文中所述的任何糖修饰模式。

在某些实施方案中,寡核苷酸包含间隔聚体糖基序。间隔聚体寡核苷酸包含以下或由以下组成:具有两个外部“翼”区和中央或内部“间隔”区的区域。间隔区和翼区形成核苷的连续序列,其中每个翼的大部分核苷糖不同于间隔的大部分核苷糖。在某些实施方案中,翼区包含大部分经修饰糖,并且间隔包含大部分未经修饰糖。在某些实施方案中,间隔的核苷是脱氧核苷。具有间隔聚体糖基序的化合物在例如美国专利8,790,919中描述,其全部内容在此通过引用并入本文。

在某些实施方案中,双链化合物的一个或两个寡核苷酸包含三联体糖基序。具有三联体糖基序的寡核苷酸在三个连续的核苷上包含三个相同的糖修饰。在某些实施方案中,三联体在寡核苷酸的切割位点处或附近。在某些实施方案中,双链化合物的寡核苷酸可包含多于一个三联体糖基序。在某些实施方案中,三联体糖基序的相同糖修饰是2'-F修饰。例如在美国专利10,668,170中公开了具有三联体糖基序的化合物,所述专利的全部内容通过引用并入本文。

在某些实施方案中,双链化合物的一个或两个寡核苷酸包含四联体糖基序。具有四联体糖基序的寡核苷酸在四个连续的核苷上包含四个相同的糖修饰。在某些实施方案

中,四联体在切割位点处或附近。在某些实施方案中,双链化合物的寡核苷酸可包含多于一个四联体糖基序。在某些实施方案中,四联体糖基序的相同糖修饰是2'-F修饰。对于具有长度为19至23个核苷酸的双链体区域的双链化合物,反义寡核苷酸的切割位点通常在距5'末端约第10、11和12位处。在某些实施方案中,从有义寡核苷酸5'末端的第一个核苷开始计数,或从有义寡核苷酸5'末端的双链体区域内的第一个配对核苷酸开始计数,四联体糖基序在有义寡核苷酸的8、9、10、11位处;第9、10、11、12位处;第10、11、12、13位处;第11、12、13、14位处;或第12、13、14、15位处。在某些实施方案中,从反义寡核苷酸5'末端的第一个核苷开始计数,或从反义寡核苷酸5'末端的双链体区域内的第一个配对核苷酸开始计数,四联体糖基序在反义寡核苷酸的8、9、10、11位处;第9、10、11、12位处;第10、11、12、13位处;第11、12、13、14位处;或第12、13、14、15位处。切割位点可根据双链化合物的双链体区域的长度而变化,并可相应地改变四联体的位置。

在某些实施方案中,寡核苷酸包含交替糖基序。在某些实施方案中,双链化合物的一个或两个寡核苷酸包含交替糖基序。具有交替糖基序的寡核苷酸包含至少两种不同的糖修饰,其中包含第一糖修饰的一个或更多个连续核苷与包含第二糖修饰的一个或更多个连续核苷和包含第三糖修饰的一个或更多个连续核苷等交替。例如,如果A、B和C各自代表核苷的一种修饰类型,则交替基序可以是

“ABABABABABAB...”, “AABBAABBAABB...”, “AABAABAABAAB...”, “AAABAABAABAAB...”, “AAABBBAAABBB...”, 或“ABCABCABCABC...”等。

在某些实施方案中,交替糖基序沿寡核苷酸重复至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个连续核碱基。在某些实施方案中,交替糖基序由两种不同的糖修饰构成。在某些实施方案中,交替糖基序包含2'-OMe和2'-F糖修饰。

在某些实施方案中,寡核苷酸的每个核苷被一个或更多个本文中提供的糖修饰独立地修饰。在某些实施方案中,双链化合物的每个寡核苷酸独立地具有一个或更多个本文中提供的糖基序。在某些实施方案中,含糖基序的寡核苷酸被完全修饰,因为除含糖基序的核苷之外的每个核苷都含糖修饰。

核碱基修饰和基序

在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸包含一个或更多个含有经修饰核碱基的核苷。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸包含一个或更多个不含核碱基的核苷,称为无碱基核苷。

在某些实施方案中,经修饰核碱基选自:5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶、烷基或炔基取代的嘧啶、烷基取代的嘌呤以及N-2、N-6和O-6取代的嘌呤。在某些实施方案中,经修饰核碱基选自:2-氨基丙基腺嘌呤、5-羟基甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、6-N-甲基鸟嘌呤、6-N-甲基腺嘌呤、2-丙基腺嘌呤、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶、5-丙炔基(C≡C-CH₃)尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶、5-核糖基尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-卤代、8-氨基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羟基、8-氮杂和另一些8-取代的嘌呤、5-卤代特别是5-溴、5-三氟甲基、5-卤代尿嘧啶和5-卤代胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤、7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-氨基腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤、7-脱氮腺嘌呤、3-脱氮鸟嘌呤、3-脱氮腺嘌呤、6-N-苯甲酰基腺嘌呤、2-N-异丁酰基鸟嘌呤、4-N-苯甲酰基胞嘧啶、4-N-苯甲酰基尿嘧啶、5-甲基4-N-苯甲酰基胞嘧啶、5-甲基4-N-

苯甲酰基尿嘧啶、通用碱基、疏水碱基、泛主碱基 (promiscuous base)、尺寸扩大的碱基 (size expanded base) 和氟化碱基。进一步经修饰核碱基包括三环嘧啶, 例如1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮、1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮和9-(2-氨基乙氧基)-1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮 (G-clamp)。经修饰核碱基还可包括其中嘌呤或嘧啶碱基被其他杂环 (例如, 7-脱氮-腺嘌呤、7-脱氮鸟苷、2-氨基吡啶和2-吡啶酮) 代替的那些。

另一些核碱基包括以下中公开的那些:

美国专利3,687,808; Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008; The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, 第858-859页; Kroschwitz, J.L., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859; Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613; Sanghvi, Y.S., 第15章, dsRNA Research and Applications, 第289-302页; Antisense Research and Applications, Crooke, S.T. and Lebleu, B., Eds., CRC Press, 1993, 273-288; Antisense Drug Technology, Crooke S.T., Ed, CRC Press, 2008, 163-166 和 442-443 (第6章和第15章),

其各自在此通过引用并入本文。

教导制备某些上述经修饰核碱基以及其他经修饰核碱基的出版物包括但不限于美国申请2003/0158403和2003/0175906;

美国专利4,845,205; 5,130,302; 5,134,066; 5,175,273; 5,367,066; 5,432,272; 5,434,257; 5,457,187; 5,459,255; 5,484,908; 5,502,177; 5,525,711; 5,552,540; 5,587,469; 5,594,121; 5,596,091; 5,614,617; 5,645,985; 5,681,941; 5,811,534; 5,750,692; 5,948,903; 5,587,470; 5,457,191; 5,763,588; 5,830,653; 5,808,027; 6,005,096. 6,015,886; 6,147,200; 6,166,197; 6,166,199; 6,222,025; 6,235,887; 6,380,368; 6,528,640; 6,639,062; 6,617,438; 7,045,610; 7,427,672; 和 7,495,088,

其全部内容在此通过引用并入本文。

在某些实施方案中, 本文中所述的化合物包含寡核苷酸。在某些实施方案中, 寡核苷酸包含以限定的模式或基序沿寡核苷酸或其区域排列的经修饰和/或未经修饰的核碱基。在某些实施方案中, 每个核碱基被修饰。在某些实施方案中, 没有一个核碱基被修饰。在某些实施方案中, 每个嘌呤或每个嘧啶被修饰。在某些实施方案中, 每个腺嘌呤被修饰。在某些实施方案中, 每个鸟嘌呤被修饰。在某些实施方案中, 每个胸腺嘧啶被修饰。在某些实施方案中, 每个尿嘧啶被修饰。在某些实施方案中, 每个胞嘧啶被修饰。在某些实施方案中, 经修饰寡核苷酸中的一些或全部胞嘧啶核碱基是5-甲基胞嘧啶。

在某些实施方案中, 经修饰寡核苷酸包含经修饰核碱基的嵌段。在某些这样的实施方案中, 嵌段在寡核苷酸的3' 末端处。在某些实施方案中, 嵌段在寡核苷酸3' 末端的3个核苷内。在某些实施方案中, 嵌段在寡核苷酸的5' 末端处。在某些实施方案中, 嵌段在寡核苷酸5' 末端的3个核苷内。

核苷间键联修饰和基序

3' 至5' 磷酸二酯键联是RNA和DNA中天然存在的核苷间键联。在某些实施方案中, 本文中所述的化合物具有一个或更多个经修饰的, 即非天然存在的核苷间键联。某些非天然存在的核苷间键联可赋予期望的特性, 例如如增强细胞摄取、增强对靶核酸的亲和力以

及在存在核酸酶的情况下提高稳定性。代表性的含磷的经修饰核苷间键联包括但不限于磷酸三酯、烷基磷酸酯(例如甲基磷酸酯)、次磷酸酯、和硫代磷酸酯($\text{P}=\text{S}$)以及二硫代磷酸酯($\text{HS}-\text{P}=\text{S}$)。代表性的不含磷的核苷间键联基团包括但不限于亚甲基甲基亚氨基($-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$)、硫代二酯、硫代氨基甲酸酯($-\text{O}-\text{C}(=\text{O})(\text{NH})-\text{S}-$)；硅氧烷($-\text{O}-\text{SiH}_2-\text{O}-$)；和N,N'-二甲基胍($-\text{CH}_2-\text{N}((\text{CH}_3)-\text{N}((\text{CH}_3)-$)。制备含磷和不含磷的核苷间键联的方法是本领域技术人员公知的。中性核苷间键联包括但不限于磷酸三酯、甲基磷酸酯、MMI($3'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-5'$)、酰胺-3($3'-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-5'$)、酰胺-4($3'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-5'$)、甲缩醛($3'-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-5'$)、甲氧基丙基和硫代甲缩醛($3'-\text{S}-\text{CH}_2-\text{O}-5'$)。另一些中性核苷间键联包括含有以下的非离子键联：硅氧烷(二烷基硅氧烷)、羧酸酯、甲酰胺、硫化物、磺酸酯和酰胺(参见例如：Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y.S.Sanghvi and P.D.Cook, Eds., ACS Symposium Series 580; 第3章和第4章, 40-65)。另一些中性核苷间键联包括含有混合的N、O、S和 CH_2 组成部分的非离子键联。

在某些实施方案中，本文中提供的化合物包含至少一个经修饰核苷间键联。经修饰核苷间键联可置于寡核苷酸的任何位置处。对于双链化合物，经修饰核苷间键联可置于双链化合物的有义寡核苷酸、反义寡核苷酸或两种寡核苷酸内。

在某些实施方案中，核苷间键联修饰可发生在寡核苷酸的每个核苷上。在某些实施方案中，核苷间键联修饰可沿寡核苷酸以交替模式发生。在某些实施方案中，基本上每个核苷间键联基团均是磷酸核苷间键联($\text{P}=\text{O}$)。在某些实施方案中，经修饰寡核苷酸的每个核苷间键联基团均是硫代磷酸酯($\text{P}=\text{S}$)。在某些实施方案中，经修饰寡核苷酸的每个核苷间键联基团独立地选自硫代磷酸酯和磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中，双链化合物的每个寡核苷酸上的核苷间键联修饰的模式均是相同的。在某些实施方案中，双链化合物的每个寡核苷酸上的核苷间键联修饰的模式均是不同的。在某些实施方案中，双链化合物包含6至8个经修饰核苷间键联。在某些实施方案中，6至8个经修饰核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联或烷基磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中，有义寡核苷酸在5'末端和3'末端中一者或两者处包含至少两个经修饰核苷间键联。在某些这样的实施方案中，经修饰核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联或烷基磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中，反义寡核苷酸在5'末端和3'末端中一者或两者处包含至少两个经修饰核苷间键联。在某些这样的实施方案中，经修饰核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联或烷基磷酸酯核苷间键联。

在某些实施方案中，双链化合物包含突出端区域。在某些实施方案中，双链化合物在突出端区域包含硫代磷酸酯或烷基磷酸酯核苷间键联修饰。在某些实施方案中，双链化合物包含硫代磷酸酯或烷基磷酸酯核苷酸间键联，所述键联连接突出端核苷酸与和突出端核苷酸相邻的配对核苷酸。例如，在末端三个核苷之间可存在至少两个硫代磷酸酯核苷间键联，其中三个核苷中的两个是突出端核苷，并且第三个是与突出端核苷相邻的配对核苷。这些末端三个核苷可在反义寡核苷酸的3'末端、有义寡核苷酸的3'末端、反义寡核苷酸的5'末端或反义寡核苷酸的5'末端处。

在某些实施方案中，经修饰寡核苷酸包含一个或更多个具有手性中心的核苷间键联。代表性的手性核苷间键联包括但不限于烷基磷酸酯和硫代磷酸酯。包含具有手性中心的核苷间键联的经修饰寡核苷酸可被制备为包含立构无规核苷间键联的经修饰寡核苷酸群，或者为包含特定立体化学构型中的硫代磷酸酯键联的经修饰寡核苷酸群。在某些实施

方案中,经修饰寡核苷酸群包含硫代磷酸酯核苷间键联,其中所有硫代磷酸酯核苷间键联都是立构无规的。这样的经修饰寡核苷酸可使用合成方法产生,所述方法导致随机选择每个硫代磷酸酯键联的立体化学构型。正如本领域技术人员公知的,每个单个寡核苷酸分子中的每个单个硫代磷酸酯具有限定的立体构型。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸群富集在特定、独立选择的立体化学构型中包含一个或更多个特定硫代磷酸酯核苷间键联的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,特定硫代磷酸酯键联的特定构型存在于群中至少65%的分子中。在某些实施方案中,特定硫代磷酸酯键联的特定构型存在于群中至少70%的分子中。在某些实施方案中,特定硫代磷酸酯键联的特定构型存在于群中至少80%的分子中。在某些实施方案中,特定硫代磷酸酯键联的特定构型存在于群中至少90%的分子中。在某些实施方案中,特定硫代磷酸酯键联的特定构型存在于群中至少99%的分子中。这样的富集是经修饰寡核苷酸群可使用本领域已知的合成方法,例如,Okamoto et al., JACS 125, 8307 (2003), Wan et al. Nuc. Acid. Res. 42, 13456 (2014) 和 WO 2017/015555 中描述的方法来产生。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸群富集在 (Sp) 构型中具有至少一个所指示硫代磷酸酯的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸群富集在 (Rp) 构型中具有至少一个硫代磷酸酯的经修饰寡核苷酸。

缀合基团

在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含以下或由以下组成:一个或更多个寡核苷酸和任选地一个或更多个缀合基团。缀合基团可与寡核苷酸的一端或两端连接、和/或者在任何内部位置。在某些实施方案中,缀合基团与寡核苷酸的3'末端连接。在某些实施方案中,缀合基团与寡核苷酸的5'末端连接。在某些实施方案中,寡核苷酸与一个或更多个缀合基团共价连接。

在某些实施方案中,缀合基团是与寡核苷酸一端或两端连接的端基。在某些这样的实施方案中,端基与寡核苷酸的3'末端连接。在某些这样的实施方案中,端基与寡核苷酸的5'末端连接。在某些实施方案中,端基包括但不限于加帽基团、磷酸部分、保护基、经修饰或未经修饰的核苷以及两个或更多个独立地经修饰或未经修饰的核苷,例如突出端。

在某些实施方案中,缀合基团修饰所连接寡核苷酸的一种或更多种特性,包括但不限于药效学、药代动力学、稳定性、活性、半衰期、结合、吸收、组织分布、细胞分布、细胞摄取、电荷和清除。在某些实施方案中,例如与不存在这样的缀合基团的化合物相比,缀合基团增强了化合物对所选靶标的亲和力,所述靶标例如分子、细胞或细胞类型、隔室(例如,细胞或器官隔室)、组织、器官或身体区域。在某些实施方案中,缀合基团赋予所连接寡核苷酸新的特性,例如,使得能够检测寡核苷酸的荧光团或报道基团。

在某些实施方案中,缀合基团包括但不限于嵌入剂、报道分子、聚胺、聚酰胺、肽、碳水化合物、维生素部分、聚乙二醇、硫醚、聚醚、胆固醇、硫代胆固醇、胆酸部分、叶酸、脂质、磷脂、生物素、吩噻嗪、菲啶、蒽醌、金刚烷、吡啶、荧光素、罗丹明(rhodamine)、香豆素、荧光团和染料。

在某些实施方案中,缀合基团包括活性药物物质,例如,阿司匹林(aspirin)、华法林(warfarin)、苯基丁氮酮、布洛芬(ibuprofen)、舒洛芬(suprofen)、芬-布芬(fenbufen)、酮洛芬(ketoprofen)、(S)-(+)-普拉洛芬(pranoprofen)、卡洛芬(carprofen)、丹磺酰基肌氨酸、2,3,5-三碘苯甲酸、芬戈莫德(fingolimod)、氟芬那酸(flufenamic acid)、

亚叶酸、苯并噻二嗪、氯噻嗪、二氮杂草(diazepine)、indo-methicin、巴比妥酸盐/酯、头孢菌素、磺胺类药物、抗糖尿病剂、抗菌剂或抗生素。

在某些实施方案中,缀合基团是靶向部分。在某些实施方案中,靶向部分包括但不限于凝集素、糖蛋白、脂质、蛋白质、肽、肽模拟物、受体配体、抗体、促甲状腺素、促黑素、表面活性蛋白A、碳水化合物、碳水化合物衍生物、改性碳水化合物、碳水化合物簇、多糖、改性多糖或多糖衍生物、黏蛋白碳水化合物、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰基-半乳糖胺(GalNAc)、N-乙酰基葡萄糖胺多价甘露糖、多价岩藻糖、糖基化聚氨基酸、多价半乳糖、转铁蛋白、双膦酸酯、聚谷氨酸、聚天冬氨酸、脂质、胆固醇、类固醇、胆汁酸、叶酸、维生素B12、维生素A、生物素或RGD肽或RGD肽模拟物。

在某些实施方案中,缀合基团可包括但不限于以下参考中描述的缀合基团:例如胆固醇(例如,Letsinger et al.,Proc.Natl.Acid.Sci.USA,1989,86:6553-6556);胆酸(例如,Manoharan et al.,Biorg.Med.Chem.Lett.,1994,4:1053-1060);硫醚,例如,己基-S-三苯甲基硫醇(例如,Manoharan et al.,Ann.NY.Acad.Sci.,1992,660:306-309;Manoharan et al.,Biorg.Med.Chem.Lett.,1993,3:2765-2770);硫代胆固醇(例如,Oberhauser et al.,Nucl.Acids Res.,1992,20:533-538);脂族链,例如,十二烷二醇或十一烷基残基(例如,Saison-Behmoaras et al.,EMBOJ,1991,10:1111-1118;Kabanov et al.,FEBS Lett.,1990,259:327-330;Svinarchuk et al.,Biochimie,1993,75:49-54);磷脂,例如,二-十六烷基-rac-甘油或三乙基铵1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-H-磷酸酯(例如,Manoharan et al.,Tetrahedron Lett.,1995,36:3651-3654;Shea et al.,Nucl.Acids Res.,1990,18:3777-3783);多胺或聚乙二醇链(例如,Manoharan et al.,Nucleosides&Nucleotides,1995,14:969-973);金刚烷乙酸(例如,Manoharan et al.,Tetrahedron Lett.,1995,36:3651-3654);棕榈基(例如,Mishra et al.,Biochim.Biophys.Acta,1995,1264:229-237);十八胺或己基氨基-羧基氧基胆固醇部分(例如,Crooke et al.J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277:923-937);生育酚(例如,Nishina et al.,Molecular Therapy Nucleic Acids,2015,4,e220和Nishina et al.,Molecular Therapy,2008,16:734-740);GalNAc和另一些碳水化合物(例如,Maier et al.,Bioconjugate Chemistry,2003,14,18-29;Rensen et al.,J.Med.Chem.2004,47,5798-5808;W02009/073809和美国专利8,106,022、8,450,467和8,828,957;以及W02014/179445;W02014/179620和美国专利9,127,276、9,181,549和10,844,379),其各自通过引用整体并入本文。

缀合基团可通过缀合接头与寡核苷酸连接。在某些实施方案中,缀合接头包含链结构(例如烃基链)或重复单元的寡聚物或这样的重复单元的组合。在某些实施方案中,缀合接头包含一个或更多个选自烷基、氨基、氧代、酰胺、二硫化物、聚乙二醇、醚、硫醚和羟基氨基的基团。在某些实施方案中,缀合接头包含至少一个磷基。在某些实施方案中,缀合接头包含至少一个磷酸基。在某些实施方案中,缀合接头包含至少一个中性连接基团。在某些实施方案中,缀合接头包括但不限于吡咯烷、8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(ADO)、琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC)和6-氨基己酸(AHEX或AHA)。另一些缀合接头包括但不限于经取代或未经取代的C₁-C₁₀烷基、经取代或未经取代的C₂-C₁₀烯基或者经取代或未经取代的C₂-C₁₀炔基,其中优选取代基的非限制性列表包括羟基、氨基、烷氧基、羧

基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫代烷氧基、卤素、烷基、芳基、烯基和炔基。在某些实施方案中，缀合接头包含1至10个接头-核苷。在某些实施方案中，这样的接头-核苷可以是经修饰或未经修饰的核苷。通常期望在化合物到达靶组织之后将接头-核苷从化合物中切割。因此，本文中的接头-核苷可通过可切割键相互连接并与化合物的剩余部分连接。在本文中，接头-核苷不被认为是寡核苷酸的一部分。因此，在其中化合物包含由特定数目或范围的连接核苷组成和/或者与参考核酸有特定互补性百分比的寡核苷酸，并且化合物还包含含有含接头-核苷的缀合接头的缀合基团的实施方案中，这些接头-核苷不计入寡核苷酸的长度并且不用于确定寡核苷酸针对参考核酸的互补性百分比。

在某些实施方案中，缀合基团和缀合接头以及其他修饰包括但不限于以下参考文献中描述的那些：

US 5,994,517;US 6,300,319;US 6,660,720;US 6,906,182;US 7,262,177;US 7,491,805;US 8,106,022;US 7,723,509;US 9,127,276;US 2006/0148740;US 2011/0123520;

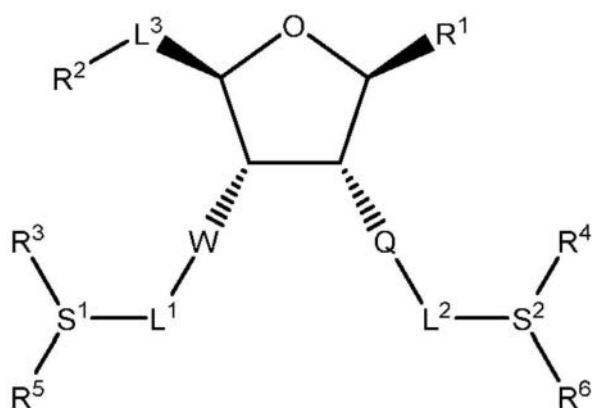
W02013/033230;W02012/037254,Biessen et al.,J.Med.Chem.1995,38,1846-1852;Lee et al.,Bioorganic&Medicinal Chemistry 2011,19,2494-2500;Rensen et al.,J.Biol.Chem.2001,276,37577-37584;Rensen et al.,J.Med.Chem.2004,47,5798-5808;Sliedregt et al.,J.Med.Chem.1999,42,609-618;Valentijn et al.,Tetrahedron,1997,53,759-770;Lee,Carbohydr Res,1978,67,509-514;Connolly et al.,J Biol Chem,1982,257,939-945;Pavia et al.,Int J Pep Protein Res,1983,22,539-548;Lee et al.,Biochem,1984,23,4255-4261;Lee et al.,Glycoconjugate J,1987,4,317-328;Toyokuni et al.,Tetrahedron Lett,1990,31,2673-2676;Biessen et al.,J Med Chem,1995,38,1538-1546;Valentijn et al.,Tetrahedron,1997,53,759-770;Kim et al.,Tetrahedron Lett,1997,38,3487-3490;Lee et al.,Bioconjug Chem,1997,8,762-765;Kato et al.,Glycohiol,2001,11,821-829;Rensen et al.,J Biol Chem,2001,276,37577-37584;Lee et al.,Methods Enzymol,2003,362,38-43;Westerlind et al.,Glycoconj J,2004,21,227-241;Lee et al.,Bioorg Med Chem Lett,2006,16(19),5132-5135;Maierhofer et al.,Bioorg Med Chem,2007,15,7661-7676;Khorev et al.,Bioorg Med Chem,2008,16,5216-5231;Lee et al.,Bioorg Med Chem,2011,19,2494-2500;Komilova et al.,Analyt Biochem,2012,425,43-46;Pujol et al.,Angew Chemie Int Ed Engl,2012,51,7445-7448;Biessen et al.,J Med Chem,1995,38,1846-1852;Sliedregt et al.,J Med Chem,1999,42,609-618;Rensen et al.,J Med Chem,2004,47,5798-5808;Rensen et al.,Arterioscler Thromb Vase Biol,2006,26,169-175;van Rossenberg et al.,Gene Ther,2004,11,457-464;Sato et al.,JAm Chem Soc,2004,126,14013-14022;Lee et al.,J Org Chem,2012,77,7564-7571;Biessen et al.,FASEB J,2000,14,1784-1792;Rajur et al.,Bioconjug Chem,1997,8,935-940;Duffet al.,Methods Enzymol,2000,313,297-321;Maier et al.,Bioconjug Chem,2003,14,18-29;Jayaprakash et al,Org Lett,2010,12,5410-5413;Manoharan,Antisense Nucleic Acid Drug Dev,2002,12,103-128;Merwin et al,Bioconjug Chem,1994,5,612-620;Tomiya et al.,Bioorg Med Chem,2013,21,5275-5281;

国际申请W01998/013381;W02011/038356;W01997/046098;W02008/098788;W02004/101619;W02012/037254;W02011/120053;W02011/100131;W02011/163121;W02012/177947;W02013/033230;W02013/075035;W02012/083185;W02012/083046;W02009/082607;W02009/134487;W02010/144740;W02010/148013;W01997/020563;W02010/088537;W02002/043771;W02010/129709;W02012/068187;W02009/126933;W02004/024757;W02010/054406;W02012/089352;W02012/089602;W02013/166121;W02013/165816;美国专利4,751,219;7,582,744;8,552,163;8,137,695;6,908,903;6,383,812;7,262,177;6,525,031;5,994,517;6,660,720;6,300,319;7,723,509;8,106,022;7,491,805;7,491,805;8,541,548;8,344,125;8,313,772;8,349,308;8,450,467;8,501,930;8,158,601;7,262,177;6,906,182;6,620,916;8,435,491;8,404,862;7,851,615;公开的美国专利申请公开US2011/0097264;

US2011/0097265;US2013/0004427;US2003/0119724;US2011/0207799;US2012/0035115;US2012/0230938;US2005/0164235;US2006/0183886;US2012/0136042;US2012/0095075;US2013/0109817;US2006/0148740;US2008/0206869;US2012/0165393;US2012/0101148;US2013/0121954;US2011/0123520;US2003/0077829;US2008/0108801;和US2009/0203132;其各自通过引用整体并入本文。

某些靶向部分

在某些实施方案中,本文中提供的化合物包含缀合基团。在某些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含缀合基团。在某些实施方案中,缀合基团是靶向部分。在某些实施方案中,靶向部分包含一个或更多个GalNAc。在某些实施方案中,一个或更多个GalNAc与呋喃糖环上的一个或更多个位置连接。在某些实施方案中,一个或更多个GalNAc与呋喃糖环上的2'或3'位连接。在某些实施方案中,呋喃糖环是寡核苷酸的亚基。在某些实施方案中,呋喃糖环是寡核苷酸的5'核苷糖。在某些实施方案中,呋喃糖环是有义寡核苷酸的5'核苷糖。在某些实施方案中,化合物或寡核苷酸包含一个或更多个具有下式或者其盐、溶剂合物或水合物的亚基:



式 IX

其中:

R^1 是H、腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶、尿嘧啶、碳环基、杂环基、芳基、杂芳基

或核碱基电子等排体；

R^2 是该寡核苷酸序列；

L^1 是烷基或烷基-C(=O)-NH-烷基；

L^2 是烷基或烷基-C(=O)-NH-烷基；

L^3 是键、磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、三唑、四唑、酰胺、反酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、脲、O、S、S(=O)、S(=O)₂、NH、经取代的N基团、烷基、烯基、二烯基、炔基、杂烷基、磷酸酯；

R^3 是H、-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_j-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc；

R^4 是H、-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_k-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc；

R^5 是-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_m-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc；

R^6 是-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_n-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc；

W和Q各自独立地是O、NH、CH₂或CH₂O；

S^1 和 S^2 各自独立地是C(R^7)或N，其中 R^7 的每个实例独立地是H、烷基、杂烷基或卤素；

j是1至10的整数，包括端值；

k是1至10的整数，包括端值；

m是1至10的整数，包括端值；并且

n是1至10的整数，包括端值。

在某些实施方案中， R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 是相同的。在某些实施方案中， R^3 、 R^5 和 R^6 是相同的。在某些实施方案中， R^3 或 R^4 是H。

在某些实施方案中， L^1 和 L^2 是相同的。

在某些实施方案中， L^1 和 L^2 各自独立地是烷基； R^3 是H、-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_j-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc； R^4 是H、-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_k-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc； R^5 是-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_m-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc；并且 R^6 是-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_n-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc。

在某些实施方案中， L^1 和 L^2 各自独立地是烷基-C(=O)-NH-烷基； R^3 是H、-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_j-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc； R^4 是H、-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_k-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc； R^5 是-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_m-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc；并且 R^6 是-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_n-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc。

在某些实施方案中， R^4 是H。

在某些实施方案中， L^1 和 L^2 各自独立地是烷基； R^3 是-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_j-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc； R^4 是H； R^5 是-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_m-GalNAc或-C(=O)-NH-烷基-NH-C(=O)-烷基-O-GalNAc；并且 R^6 是-C(=O)-NH-

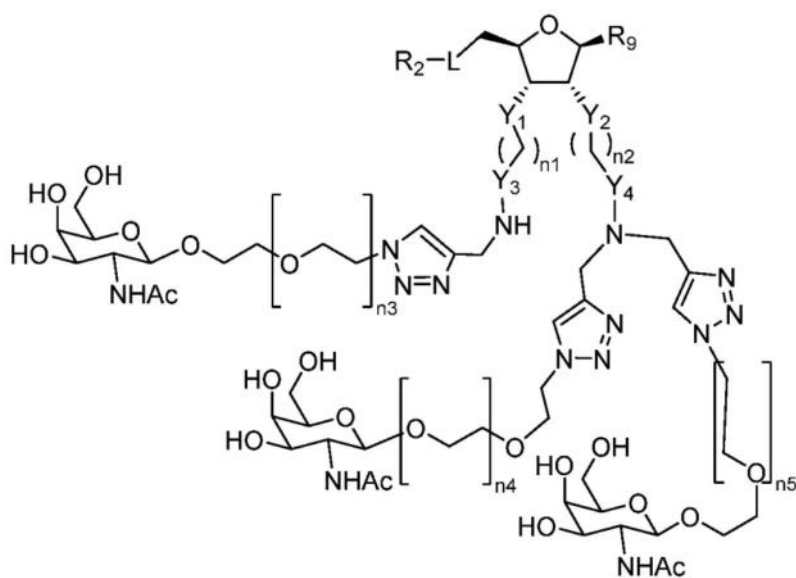
$(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-GalNAc}$ 或 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-烷基}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{烷基}-\text{O-GalNAc}$ 。

在某些实施方案中, L^1 和 L^2 各自独立地是烷基- $\text{C}(=\text{O})-\text{NH-烷基}$; R^3 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_j\text{-GalNAc}$ 或 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-烷基}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{烷基}-\text{O-GalNAc}$; R^4 是H; R^5 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-GalNAc}$ 或 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-烷基}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{烷基}-\text{O-GalNAc}$; 并且 R^6 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-GalNAc}$ 或 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-烷基}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{烷基}-\text{O-GalNAc}$ 。

在某些实施方案中, R^3 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_j\text{-GalNAc}$; R^4 是H; R^5 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-GalNAc}$; 并且 R^6 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-GalNAc}$ 。

在某些实施方案中, R^3 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-烷基}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{烷基}-\text{O-GalNAc}$; R^4 是H; R^5 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-烷基}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{烷基}-\text{O-GalNAc}$; 并且 R^6 是 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH-烷基}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{烷基}-\text{O-GalNAc}$ 。

在某些实施方案中,化合物或寡核苷酸包含一个或更多个具有下式或其盐、溶剂合物或水合物的亚基:



式 X

其中:

R^9 是H、腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶或尿嘧啶,或者是各自包含保护基(PG)的腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶或尿嘧啶,经修饰核碱基、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的碳环基、任选经取代的杂环基或核碱基电子等排体;

L是键、磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、三唑、四唑、酰胺、反酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、脲、烷基或杂烷基;

R^2 是该寡核苷酸序列;

Y_1 是O、 CH_2 、 CH_2O 或任选经取代的NH;

Y_2 是O、 CH_2 、 CH_2O 或任选经取代的NH;

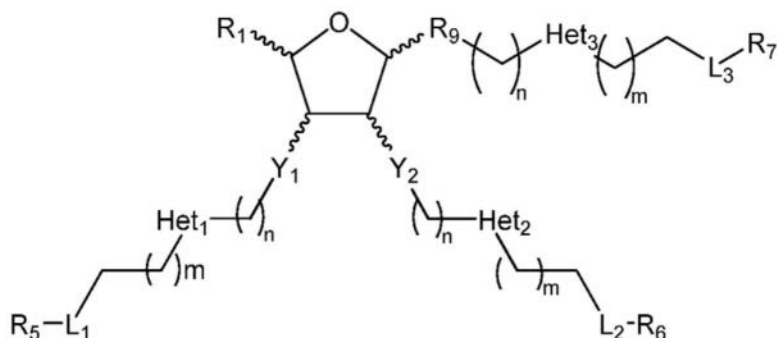
Y_3 是CO、 SO_2 、 $\text{P}(\text{O})\text{O}$ 、 $\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{O})$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(\text{O})$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-\text{SO}_2$ 或 CH_2 ;

Y_4 是CO、 SO_2 、 $\text{P}(\text{O})\text{O}$ 、 $\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{O})$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(\text{O})$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-\text{SO}_2$ 或 CH_2 ;

n_2 是0、1、2、3、4、5或6;并且

n_1 、 n_3 、 n_4 和 n_5 各自独立地是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

在某些实施方案中,化合物或寡核苷酸包含一个或多个具有下式或其盐、溶剂合物或水合物的亚基:



式 XI

其中:

每个 n 独立地是1、2、3、4或5;

每个 m 独立地是0、1、2、3、4、5或6;

每个 o 独立地是0、1、2、3、4、5或6;

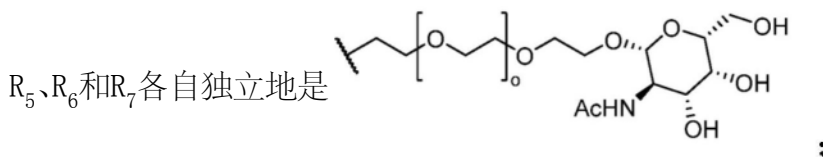
L_1 、 L_2 和 L_3 各自独立地是不存在、 $C(=O)$ 或 $C(=O)NH$;

每个 Y_1 独立地是 O 、 $CH(R^a)$ 、 S 、 $S(=O)$ 、 $S(=O)_2$ 、 NH 、经取代的 N 基团、 $NHC(=O)$ 、 $C(=O)NH$ 、 $P(=O)_2-O-$ 、 $P(=O)(=S)-O-$ 、 $P(=S)_2-O-$ 、 $-O-P(=O)_2-O-$ 、 $-O-P(=O)(=S)-O-$ 、 $-O-P(=S)_2-O-$ 、 $-O-P(=O)_2-$ 、 $-O-P(=O)(=S)-$ 、 $-O-P(=S)_2-$;

每个 Y_2 独立地是 O 、 $CH(R^b)$ 、 S 、 $S(=O)$ 、 $S(=O)_2$ 、 NH 、经取代的 N 基团、 $NHC(=O)$ 、 $C(=O)NH$ 、 $P(=O)_2-O-$ 、 $P(=O)(=S)-O-$ 、 $P(=S)_2-O-$ 、 $-O-P(=O)_2-O-$ 、 $-O-P(=O)(=S)-O-$ 、 $-O-P(=S)_2-O-$ 、 $-O-P(=O)_2-$ 、 $-O-P(=O)(=S)-$ 、 $-O-P(=S)_2-$;

Het_1 、 Het_2 和 Het_3 各自独立地是任选经取代的杂芳基或任选经取代的杂环基;

R^1 是通过键、磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、三唑、四唑、酰胺、反酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、脲、烷基或杂烷基连接的寡核苷酸序列;



R_9 是任选经取代的杂环基;

每个 R^a 独立地是H、烷基、卤素、 OR^c 或 SR^c ;

每个 R^b 独立地是H、烷基、卤素、 OR^c 或 SR^c ;并且

每个 R^c 独立地是H或烷基。

在某些实施方案中,亚基选自式I至VIII或其盐、溶剂合物或水合物,其中R是除5'核苷之外的经修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式I且 R' 是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式I且 R' 是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式II且 R' 是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式II且 R' 是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式III且 R' 是O。在某些实施方案中,经

修饰寡核苷酸的5'核苷是式III且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式IV且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式IV且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式V且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式V且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VI且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VI且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VII且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VII且R'是S。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VIII且R'是O。在某些实施方案中,经修饰寡核苷酸的5'核苷是式VIII且R'是S。

靶核酸和靶区域

在某些实施方案中,本文中所述的化合物包含寡核苷酸或由寡核苷酸组成,所述寡核苷酸包含与靶核酸互补的区域。在某些实施方案中,靶核酸是内源性RNA分子。在某些实施方案中,靶核酸编码蛋白质。在某些实施方案中,靶核酸是非编码的。在某些这样的实施方案中,靶核酸选自mRNA和前mRNA,包括内含子区、外显子区和非翻译区。在某些实施方案中,靶RNA是mRNA。在某些实施方案中,靶核酸是前mRNA。在某些这样的实施方案中,靶区域完全在外显子内。在某些这样的实施方案中,靶区域完全在内含子内。在某些实施方案中,靶区域横跨内含子/外显子连接。在某些实施方案中,靶区域至少50%在内含子内。

在某些实施方案中,本文中公开的化合物与PKK核酸杂交。最常见的杂交机制涉及核酸分子的互补核碱基之间的氢键。杂交可以在不同的条件下发生。杂交条件是序列依赖性的,并由待杂交核酸分子的性质和组成决定。确定序列是否与靶核酸特异性杂交的方法是本领域公知的。在某些实施方案中,本文中提供的化合物与PKK核酸特异性杂交。

编码PKK的核苷酸序列包括但不限于以下:GENBANK登录No.NM_000892⁵(以SEQ ID NO:1并入本文),从23529..54493截短的NG_012095.2(以SEQ ID NO:2并入本文)、XM_017008181.1(以SEQ ID NO:3并入本文)、从186215714至186258477截短的NC_000004.12(以SEQ ID NO:4并入本文)、NM_0013183942(以SEQ ID NO:5并入本文)和NM_001318396.2(以SEQ ID NO:6并入本文)。

互补性

本文中提供的寡核苷酸可以与特定核酸、靶区域、寡核苷酸或其部分具有限定的互补性百分比。非互补核碱基是可以容许的,前提是寡核苷酸保持能够与核酸、寡核苷酸或其部分特异性杂交。在某些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸或其特定部分与靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分至少或至高70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%互补。在某些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸或其特定部分与靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分有70%至75%、75%至80%、80%至85%、85%至90%、90%至95%、95%至100%、或这些范围之间的任何数值互补。寡核苷酸与靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分的互补性百分比可使用常规方法来确定。例如,其中寡核苷酸的20个核碱基中的18个与靶区域互补并因此特异性杂交的寡核苷酸将表示90%互补性。在该实例中,剩余的非互补核碱基可与互补核碱基成簇或散布,并且不需要彼此相连或与互补核碱基相连。因此,长度为18个核碱基的寡核苷酸具有四个非互补核碱基,其侧翼是两个与靶核酸完全互补的区域,与靶核酸的总互补性为77.8%。可使用本领域已知的BLAST程序(基本局部比对搜索工具(basic local alignment

search tool)) 来常规确定寡核苷酸与靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分的区域的互补性百分比。在某些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸或其特定部分与靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分完全互补(即100%互补)。例如,寡核苷酸可与靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分完全互补。本文中使用的“完全互补”意指寡核苷酸的每个核碱基与靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分的相应核碱基互补。例如,20个核碱基寡核苷酸与400个核碱基长的靶序列完全互补,只要靶核酸中存在与化合物完全互补的相应的20个核碱基部分即可。“完全互补”还可用于指第一和/或第二核酸的特定部分。例如,30个核碱基寡核苷酸中的20个核碱基部分可以与400个核碱基长的靶序列中的20个核碱基区域“完全互补”。如果靶序列具有其中每个核碱基与化合物中的20个核碱基部分互补的相应的20个核碱基部分,则30个核碱基化合物中的20个核碱基部分与靶序列完全互补。同时,整个30个核碱基化合物可与靶序列完全互补或可不与靶序列完全互补,这取决于化合物的剩余10个核碱基是否也与靶序列互补。

在某些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸相对于靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分包含一个或更多个错配的核碱基。在某些实施方案中,本文中所述的长度为或多至12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个核碱基的寡核苷酸相对于靶核酸或其特定部分包含不多于4个、不多于3个、不多于2个或不多于1个非互补核碱基。在某些实施方案中,本文中所述的长度为或多至14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核碱基的寡核苷酸相对于靶核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分包含不多于6个、不多于5个、不多于4个、不多于3个、不多于2个或不多于1个非互补核碱基。在某些实施方案中,错配在寡核苷酸5'末端的第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14位处。在某些实施方案中,错配在寡核苷酸3'末端的第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12、13或14位处。在某些实施方案中,错配与靶核酸上相应的核碱基形成摆动碱基对。例如,在某些实施方案中,错配形成选自以下的摆动碱基对:次黄嘌呤(肌苷的核碱基)和尿嘧啶(I:U碱基对);鸟嘌呤和尿嘧啶(G:U碱基对);次黄嘌呤和腺嘌呤(I:A碱基对);以及次黄嘌呤和胞嘧啶(I:C碱基对)。因此,在某些实施方案中,寡核苷酸上错配的核碱基包含次黄嘌呤、鸟嘌呤或尿嘧啶。

在某些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸可与核酸的部分互补。本文中使用的“部分”是指核酸区域内限定数目的连续核碱基。“部分”还可以指寡核苷酸的限定数目的连续核碱基。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少8个核碱基部分是互补的。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少9个核碱基部分是互补的。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少10个核碱基部分是互补的。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少11个核碱基部分是互补的。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少12个核碱基部分是互补的。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少13个核碱基部分是互补的。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少14个核碱基部分是互补的。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少15个核碱基部分是互补的。在某些实施方案中,寡核苷酸与核酸中的至少16个核碱基部分是互补的。还考虑了与核酸中的至少9、10、17、18、19、20、21、22、23或更多个核碱基部分或者由这些值中的任何两个限定的范围是互补的寡核苷酸。在某些实施方案中,寡核苷酸是反义寡核苷酸。在某些实施方案中,将反义寡核苷酸的部分与靶核酸的等长部分进行比较。在某些实施方案中,将8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核碱基部分与靶核酸的等长部分进行比较。在某些实施方案中,寡核苷

酸是有义寡核苷酸。在某些实施方案中,将有义寡核苷酸的部分与反义寡核苷酸的等长部分进行比较。在某些实施方案中,将有义寡核苷酸中的8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核碱基部分与反义寡核苷酸的等长部分进行比较。

同一性

本文中提供的寡核苷酸还可与特定核酸、靶区域、寡核苷酸或其特定部分具有限定的百分比同一性。本文中使用的,如果寡核苷酸具有相同的核碱基配对能力,则其与本文中公开的序列相同。例如,含有代替在所公开RNA序列中的尿嘧啶的胸苷的DNA将被认为与RNA序列相同,因为尿嘧啶和胸苷二者均与腺嘌呤配对。还考虑了本文中所述化合物的缩短和延长形式以及相对于本文中提供的化合物具有不同碱基的化合物。不同的碱基可彼此相邻或分散在整个化合物中。寡核苷酸的同一性百分比是根据相对于与其比较的序列具有相同碱基配对的碱基数目来计算的。在某些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸或其部分与本文中公开的核酸、寡核苷酸或其部分中的一者或更多者具有或具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性。在某些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸与特定核酸或寡核苷酸或其部分具有约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性,或这样的值之间的任意百分比。

在某些实施方案中,寡核苷酸可具有一个或更多个错配的核碱基。在某些这样的实施方案中,错配在寡核苷酸5'末端的第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14位处。在某些这样的实施方案中,错配在寡核苷酸3'末端的第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12、13或14位处。在某些实施方案中,将寡核苷酸的部分与靶核酸的等长部分进行比较。在某些实施方案中,将8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核碱基部分与靶核酸的等长部分进行比较。在某些实施方案中,寡核苷酸是有义寡核苷酸。在某些实施方案中,将有义寡核苷酸的部分与靶核酸的等长部分进行比较。在某些实施方案中,将8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核碱基部分与靶核酸的等长部分进行比较。

药物组合物和制剂

本文中所述的化合物可与可药用活性物质或惰性物质混合以用于制备药物组合物或制剂。用于配制药物组合物的组合物和方法取决于许多标准,包括但不限于施用途径、疾病程度或待施用剂量。某些实施方案提供了包含一种或更多种化合物或其盐的药物组合物。在某些实施方案中,化合物是反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物是寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含一个或更多个经修饰寡核苷酸或者由一个或更多个经修饰寡核苷酸组成。在某些这样的实施方案中,药物组合物包含一种或更多种化合物和合适的可药用稀释剂或载体。在某些实施方案中,药物组合物包含一种或更多种化合物和无菌盐水溶液。在某些实施方案中,这样的药物组合物由一种化合物和无菌盐水溶液组成。在某些实施方案中,无菌盐水是药用级盐水。在某些实施方案中,药物组合物包含一种或更多种化合物和无菌水。在某些实施方案中,药物组合物由一种化合物和无菌水组成。在某些实施方案中,无菌水是药用级水。在某些实施方案中,药物组合物包含一种或更多种化合物和磷酸缓冲盐水(phosphate-buffered saline, PBS)。在某些实施方案中,药物组合物由一种化合物和无菌PBS组成。在某些实施方案中,无菌PBS是药用级PBS。

通过将本文中所述的靶向PKK的化合物与合适的可药用稀释剂或载体组合,所述化合物可用于药物组合物中。在某些实施方案中,可药用稀释剂是水,例如适合于注射的无菌水。因此,在一个实施方案中,本文中所述方法中采用的是包含靶向PKK的化合物和可药用稀释剂的药物组合物。在某些实施方案中,可药用稀释剂是水。在某些实施方案中,化合物包含本文中提供的一个或更多个经修饰寡核苷酸或者由本文中提供的一个或更多个经修饰寡核苷酸组成。

包含本文中提供的化合物的药物组合物涵盖任何可药用盐、酯或这样的酯的盐、或者任何其他寡核苷酸,所述寡核苷酸在施用于动物(包括人)之后能够提供(直接或间接地)其生物活性代谢物或残基。在某些实施方案中,化合物是反义寡核苷酸。在某些实施方案中,化合物是寡聚化合物。在某些实施方案中,化合物包含一个或更多个经修饰寡核苷酸或者由一个或更多个经修饰寡核苷酸组成。因此,例如,本公开内容还涉及化合物的可药用盐、前药、这样的前药的可药用盐、和另一些生物等同物。合适的可药用盐包括但不限于钠盐和钾盐。前药可包含在化合物的一侧末端或两侧末端并入的另外的核苷,其在机体内被内源性核酸酶切割以形成活性化合物。在某些实施方案中,化合物或组合物还包含可药用载体或稀释剂。

实施例

[0238] 以下实施例描述了鉴定靶向PKK的先导化合物的方法。某些化合物被认为具有高效力和耐受性。

[0239] 以下实施例仅用于举例说明本文中所述的化合物,并不旨在对其进行限制。以下实施例和本文件附带的相关序列表可将序列识别为“RNA”或“DNA”;然而,如本文中公开的,这些序列可用化学修饰的任何组合进行修饰。本领域技术人员将容易理解,在某些情况下,将序列指定为“RNA”或“DNA”是任意的。例如,包含含有2’-OH糖部分和胸腺嘧啶碱基的核苷的寡核苷酸可被描述为具有经修饰糖的DNA(对于DNA的天然2’-H为2’-OH)或具有经修饰碱基的RNA(对于RNA的天然尿嘧啶为甲基化尿嘧啶)。因此,本文中提供的核酸序列,包括但不限于序列表中的核酸序列,旨在涵盖含有天然或经修饰的RNA和/或DNA的任何组合的核酸,包括但不限于具有经修饰核碱基的这样的核酸。

[0240] 本申请中引用的每篇参考文献均通过引用整体并入本文。

[0241] 除非下面单独的化合物化学表中另有说明,否则化合物是未经修饰的。下表1中提供了化学修饰的缩写。Ref ID NO:中的IA和IS分别标识化合物的反义链和有义链。

表1化学命名

缩写	结构
‘m’	2’-O-甲基糖修饰(例如,mA、mG、mC、mU)
‘f’	2’-F糖修饰(例如,fA、fG、fC、fU)
‘*’	硫代磷酸酯核苷间键联
‘.’	磷酸酯核苷间键联
‘dQ’	反向无碱基脱氧核糖(inverted abasic deoxyribose)
‘H1’	式I
‘H2’	式II

‘H4’	式III
‘H6’	式IV
‘H7’	式V
‘H9’	式VI
‘Hd’	式VII
H1	式VIII

实施例1——HEK-293T细胞中PKK的抑制

[0242] 将HEK-293T细胞以20,000个细胞/孔接种在白壁96孔板中的无抗生素培养基中。第二天,使用Lipofectamine 2000用50ng的PKK-siCHECK-2和10nM PKK化合物对细胞进行共转染(各转染以一式三份进行)。然后将细胞在37℃/5% CO₂下孵育48小时。

[0243] 使用双萤光素酶报道子1000测定(Dual-Luciferase Reporter 1000Assay)(Promega Cat#E1980)根据试剂盒说明来评价萤火虫和海肾萤光素酶的表达。使用光度计(luminimeter)测量萤火虫和海肾萤光素酶表达。海肾萤光素酶作为PKK基因表达的读出,而萤火虫用作内部对照。将来自每个孔的所有海肾读数相对于其对应的萤火虫读数进行归一化,以获得海肾:萤火虫比。然后将转染的化合物的每个孔获得的比率相对于未用化合物转染的细胞获得的比率进行进一步归一化。这些未经转染的细胞用作100%对照。PKK抑制通过将PKK表达与未经转染的细胞进行比较来确定,并报道为PKK抑制%(表2至4)。

表2

靶向SEQ ID NO:1的双链化合物对PKK mRNA的抑制

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD1839	171	191	UUACAUCUCCACCUCUGAAGA	10	UCUUCAGAGGUGGGGAUGUAA	314	70
RD1840	172	192	UCUACAUCUCCACCUCUGAAG	11	CUUCAGAGGUGGGGAUGUAGA	315	56
RD1841	173	193	AGCUACAUCUCCACCUCUGAA	12	UUCAGAGGUGGGGAUGUAGCU	316	34
RD1842	174	194	AAGCUACAUCUCCACCUCUGA	13	UCAGAGGUGGGGAUGUAGCUU	317	53
RD1843	175	195	UAAGCUACAUCUCCACCUCUG	14	CAGAGGUGGGGAUGUAGCUUA	318	64
RD1844	176	196	UGAAGCUACAUCUCCACCUCU	15	AGAGGUGGGGAUGUAGCUUCA	319	71
RD1845	177	197	UGGAAGCUACAUCUCCACCUC	16	GAGGUGGGGAUGUAGCUUCCA	320	70
RD1846	178	198	AUGGAAGCUACAUCUCCACCUC	17	AGGUGGGGAUGUAGCUUCCAU	321	81
RD1847	179	199	UAUGGAAGCUACAUCUCCACC	18	GGUGGGGAUGUAGCUUCCAUA	322	74
RD1848	180	200	ACAUGGAAGCUACAUCUCCAC	19	GUGGGGAUGUAGCUUCCAUGU	323	64
RD1849	181	201	UACAUGGAAGCUACAUCUCCA	20	UGGGGAUGUAGCUUCCAUGUA	324	74
RD1850	182	202	UUACAUGGAAGCUACAUCUCC	21	GGGGAUGUAGCUUCCAUGUAA	325	70
RD1851	232	252	UACCUUGGGUGGAAUGUGCAC	22	GUGCACAUUCCACCCAAGGUA	326	77
RD1852	233	253	ACACCUUGGGUGGAAUGUGCA	23	UGCACAUUCCACCCAAGGUGU	327	62
RD1853	234	254	AACACCUUGGGUGGAAUGUGC	24	GCACAUUCCACCCAAGGUGUU	328	72
RD1854	237	257	UCAACACCUUGGGUGGAAUG	25	CAUUCACCCAAGGUGUUUGA	329	61

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD1855	238	258	AGCAAACACCUUGGGUGGAAU	26	AUUCACCCAAGGUGUUUGCU	330	51
RD1856	241	261	AAUAGCAAACACCUUGGGUGG	27	CCACCAAGGUGUUUGCUAUU	331	82
RD1857	242	262	UAAUAGCAAACACCUUGGGUG	28	CACCAAGGUGUUUGCUAUUA	332	62
RD1858	243	263	UGAAUAGCAAACACCUUGGGU	29	ACCAAGGUGUUUGCUAUUCA	333	91
RD1859	245	265	ACUGAAUAGCAAACACCUUGG	30	CCAAGGUGUUUGCUAUUCAGU	334	91
RD1860	246	266	AACUGAAUAGCAAACACCUUG	31	CAAGGUGUUUGCUAUUCAGUU	335	94
RD1861	247	267	AAACUGAAUAGCAAACACCUU	32	AAGGUGUUUGCUAUUCAGUUU	336	90
RD1862	248	268	AAAACUGAAUAGCAAACACCU	33	AGGUGUUUGCUAUUCAGUUUU	337	91
RD1863	249	269	UAAAACUGAAUAGCAAACACC	34	GGUGUUUGCUAUUCAGUUUUA	338	92
RD1864	250	270	AGAAAACUGAAUAGCAAACAC	35	GUGUUUGCUAUUCAGUUUUCU	339	90
RD1865	254	274	UGGAAGAAAACUGAAUAGCAA	36	UUGCUAUUCAGUUUUUCUCCA	340	91
RD1866	262	282	UAACUUGCUGGAAGAAAACUG	37	CAGUUUUCUUCAGCAAGUUA	341	89
RD1867	284	304	UCUUUUCUCCAUGUCAUUGAU	38	AUCAUGACAUGGAGAAAAGA	342	93

表3

靶向SEQ ID NO:1的双链化合物对PKK mRNA的抑制

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD1868	287	307	AAACCUUUUCUCCAUGUCAUU	39	AAUGACAUGGAGAAAAGGUUU	343	65
RD1869	288	308	UAAACCUUUUCUCCAUGUCAU	40	AUGACAUGGAGAAAAGGUUUA	344	44
RD1870	484	504	UACCUUUUUUGGCAUUCUUA	41	UGAAGAAUGCCAAAAAGGUA	345	66
RD1871	489	509	UGGUGCACCUIUUUUUGGCAUU	42	AAUGCCAAAAAGGUGCACCA	346	45
RD1872	662	682	ACCAAUUUCUGAAAGGGCACA	43	UGUGCCCUUUCAGAAAUUGGU	347	66
RD1873	663	683	AACCAAUUUCUGAAAGGGCAC	44	GUGCCCUUUCAGAAAUUGGUU	348	50
RD1874	691	711	UCAAGAUUGCUGGAAGAUUGUUC	45	GAACAUCUUCAGCAUCUUGA	349	49
RD1875	867	887	AGGAACUUGGUGUGCCACUUU	46	AAAGUGGCACACCAAGUCCU	350	17
RD1876	868	888	UAGGAACUUGGUGUGCCACUU	47	AAGUGGCACACCAAGUCCUA	351	52
RD1877	869	889	AGAGGAACUUGGUGUGCCACU	48	AGUGGCACACCAAGUCCUCU	352	70
RD1878	870	890	UAGAGGAACUUGGUGUGCCAC	49	GUGGCACACCAAGUCCUCUA	353	68
RD1879	871	891	UUAGAGGAACUUGGUGUGCCA	50	UGGCACACCAAGUCCUCUAA	354	38
RD1880	876	896	UAGGAGUAGAGGAACUUGGUG	51	CACCAAGUCCUCUACUCCUA	355	75
RD1881	877	897	UGAGGAGUAGAGGAACUUGGU	52	ACCAAGUCCUCUACUCCUA	356	69
RD1882	878	898	UUGAGGAGUAGAGGAACUUGG	53	CCAAGUCCUCUACUCCUAA	357	85
RD1883	879	899	UUUGAGGAGUAGAGGAACUUG	54	CAAGUCCUCUACUCCUAAA	358	82
RD1884	880	900	UCUUGAGGAGUAGAGGAACUU	55	AAGUCCUCUACUCCUAAGA	359	69
RD1885	881	901	UUCUUGAGGAGUAGAGGAACU	56	AGUCCUCUACUCCUAAGAA	360	68
RD1886	882	902	UUUCUUGAGGAGUAGAGGAAC	57	GUUCCUCUACUCCUAAGAAA	361	63
RD1887	883	903	UUUUCUUGAGGAGUAGAGGAA	58	UUCCUCUACUCCUAAGAAA	362	71
RD1888	886	906	UUGUUUUUCUUGAGGAGUAGAG	59	CUCUACUCCUAAGAAAACAA	363	64
RD1889	887	907	UGUGUUUUUCUUGAGGAGUAGA	60	UCUACUCCUAAGAAAACACA	364	75
RD1890	888	908	UGGUGUUUUUCUUGAGGAGUAG	61	CUACUCCUAAGAAAACACCA	365	88
RD1891	920	940	UCUUUUGCAGGUUAAAAGGCU	62	AGCCUUUUAACCUGCAAAAGA	366	88
RD1892	936	956	AGGGUUCAGGUAAAGUUCUUU	63	AAAGAACUUUACCUGAACCCU	367	58
RD1893	937	957	UAGGGUUCAGGUAAAGUUCUU	64	AAGAACUUUACCUGAACCCUA	368	83
RD1894	938	958	UCAGGGUUCAGGUAAAGUUCU	65	AGAACUUUACCUGAACCCUGA	369	78
RD1895	939	959	UGCAGGGUUCAGGUAAAGUUC	66	GAACUUUACCUGAACCCUGCA	370	76
RD1924	1060	1080	UAAGUGAAAAACUGACAGCGA	95	UCGCUGUCAGUUUUUCAUUA	399	77

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD1925	1061	1081	AUAAGUGAAAAACUGACAGCG	96	CGCUGUCAGUUUUUCACUUUAU	400	73
RD1926	1062	1082	AAUAAGUGAAAAACUGACAGC	97	GCUGUCAGUUUUUCACUUUAU	401	81
RD1927	1065	1085	AAGAAUAAGUGAAAAACUGAC	98	GUCAGUUUUUCACUUUAUUCU	402	58
RD1928	1066	1086	AAAGAAUAAGUGAAAAACUGA	99	UCAGUUUUUCACUUUAUUCUU	403	43
RD1929	1070	1090	UAGUAAAGAAUAAGUGAAAAA	100	UUUUUCACUUUAUUCUUUACUA	404	0
RD1930	1071	1091	UGAGUAAAGAAUAAGUGAAAA	101	UUUUUCACUUUAUUCUUUACUCA	405	4
RD1931	1072	1092	UGGAGUAAAGAAUAAGUGAAA	102	UUUCACUUUAUUCUUUACUCCA	406	8
RD1932	1073	1093	UGGGAGUAAAGAAUAAGUGAA	103	UUCACUUUAUUCUUUACUCCA	407	65
RD1933	1074	1094	UUGGGAGUAAAGAAUAAGUGA	104	UCACUUUAUUCUUUACUCCCAA	408	75
RD1934	1075	1095	UCUGGGAGUAAAGAAUAAGUG	105	CACUUUAUUCUUUACUCCCAA	409	85
RD1935	1076	1096	UUCUGGGAGUAAAGAAUAAGU	106	ACUUUAUUCUUUACUCCCAA	410	69
RD1936	1077	1097	UUUCUGGGAGUAAAGAAUAAG	107	CUUAUUCUUUACUCCCAA	411	75
RD1937	1078	1098	UCUUCUGGGAGUAAAGAAUAA	108	UUUAUUCUUUACUCCCAA	412	55
RD1938	1080	1100	AGUCUUCUGGGAGUAAAGAAU	109	AUUCUUUACUCCCAAAGACU	413	53
RD1939	1081	1101	UAGUCUUCUGGGAGUAAAGAA	110	UUCUUUACUCCCAAAGACUA	414	58
RD1940	1085	1105	UUUACAGUCUUCUGGGAGUAA	111	UUACUCCCAAAGACUGUAAA	415	75
RD1941	1086	1106	UCUUCAGUCUUCUGGGAGUA	112	UACUCCCAAAGACUGUAAAGA	416	80
RD1942	1087	1107	UCCUUCAGUCUUCUGGGAGU	113	ACUCCCAAAGACUGUAAAGGA	417	53
RD1943	1109	1129	UAAGAAACACUACACUUCUC	114	GAGAAGUGUAAGUGUUUCUUA	418	85
RD1944	1110	1130	UUAAGAAACACUACACUUCU	115	AGAAGUGUAAGUGUUUCUUA	419	87
RD1945	1111	1131	UUUAAGAAACACUACACUUC	116	GAAGUGUAAGUGUUUCUUA	420	77
RD1946	1117	1137	UAUAUCUUAAGAAACACUUA	117	UAAGUGUUUCUUAAGAUUA	421	84
RD1947	1141	1161	AUCCUAGUUGGAGAACCAUC	118	GGAUGGUUCUCCAAUAGGAU	422	77
RD1948	1142	1162	AAUCCUAGUUGGAGAACCAUC	119	GAUGGUUCUCCAAUAGGAU	423	82
RD1949	1167	1187	UAGAGCUCCCUUGUGUCCAU	120	AUGGGACACAAGGGAGCUCUA	424	86
RD1950	1168	1188	UCAGAGCUCCCUUGUGUCCCA	121	UGGGACACAAGGGAGCUCUGA	425	73
RD1951	1170	1190	AACCAGAGCUCCCUUGUGUCC	122	GGACACAAGGGAGCUCUGGU	426	74
RD1952	1171	1191	UAACCAGAGCUCCCUUGUGUC	123	GACACAAGGGAGCUCUGGUUA	427	32
RD1953	1172	1192	UUAACCAGAGCUCCCUUGUGU	124	ACACAAGGGAGCUCUGGUUA	428	64
RD1954	1174	1194	UAGUAACCAGAGCUCCCUUGU	125	ACAAGGGAGCUCUGGUUAGUA	429	78
RD1955	1175	1195	AGAGUAACCAGAGCUCCCUUG	126	CAAGGGAGCUCUGGUUACUCU	430	81
RD1956	1179	1199	UCAAGAGUAACCAGAGCUCC	127	GGAGCUCUGGUUACUCUUUGA	431	61
RD1957	1196	1216	UCCAGUGUACACAAUCUCAA	128	UUGAGAUUGUGUAACACUGGA	432	85
RD1958	1197	1217	UCCAGUGUACACAAUCUCA	129	UGAGAUUGUGUAACACUGGGA	433	71
RD1959	1200	1220	UGUCCCCAGUGUACACAAUC	130	GAUUGUGUAACACUGGGGACA	434	70
RD1960	1261	1281	UCCCAAGAAGAGUUUGUCCU	131	AGGAACAAACUCUUCUUGGGA	435	37
RD1961	1262	1282	UCCCAAGAAGAGUUUGUCC	132	GGAACAAACUCUUCUUGGGA	436	40
RD1962	1263	1283	UUCCCAAGAAGAGUUUGUUC	133	GAACAAACUCUUCUUGGGGA	437	25
RD1963	1264	1284	UCUCCCAAGAAGAGUUUGUU	134	AACAAACUCUUCUUGGGGAGA	438	2
RD1964	1265	1285	UUCUCCCAAGAAGAGUUUGU	135	ACAAACUCUUCUUGGGGAGAA	439	0
RD1965	1266	1286	ACUCUCCCAAGAAGAGUUUG	136	CAAACUCUUCUUGGGGAGAGU	440	0
RD1966	1268	1288	UCACUCUCCCAAGAAGAGUU	137	AACUCUUCUUGGGGAGAGUGA	441	12
RD1967	1269	1289	UCCACUCUCCCAAGAAGAGU	138	ACUCUUCUUGGGGAGAGUGGA	442	8
RD1968	1272	1292	AGGGCCACUCUCCCAAGAAG	139	CUUCUUGGGGAGAGUGCCCU	443	0
RD1969	1273	1293	UAGGGCCACUCUCCCAAGAA	140	UUCUUGGGGAGAGUGGCCCUA	444	11
RD1970	1274	1294	UCAGGGCCACUCUCCCAAGA	141	UCUUGGGGAGAGUGGCCCUA	445	42
RD1971	1343	1363	UUGGUGUCCUAUGAGUGACCC	142	GGGUCACUCAUAGGACACCAA	446	60
RD1972	1344	1364	ACUGGUGUCCUAUGAGUGACC	143	GGUCACUCAUAGGACACCAAGU	447	37
RD1973	1347	1367	UCCACUGGUGUCCUAUGAGUG	144	CACUCAUAGGACACCAAGUGGA	448	43
RD1974	1348	1368	ACCCACUGGUGUCCUAUGAGU	145	ACUCAUAGGACACCAAGUGGGA	449	8
RD1975	1349	1369	UACCCACUGGUGUCCUAUGAG	146	CUCAUAGGACACCAAGUGGGA	450	59
RD1976	1381	1401	UGAAGCCCAUCAAAGCAGUGG	147	CCACUGCUUUGAUGGGCUUCA	451	77

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有序序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD1977	1425	1445	ACAGAUUUAAAAUGCCACUAU	148	AUAGUGGCAUUUUAAAUCUGU	452	78
RD1978	1426	1446	UACAGAUUUAAAAUGCCACUA	149	UAGUGGCAUUUUAAAUCUGUA	453	91
RD1979	1427	1447	UGACAGAUUUAAAAUGCCACU	150	AGUGGCAUUUUAAAUCUGUCA	454	90
RD1980	1428	1448	UUGACAGAUUUAAAAUGCCAC	151	GUGGCAUUUUAAAUCUGUCA	455	83
RD1981	1429	1449	UCUGACAGAUUUAAAAUGCCA	152	UGGCAUUUUAAAUCUGUCAGA	456	90
RD1982	1430	1450	UUCUGACAGAUUUAAAAUGCC	153	GGCAUUUUAAAUCUGUCAGAA	457	68
RD1983	1431	1451	UGUCUGACAGAUUUAAAAUGC	154	GCAUUUUAAAUCUGUCAGACA	458	72
RD1984	1436	1456	UGUAAUGUCUGACAGAUUUAA	155	UUAUUUCUGUCAGACAUUACA	459	92
RD1985	1441	1461	UCUUUUGUAAUGUCUGACAGA	156	UCUGUCAGACAUUACAAAAGA	460	92
RD1986	1513	1533	AUAUCAUGAUUCCCUUCUGAG	157	CUCAGAAGGGAAUCAUGAUU	461	63
RD1987	1516	1536	UCGAUAUCAUGAUUCCCUUCU	158	AGAAGGGAAUCAUGAUUUCGA	462	71
RD1988	1517	1537	UGCGAUUAUGAUUCCCUUC	159	GAAGGGAAUCAUGAUUUCGCA	463	80
RD1989	1518	1538	AGGCGAUUAUGAUUCCCUU	160	AAGGGAAUCAUGAUUUCGCU	464	77
RD1990	1545	1565	AAUUCAAAGGAGCCUGGAGUU	161	AACUCCAGGCUCUUUGAAUU	465	61
RD1991	1546	1566	UAAUUCAAAGGAGCCUGGAGU	162	ACUCCAGGCUCUUUGAAUU	466	55
RD1992	1547	1567	UUAAUUCAAAGGAGCCUGGAG	163	CUCCAGGCUCUUUGAAUU	467	65
RD1993	1548	1568	UGUAAUUCAAAGGAGCCUGGA	164	UCCAGGCUCUUUGAAUUACA	468	51
RD1994	1549	1569	UUGUAAUUCAAAGGAGCCUGG	165	CCAGGCUCUUUGAAUUACAA	469	82
RD1995	1550	1570	AGUGUAAUUCAAAGGAGCCUG	166	CAGGCUCUUUGAAUUACACU	470	74
RD1996	1551	1571	UAGUGUAAUUCAAAGGAGCCU	167	AGGCUCCUUUGAAUUACACUA	471	80
RD1997	1552	1572	UCAGUGUAAUUCAAAGGAGCC	168	GGCUCCUUUGAAUUACACUGA	472	71
RD1998	1557	1577	UGAAUUCAGUGUAAUUCAAAG	169	CUUUGAAUUCACUGAAUUA	473	0
RD1999	1567	1587	AUUGGUUUUUGGAAUUCAGUG	170	CACUGAAUUCACAAACCAAU	474	88
RD2000	1568	1588	UAUUGGUUUUUGGAAUUCAGU	171	ACUGAAUUCACAAACCAUA	475	91
RD2001	1570	1590	UAUAAUUGGUUUUUGGAAUUA	172	UGAAUUCACAAACCAAUUA	476	77
RD2002	1571	1591	UCAUAAUUGGUUUUUGGAAUUC	173	GAAUUCACAAACCAAUUGA	477	83
RD2003	1575	1595	UUAGGCAUAAUUGGUUUUUGGA	174	UCCAAACCAAUUGCCUAA	478	70
RD2004	1576	1596	UGUAGGCAUAAUUGGUUUUUGG	175	CCAAACCAAUUGCCUACA	479	63
RD2005	1577	1597	AGGUAGGCAUAAUUGGUUUUUG	176	CAAAACCAAUUGCCUACCU	480	52
RD2006	1578	1598	AAGGUAGGCAUAAUUGGUUUU	177	AAAACCAAUUGCCUACCUU	481	71
RD2007	1579	1599	UAAGGUAGGCAUAAUUGGUUUU	178	AAAACCAAUUGCCUACCUUA	482	77
RD2008	1580	1600	UGAAGGUAGGCAUAAUUGGUUU	179	AAACCAAUUGCCUACCUUCA	483	0
RD2009	1581	1601	UGGAAGGUAGGCAUAAUUGGUU	180	AACCAAUUGCCUACCUUCCA	484	66
RD2010	1588	1608	UCACCUUUGGAAGGUAGGCAU	181	AUGCCUACCUUCCAAAGGUGA	485	65
RD2011	1591	1611	UUGUCACCUUUGGAAGGUAGG	182	CCUACCUUCCAAAGGUGACAA	486	37
RD2012	1592	1612	UGUGUCACCUUUGGAAGGUAG	183	CUACCUUCCAAAGGUGACACA	487	57
RD2013	1593	1613	UUGUGUCACCUUUGGAAGGUA	184	UACCUUCCAAAGGUGACACA	488	22
RD2014	1849	1869	UUUGAUGCCACCAACGCCAC	185	GUGGCGUUUGGUGGGCAUCAA	489	18
RD2015	1880	1900	UUCCUGCGGGCACAGCCUUC	186	GAAGGCGUGCCCGCAGGGAA	490	36
RD2016	1889	1909	ACCAGGUUGCUCCUGCGGGC	187	GCCCGCAGGGAGCAACCGGU	491	-6
RD2017	1890	1910	UACCAGGUUGCUCCUGCGGG	188	CCCGCAGGGAGCAACCGGUA	492	45
RD2018	1891	1911	ACACCAGGUUGCUCCUGCGG	189	CCGCAGGGAGCAACCGGUGU	493	51
RD2019	1892	1912	UACACCAGGUUGCUCCUGCG	190	CGCAGGGAGCAACCGGUGUA	494	51
RD2020	1893	1913	AGACACCAGGUUGCUCCUGC	191	GCAGGGAGCAACCGGUGUCU	495	2
RD2021	1894	1914	UAGACACCAGGUUGCUCCUG	192	CAGGGAGCAACCGGUGUCUA	496	67
RD2022	1895	1915	UUAGACACCAGGUUGCUCCU	193	AGGGAGCAACCGGUGUCUAA	497	85
RD2023	1896	1916	UGUAGACACCAGGUUGCUCCC	194	GGGAGCAACCGGUGUCUACA	498	75
RD2024	1897	1917	UUGUAGACACCAGGUUGCUCC	195	GGAGCAACCGGUGUCUACAA	499	55
RD2025	1907	1927	AGCGACUUUGGUGUAGACACC	196	GGUGUCUACCAAAAGUCGCU	500	66
RD2026	1922	1942	UCAGUCCAUGUACUCAGCGAC	197	GUCGUGAGUACAUGGACUGA	501	69
RD2027	1923	1943	UCCAGUCCAUGUACUCAGCGA	198	UCGUGAGUACAUGGACUGGA	502	71
RD2028	1924	1944	AUCCAGUCCAUGUACUCAGCG	199	CGCUGAGUACAUGGACUGGAU	503	75

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD2029	1941	1961	UCUGUGUUUUCUCUAAAAUCC	200	GGAUUUUAGAGAAAACACAGA	504	73
RD2030	1942	1962	UUCUGUGUUUUCUCUAAAAUC	201	GAUUUUUAGAGAAAACACAGAA	505	67
RD2031	1943	1963	UCUCUGUGUUUUCUCUAAAAU	202	AUUUUUAGAGAAAACACAGAGA	506	68
RD2032	1944	1964	UGCUCUGUGUUUUCUCUAAAA	203	UUUUUAGAGAAAACACAGAGCA	507	71
RD2033	1945	1965	UUGCUCUGUGUUUUCUCUAAA	204	UUUAGAGAAAACACAGAGCAA	508	82
RD2034	1950	1970	UAUCACUGCUCUGUGUUUUCU	205	AGAAAACACAGAGCAGUGAUA	509	72
RD2035	1953	1973	UUCAUCACUGCUCUGUGUUU	206	AAACACAGAGCAGUGAUGGAA	510	81

表4

靶向SEQ ID NO:1的双链化合物对PKK mRNA的抑制

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD1896	940	960	UGGCAGGGUUCAGGUAAGUU	67	AACUUUACCUGAACCCUGCCA	371	44
RD1897	941	961	AUGGCAGGGUUCAGGUAAAGU	68	ACUUUACCUGAACCCUGCCA	372	41
RD1898	943	963	UAAUGGCAGGGUUCAGGUAAA	69	UUUACCUGAACCCUGCCA	373	75
RD1899	944	964	AGAAUGGCAGGGUUCAGGUAA	70	UUACCUGAACCCUGCCA	374	67
RD1900	945	965	UAGAAUGGCAGGGUUCAGGUA	71	UACCUGAACCCUGCCA	375	73
RD1901	946	966	UUAGAAUGGCAGGGUUCAGGU	72	ACCUGAACCCUGCCA	376	72
RD1902	947	967	UUUAGAAUGGCAGGGUUCAGG	73	CCUGAACCCUGCCA	377	79
RD1903	948	968	UUUUAGAAUGGCAGGGUUCAG	74	CUGAACCCUGCCA	378	80
RD1904	949	969	AUUUUAGAAUGGCAGGGUUCA	75	UGAACCCUGCCA	379	79
RD1905	950	970	AAUUUUAGAAUGGCAGGGUUC	76	GAACCCUGCCA	380	67
RD1906	951	971	AAAUUUUAGAAUGGCAGGGUU	77	AACCCUGCCA	381	57
RD1907	952	972	UAAAAUUUAGAAUGGCAGGGU	78	ACCCUGCCA	382	74
RD1908	953	973	UUAAAAUUUAGAAUGGCAGGG	79	CCUGCCA	383	84
RD1909	954	974	UGUAAAAUUUAGAAUGGCAGG	80	CCUGCCA	384	83
RD1910	957	977	UCGGGUAAAAUUUAGAAUGGC	81	GCCA	385	81
RD1911	958	978	UCCGGGUAAAAUUUAGAAUGG	82	CCA	386	78
RD1912	989	1009	UACAUUCAAUUCUUCUCCUC	83	GGAGGAGAAGAAUUGAAUGUA	387	73
RD1913	990	1010	UCACAUUCAAUUCUUCUCCUC	84	GAGGAGAAGAAUUGAAUGUGA	388	91
RD1914	992	1012	AGUCACAUUCAAUUCUUCUCC	85	GGAGAAGAAUUGAAUGUGACU	389	77
RD1915	1017	1037	UGCAAACAUUCACUCCUUUA	86	UUAAGGAGUGAAUGUUUGCA	390	85
RD1916	1050	1070	ACUGACAGCGAAUCAUCUUUG	87	CAAAGAUGAUUCGCGUCAGU	391	93
RD1917	1051	1071	AACUGACAGCGAAUCAUCUUU	88	AAAGAUGAUUCGCGUCAGUU	392	92
RD1918	1052	1072	AAACUGACAGCGAAUCAUCUU	89	AAGAUGAUUCGCGUCAGUUU	393	91
RD1919	1053	1073	AAAACUGACAGCGAAUCAUCU	90	AGAUGAUUCGCGUCAGUUUU	394	81
RD1920	1054	1074	AAAAACUGACAGCGAAUCAUC	91	GAUGAUUCGCGUCAGUUUUU	395	93
RD1921	1057	1077	UUGAAAAACUGACAGCGAAUC	92	GAUUCGCGUCAGUUUUUCAA	396	91
RD1922	1058	1078	AGUGAAAAACUGACAGCGAAU	93	AUUCGCGUCAGUUUUUACU	397	85
RD1923	1059	1079	AAGUGAAAAACUGACAGCGAA	94	UUCGCGUCAGUUUUUACUU	398	93
RD2036	1954	1974	UUUCCAUCACUGCUCUGUGUU	207	AACACAGAGCAGUGAUGGAAA	511	69
RD2037	2037	2057	UGCUCAGAAUUUGACUUGAAC	208	GUUCAAGUCAAUUCUGAGCA	512	0
RD2038	2038	2058	AGGCUCAGAAUUUGACUUGAA	209	UUCAAGUCAAUUCUGAGCCU	513	0
RD2039	2039	2059	UAGGCUCAGAAUUUGACUUGA	210	UCAAGUCAAUUCUGAGCCUA	514	0
RD2040	2040	2060	UCAGGCUCAGAAUUUGACUUG	211	CAAGUCAAUUCUGAGCCUGA	515	0
RD2041	2041	2061	UCCAGGCUCAGAAUUUGACUU	212	AAGUCAAUUCUGAGCCUGGA	516	0
RD2042	2043	2063	UCCCCAGGCUCAGAAUUUGAC	213	GUCAAUUCUGAGCCUGGGGA	517	0

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有序序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD2043	2067	2087	UCUCCAUGC UUUGCAGAUAGAG	214	CUCAUCUGCAAAGCAUGGAGA	518	0
RD2044	2070	2090	UACUCUCCAUGC UUUGCAGAU	215	AUCUGCAAAGCAUGGAGAGUA	519	0
RD2045	2071	2091	UCACUCUCCAUGC UUUGCAGA	216	UCUGCAAAGCAUGGAGAGUGA	520	11
RD2046	2072	2092	UCCACUCUCCAUGC UUUGCAG	217	CUGCAAAGCAUGGAGAGUGGA	521	16
RD2047	2073	2093	UGCCACUCUCCAUGC UUUGCA	218	UGCAAAGCAUGGAGAGUGGCA	522	28
RD2048	2074	2094	AUGCCACUCUCCAUGC UUUGC	219	GCAAAGCAUGGAGAGUGGCAU	523	28
RD2049	2075	2095	UAUGCCACUCUCCAUGC UUUG	220	CAAAGCAUGGAGAGUGGCAUA	524	35
RD2050	2076	2096	AGAUGCCACUCUCCAUGC UUUG	221	AAAGCAUGGAGAGUGGCAUCU	525	0
RD2051	2131	2151	UAUUGUCCUCAGCAGCUCUGA	222	UCAGAGCUGCUGAGGACAAUA	526	0
RD2064	172	192	UCUACAUCUCCACUUCUGAAG	223	CUUCAGAAGUGGGGAGUGUAGA	527	48
RD2065	173	193	AGCUACAUCUCCACUUCUGAA	224	UUCAGAGAUGGGGAGUAGCU	528	45
RD2066	175	195	UAAGCUACAUCUCCUACCUCUG	225	CAGAGGUAGGGAGUAGCUUA	529	47
RD2067	176	196	UGAAGCUACAUCUCCUACCUCU	226	AGAGGUGAGAGUAGUAGCUUCA	530	65
RD2068	177	197	UGGAAGCUACAUCUCCACCUC	227	GAGGUGGAGAGUAGCUUCCA	531	66
RD2069	178	198	AUGGAAGCUACAUCUCCACCUC	228	AGGUGGGAAUGUAGCUUCCA	532	83
RD2070	181	201	UACAUGGAAGCUAUAUCCCA	229	UGGGGAUAUAGCUUCCAUGUA	533	79
RD2071	242	262	UAAUAGCAAACAUUUGGGUG	230	CACCAAAGUGUUUGCUAUUA	534	10
RD2072	243	263	UGAAUAGCAAACAUUUGGGU	231	ACCCAAGAUUUUGCUAUUCA	535	90
RD2073	245	265	ACUGAAUAGCAAUACCUUGG	232	CCAAGGUUUUGCUAUUCAGU	536	82
RD2074	249	269	UAAAACUGAAUAGUAAACACC	233	GGUGUUUACUUAUUCAGUUUA	537	74
RD2075	288	308	UAAACCUUUUCUUAUGUCAU	234	AUGACAUAGAGAAAAGGUUUA	538	48
RD2076	312	332	UAACACUAUCUUUUUAGAAGC	235	GCUUCUUAUAAAGAUAGUGUUA	539	0
RD2077	316	336	UCUGUAACACUAUUUUUACAAG	236	CUUGAAAAUAGUGUUAACAGA	540	0
RD2078	438	458	AAUUGACUCCUUAUAUCAA	237	UUGAUUAUAGAGGAGUCAUUU	541	85
RD2079	440	460	AAAAUUGACUCCUUAUAUAUC	238	GAUAUGAAAGGAGUCAUUUUU	542	76
RD2080	442	462	UUAAAAUUGACUCUUCUCAUA	239	UAUGAGAAGAGUCAUUUUUAA	543	63
RD2081	443	463	AUUAAAAUUGACUUCUCUCAU	240	AUGAGAGAAGUCAUUUUUAAU	544	29
RD2082	445	465	ACAUUAAAAUUGAUUCCUCUC	241	GAGAGGAUCAAUUUUUAUGU	545	28
RD2083	473	493	UCAUUCUUAACAUAUGCUAAC	242	GUUAGCAAUGUUGAAGAAUGA	546	82
RD2084	475	495	UGGCAUUCUUAUAUACUCUA	243	UAGCAGUAUUGAAGAAUGCCA	547	71
RD2085	478	498	UUUUGGCAUUCUUAACACUG	244	CAGUGUUAAGAAUGCCAAA	548	86
RD2086	631	651	UAGAAUCCAGAUUUCACGUUA	245	UAACGUGAAAUCUGGAUUCUA	549	52
RD2087	637	657	UUCAGUGAGAAUCUAGAUUCC	246	GGAUUCUAGAUUUCACUGAA	550	65
RD2088	926	946	UAAAGUUCUUAUUGUAGGUAA	247	UUAACCUACAAAAGAACUUUA	551	0
RD2089	932	952	UUCAGGUAAAGUUUUUUGCA	248	UGCAAAAAACUUUACCUGAA	552	8
RD2090	943	963	UAAUGGCAGGGUUUAGGUAAA	249	UUUACCUAAACCCUGCCAUA	553	82
RD2091	950	970	AAUUUUAGAAUGGUAGGGUUC	250	GAACCCUACCAUUCUAAAAUU	554	81
RD2092	969	989	UAAAGUCAACUCCUGGGUAAA	251	UUUACCCAGGAGUUGACUUUA	555	50
RD2093	970	990	UCAAAGUCAACUCUGGGUAA	252	UUACCCGAGAGUUGACUUUGA	556	65
RD2094	971	991	UCCAAAGUCAACUCCGGGUA	253	UACCCGGAAGUUGACUUUGGA	557	84
RD2095	985	1005	UUCAAUUCUUCUUCUCCAAAG	254	CUUUGGAAGAGAAGAAUUGAA	558	91
RD2096	986	1006	AUUCAAUUCUUCUUCUCCAAA	255	UUUGGAGAAGAAGAAUUGAAU	559	80
RD2097	1020	1040	UUUGGCAACAUUUACUCCUU	256	AAGGAGUAAAUGUUUGCCAAA	560	92
RD2098	1050	1070	ACUGACAGCGAAUUAUCUUUG	257	CAAAGAUAAUUCGUGUCAGU	561	92
RD2099	1058	1078	AGUGAAAAACUGAUAGCGAAU	258	AUUCGCUAUCAGUUUUUCACU	562	74
RD2100	1062	1082	AAUAAGUGAAAAAUUGACAGC	259	GUGUCAAUUUUUCACUUAUU	563	78
RD2101	1087	1107	UCCUACAGUCUUUUUGGGAGU	260	ACUCCCAAAGACUGUAAGGA	564	36
RD2103	1171	1191	UAACCAGAGCUCCUUUGUGUC	261	GACACAAAGGAGCUCUGGUUA	565	67
RD2104	1172	1192	UUAACCAGAGCUCUCUUGUGU	262	ACACAAGAGAGCUCUGGUUA	566	89
RD2105	1175	1195	AGAGUAACCAGAGUUCUUUG	263	CAAGGGAACUCUGGUUACUCU	567	93
RD2106	1181	1201	UCUCAAGAGUAAUCAGAGCU	264	AGCUCUGAUUACUCUUUGAGA	568	77
RD2107	1197	1217	UCCAGUGUUAUAUAUCUCA	265	UGAGAUUAUGUAACACUGGGA	569	44

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO:	有序序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO:	PKK % 抑制
RD2108	1249	1269	UUUGUUCUCCAUAUUGCGU	266	ACGCAUUAUUGGAGGAACAAA	570	70
RD2109	1252	1272	UAGUUUGUUCUUAACAAUG	267	CAUUGUUAGAGGAACAAACUA	571	49
RD2110	1253	1273	AGAGUUUGUUCUUAACAUA	268	AUUGUUGAAGGAACAAACUCU	572	69
RD2111	1255	1275	UAAGAGUUUGUUCUCCAACA	269	UGUUGGAAGAACAACUCUUA	573	48
RD2112	1256	1276	AGAAGAGUUUGUUCUCCAAC	270	GUUGGAGAAACAACUCUUCU	574	78
RD2113	1272	1292	AGGGCCACUCUCCAAGAAG	271	CUUCUUGAGGAGAGUGGCCCU	575	33
RD2114	1273	1293	UAGGGCCACUCUCCAAGAA	272	UUCUUGGAGAGAGUGGCCCUA	576	59
RD2115	1274	1294	UCAGGGCCACUCUCCAAGA	273	UCUUGGGAAGAGUGGCCUGA	577	61
RD2116	1331	1351	UAGUGACCCUCCAUACAGGUG	274	CACCUGUAUGGAGGGUCACUA	578	58
RD2117	1334	1354	UAUGAGUGACCUUCACACAG	275	CUGUGUGAAGGGUACUCUA	579	90
RD2118	1336	1356	UCUAUGAGUGACCUUCCACAC	276	GUGUGGAAGGUACUCUAUGA	580	76
RD2119	1337	1357	UCCUAUGAGUGACUCUCCACA	277	UGUGGAGAGUCACUAUAGGA	581	76
RD2120	1338	1358	UUCCUAUGAGUGAUCCUCCAC	278	GUGGAGGAUCACUAUAGGAA	582	81
RD2121	1348	1368	ACCCACUGGUGUCUUAUGAGU	279	ACUCAUAAGACACCAGUGGGU	583	42
RD2122	1349	1369	UACCCACUGGUGUUCUAUGAG	280	CUCAUAGAACCAGUGGGUA	584	54
RD2123	1441	1461	UCUUUUGUAAUGUUUGACAGA	281	UCUGUCAAACAUUACAAAGA	585	90
RD2124	1513	1533	AUAUCAUGAUUCCUUUCUGAG	282	CUCAGAAAGGAUUAUUAUUA	586	59
RD2125	1545	1565	AAUUCAAAGGAGCUUGGAGUU	283	AACUCCAAGCUCCUUUGAAUU	587	78
RD2126	1546	1566	UAAUUCAAAGGAGUCUGGAGU	284	ACUCCAGACUCCUUUGAAUUA	588	78
RD2127	1844	1864	UCCCACCAACGCUACAUCC	285	GGAAUGUAGCGUUUGGUGGGA	589	40
RD2128	1845	1865	UGCCCACCAACGUCACAUUC	286	GAAUGUGACGUUUGGUGGGCA	590	64
RD2129	1847	1867	UAUGCCCACCAAUUGCCACAU	287	AUGUGGCAUUGGUGGGCAUA	591	76
RD2130	1880	1900	UUCCUGCGGGCAUAGCCUUC	288	GAAGGCUAUGCCCGCAGGGAA	592	71
RD2131	1889	1909	ACCAGGUUGCUCCUUGCGGGC	289	GCCCGCAAGGAGCAACCUUGU	593	36
RD2132	1890	1910	UACCAGGUUGCUCUCUGCGGG	290	CCCGCAGAGAGCAACCUUGUA	594	63
RD2133	1891	1911	ACACCAGGUUGCUUCCUGCGG	291	CCGCAGGAAGCAACCUUGUGU	595	52
RD2134	1893	1913	AGACACCAGGUUGUUCUCCUGC	292	GCAGGGAACAACCUUGGUGUCU	596	6
RD2135	1915	1935	AUGUACUCAGCGAUUUUGGUG	293	CACCAAAUUCGCUAGAUACAU	597	82
RD2136	1918	1938	UCCAUGUACUCAGUGACUUUG	294	CAAAGUCACUGAGUACAUGGA	598	83
RD2137	1921	1941	UAGUCCAUGUACUUAAGCGACU	295	AGUCGCUAAGUACAUGGACUA	599	71
RD2138	1923	1943	UCCAGUCCAUGUAUUCAGCGA	296	UCGCUGAUACAUGGACUGGA	600	68
RD2139	1929	1949	UUAAAAUCCAGUCUAUGUACU	297	AGUACAUAGACUGGAUUUUAA	601	57
RD2140	1930	1950	UCUAAAAUCCAGUUAUGUAC	298	GUACAUGAACUGGAUUUUAGA	602	68
RD2141	1942	1962	UUCUGUGUUUUUUUAAAAUC	299	GAUUUUAAAGAAAACACAGAA	603	26
RD2142	1944	1964	UGCUCUGUGUUUUUUUAAAA	300	UUUUAGAAAAAACACAGAGCA	604	68
RD2143	1953	1973	UUCCAUCACUGCUUUGUGUUU	301	AAACACAAAGCAGUGAUGGAA	605	85
RD2144	2067	2087	UCUCCAUGCUUUGUAGAUAG	302	CUCAUCUACAAAGCAUGGAGA	606	39
RD2145	2072	2092	UCCACUCUCCAUGUUUUGCAG	303	CUGCAAAACAUGGAGAGUGGA	607	28
RD2146	2076	2096	AGAUGCCACUCUCUAUGCUUU	304	AAAGCAUAGAGAGUGGCAUCU	608	0

实施例2——HEK-293T细胞中人PKK的剂量依赖性抑制

[0244] 选择来自上述研究的对PKK mRNA表现出显著体外抑制的化合物,并在HEK-293T细胞中以不同剂量对其进行测试,如上所述。将化合物在0.01、0.1、1和10nM的浓度下测试,并计算IC₅₀值(表5)。

表5

化合物 编号	IC ₅₀ (nM)
RD1872	0.33
RD1874	0.41
RD1913	0.033
RD1923	0.044
RD1948	0.16
RD1956	0.11
RD1978	0.14
RD1993	0.038
RD1996	0.086
RD2022	0.16
RD2028	0.10

实施例3:靶向人PKK的化合物在食蟹猴中的作用

[0245] 在食蟹猴(cynomolgus monkey)中对从体外基因表达筛选所鉴定的目的化合物进行评价(表7)。在研究之前,使猴保持隔离,期间每天观察动物的一般健康。在研究的第1天,对十个1只食蟹猴的组每只注射单次6mg/kg皮下剂量的寡核苷酸。在研究期间,每天观察猴是否有疾病或痛苦的体征。在第-6天和第1天(给药之前)、第4、8、15、22、29、36、43、50、57和64天对动物进行采血用于血清收集和分析。所述方案经机构动物护理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee,IACUC)批准。使用对人血管紧张素原具有特异性的ELISA(且与食蟹猴交叉反应),根据制造商方案(IBLAmerica#27412)对循环PKK水平进行定量。将PKK抑制数据表示为基线值的百分比(在给药之前第1天)(表8)。

表6

化合物序列

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:
RD2305	660	682	ACCAAUUUCUGAAAGGGCACAGG	306	UCCUGUGCCCUUUCAGAAAUUGGU	610
RD2306	988	1010	UCACAUUCAAUUCUCCUCCA	307	CGGAGGAGAAGAAUUGAAUGUGA	611
RD2307	1057	1079	AAGUGAAAAACUGACAGCGAACC	308	UGGUUCGCUGUCAGUUUUUCACUU	612
RD2308	1140	1162	AAUCCUAGUUGGAGAACCAUCCG	309	CGGAUGGUUCUCCAAUAGGAUU	613
RD2309	1177	1199	UCAAGAGUAACCAGAGCUCCCU	310	UGGAGCUCUGGUUACUCUUUGA	614
RD2310	1424	1446	UACAGAUUUAAAUGCCACUGCG	311	UCGCAGUGGCAUUUUAAUUCUGUA	615
RD2311	1546	1568	UGUAAUUCAAGGAGCCUGGAGU	312	UCUCCAGGCUCUUUGAAUUACA	616
RD2312	1895	1915	UUAGACACCAGGUUGCUCCCU	193	UAGGGAGCAACCUGGUGUCUAA	617
RD2313	1924	1944	AUCCAGUCCAUGUACUCAGCG	199	UCGCUGAGUACAUGGACUGGAU	618

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:
RD2192	1549	1571	UAGUGUAAUUCAAAGGAGCCUGG	305	CCAGGCUCUUUGAAUUACACUA	609

表7

化合物化学

化合物	经修饰链 (5'至3')	Ref ID NO:	SEQ ID NO:
RD2305	mA*fc*mC.fA.mA.fU.mU.fU.mC.fU.mG.fA.mA.fA.mG.fG.mG.fC.mA.fC.mA*mG*mG	IA0812	306
	H1.mC*mC*mU*mG*mU.mG.mC.mC.fC.mU.fU.fU.fC.fA.mG.mA.mA.mU.mU.mG.mG*mU*dQ	IS1001	610
RD2306	mU*fc*mA.fC.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mU.fU.mC.fU.mU.fC.mC.fU.mC*mC*mA	IA0813	307
	H7.mG*mG*mA.mG.mG.mA.mG.fA.mA.fG.fA.fA.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mG.mU.mG*mA*dQ	IS1002	611
RD2307	mA*fa*mG.fU.mG.fA.mA.fA.mA.fA.mC.fU.mG.fA.mC.fA.mG.fC.mG.fA.mA*mC*mC	IA0814	308
	H1.mG*mG*mU.mU.mC.mG.mC.mU.fG.mU.fC.fA.fG.fU.mU.mU.mU.mC.mA.mC.mU*mU*dQ	IS1003	612
RD2309	mU*fc*mA.fA.mA.fG.mA.fG.mU.fA.mA.fC.mC.fA.mG.fA.mG.fC.mU.fC.mC*mC*mU	IA0816	310
	H1.mG*mG*mA.mG.mC.mU.fC.mU.fG.fG.fU.mA.mC.mU.mC.mU.mU.mU.mG*mA*dQ	IS1005	614
RD2308	mA*fa*mU.fC.mC.fU.mA.fG.mU.fU.mG.fG.mA.fG.mA.fA.mC.fC.mA.fU.mC*mC*mG	IA0815	309
	H7.mG.mG*mA*mU.mG.mG.mU.fU.mC.fU.fC.fC.fA.mA.mC.mU.mA.mG.mG.mA.mU*mU*dQ	IS1004	613
RD2310	mU*fa*mC.fA.mG.fA.mU.fU.mU.fA.mA.fA.mA.fU.mG.fC.mC.fA.mC.fU.mG*mC*mG	IA0817	311
	H1.mC*mG*mC.mA.mG.mU.mG.mG.fC.mA.fU.fU.fU.fU.mA.mA.mA.mU.mC.mU.mG.mU*mA*dQ	IS1006	615
RD2311	mU*fg*mU.fA.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mA.fG.mG.fA.mG.fC.mC.fU.mG.fG.mA*mG*mU	IA0818	312
	H1.mC*mU*mC.mC.mA.mG.mG.fC.mU.fC.fC.fU.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mU.mA.mC*mA*dQ	IS1007	616
RD2192	mU*fa*mG.fU.mG.fU.mA.fA.mU.fU.mC.fA.mA.fA.mG.fG.mA.fG.mC.fC.mU*mG*mG	IA0819	305
	H6.mC*mA*mG.mG.mC.mU.mC.fC.mU.fU.fU.fG.fA.mA.mU.mU.mA.mC.mA.mC.mU*mA*dQ	IS0925	609
RD2312	mU*fu*mA.fG.mA.fC.mA.fC.mC.fA.mG.fG.mU.fU.mG.fC.mU.fC.mC*fc*mU	IA0820	193
	H1.mA*mG*mG.mG.mA.mG.fC.mA.fA.fC.fC.fU.mG.mG.mU.mG.mU.mC.mU.mA*mA*dQ	IS1008	617
RD2313	mA*fu*mC.fC.mA.fG.mU.fC.mC.fA.mU.fG.mU.fA.mC.fU.mC.fA.mG*fc*mG	IA0821	199
	H1.mC*mG*mC.mU.mG.mA.fG.mU.fA.fC.fA.fU.mG.mG.mA.mC.mU.mG.mG.mA*mU*dQ	IS1009	618

表8

平均PKK抑制

化合物	天									
	4	8	15	22	29	36	43	50	57	64
RD2305	1	0	2	37	11	5	0	0	0	0
RD2306	43	60	74	88	89	84	72	70	72	63
RD2307	35	54	60	69	70	79	55	54	55	50
RD2309	18	58	47	69	58	71	44	54	49	45
RD2308	47	32	33	42	44	45	28	24	20	18
RD2310	4	37	46	64	69	72	59	62	58	53
RD2311	29	55	74	85	92	92	80	75	71	63
RD2192	20	-6	-46	26	2	18	-4	5	-6	0
RD2312	34	42	74	78	75	72	59	51	57	54
RD2313	33	50	75	90	84	93	82	82	83	84

实施例4:靶向人PKK的化合物在食蟹猴中的作用

[0246] 在食蟹猴中对从体外基因表达筛选所鉴定的目的化合物进行评价(表10)。在研究之前,使猴保持隔离,期间每天观察动物的一般健康。在研究的第1天,对八个2只食蟹猴的组每只注射单次4mg/kg皮下剂量的寡核苷酸。在研究期间,每天观察猴是否有疾病或痛苦的体征。在第-6天和第1天(给药之前)、第4、8和15天对动物进行采血用于血清收集和分析。未来的收集将在第22、29、36、43、50、57、64、71、78和85天进行。在第二组实验中,在第-6天和第1天(给药之前)、第4、8、15和22天对动物进行采血用于血清收集和分析。第二组实验的未来收集将在第29、36、43、50、57、64、71、78和85天进行。在第三组实验中,在第-6天和第1天(给药之前)、第4、8、15、22、29和36天对动物进行采血用于血清收集和分析。第三组实验的未来收集将在第43、50、57、64、71、78和85天进行。在第四组实验中,在第-6天和第1天(给药之前)、第4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78和85天对动物进行采血用于血清收集和分析。所述方案经机构动物护理和使用委员会(IACUC)批准。使用对人血管紧张素原具有特异性的ELISA(且与食蟹猴交叉反应),根据制造商方案(IBM America#27412)对循环PKK水平进行定量。将PKK抑制数据表示为基线值的百分比(在给药之前第1天)和每种化合物的该

组的平均值。四组实验的结果在表11、12、13和14中示出。临床化学在第-1天或第-6天、和第63或64天、和第92天进行。不存在与测试制品相关的对体重的作用(表15),并且所有血清化学值均在参考范围内(表16和17)。

表9
化合物序列

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:
RD2423	1546	1568	UGUAAUCAAAGGAGCCUGGAGU	312	CUCCAGGCUCUUUGAAUUACA	619
RD2436	1546	1568	UGUAAUCAAAGGAGCCUGGAGU	312	UCUCCAGGCUCUUUGAAUUACA	616
RD2437	1546	1568	UGUAAUCAAAGGAGCCUGGAGU	312	UCUCCAGGCUCUUUGAAUUACAU	620
RD2438	1546	1568	UGUAAUCAAAGGAGCCUGGAGU	312	UCCAGGCUCUUUGAAUUACA	468
RD2439	988	1010	UCACAUCAAUUCUUCUCCUCCA	307	UGGAGGAGAAGAAUUGAAUGUGA	622
RD2440	988	1010	UCACAUCAAUUCUUCUCCUCCA	307	UGGAGGAGAAGAAUUGAAUGUGAU	623
RD2442	1569	1591	UCAUAUUGGUUUUGGAAUUCAG	313	CUGAAUCCAAAACCAAUUGA	624
RD2492	1548	1568	UGUAAUCAAAGGAGCCUGGA	164	UUCUUUGAAUUACA	625

表10
化合物化学

化合物	经修饰链 (5'至3')	Ref ID NO:	SEQ ID NO:
RD2423	mU*fG*mU.fA.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mA.fG.mG.fA.mG.fC.mC.fU.mG.fG.mA*mG*mU	IA0818	312
	H9*mU*mC.mC.mA.mG.mG.fC.mU.fC.fC.fU.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mU.mA.mC*mA*dQ	IS1058	619
RD2436	mU*fG*mU.fA.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mA.fG.mG.fA.mG.fC.mC.fU.mG.fG.mA*mG*mU	IA0818	312
	H2*mC*mU.mC.mC.mA.mG.mG.fC.mU.fC.fC.fU.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mU.mA.mC*mA*dQ	IS1066	616
RD2437	mU*fG*mU.fA.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mA.fG.mG.fA.mG.fC.mC.fU.mG.fG.mA*mG*mU	IA0818	312
	H2*mC*mU.mC.mC.mA.mG.mG.fC.mU.fC.fC.fU.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mU.mA.mC*mA*dQ	IS1067	620
RD2438	mU*fG*mU.fA.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mA.fG.mG.fA.mG.fC.mC.fU.mG.fG.mA*mG*mU	IA0818	312
	H2*mC*mC.mA.mG.mG.fC.mU.fC.fC.fU.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mU.mA.mC*mA*dQ	IS1068	468
RD2439	mU*fC*mA.fC.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mU.fU.mC.fU.mU.fC.mU.fC.mC.fU.mC*mC*mA	IA0813	307
	H2*mG*mG.mA.mG.mG.mA.mG.fA.mA.fG.fA.fA.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mG.mU.mG*mA*dQ	IS1069	622
RD2440	mU*fC*mA.fC.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mU.fU.mC.fU.mU.fC.mU.fC.mC.fU.mC*mC*mA	IA0813	307
	H2*mG*mG.mA.mG.mG.mA.mG.fA.mA.fG.fA.fA.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mG.mU.mG.mA*mU*dQ	IS1070	623
RD2442	mU*fC*mA.fU.mA.fU.mU.fG.mG.fU.mU.fU.mU.fU.mG.fG.mA.fA.mU.fU.mC*mA*mG	IA0828	313
	H9*mU*mG.mA.mA.mU.mU.mC.fC.mA.fA.fA.fA.fA.mC.mC.mA.mA.mU.mA.mU.mG*mA*dQ	IS1072	624
RD2492	mU*fG*mU.fA.mA.fU.mU.fC.mA.fA.mA.fG.mG.fA*mG*fC*mC*fU*mG*fG*mA	IA0867	164
	H2*mU.fC.fC.fU.fU.mU.mG.mA.mA.mU.mU.mA.mC.mA*dQ	IS1074	625

表11
平均PKK抑制

化合物	天		
	4	8	15
RD2423	28	52	66
RD2436	22	43	67
RD2437	62	45	66
RD2438	21	50	77
RD2439	26	43	55
RD2440	21	31	46
RD2442	20	41	71
RD2492	23	37	55

表12
平均PKK抑制

	天			
化合物	4	8	15	22
RD2423	26	51	79	85
RD2436	20	40	69	76
RD2437	5	33	64	75
RD2438	30	49	74	81
RD2439	4	36	58	64
RD2440	4	27	46	39
RD2442	9	39	63	70
RD2492	17	33	52	54

表13

平均PKK抑制

	天					
化合物	4	8	15	22	29	36
RD2423	26	51	79	85	85	84
RD2436	20	40	69	76	77	79
RD2437	5	33	64	75	77	79
RD2438	30	49	74	81	76	76
RD2439	4	36	58	64	63	-
RD2440	4	27	46	39	47	-
RD2442	9	39	63	70	67	-
RD2492	17	33	52	54	52	-

表14

平均PKK抑制

化合物	第4天	第8天	第15天	第22天	第29天	第36天	第43天	第50天	第57天	第64天	第71天	第78天	第85天
RD2423	14	41	74	88	91	90	88	92	81	85	87	80	68
RD2436	20	40	69	76	77	79	73	77	76	69	61	64	37
RD2437	5	33	64	75	77	79	70	80	79	71	70	68	54
RD2438	30	49	74	81	76	76	68	71	60	52	42	36	
RD2439	4	36	58	64	63	58	65	66					
RD2440	4	27	46	39	47								
RD2442	9	39	63	70	67	73	72	72	71	59	60	62	56
RD2492	17	33	52	54	52								

表15

体重 (kg)

化合物	第-1天	第63天	第91天
RD2423食蟹猴#1	2.4	2.4	2.4
RD2423食蟹猴#2	2.6	2.6	2.7
RD2436食蟹猴#1	2.9	3.1	3.2
RD2436食蟹猴#2	2.5	2.6	2.7
RD2437食蟹猴#1	3.1	3.2	3.2
RD2437食蟹猴#2	2.6	2.7	2.9
RD2438食蟹猴#1	3.2	3.2	3.4

RD2438食蟹猴#2	2.5	2.6	2.6
RD2439食蟹猴#1	3.6	4.1	N/A
RD2439食蟹猴#2	2.7	2.8	N/A
RD2440食蟹猴#1	3.9	4.3	N/A
RD2440食蟹猴#2	2.3	2.4	N/A
RD2442食蟹猴#1	4.4	4.5	4.6
RD2442食蟹猴#2	2.3	2.4	2.5
RD2492食蟹猴#1	4	4	N/A
RD2492食蟹猴#2	2.3	2.3	N/A

表16

肝功能标志物

化合物	ALT (U/L)			AST (U/L)			胆红素 (mg/dL)			白蛋白 (g/dL)		
	第-6天	第64天	第92天	第-6天	第64天	第92天	第-6天	第64天	第92天	第-6天	第64天	第92天
RD2423 食蟹猴 #1	47	47	51	53	46	46	0.25	0.26	0.28	4.3	4.5	4.5
RD2423 食蟹猴 #2	76	75	58	69	65	46	0.15	0.36	0.27	4.0	4.3	3.9
RD2436 食蟹猴 #1	25	22	25	45	48	39	0.24	0.34	0.32	4.5	4.3	4.1
RD2436 食蟹猴 #2	65	73	78	64	41	42	0.19	0.23	0.25	4.4	4.5	4.5
RD2437 食蟹猴 #1	41	40	51	39	43	43	0.24	0.28	0.27	4.3	4.5	4.4
RD2437 食蟹猴 #2	55	51	50	55	57	48	0.14	0.24	0.26	4.5	4.6	4.4
RD2438 食蟹猴 #1	66	64	64	101	62	50	0.18	0.17	0.17	4.2	4.5	4.2
RD2438 食蟹猴 #2	25	21	25	38	33	33	0.33	0.44	0.53	4.8	4.6	4.5
RD2439 食蟹猴 #1	80	64	N/A	87	48	N/A	0.16	0.16	N/A	4.4	4.6	N/A
RD2439 食蟹猴 #2	105	88	N/A	49	54	N/A	0.15	0.23	N/A	4.5	4.4	N/A
RD2440 食蟹猴 #1	66	48	N/A	115	52	N/A	0.32	0.30	N/A	4.4	4.6	N/A
RD2440 食蟹猴 #2	50	58	N/A	45	48	N/A	0.25	0.39	N/A	4.8	5.0	N/A
RD2442 食蟹猴 #1	66	61	69	54	38	55	0.17	0.17	0.30	4.1	4.2	4.1
RD2442 食蟹猴 #2	63	70	70	51	54	56	0.21	0.23	0.17	4.3	4.4	4.3
RD2492 食蟹猴 #1	57	39	N/A	84	38	N/A	0.12	0.17	N/A	4.2	4.2	N/A
RD2492 食蟹猴 #2	92	78	N/A	72	85	N/A	0.18	0.27	N/A	4.7	4.5	N/A

表17

肾功能标志物

化合物	BUN (mg/dL)			肌酐 (mg/dL)		
	第-6天	第64天	第92天	第-6天	第64天	第92天
RD2423 食蟹猴 #1	24	20	18	0.51	0.62	0.58
RD2423 食蟹猴 #2	34	30	28	0.51	0.61	0.55
RD2436 食蟹猴 #1	27	26	23	0.48	0.49	0.47
RD2436 食蟹猴 #2	22	19	19	0.46	0.51	0.56
RD2437 食蟹猴 #1	31	24	21	0.61	0.71	0.75
RD2437 食蟹猴 #2	25	21	23	0.48	0.48	0.43
RD2438 食蟹猴 #1	23	27	20	0.46	0.64	0.61
RD2438 食蟹猴 #2	21	18	22	0.50	0.47	0.46
RD2439 食蟹猴 #1	21	21	N/A	0.53	0.63	N/A

RD2439 食蟹猴 #2	28	27	N/A	0.39	0.36	N/A
RD2440 食蟹猴 #1	23	24	N/A	0.53	0.74	N/A
RD2440 食蟹猴 #2	24	19	N/A	0.32	0.44	N/A
RD2442 食蟹猴 #1	30	26	25	0.57	0.75	0.62
RD2442 食蟹猴 #2	28	30	27	0.50	0.61	0.59
RD2492 食蟹猴 #1	23	22	N/A	0.52	0.59	N/A
RD2492 食蟹猴 #2	33	26	N/A	0.66	0.44	N/A

实施例5: 靶向人PKK的化合物在食蟹猴中的作用

[0247] 在食蟹猴中对目的化合物进行评价(表19)。在研究之前,使猴保持隔离,期间每天观察动物的一般健康。在研究的第1天,对八个2只食蟹猴的组每只注射单次4mg/kg皮下剂量的寡核苷酸。在研究期间,每天观察猴是否有疾病或痛苦的体征。在第-6天和第1天(给药之前)、第8、15和22天对动物进行采血用于血清收集和分析。未来的收集将在第29、36、43、50、57、64和71天进行。在第二组实验中,在第-6天和第1天(给药之前)、第8、15、22、29、36、43、50、57、64和71天对动物进行采血。所述方案经机构动物护理和使用委员会(IACUC)批准。使用对人血管紧张素原具有特异性的ELISA(且与食蟹猴交叉反应),根据制造商方案(IBLAmerica#27412)对循环PKK水平进行定量。将PKK抑制数据表示为基线值的百分比(在给药之前第1天)和每种化合物的该组的平均值。来自两组实验的结果在表20和21中示出。临床化学在第-1天或第-6天、和第64天、和第92天进行。不存在与测试制品相关的对体重的作用(表22),并且所有血清化学值均在参考范围内(表23和24)。

表18

化合物序列

化合物 编号	Seq ID NO:1 起始 位点	SEQ ID NO:1 终止 位点	反义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:	有义序列 (5'至3')	SEQ ID NO:
RD2424	630	652	UGAGAAUCCAGAUUCCACGUUAC	626	UAACGUGGAAUCUGGAUUCUCA	629
RD2425	689	711	UCAAGAUGCUGGAAGAUGUUCAU	627	UGAACAUUCUCCAGCAUCUUGA	630
RD2426	1183	1205	ACAAUCUCAAGAGUAACCAGAG	628	CUCUGGUUACUCUUUGAGAUUGU	631

表19

化合物化学

化合物	经修饰链 (5'至3')	Ref ID NO:	SEQ ID NO:
RD2424	mU*fG*mA.fG.mA.fA.mU.fC.mC.fA.mG.fA.mU.fU.mC.fC.mA.fC.mG.fU.mU*mA*mC	IA0864	626
	H4*mA*mA.mC.mG.mU.mG.fG.mA.fA.fU.fC.fU.mG.mG.mA.mU.mU.mC.mU.mC*mA*dQ	IS1059	629
RD2425	mU*fC*mA.fA.mG.fA.mU.fG.mC.fU.mG.fG.mA.fA.mG.fA.mU.fG.mU.fU.mC*mA*mU	IA0865	627
	H4*mG*mA.mA.mC.mA.mU.fC.mU.fU.fC.fC.fA.mG.mC.mA.mU.mC.mU.mU.mG*mA*dQ	IS1060	630
RD2426	mA*fC*mA.fA.mU.fC.mU.fC.mA.fA.mA.fG.mA.fG.mU.fA.mA.fC.mC.fA.mG*mA*mG	IA0866	628
	H9*mU*mC.mU.mG.mG.mU.mU.fA.mC.fU.fC.fU.fU.mU.mG.mA.mG.mA.mU.mU.mG*mU*dQ	IS1061	631

表20

平均PKK抑制

化合物	天		
	8	15	22
RD2424	53	80	87
RD2425	31	60	69
RD2426	30	54	58

表21

平均PKK抑制

化合物	第 8 天	第 15 天	第 22 天	第 29 天	第 36 天	第 43 天	第 50 天	第 57 天	第 64 天	第 71 天
RD2424	71	87	94	91	91	84	88	80	79	74
RD2425	42	60	76	73	80	75	72	72	68	
RD2426	30	54	58	57		57	65	58	58	

表22

体重 (kg)

化合物	第-1天	第64天	第92天
RD2424食蟹猴#1	3.1	3.1	3.1
RI) 2424食蟹猴#2	3.2	3.6	3.7
RD2425食蟹猴#1	2.9	3.3	N/A
RI) 2425食蟹猴#2	3.1	3.5	N/A
RD2426食蟹猴#1	3.5	3.9	N/A
RD2426食蟹猴#2	2.8	3.2	N/A

表23

肝功能标志物

化合物	ALT (U/L)			AST (U/L)			胆红素 (mg/dL)			白蛋白 (g/dL)		
	第-6天	第64天	第92天	第-6天	第64天	第92天	第-6天	第64天	第92天	第-6天	第64天	第92天

RD2424 食蟹猴 #1	58	N/A	65	50	N/A	45	<0.2	N/A	<0.2	4.3	N/A	4.4
RD2424 食蟹猴 #2	50	N/A	42	34	N/A	32	0.3	N/A	0.2	4.5	N/A	4.5
RD2425 食蟹猴 #1	57	49	N/A	49	38	N/A	0.2	<0.2	N/A	4.2	4.2	N/A
RD2425 食蟹猴 #2	37	42	N/A	39	39	N/A	0.4	0.2	N/A	4.5	4.5	N/A
RD2426 食蟹猴 #1	46	40	N/A	46	40	N/A	0.2	0.3	N/A	4.2	4.6	N/A
RD2426 食蟹猴 #2	68	52	N/A	68	52	N/A	0.3	<0.2	N/A	4.4	4.4	N/A

表24
肾功能标志物

化合物	BUN (mg/dL)			肌酐 (mg/dL)		
	第-6天	第64天	第92天	第-6天	第64天	第92天
RD2424 食蟹猴 #1	22	N/A	14	0.5	N/A	0.5
RD2424 食蟹猴 #2	22	N/A	18	0.8	N/A	0.8
RD2425 食蟹猴 #1	21	15	N/A	0.4	0.4	N/A
RD2425 食蟹猴 #2	28	22	N/A	0.6	0.5	N/A
RD2426 食蟹猴 #1	23	20	N/A	0.6	0.6	N/A
RD2426 食蟹猴 #2	31	26	N/A	0.7	0.5	N/A

实施例6:靶向人PKK的化合物在Lewis大鼠中的作用

[0248] 在第1天分别向雌性Lewis大鼠 (5只雌性/组, 8周龄) 的第1至3组以mL/kg的剂量体积给予单次皮下 (SC) 注射0 (载剂对照 (磷酸缓冲盐水 (PBS)))、200mg/kg RD2423或200mg/kg RD2438。观察包括生存力、临床体征和体重 (第1和10天)。收集血液样品用于临床化学 (第0天 (给药之前)、第3和10天)、血液学 (第10天) 和凝血 (第10天)。在第10天, 从每只大鼠获得心脏、肝和两个肾, 并在称重之后将其在10%中性缓冲福尔马林 (formalin) 中固定。

[0249] 结果: 不存在与药物相关的对生存力、临床观察结果、体重或器官重量 (心脏、肝和肾)、临床化学、血液学或凝血 (凝血酶原凝血时间) 参数的影响。向雌性Lewis大鼠单次皮下施用200mg/kg的化合物RD2423或RD2438耐受性良好。

SEQ ID NO:1

AGTGCCACATTAGAACAGCTTGAAGACCGTTCATTTTAAGTGACAAGAGACTCACCTCCAAGAAGCAATTGTGTTTTCAG
AATGATTTTATTCAAGCAAGCAACTTATTTCAATTCCTTGTTGCTACAGTTTCCTGTGGATGTCTGACTCAACTCTATGAAA
ACGCCTTCTTCAGAGGTGGGGATGTAGCTTCCATGTACACCCCAAATGCCCAATACTGCCAGATGAGGTGCACATTCCACC
CAAGGTGTTTGCTATTAGTTTTCTCCAGCAAGTTCAATCAATGACATGGAGAAAAGGTTGGTTGCTTCTTGAAAGATA
GTGTTACAGGAACCTGCCAAAAGTACATCGAACAGGTGCAGTTTCTGGACATTCCTGAAGCAATGTGGTCATCAAATA
AGTGCTTGCCATCGAGACATTTATAAAGGAGTTGATATGAGAGGAGTCAATTTAATGTGTCTAAGGTTAGCAGTGTGA
AGAATGCCAAAAAAGGTGCACCAGTAACATTCGCTGCCAGTTTTTTTCATATGCCACGCAAAACATTTACAAGGCAGAGTA
CCGGAACAATTGCCTATTAAAGTACAGTCCCGGAGGAACACCTACCGCTATAAAGGTGCTGAGTAACGTGGAATCTGGAT
TCTCACTGAAGCCCTGTGCCCTTCAGAAATTGGTTGCCACATGAACATCTCCAGCATCTGCGTTCTCAGATGTGGATGT
TGCCAGGGTTCTCACTCCAGATGCTTTTGTGTGTCGGACCATCTGCACCTATCACCCCACTGCCTCTTCTTACATTCTATA
CAAATGTATGGAAAAATCGAGTCACAAAGAAATGTTGTCTTCTTAAAAACATCTGAAAGTGGCACACCAAGTTCTCTACTC
CTCAAGAAAAACCATATCTGGATATAGCCTTTTAACCTGCAAAAGAACTTTACCTGAACCCTGCCATTCTAAAATTTACCC
GGGAGTTGACTTTGGAGGAGAAGAATTGAATGTGACTTTTGTTAAAGGAGTGAATGTTTGCCAAGAGACTTGCACAAAG
ATGATTCGCTGTGAGTTTTCTTATTCTTTACTCCAGAAGACTGTAAGGAAGAGAAGTGTAAAGTGTCTTAAAGATTAT
CTATGGATGGTTCTCCAAGTAGGATTGCGTATGGGACACAAGGGAGCTCTGGTTACTCTTTGAGATTGTGTAACACTGGG
GACAACTCTGTCTGCACAACAAAAACAAGCACACGATTGTTGGAGGAACAACTCTTCTGGGAGAGTGGCCCTGGCA
GGTGAGCCTGCAGGTGAAGCTGACAGCTCAGAGGCACCTGTGTGGAGGGTCACTCATAGGACACCAGTGGGTCTCACT
GCTGCCCACTGCTTTGATGGGCTTCCCCTGCAGGATGTTTGGCGCATCTATAGTGGCATTTTAAATCTGTGAGACATTACA
AAAGATACACCTTTCTCACAATAAAAGAGATTATTATTCACCAAACTATAAAGTCTCAGAAGGGAATCATGATATCGCC
TTGATAAAACTCCAGGCTCCTTTGAATTACACTGAATTCCAAAAACCAATATGCCTACCTTCCAAAGGTGACACAAGCACA
ATTTATACCAACTGTTGGGTAACCGGATGGGGCTTCTCGAAGGAGAAAGGTGAAATCCAAAATATTCTACAAAAGGTAAA
TATTCCTTTGGTAACAAATGAAGAATGCCAGAAAAGATATCAAGATTATAAAATAACCCAACGGATGGTCTGTGCTGGCT
ATAAAGAAGGGGGAAAAGATGCTTGTAAAGGAGATTAGGTGGTCCCTTAGTTTGCAAACACAATGGAATGTGGCGTTT
GGTGGGCATCACCAGCTGGGGTGAAGGCTGTGCCCGAGGGAGCAACCTGGTGTCTACACCAAAGTCGCTGAGTACATG
GACTGGATTTTAGAGAAAACACAGAGCAGTGATGGAAGGCTCAGATGCAGTCACCAGCATGAGAAGCAGTCCAGAGTC
TAGGCAATTTTACAACCTGAGTTCAAGTCAAATTCTGAGCCTGGGGGTCCTCATCTGCAAAGCATGGAGAGTGGCATC
TTCTTTCATCCTAAGGACGAAAAACACAGTGCAGTGCAGAGCTGCTGAGGACAATGTCTGGCTGAAGCCCGCTTTCAGCA
CGCCGTAACCAGGGGCTGACAATGCGAGGTCGCAACTGAGATCTCCATGACTGTGTGTTGTGAAATAAAATGGTGAAAG
ATCA