(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0099159
(43) 공개일자 2024년06월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 21/02 (2006.01) *A61K 31/713* (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01) *C07H 19/06* (2006.01)
C07H 19/067 (2006.01) *C07H 19/10* (2006.01)
C07H 19/16 (2006.01) *C07H 19/167* (2006.01)
C07H 19/20 (2006.01) *C07H 19/23* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07H 21/02 (2013.01)
A61K 31/713 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7011543
(22) 출원일자(국제) 2022년09월07일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/042808
(87) 국제공개번호 WO 2023/039005
국제공개일자 2023년03월16일
(30) 우선권주장
63/241,935 2021년09월08일 미국(US)

(71) 출원인
알리고스 테라퓨틱스 인코포레이티드
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 1 코퍼레이트 드라이브 2층
(72) 발명자
베이글맨, 레오니드
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 1 코퍼레이트 드라이브 2층
라즈완시, 비벡 쿠마르
미국 캘리포니아주 95014 쿠퍼티노 알더부르크 레인 869
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 광장리앤고

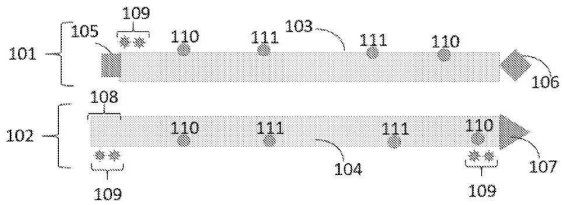
전체 청구항 수 : 총 75 항

(54) 발명의 명칭 **변형된 짧은 간섭 핵산(SINA) 분자 및 이의 용도**

(57) 요 약

변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자, 이의 조성물, 방법 및 용도가 설명된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 31/20 (2018.01)
C07H 19/06 (2013.01)
C07H 19/067 (2013.01)
C07H 19/10 (2013.01)
C07H 19/16 (2013.01)
C07H 19/167 (2013.01)
C07H 19/20 (2013.01)
C07H 19/23 (2013.01)
C12N 15/113 (2013.01)

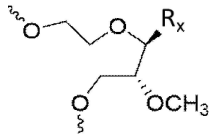
(72) 발명자
호스바흐, 마커스
독일 쿨름바흐 95326 디알. -마틴-루터-에스티알. 15
판데이, 라젠드라 케이.
미국 캘리포니아주 94403 포스터 시티 크타마란 345
홍, 진
미국 캘리포니아주 94044 퍼시피카 스프루스 코트 6
엘테푸, 락스만
미국 캘리포니아주 94583 샌 라몬 컨츄리브룩 루프 412
몬테로, 사울 마르티네즈
미국 캘리포니아주 94066 샌브루노 체스트넛 애비뉴 703
드 코스타, 엔. 티라니 에스.
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 조지타운 코트 3612

명 세 서

청구범위

청구항 1

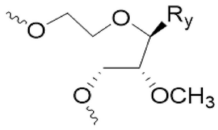
뉴클레오타이드로서, 구조:



를 포함하며, 식 중 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H인 뉴클레오타이드.

청구항 2

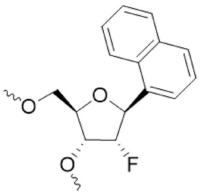
제1항에 있어서, 구조:



를 포함하며, 식 중 R_y는 핵염기인 뉴클레오타이드.

청구항 3

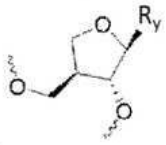
뉴클레오타이드로서, 구조:



(fN)을 포함하는 뉴클레오타이드.

청구항 4

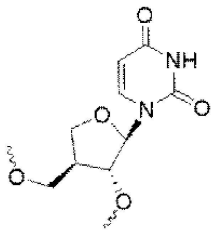
뉴클레오타이드로서, 구조:



(apN)을 포함하며, 식 중 R_y는 핵염기인 뉴클레오타이드.

청구항 5

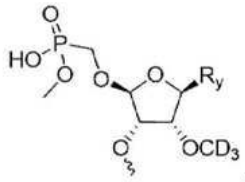
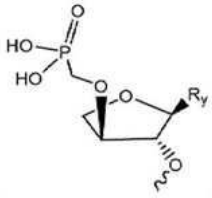
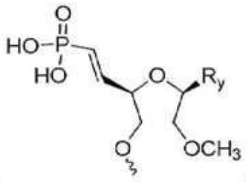
제4항에 있어서, 식 중 R_y는 유라실이며 상기 구조는:

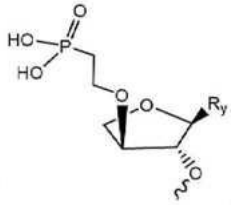
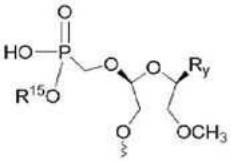
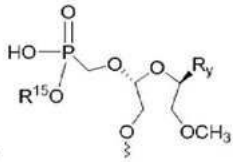


(apU)인 뉴클레오타이드.

청구항 6

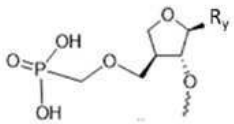
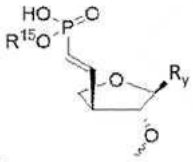
뉴클레오타이드 포스페이트 모방체로서, 구조:


,

,

,


,

또는

를 포함하며, 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3인 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체.

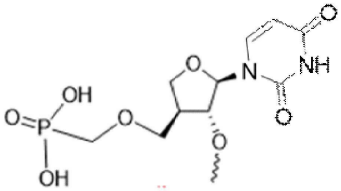
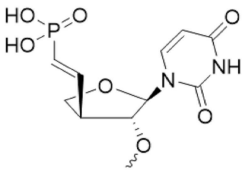
청구항 7

뉴클레오타이드 포스페이트 모방체로서, 구조:

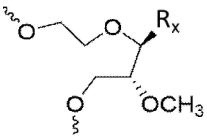

(coc-4h) 또는

(4h-vp)를 포함하며, 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3인 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체.

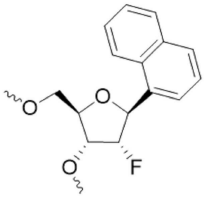
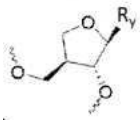
청구항 8

제7항에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체는 구조:


또는

를 포함하는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체.

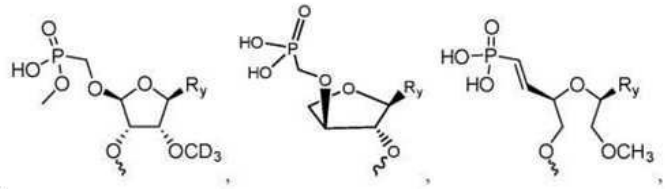
청구항 9

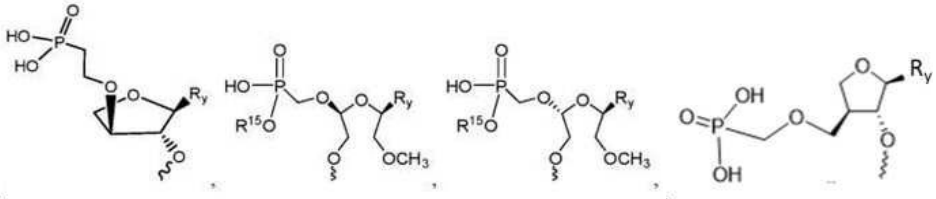
짧은 간섭 핵산(siNA) 분자로서,

(식 중 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H임);


(fN);

(apN)(식 중 R_y는 핵염기임); 및 이들의 조합으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 뉴클레오타이드를 포함하며; 선택적으로 상기 뉴클레오타이드는 상기 siNA의 시드 영역에 위치되고/되거나 이를 탈안정화할 수 있는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자.

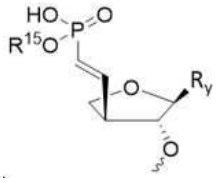
청구항 10

센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자로서, 상기 안티센스는 이의 5' 말단에서





및



로부터 선택되는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하며, 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3인 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자.

청구항 11

짧은 간섭 핵산(siNA) 분자로서,

(a) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은

(v) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

(vi) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이거나 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이고 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

안티센스 가닥이되, 상기 표적 유전자에 상응하는 상기 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은

(vii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

(viii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥; 또는

(b) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은

(i) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

(ii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

안티센스 가닥이되, 상기 표적 유전자에 상응하는 상기 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은

(iii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

(iv) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이

며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함하며;

상기 센스 가닥 및/또는 상기 안티센스 가닥은 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 뉴클레오타이드를 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자.

청구항 12

짧은 간섭 핵산(siNA) 분자로서,

(a) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은

(i) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

(ii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이거나 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이고 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

안티센스 가닥이되, 상기 표적 유전자에 상응하는 상기 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은

(iii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

(iv) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥; 또는

(b) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은

(i) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

(ii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

안티센스 가닥이되, 상기 표적 유전자에 상응하는 상기 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은

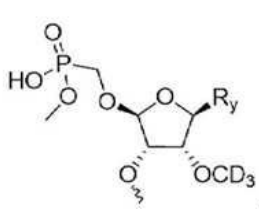
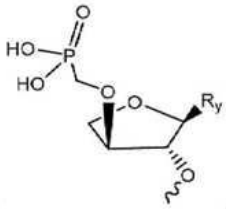
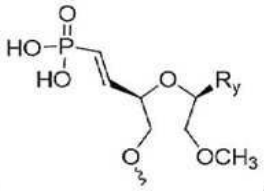
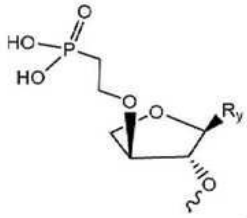
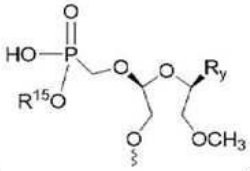
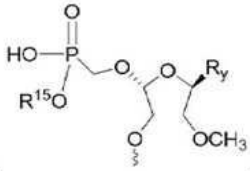
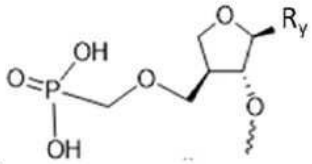
(iii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

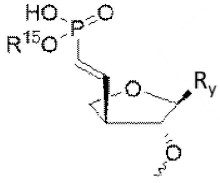
(iv) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함하며;

상기 안티센스 가닥은 이의 5' 말단에 제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자.

청구항 13

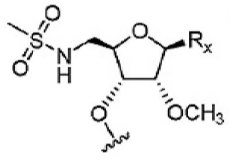
제9항 또는 제11항에 있어서, 상기 안티센스 가닥은

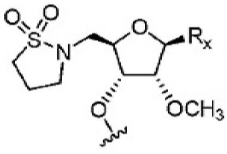







또는

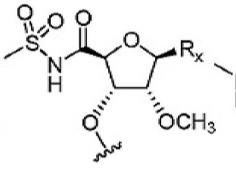

로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며; 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3인 siNA.

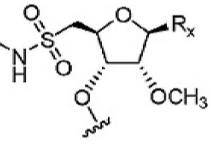
청구항 14

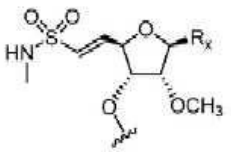
제9항 또는 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥은 화학식 (1) 내지 화학식 (16), 화학식 (9X) 내지 화학식 (12X), 화학식 (16X), 화학식 (9Y) 내지 화학식 (12Y), 화학식 (16Y), 화학식 (21) 내지 화학식 (36), 화학식 36X, 화학식 (41) 내지 (56), 화학식 (49X) 내지 (52X), 화학식 (49Y) 내지 (52Y), 화학식 56X, 화학식 56Y, 화학식 (61), 화학식 (62) 및 화학식 (63):


화학식 (1)

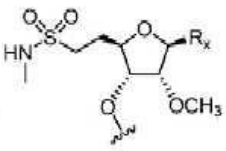

화학식 (2)


화학식 (3)

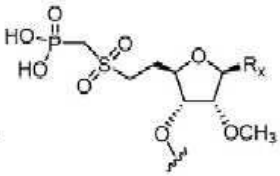

화학식 (4)



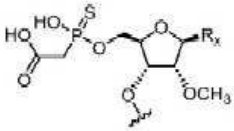
화학식 (5)



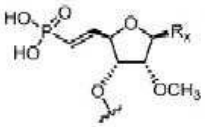
화학식 (6)



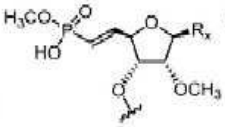
화학식 (7)



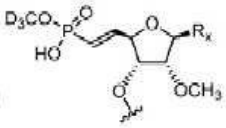
화학식 (8)



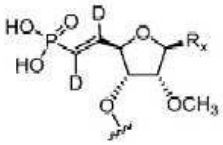
화학식 (9)



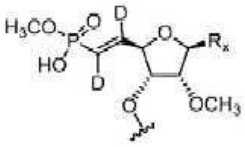
화학식 (9X)



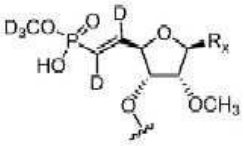
화학식 (9Y)



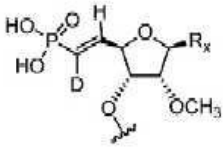
화학식 (10)



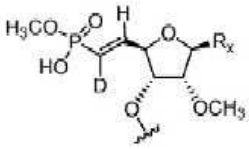
화학식 (10X)



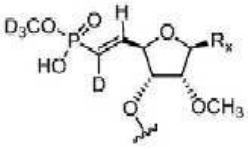
화학식 (10Y)



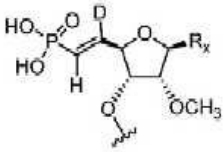
화학식 (11)



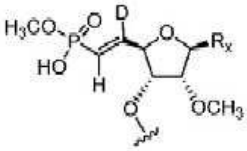
화학식 (11X)



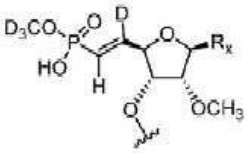
화학식 (11Y)



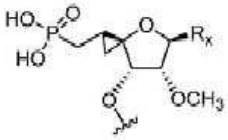
화학식 (12)



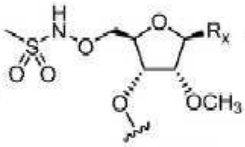
화학식 (12X)



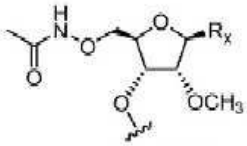
화학식 (12Y)



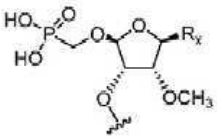
화학식 (13)



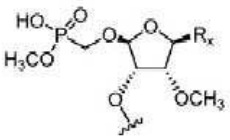
화학식 (14)



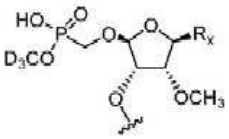
화학식 (15)



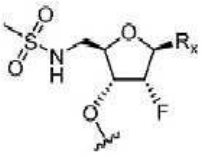
화학식 (16)



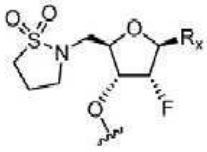
화학식 (16X)



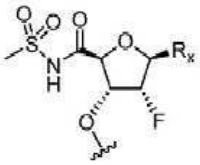
화학식 (16Y)



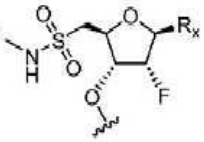
화학식 (21)



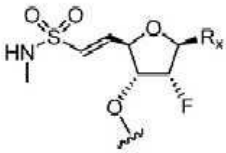
화학식 (22)



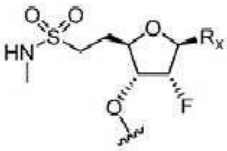
화학식 (23)



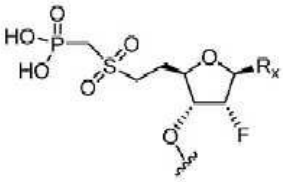
화학식 (24)



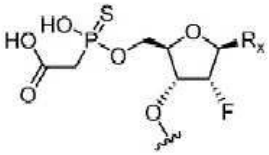
화학식 (25)



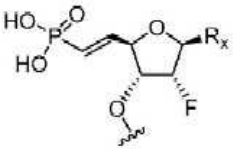
화학식 (26)



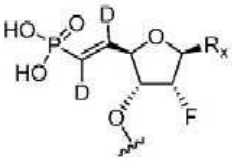
화학식 (27)



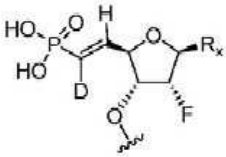
화학식 (28)



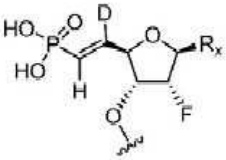
화학식 (29)



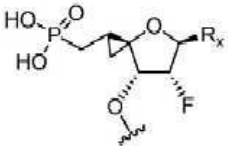
화학식 (30)



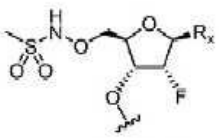
화학식 (31)



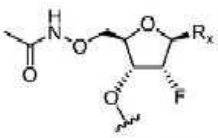
화학식(32)



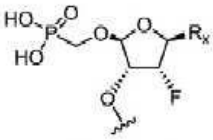
화학식 (33)



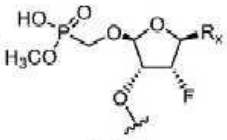
화학식 (34)



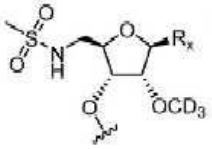
화학식 (35)



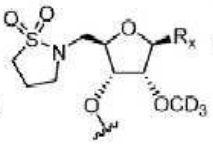
화학식 (36)



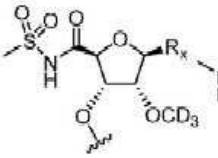
화학식 (36X)



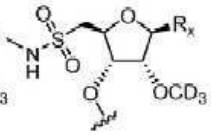
화학식 (41)



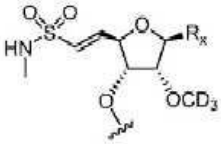
화학식 (42)



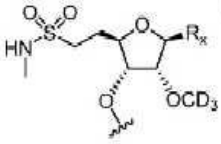
화학식 (43)



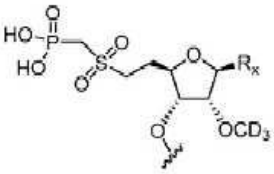
화학식 (44)



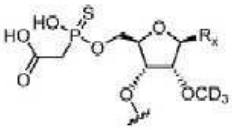
화학식 (45)



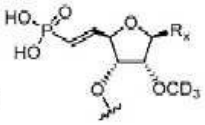
화학식 (46)



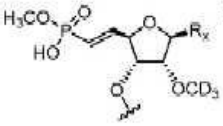
화학식 (47)



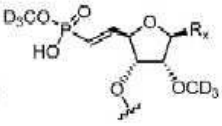
화학식 (48)



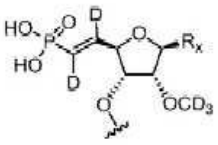
화학식 (49)



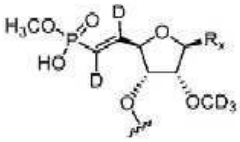
화학식 (49X)



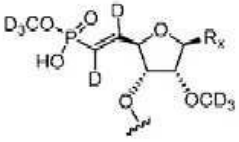
화학식 (49Y)



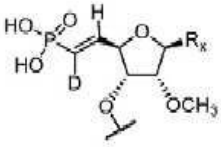
화학식 (50)



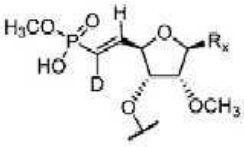
화학식 (50X)



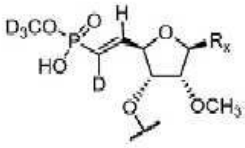
화학식 (50Y)



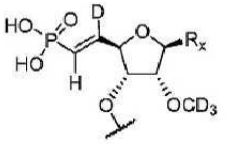
화학식 (51)



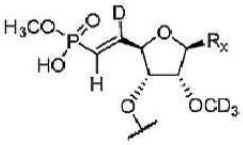
화학식 (51X)



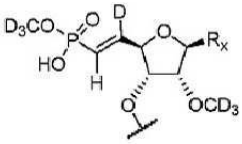
화학식 (51Y)



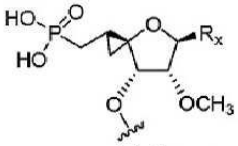
화학식 (52)



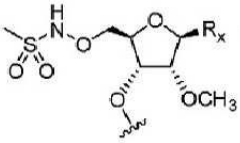
화학식 (52X)



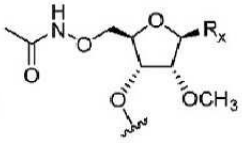
화학식 (52Y)



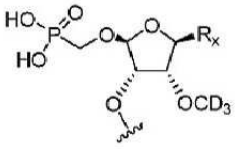
화학식 (53)



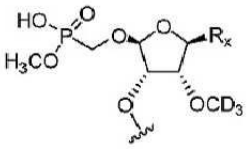
화학식 (54)



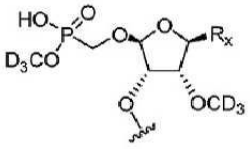
화학식 (55)



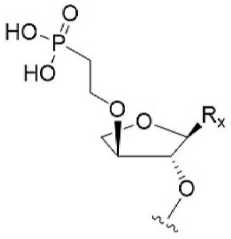
화학식 (56)



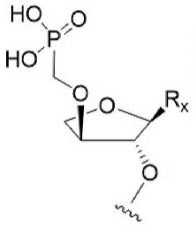
화학식 (56X)



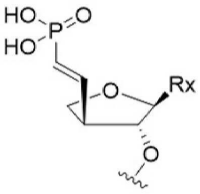
화학식 (56Y)



화학식 (61)



화학식 (62)

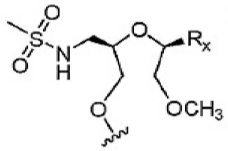


화학식 (63)

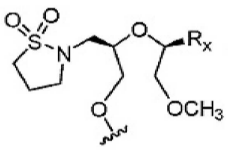
로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H인 siNA 분자.

청구항 15

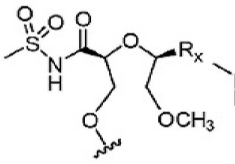
제9항 또는 제11항에 있어서, 상기 안티센스 가닥은 화학식 (71) 내지 화학식 (86), 화학식 (79X) 내지 화학식 (82X), 화학식 (79Y) 내지 (82Y), 화학식 86X, 화학식 86X', 화학식 86Y 및 화학식 86Y':



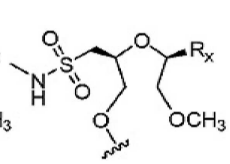
화학식 (71)



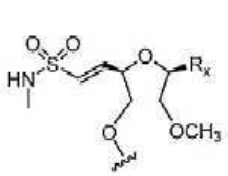
화학식 (72)



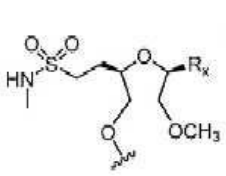
화학식 (73)



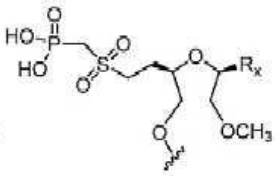
화학식 (74)



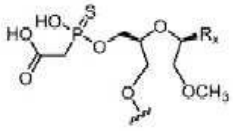
화학식 (75)



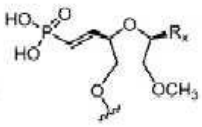
화학식 (76)



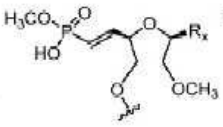
화학식 (77)



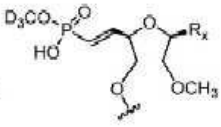
화학식 (78)



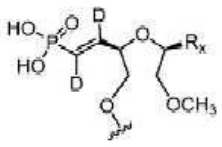
화학식 (79)



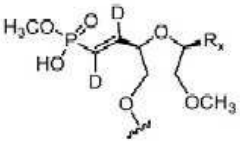
화학식 (79X)



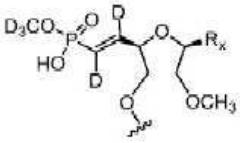
화학식 (79Y)



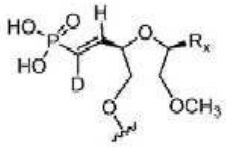
화학식 (80)



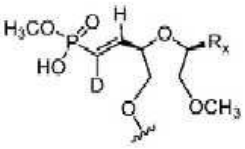
화학식 (80X)



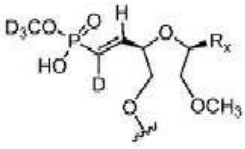
화학식 (80Y)



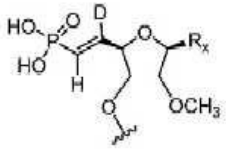
화학식 (81)



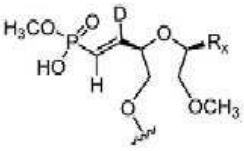
화학식 (81X)



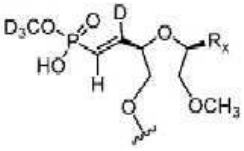
화학식 (81Y)



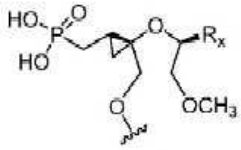
화학식 (82)



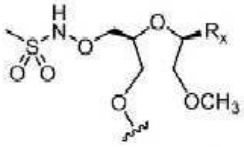
화학식 (82X)



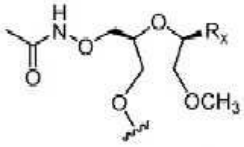
화학식 (82Y)



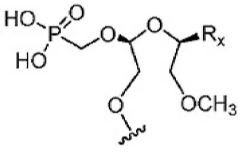
화학식 (83)



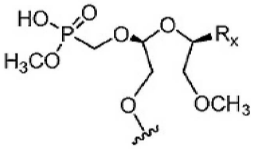
화학식 (84)



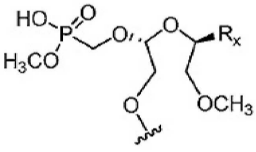
화학식 (85)



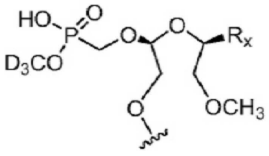
화학식 (86)



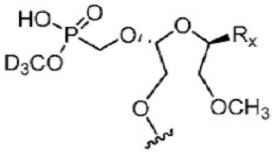
화학식 (86X)



화학식 (86X')



화학식 (86Y)

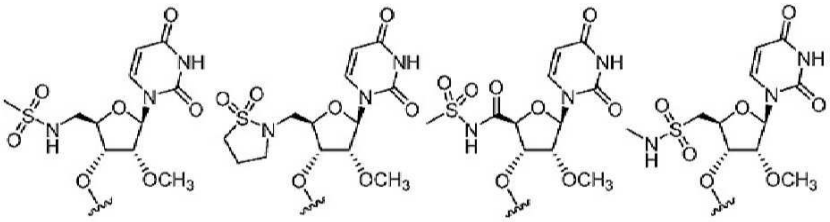


화학식 (86Y')

로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H인 siNA 분자.

청구항 16

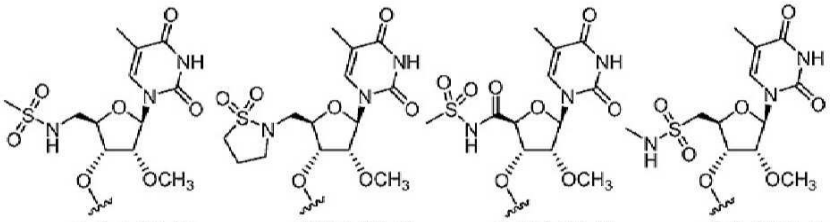
제9항 또는 제11항에 있어서, 상기 안티센스 가닥은 화학식 (1A) 내지 (15A), 화학식 (1A-1) 내지 (7A-1), 화학식 (1A-2) 내지 (7A-2), 화학식 (1A-3) 내지 (7A-3), 화학식 (1A-4) 내지 (7A-4), 화학식 (9B) 내지 (12B), 화학식 (9AX) 내지 (12AX), 화학식 (9AY) 내지 (12AY), 화학식 (9BX) 내지 (12BX) 및 화학식 (9BY) 내지 (12BY):


화학식 (1A)

화학식 (2A)

화학식 (3A)

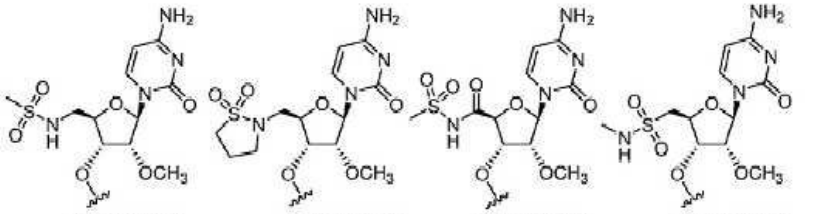
화학식 (4A)


화학식 (1A-1)

화학식 (2A-1)

화학식 (3A-1)

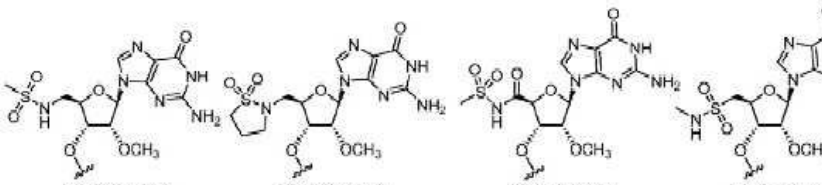
화학식 (4A-1)


화학식 (1A-2)

화학식 (2A-2)

화학식 (3A-2)

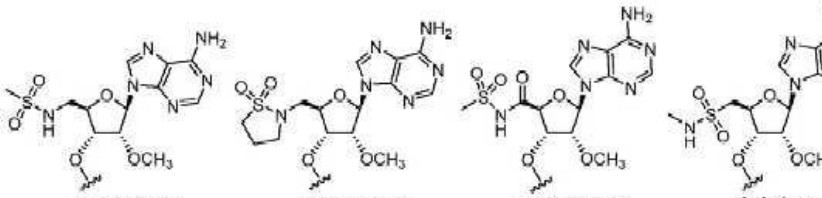
화학식 (4A-2)


화학식 (1A-3)

화학식 (2A-3)

화학식 (3A-3)

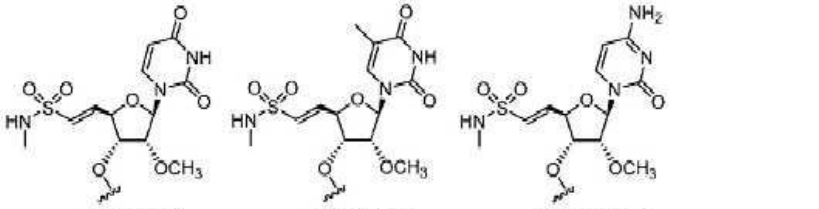
화학식 (4A-3)


화학식 (1A-4)

화학식 (2A-4)

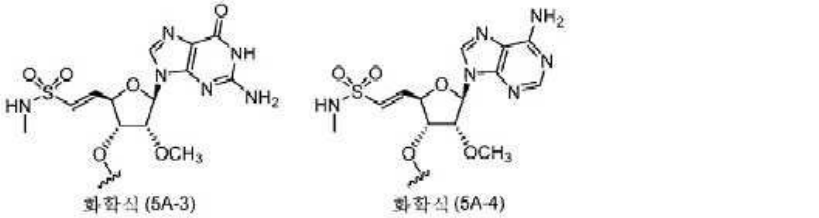
화학식 (3A-4)

화학식 (4A-4)

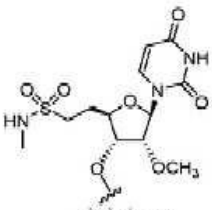

화학식 (5A)

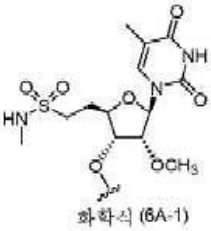
화학식 (5A-1)

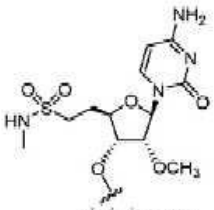
화학식 (5A-2)

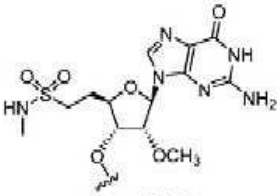

화학식 (5A-3)

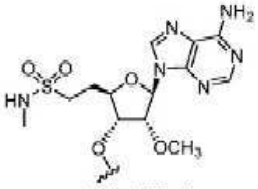
화학식 (5A-4)

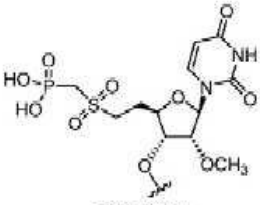

화학식 (6A)

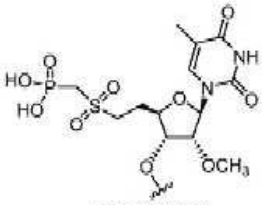

화학식 (6A-1)

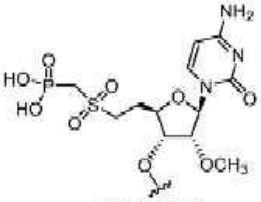

화학식 (6A-2)

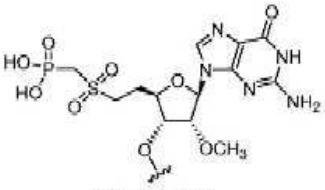

화학식 (6A-3)

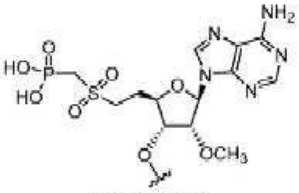

화학식 (6A-4)

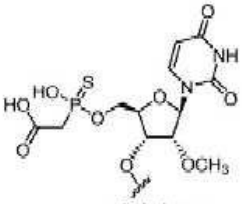

화학식 (7A)

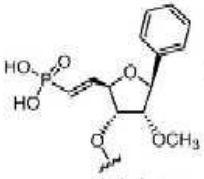

화학식 (7A-1)

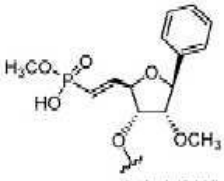

화학식 (7A-2)

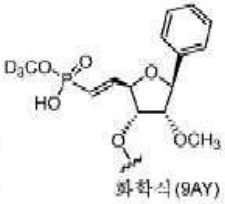

화학식 (7A-3)

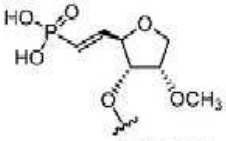

화학식 (7A-4)

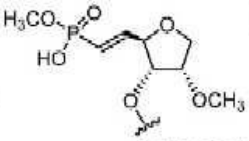

화학식 (8A)

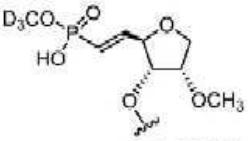

화학식 (9A)

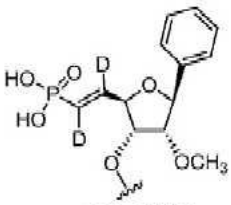

화학식 (9AX)

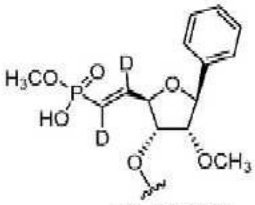

화학식 (9AY)

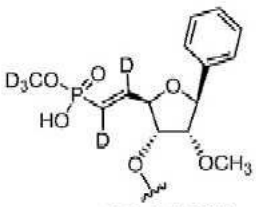

화학식 (9B)

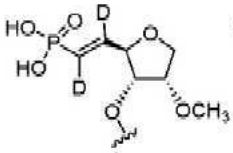

화학식 (9BX)

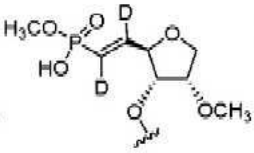

화학식 (9BY)

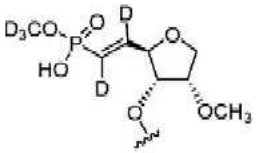

화학식 (10A)

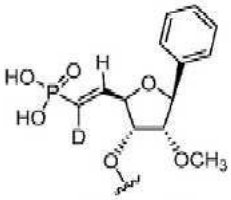

화학식 (10AX)

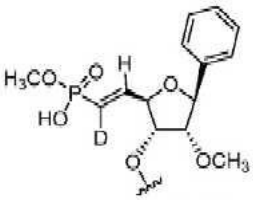

화학식 (10AY)

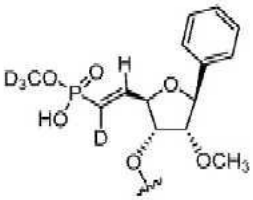

화학식 (10B)

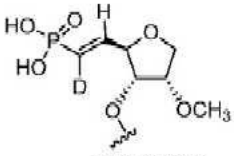

화학식 (10BX)

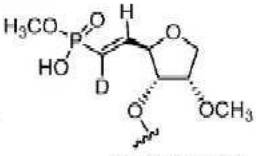

화학식 (10BY)

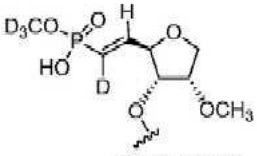

화학식 (11A)

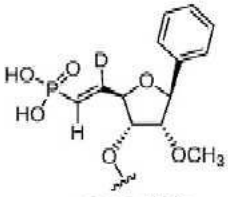

화학식 (11AX)

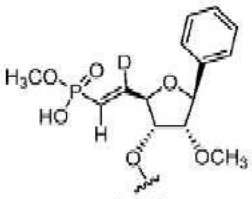

화학식 (11AY)

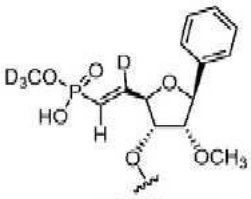

화학식 (11B)

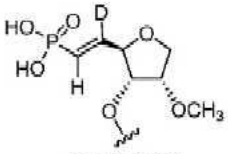

화학식 (11BX)

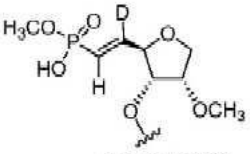

화학식 (11BY)

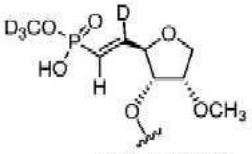

화학식 (12A)

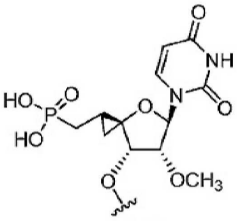

화학식 (12AX)

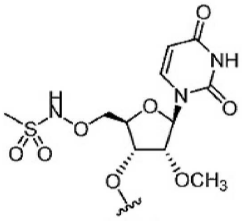

화학식 (12AY)

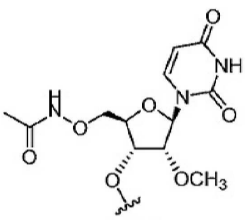

화학식 (12B)


화학식 (12BX)


화학식 (12BY)


화학식 (13A)

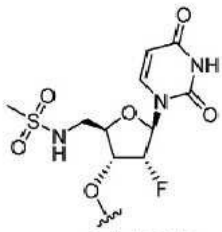

화학식 (14A)


화학식 (15A)

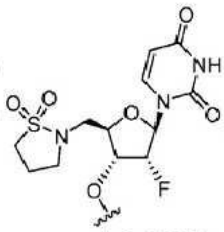
로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하는 siNA.

청구항 17

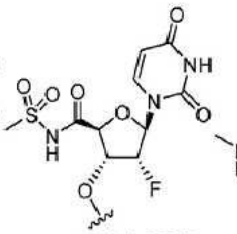
제9항 또는 제11항에 있어서, 상기 안티센스 가닥은 화학식 (21A) 내지 (35A), 화학식 (29B) 내지 (32B), 화학식 (29AX) 내지 (32AX), 화학식 (29AY) 내지 (32AY), 화학식 (29BX) 내지 (32BX) 및 화학식 (29BY) 내지 (32BY):



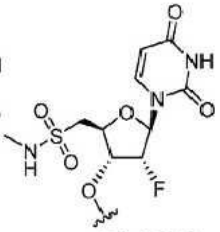
화학식 (21A)



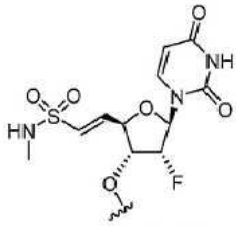
화학식 (22A)



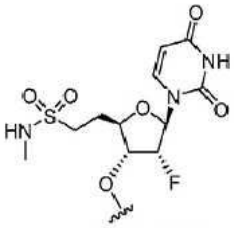
화학식 (23A)



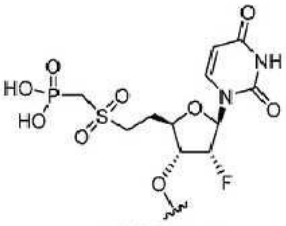
화학식 (24A)



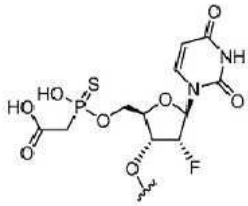
화학식 (25A)



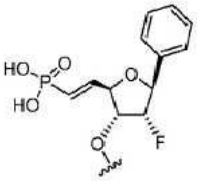
화학식 (26A)



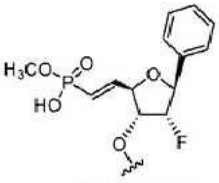
화학식 (27A)



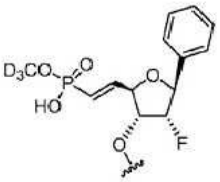
화학식 (28A)



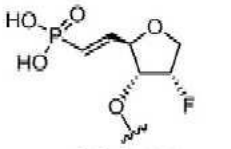
화학식 (29A)

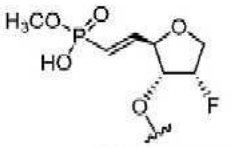


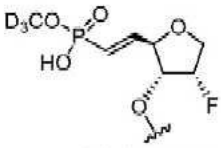
화학식 (29AX)

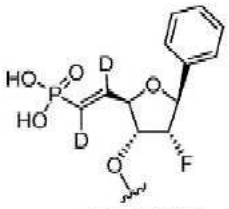


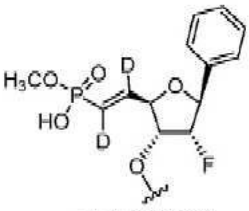
화학식 (29AY)

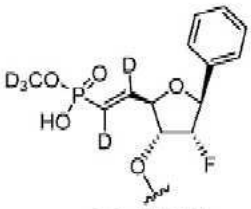

화학식 (29B)

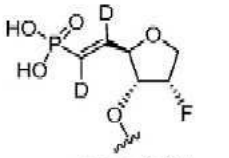

화학식 (29BX)

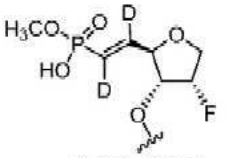

화학식 (29BY)

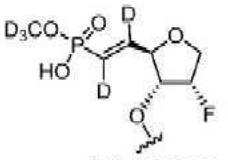

화학식 (30A)

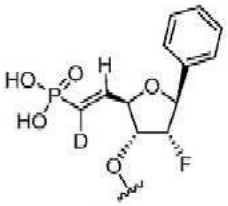

화학식 (30AX)

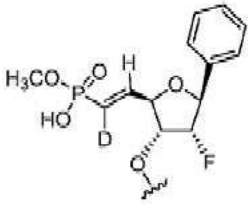

화학식 (30AY)

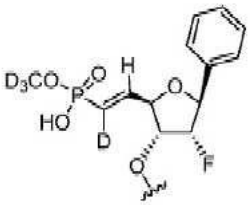

화학식 (30B)

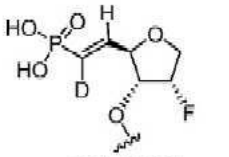

화학식 (30BX)

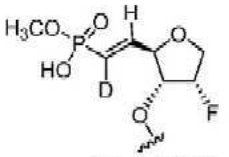

화학식 (30BY)

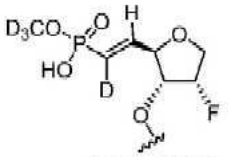

화학식 (31A)

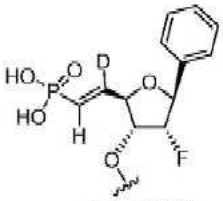

화학식 (31AX)

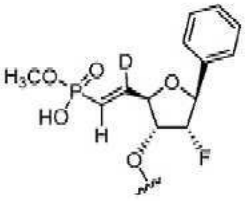

화학식 (31AY)

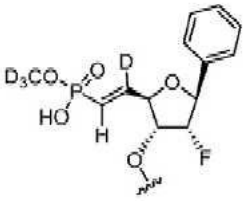

화학식 (31B)

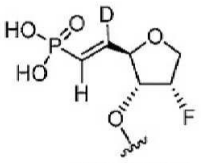

화학식 (31BX)

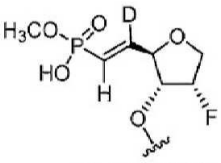

화학식 (31BY)

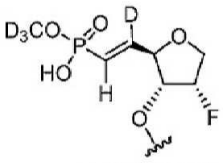

화학식 (32A)

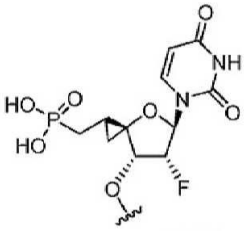

화학식 (32AX)

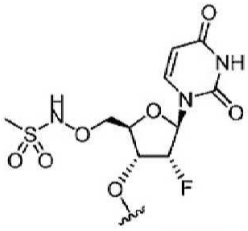

화학식 (32AY)

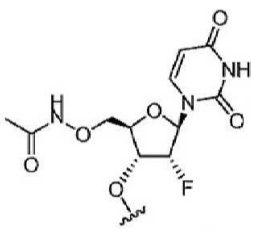

화학식 (32B)


화학식 (32BX)


화학식 (32BY)


화학식 (33A)


화학식 (34A)

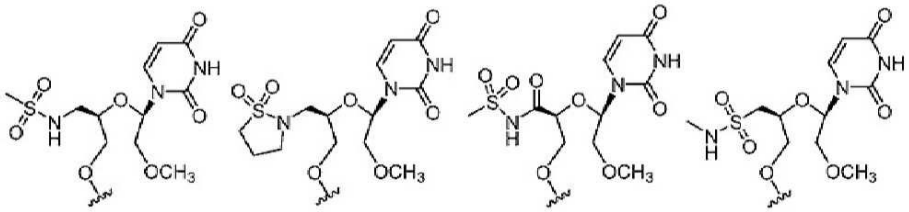

화학식 (35A)

로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안

정화 말단 캡을 포함하는 siNA.

청구항 18

제9항 또는 제11항에 있어서, 상기 안티센스 가닥은 화학식 (71A) 내지 (86A), 화학식 (79XA) 내지 (82XA), 화학식 (79YA) 내지 (82YA); 화학식 (86XA), 화학식 (86X'A), 화학식 (86Y) 및 화학식 (86Y'):

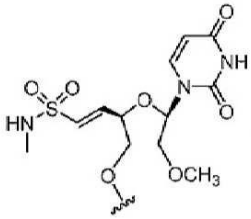


화학식 (71A)

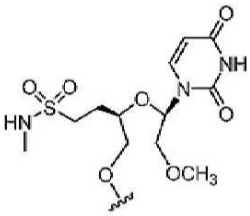
화학식 (72A)

화학식 (73A)

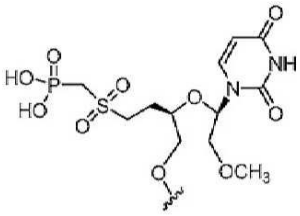
화학식 (74A)



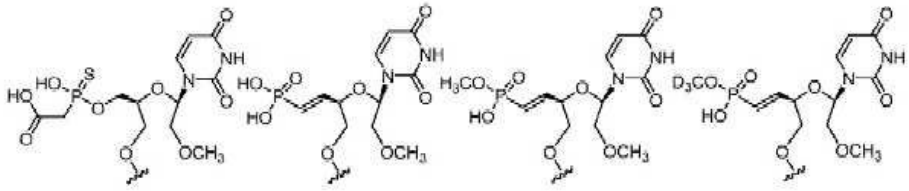
화학식 (75A)



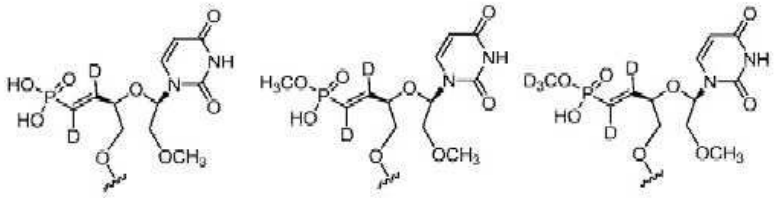
화학식 (76A)



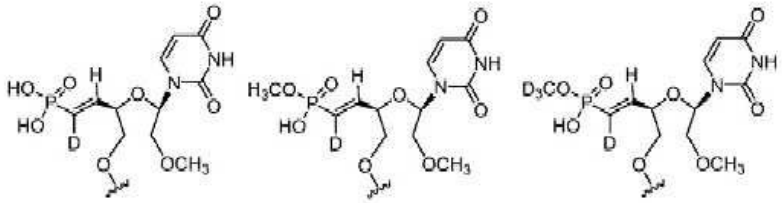
화학식 (77A)



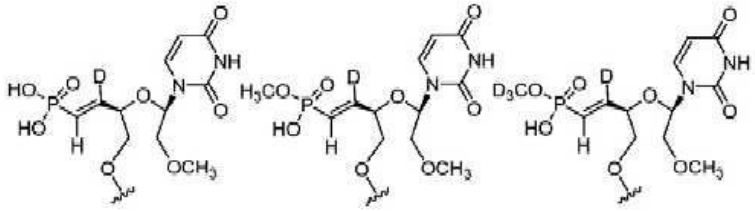
화학식 (78A) 화학식 (79A) 화학식 (79XA) 화학식 (79YA)



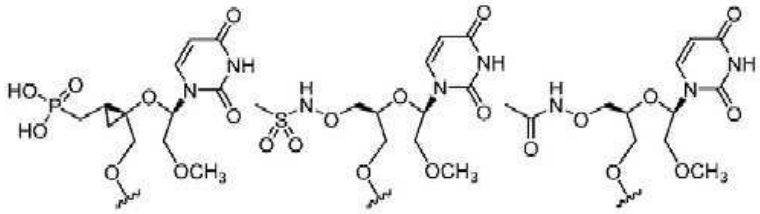
화학식 (80A) 화학식 (80XA) 화학식 (80YA)



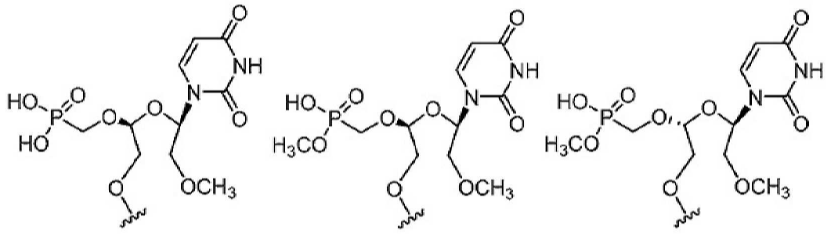
화학식 (81A) 화학식 (81XA) 화학식 (81YA)



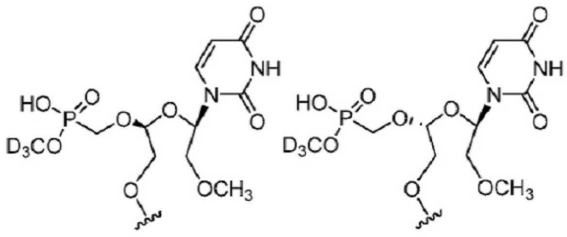
화학식 (82A) 화학식 (82XA) 화학식 (82YA)



화학식 (83A) 화학식 (84A) 화학식 (85A)



화학식 (86A) 화학식 (86XA) 화학식 (86X'A)



화학식 (86Y) 화학식 (86Y')

로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함

하는 siNA.

청구항 19

제9항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 센스 가닥 및/또는 상기 안티센스 가닥은 1개 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 독립적으로 포함하는 siNA.

청구항 20

제9항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 센스 가닥 및/또는 상기 안티센스 가닥은 1개 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 독립적으로 포함하는 siNA.

청구항 21

제9항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA는 인산화 차단제를 추가로 포함하는 siNA.

청구항 22

제9항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함하는 siNA 분자.

청구항 23

제22항에 있어서,

(i) 상기 센스 가닥의 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있으며; (ii) 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 siNA 분자.

청구항 24

제9항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함하는 siNA 분자.

청구항 25

제24항에 있어서,

(i) 상기 안티센스 가닥의 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나;

(ii) 상기 안티센스 가닥의 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나;

(iii) 상기 안티센스 가닥의 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나; (iv) 적어도 하나의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 siNA 분자.

청구항 26

제9항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함하는 siNA 분자.

청구항 27

제26항에 있어서,

(i) 상기 센스 가닥의 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있으며; (ii) 적어도 하나의 메실 포스포로아

미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 siNA 분자.

청구항 28

제9항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안티센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함하는 siNA 분자.

청구항 29

제28항에 있어서,

(i) 상기 안티센스 가닥의 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나;

(ii) 상기 안티센스 가닥의 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나;

(iii) 상기 안티센스 가닥의 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나; (iv) 적어도 하나의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 siNA 분자.

청구항 30

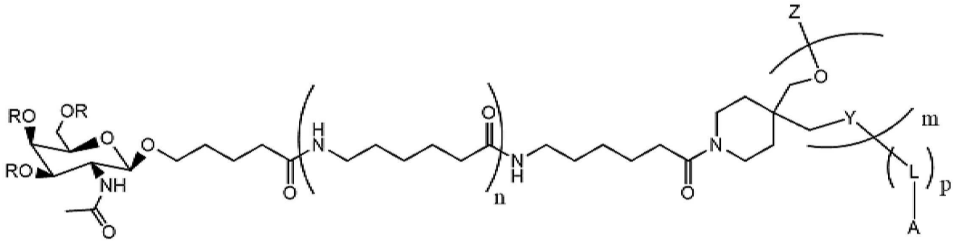
짧은 간섭 핵산(siNA)으로서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 상기 센스 가닥 및/또는 상기 안티센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 결합을 독립적으로 포함하는 siNA 분자.

청구항 31

제9항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA는 갈락토사민을 추가로 포함하는 siNA.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 갈락토사민은 화학식 (VI)의 N-아세틸갈락토사민(GalNAc):



이며, 식 중

m은 1, 2, 3, 4 또는 5이며;

n은 각각 독립적으로 1 또는 2이며;

p는 0 또는 1이며;

R은 각각 독립적으로 H이며;

Y는 각각 독립적으로 -O-P(=O)(SH)-, -O-P(=O)(O)-, -O-P(=O)(OH)- 및 -O-P(S)S-로부터 선택되며;

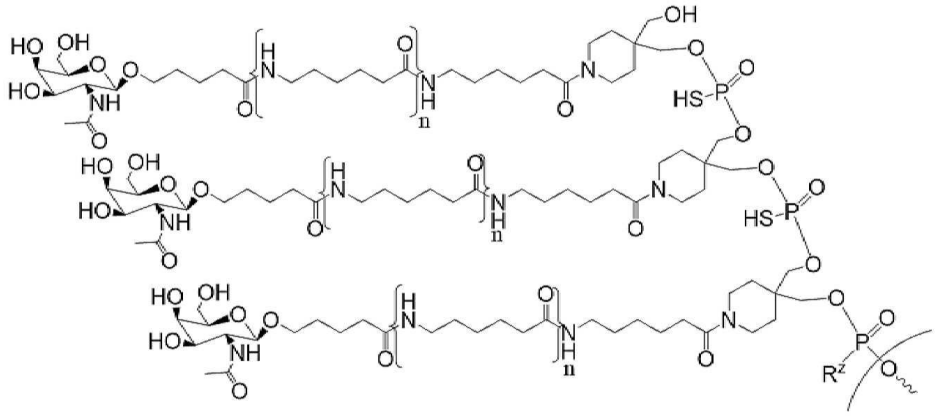
Z는 H 또는 제2 보호기이며;

L은 링커이거나 L과 Y의 조합은 링커이며;

A는 H, OH, 제3 보호기, 활성화기 또는 올리고뉴클레오타이드인 siNA.

청구항 33

제31항에 있어서, 상기 갈락토사민은 화학식 (VII)의 N-아세틸갈락토사민(GalNAc):



이며, 식 중 R^z는 OH 또는 SH이며; n은 각각 독립적으로 1 또는 2인 siNA.

청구항 34

제9항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 상기 siNA의 적어도 1개의 말단은 평활 말단이거나;

(ii) 상기 siNA의 적어도 1개의 말단은 돌출부를 포함하며, 상기 돌출부는 적어도 1개의 뉴클레오타이드를 포함하거나;

(iii) 상기 siNA의 양 말단은 돌출부를 포함하며, 상기 돌출부는 적어도 하나의 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA.

청구항 35

제9항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 상기 표적 유전자는 바이러스 유전자이거나;

(ii) 상기 표적 유전자는 DNA 바이러스로부터 유래한 유전자이거나;

(iii) 상기 표적 유전자는 이중 가닥 DNA(dsDNA) 바이러스로부터 유래한 유전자이거나;

(iv) 상기 표적 유전자는 헤파드나바이러스로부터 유래한 유전자이거나;

(v) 상기 표적 유전자는 B형 간염 바이러스(HBV)로부터 유래한 유전자이거나;

(vi) 상기 표적 유전자는 유전자형 A 내지 J 중 임의의 하나의 HBV로부터 유래한 유전자이거나;

(vii) 상기 표적 유전자는 HBV의 S 유전자 또는 X 유전자로부터 선택되는 siNA.

청구항 36

siNA로서, 표 1, 표 2, 표 3, 표 4 또는 표 5에서 나타낸 바와 같은 siNA.

청구항 37

조성물로서, 제9항 내지 제36항 중 어느 한 항에 따른 siNA; 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 조성물.

청구항 38

제37항에 있어서, 제9항 내지 제36항 중 어느 한 항에 따른 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 siNA를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 39

제37항 또는 제38항에 있어서, 추가 치료제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 추가 치료제는 뉴클레오타이드 유사체, 뉴클레오사이드 유사체, 캡시드 조립 조절제(CAM), 재조합 인터페론, 진입 억제제, 소분자 면역조절제 및 올리고뉴클레오타이드 요법으로부터 선택되는 조성물.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드 요법은 추가 siNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), NAP 또는 STOPS™인 조성물.

청구항 42

질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게 제9항 내지 제36항 중 어느 한 항에 따른 siNA 또는 제37항 내지 제41항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 43

제43항에 있어서, 상기 질환은 바이러스 질환이며, 이는 선택적으로 DNA 바이러스 또는 이중 가닥 DNA(dsDNA) 바이러스에 의해 야기되는 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 dsDNA 바이러스는 헤파드나바이러스인 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 헤파드나바이러스는 B형 간염 바이러스(HBV)이며, 선택적으로 상기 HBV는 HBV 유전자형 A 내지 J로부터 선택되는 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 추가 HBV 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물 및 상기 추가 HBV 치료제는 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되는 방법.

청구항 48

제46항 또는 제47항에 있어서, 상기 추가 HBV 치료제는 뉴클레오타이드 유사체, 뉴클레오사이드 유사체, 캡시드 조립 조절제(CAM), 재조합 인터페론, 진입 억제제, 소분자 면역조절제 및 올리고뉴클레오타이드 요법으로부터 선택되는 방법.

청구항 49

제43항에 있어서, 상기 바이러스 질환은 코로나바이러스에 의해 야기되는 질환이며, 선택적으로 상기 코로나바이러스는 SARS-CoV-2인 방법.

청구항 50

제42항에 있어서, 상기 질환은 간 질환인 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 간 질환은 비알코올성 지방간 질환(NAFLD) 또는 간세포암종(HCC)인 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 NAFLD는 비알코올성 지방간염(NASH)인 방법.

청구항 53

제50항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 간 질환 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 간 질환 치료제는 퍼옥시솜 증식 활성화 수용체(PPAR) 효능제, 파네소이드 X 수용체(FXR) 효능제, 지질 변경제 및 인크레틴 기반 요법으로부터 선택되는 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, (i) 상기 PPAR 효능제는 PPARα 효능제, 이중 PPARα/δ 효능제, PPARɣ 효능제 및 이중 PPARα/ɣ 효능제로부터 선택되거나; (ii) 상기 지질 변경제는 아람콜이거나; (iii) 상기 인크레틴 기반 요법은 글루카곤 유사 펩타이드 1(GLP-1) 수용체 효능제 또는 다이펩티딜 펩타이드분해효소 4(DPP-4) 억제제인 방법.

청구항 56

제42항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 조성물 및 상기 간 질환 치료제는 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되는 방법.

청구항 57

제42항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 적어도 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg 14 mg/kg 또는 15 mg/kg의 용량으로 투여되는 방법.

청구항 58

제42항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg, 0.5 mg/kg 내지 40 mg/kg 0.5 mg/kg 내지 30 mg/kg, 1 mg/kg 내지 50 mg/kg, 1 mg/kg 내지 40 mg/kg, 1 mg/kg 내지 30 mg/kg, 1 mg/kg 내지 20 mg/kg, 3 mg/kg 내지 50 mg/kg, 3 mg/kg 내지 40 mg/kg, 3 mg/kg 내지 30 mg/kg, 3 mg/kg 내지 20 mg/kg, 3 mg/kg 내지 15 mg/kg, 3 mg/kg 내지 10 mg/kg, 4 mg/kg 내지 50 mg/kg, 4 mg/kg 내지 40 mg/kg, 4 mg/kg 내지 30 mg/kg, 4 mg/kg 내지 20 mg/kg, 4 mg/kg 내지 15 mg/kg, 4 mg/kg 내지 10 mg/kg, 5 mg/kg 내지 50 mg/kg, 5 mg/kg 내지 40 mg/kg, 5 mg/kg 내지 30 mg/kg, 5 mg/kg 내지 20 mg/kg, 5 mg/kg 내지 15 mg/kg 또는 5 mg/kg 내지 10 mg/kg의 용량으로 투여되는 방법.

청구항 59

제42항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 투여되는 방법.

청구항 60

제42항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 적어도 매일 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회, 적어도 매주 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 또는 적어도 매월 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 투여되는 방법.

청구항 61

제42항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 적어도 매 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21일 적어도 1회 투여되는 방법.

청구항 62

제42항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21일 또는 적어도 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, 35, 40, 45, 50, 51, 52, 53, 54 또는 55주의 기간 동안 투여되는, 방법.

청구항 63

제42항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 5 mg/kg 또는 10 mg/kg의 단일 용량, 매주 1회 10 mg/kg의 3회 용량, 매3일 1회 10 mg/kg의 3회 용량 또는 매3일 1회 10 mg/kg의 5회 용량으로 투여되는 방법.

청구항 64

제42항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 1 mg/kg 내지 15 mg/kg, 1 mg/kg 내지 10 mg/kg, 2 mg/kg 내지 15 mg/kg, 2 mg/kg 내지 10 mg/kg, 3 mg/kg 내지 15 mg/kg 또는 3 mg/kg 내지 10 mg/kg의 범위로 6회 용량으로 투여되며; 제1 용량 및 제2 용량은 적어도 3일 간격으로 선택적으로 투여되며; 제2 용량 및 제3 용량은 적어도 4일 간격으로 선택적으로 투여되며; 제3 용량 및 제4 용량, 제4 용량 및 제5 용량 및/또는 제5 용량 및 제6 용량은 적어도 7일 간격으로 선택적으로 투여되는 방법.

청구항 65

제42항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 입자 또는 바이러스 벡터로 투여되며, 상기 바이러스 벡터는 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스(AAV), 알파바이러스, 플라비바이러스, 단순포진 바이러스, 렌티바이러스, 홍역 바이러스, 피코르나바이러스, 폭스바이러스, 레트로바이러스 및 랍도바이러스의 벡터로부터 선택적으로 선택되는 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 바이러스 벡터는 재조합 바이러스 벡터인 방법.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, 상기 바이러스 벡터는 AAVrh.74, AAVrh.10, AAVrh.20, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11, AAV-12 및 AAV-13으로부터 선택되는 방법.

청구항 68

제42항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 전신 투여 또는 국소 투여되는 방법.

청구항 69

제42항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 siNA 또는 상기 조성물은 정맥내, 피하 또는 근육내 투여되는 방법.

청구항 70

제9항 내지 제36항 중 어느 한 항에 따른 siNA 또는 제37항 내지 제41항 중 어느 한 항에 따른 조성물의 대상체에서 질환을 치료하기 위한 용도.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 질환은 바이러스 질환이며, 이는 선택적으로 DNA 바이러스 또는 이중 가닥 DNA(dsDNA) 바이러스 또는 상기 질환에 의해 야기되는 용도.

청구항 72

제70항에 있어서, 상기 질환은 간 질환이며, 이는 비알코올성 지방간 질환(NAFLD) 및 간세포암종(HCC)으로부터

선택적으로 선택되는 용도.

청구항 73

대상체에서 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 제9항 내지 제36항 중 어느 한 항에 따른 siNA 또는 제37항 내지 제41항 중 어느 한 항에 따른 조성물.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 질환은 바이러스 질환이며, 이는 선택적으로 DNA 바이러스 또는 이중 가닥 DNA(dsDNA) 바이러스 또는 상기 질환에 의해 야기되는 siNA 또는 조성물.

청구항 75

제73항에 있어서, 상기 질환은 간 질환이며, 이는 선택적으로 비알코올성 지방간 질환(NAFLD) 및 간세포암종(HCC)으로부터 선택되는 siNA 또는 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2021년 9월 8일자로 출원된 미국 가출원 번호 제63/241,935호에 대한 우선권을 주장하며, 이의 개시내용은 전문이 참조에 의해 본원에 원용된다.

[0002] 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자, 이의 조성물, 방법 및 용도가 설명된다.

배 경 기 술

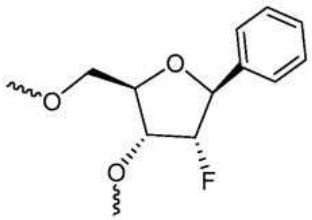
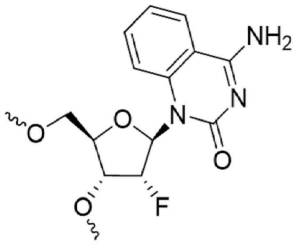
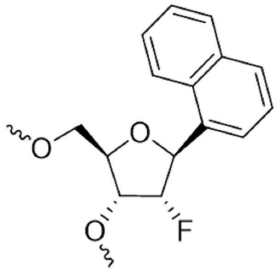
[0003] RNA 간섭(RNAi)은 내인성 기생충 및 외인성 병원성 핵산 모두에 대한 저항성을 매개하고 단백질 코딩 유전자의 발현을 조절하는 이중 가닥 RNA에 대한 생물학적 반응이다. siRNA와 같은 짧은 간섭 핵산(siNA)은 다양한 질환을 치료하기 위한 RNAi 요법을 위해 개발되었다. 예를 들어, RNAi 요법은 대사 질환, 신경퇴행성 질환, 암 및 병원성 감염의 치료를 위해 제안되었다(*예를 들어*, Rondindone, *Biotechniques*, 2018, 40(4S), doi.org/10.2144/000112163, Boudreau 및 Davidson, *Curr Top Dev Biol*, 2006, 75:73-92, Chalbatani 등, *Int J Nanomedicine*, 2019, 14:3111-3128, Arbuthnot, *Drug News Perspect*, 2010, 23(6):341-50 및 Chernikov 등, *Front. Pharmacol.*, 2019, doi.org/10.3389/fphar.2019.00444 참조, 이들은 각각 전문이 참조에 의해 원용됨). 그러나, RNAi 요법의 주요 한계는 siRNA를 표적 세포에 효과적으로 전달하는 능력과 siRNA의 분해이다.

[0004] 본 개시내용은 변형된 핵염기를 포함하는 siNA 분자를 제공하여 siNA 분자의 전달 및 안정성을 개선한다. 본 개시내용의 siNA 분자는 siNA 분자의 전달 및 안정성을 개선하기 위한 변형된 뉴클레오타이드의 최적화된 조합 및 수, 뉴클레오타이드 길이, 설계(*예를 들어*, 평활 말단 또는 돌출부, 뉴클레오사이드간 연결, 접합체) 및 변형 패턴을 제공한다.

발명의 내용

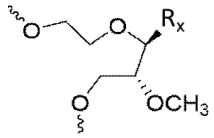
[0005] 신규한 변형된 핵염기 단량체, 포스페이트 모방체 및/또는 다른 변형을 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자가 본원에서 설명된다. 또한, 다양한 질환 및 상태를 치료하기 위해 개시된 siNA 분자를 사용하는 방법이 본원에서 설명된다.

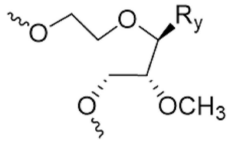
[0006] 제1 양태에서, 본 개시내용은 구조:

[0007]  (fB),  (f(4nh)Q) 또는  (f

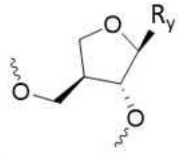
N)을 포함하는 뉴클레오타이드 및 전술한 뉴클레오타이드 중 임의의 하나를 포함하는 핵산 서열 및 siNA 또는 이들의 뉴클레오타이드의 조합을 제공한다.

[0008] 제2 양태에서, 본 개시내용은 구조:

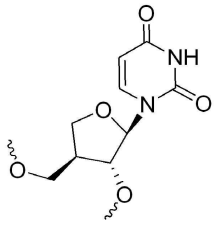
[0009]  를 포함하는 뉴클레오타이드를 제공하며, 식 중 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다. 예를 들어, 뉴클레오타이드는 구조:

[0010]  를 포함할 수 있으며, 식 중 R_y는 핵염기이다.

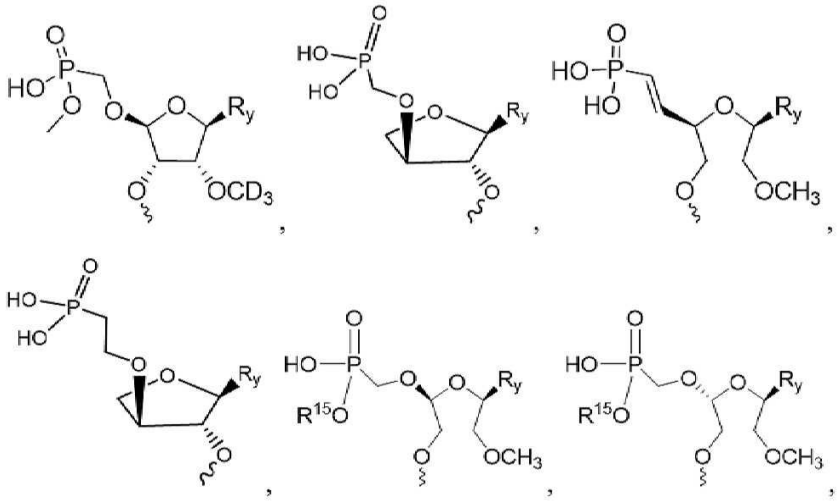
[0011] 제3 양태에서, 본 개시내용은 구조:

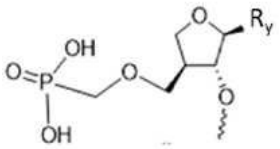
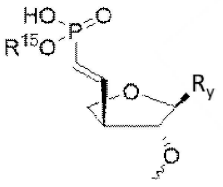
[0012]  (apN)

[0013] 을 포함하는 뉴클레오타이드이되, 식 중 R_y는 핵염기인 뉴클레오타이드 및 전술한 뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 서열 및 siNA를 제공한다. 일부 실시양태에서, 뉴클레오타이드는 구조:

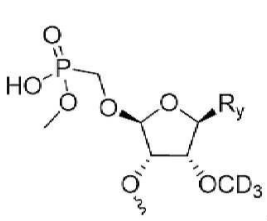
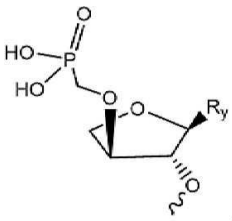
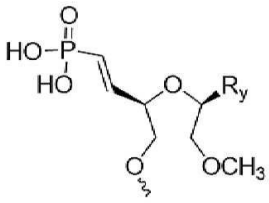
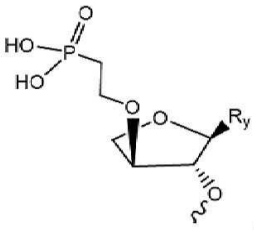
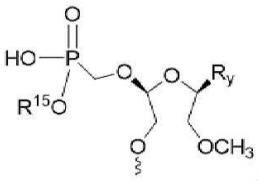
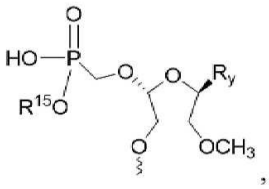
[0014]  를 포함할 수 있다.

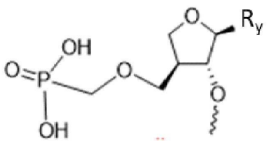
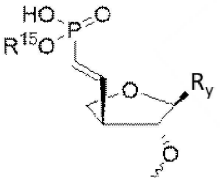
[0015] 제4 양태에서, 본 개시내용은 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 제공하며, 이는 구조:

[0016] 

[0017]  또는  를 포함하며, 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3이다.

[0018] 본 개시내용은 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 제1, 제2 또는 제3 양태에 따른 뉴클레오타이드를 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자를 제공하며; 이는 선택적으로 siNA의 시드 영역에 위치될 수 있고/있거나 이를 탈안정화할 수 있다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은

[0019]  ,  ,  ,  ,  ,  ,

[0020]  또는  로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며; 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3이다.

[0021] 본 개시내용은 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자를 제공하며, 안티센스 가닥은 이의 5' 말단에 제4 양태에 따른 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함한다.

[0022] 본 개시내용은 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자를 제공하며, 이는

[0023] (a) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 제1 뉴클레오타이드 서열은

[0024] 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0025] 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이거나 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이고 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

[0026] 안티센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 제2 뉴클레오타이드 서열은

[0027] 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0028] 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥; 또는

[0029] (b) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 제1 뉴클레오타이드 서열은

[0030] (i) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

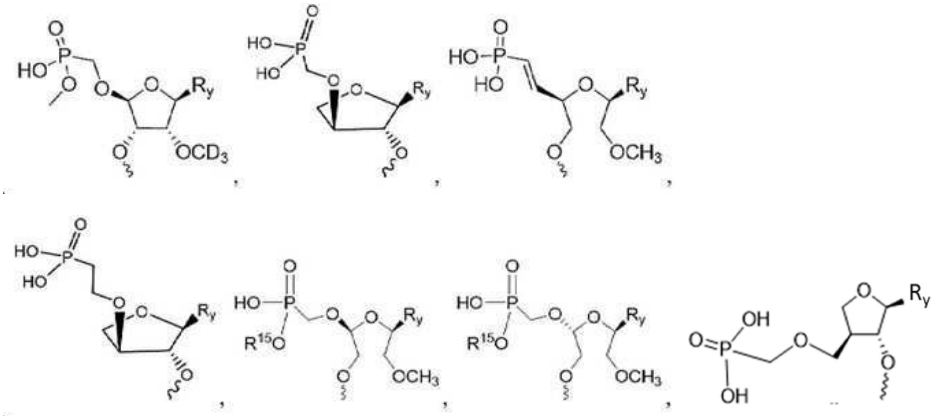
[0031] (ii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

[0032] 안티센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 제2 뉴클레오타이드 서열은

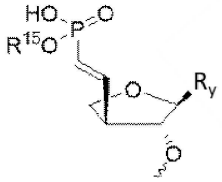
[0033] (iii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0034] (iv) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함하며;

[0035] 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 제1, 제2 또는 제3 양태에 따른 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은

[0036] 

또는



로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며; 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3이다.

[0037] 본 개시내용은 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자를 제공하며, 이는

[0038] (a) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 제1 뉴클레오타이드 서열은

[0039] 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0040] 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19의 뉴클레오타이

드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이거나 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이고 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

[0041] 안티센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 제2 뉴클레오타이드 서열은

[0042] 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0043] 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥; 또는

[0044] (b) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 제1 뉴클레오타이드 서열은

[0045] (i) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0046] (ii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

[0047] 안티센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 제2 뉴클레오타이드 서열은

[0048] (iii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0049] (iv) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함하며;

[0050] 안티센스 가닥은 이의 5' 말단에 제4 양태에 따른 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함한다.

[0051] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 1개 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 독립적으로 포함한다.

[0052] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 1개 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 독립적으로 포함한다.

[0053] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, siNA는 인산화 차단제, 갈락토사민 및/또는 5' 안정화 말단 캡을 추가로 포함한다.

[0054] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, (i) 센스 가닥의 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있으며; (ii) 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있다.

[0055] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, (i) 안티센스 가닥의 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나; (ii) 안티센스 가닥의 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나; (iii) 안티센스 가닥의 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나; (iv) 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있다.

[0056] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, (i) 센

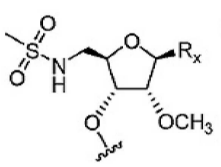
스 가닥의 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있으며; (ii) 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있다.

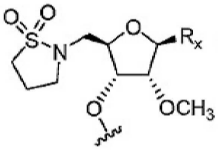
[0057] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 안티 센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, (i) 안티센스 가닥의 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나; (ii) 안티센스 가닥의 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나; (iii) 안티센스 가닥의 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있고/있거나; (iv) 적어도 1개의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있다.

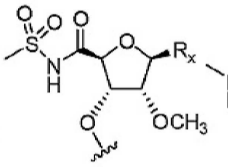
[0058] 본 개시내용은 짧은 간섭 핵산(siNA)을 추가적으로 제공하며, 이는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 독립적으로 포함한다.

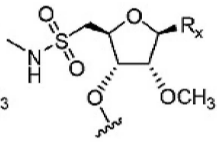
[0059] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 화학식 (1) 내지 화학식 (16), 화학식 (9X) 내지 화학식 (12X), 화학식 (16X), 화학식 (9Y) 내지 화학식 (12Y), 화학식 (16Y), 화학식 (21) 내지 화학식 (36), 화학식 36X, 화학식 (41) 내지 (56), 화학식 (49X) 내지 (52X), 화학식 (49Y) 내지 (52Y), 화학식 56X, 화학식 56Y, 화학식 (61), 화학식 (62) 및 화학식 (63):

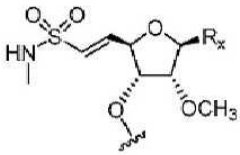
[0060]

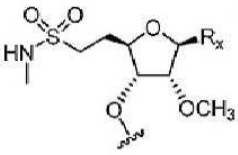

화학식 (1)

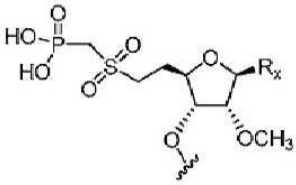

화학식 (2)

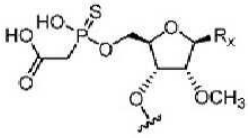

화학식 (3)

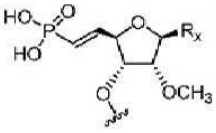

화학식 (4)

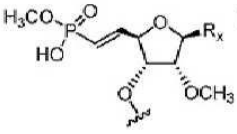

화학식 (5)

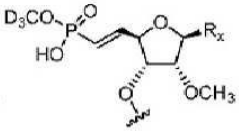

화학식 (6)

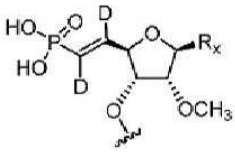

화학식 (7)

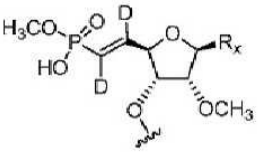

화학식(8)

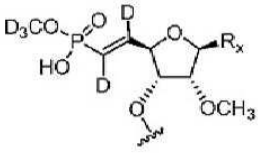

화학식 (9)


화학식 (9X)

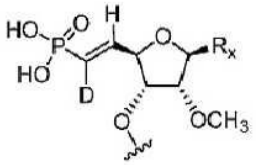

화학식 (9Y)


화학식 (10)

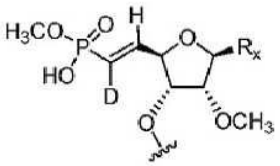

화학식 (10X)


화학식 (10Y)

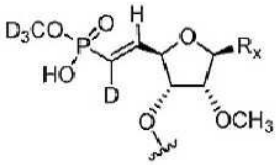
[0061]



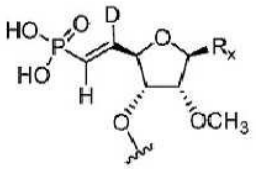
화학식 (11)



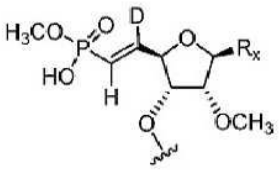
화학식 (11X)



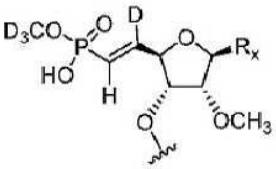
화학식 (11Y)



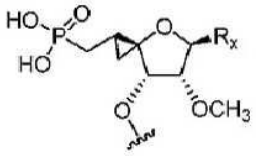
화학식 (12)



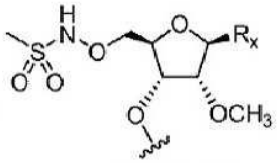
화학식 (12X)



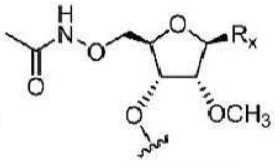
화학식 (12Y)



화학식 (13)

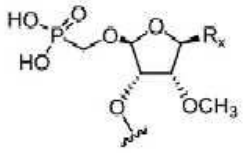


화학식 (14)

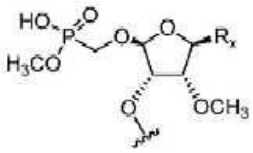


화학식 (15)

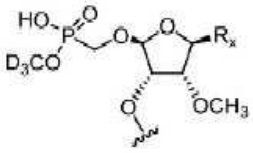
[0062]



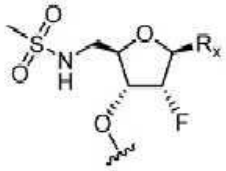
화학식(16)



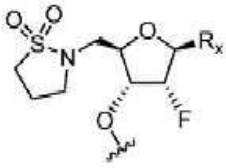
화학식(16X)



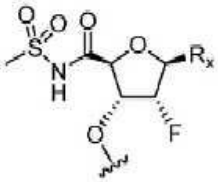
화학식(16Y)



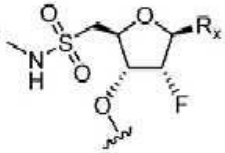
화학식(21)



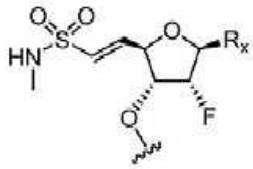
화학식(22)



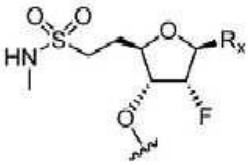
화학식(23)



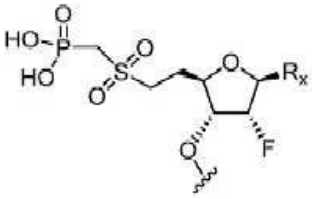
화학식(24)



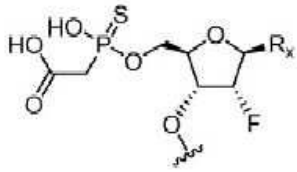
화학식(25)



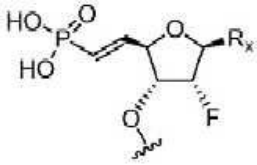
화학식(26)



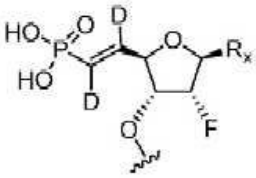
화학식(27)



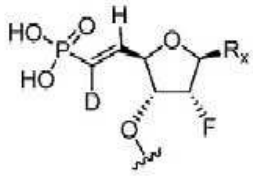
화학식(28)



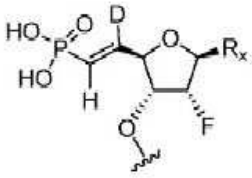
화학식(29)



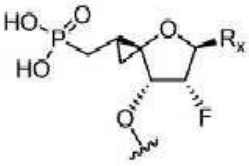
화학식(30)



화학식(31)

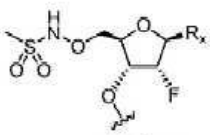


화학식(32)

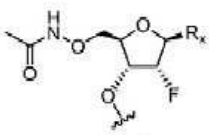


화학식(33)

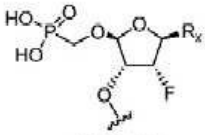
[0063]



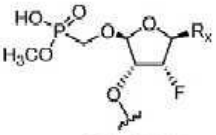
화학식 (34)



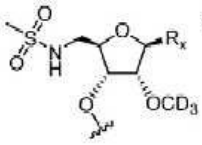
화학식 (35)



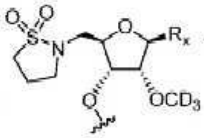
화학식 (36)



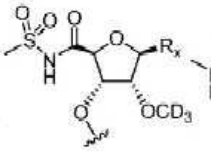
화학식 (36X)



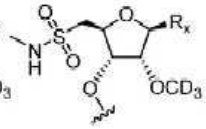
화학식 (41)



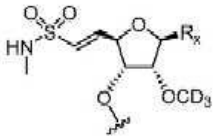
화학식 (42)



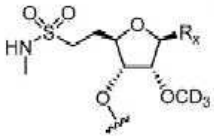
화학식 (43)



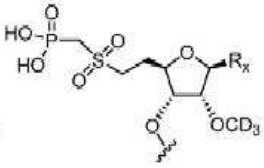
화학식 (44)



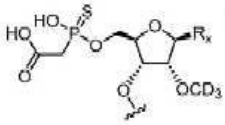
화학식 (45)



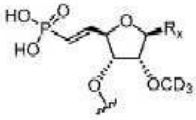
화학식 (46)



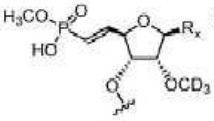
화학식 (47)



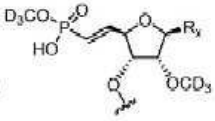
화학식 (48)



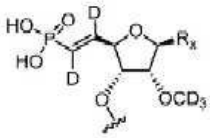
화학식 (49)



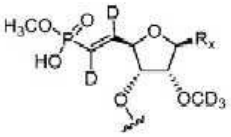
화학식 (49X)



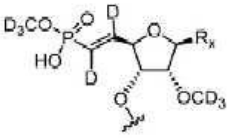
화학식 (49Y)



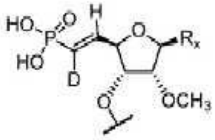
화학식 (50)



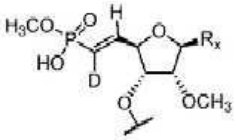
화학식 (50X)



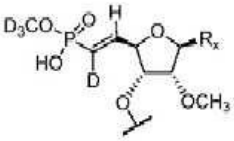
화학식 (50Y)



화학식 (51)

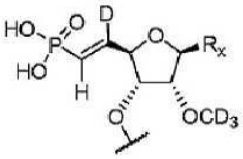


화학식 (51X)

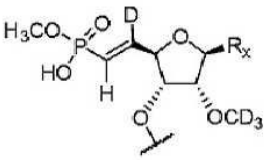


화학식 (51Y)

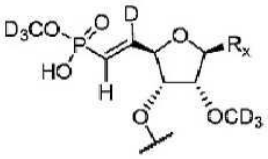
[0064]



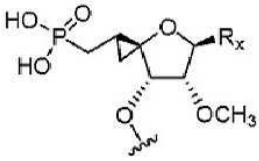
화학식 (52)



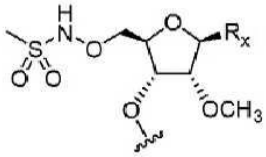
화학식 (52X)



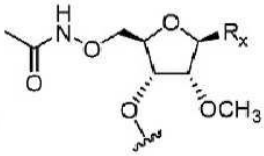
화학식 (52Y)



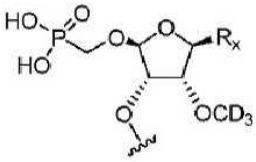
화학식 (53)



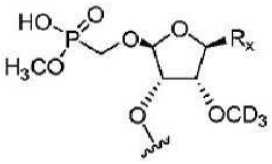
화학식 (54)



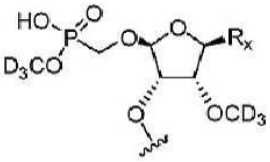
화학식 (55)



화학식 (56)

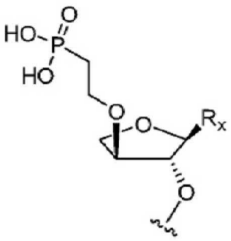


화학식 (56X)

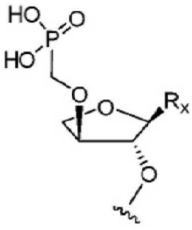


화학식 (56Y)

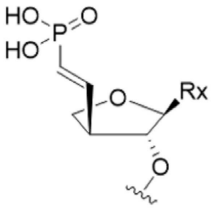
[0065]



화학식 (61)



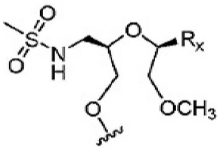
화학식 (62)



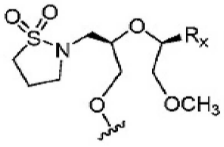
화학식 (63)

[0066] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다.

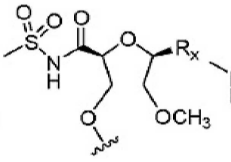
[0067] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 화학식 (71) 내지 화학식 (86), 화학식 (79X) 내지 화학식 (82X), 화학식 (79Y) 내지 (82Y), 화학식 86X, 화학식 86X', 화학식 86Y 및 화학식 86Y':



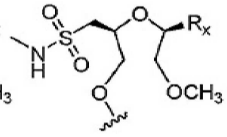
화학식 (71)



화학식 (72)

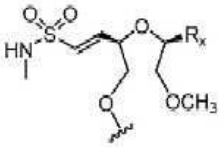


화학식 (73)

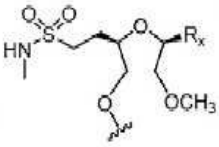


화학식 (74)

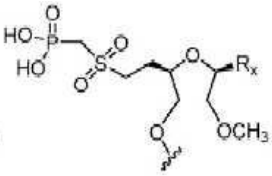
[0068]



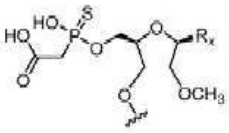
화학식 (75)



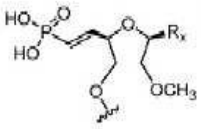
화학식 (76)



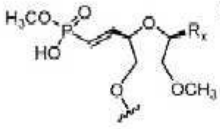
화학식 (77)



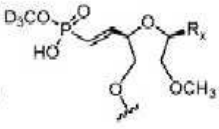
화학식 (78)



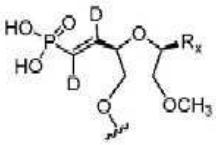
화학식 (79)



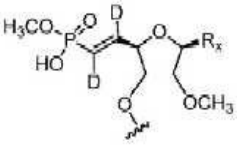
화학식 (79X)



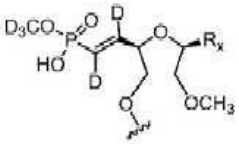
화학식 (79Y)



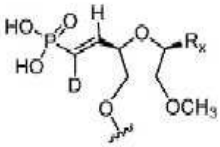
화학식 (80)



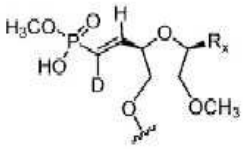
화학식 (80X)



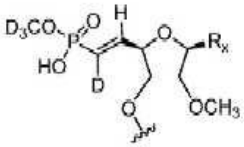
화학식 (80Y)



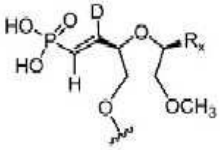
화학식 (81)



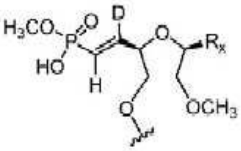
화학식 (81X)



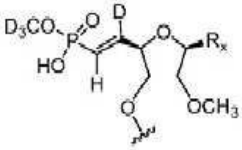
화학식 (81Y)



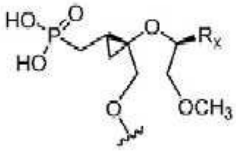
화학식 (82)



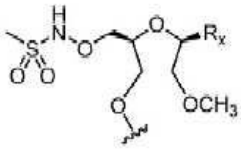
화학식 (82X)



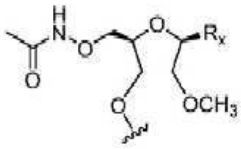
화학식 (82Y)



화학식 (83)

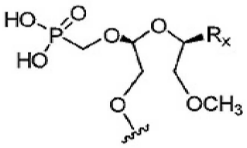


화학식 (84)

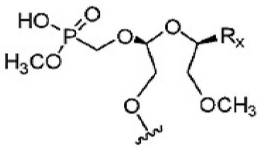


화학식 (85)

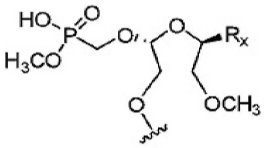
[0069]



화학식 (86)

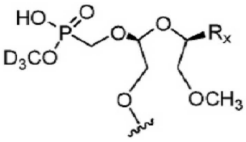


화학식 (86X)

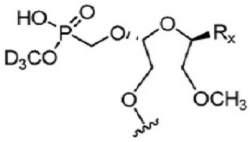


화학식 (86X')

[0070]



화학식 (86Y)

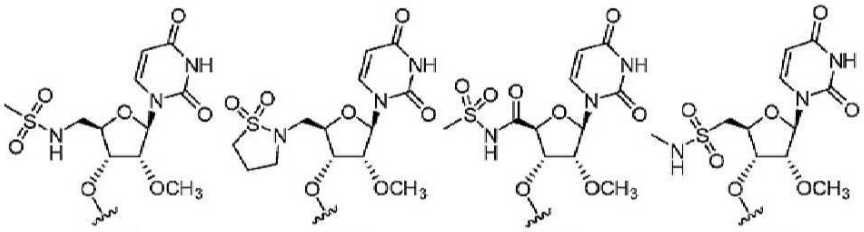


화학식 (86Y')

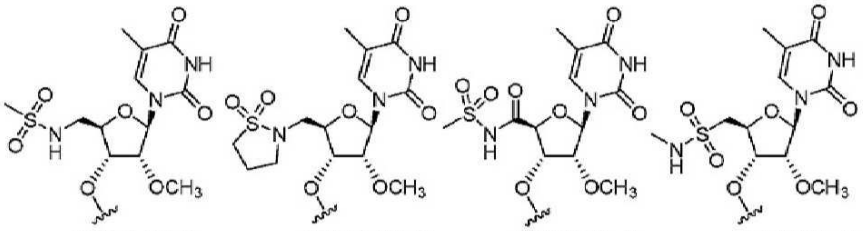
[0071] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다.

[0072] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 화학식 (1A) 내지 (15A), 화학식 (1A-1) 내지 (7A-1), 화학식 (1A-2) 내지 (7A-2), 화학식 (1A-3) 내지 (7A-3), 화학식 (1A-4) 내지 (7A-4), 화학식 (9B) 내지

(12B), 화학식 (9AX) 내지 (12AX), 화학식 (9AY) 내지 (12AY), 화학식 (9BX) 내지 (12BX) 및 화학식 (9BY) 내지 (12BY):

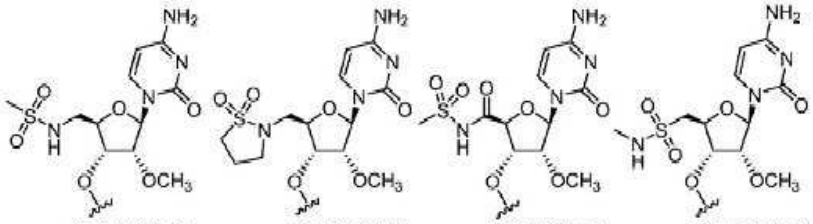


화학식 (1A) 화학식 (2A) 화학식 (3A) 화학식 (4A)

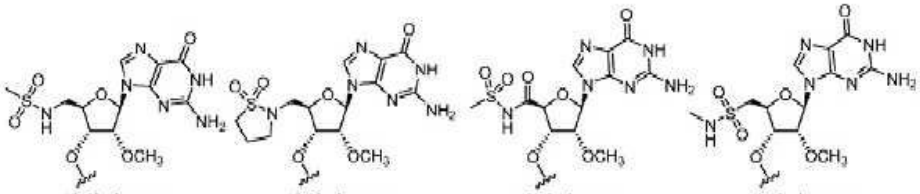


화학식 (1A-1) 화학식 (2A-1) 화학식 (3A-1) 화학식 (4A-1)

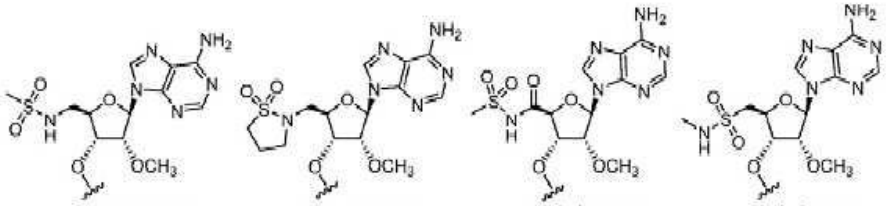
[0073]



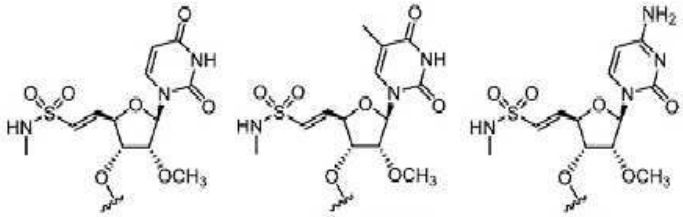
화학식 (1A-2) 화학식 (2A-2) 화학식 (3A-2) 화학식 (4A-2)



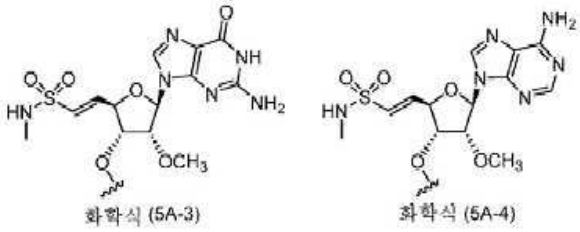
화학식 (1A-3) 화학식 (2A-3) 화학식 (3A-3) 화학식 (4A-3)



화학식 (1A-4) 화학식 (2A-4) 화학식 (3A-4) 화학식 (4A-4)

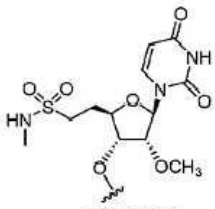


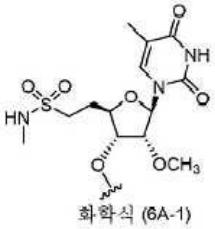
화학식 (5A) 화학식 (5A-1) 화학식 (5A-2)

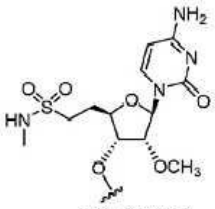


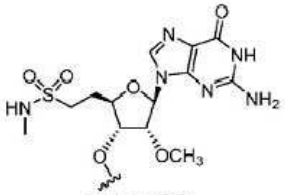
화학식 (5A-3) 화학식 (5A-4)

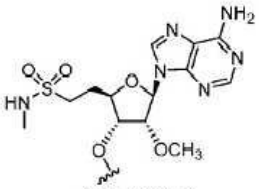
[0074]

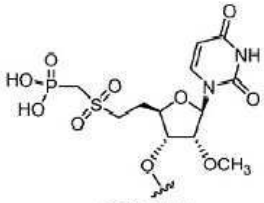

화학식 (6A)

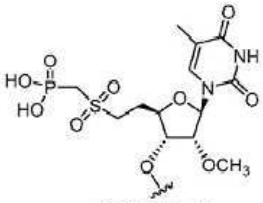

화학식 (6A-1)

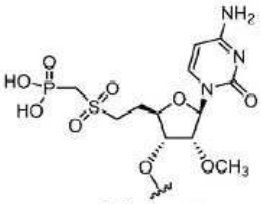

화학식 (6A-2)

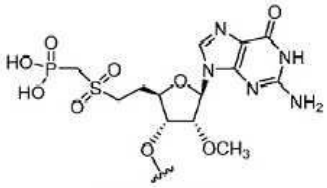

화학식 (6A-3)

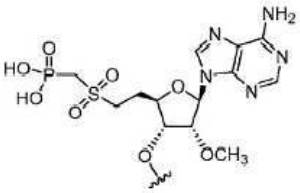

화학식 (6A-4)


화학식 (7A)

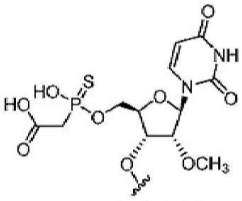

화학식 (7A-1)

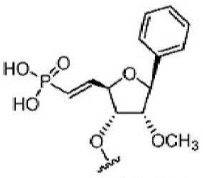

화학식 (7A-2)

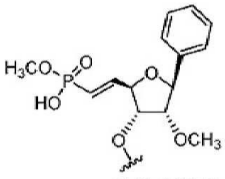

화학식 (7A-3)

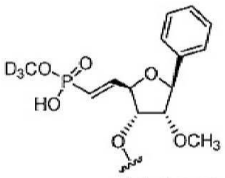

화학식 (7A-4)

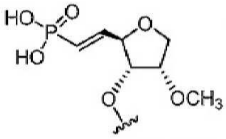
[0075]

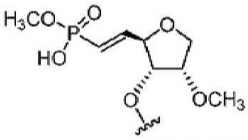

화학식 (8A)

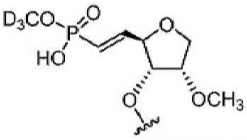

화학식 (9A)


화학식 (9AX)

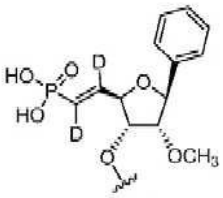

화학식 (9AY)

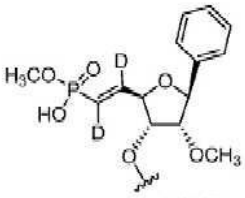

화학식 (9B)

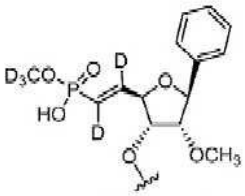

화학식 (9BX)

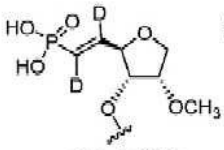

화학식 (9BY)

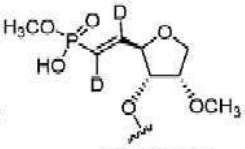
[0076]

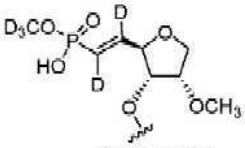

화학식 (10A)

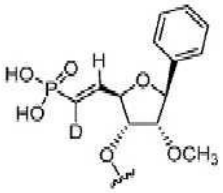

화학식 (10AX)

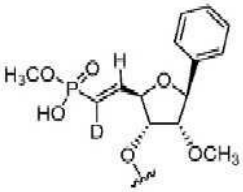

화학식 (10AY)

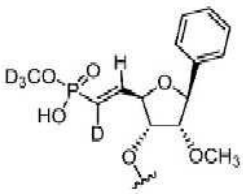

화학식 (10B)

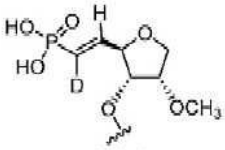

화학식 (10BX)

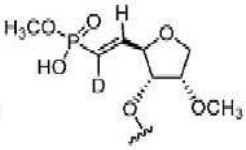

화학식 (10BY)

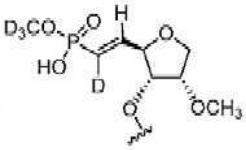

화학식 (11A)

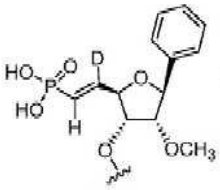

화학식 (11AX)

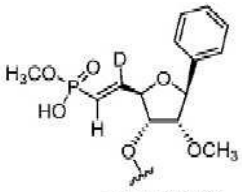

화학식 (11AY)

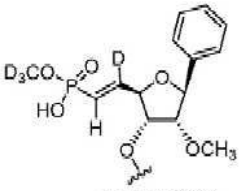

화학식 (11B)

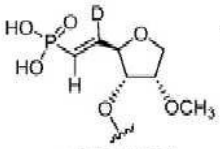

화학식 (11BX)

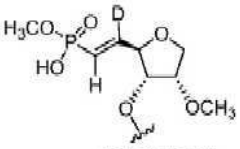

화학식 (11BY)

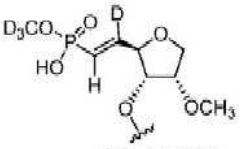

화학식 (12A)


화학식 (12AX)

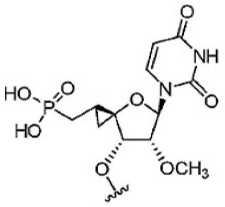

화학식 (12AY)

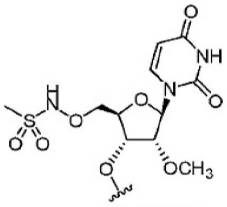

화학식 (12B)

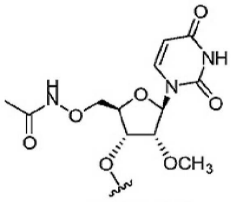

화학식 (12BX)


화학식 (12BY)

[0077]


화학식 (13A)

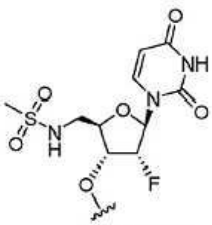

화학식 (14A)


화학식 (15A)

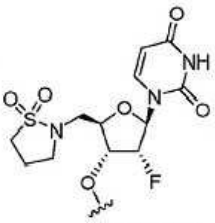
[0078] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함한다.

[0079] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 화학식 (21A) 내지 (35A), 화학식 (29B) 내지 (32B), 화학식 (29AX) 내지 (32AX), 화학식 (29AY) 내지 (32AY), 화학식 (29BX) 내지 (32BX) 및 화학식 (29BY) 내지 (32BY):

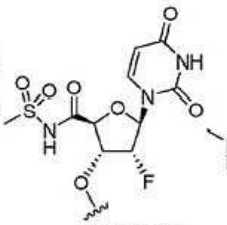
[0080]



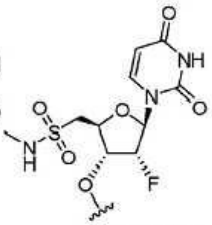
화학식 (21A)



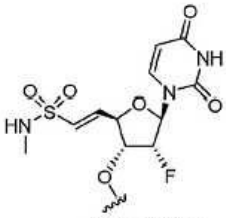
화학식 (22A)



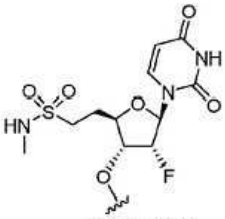
화학식 (23A)



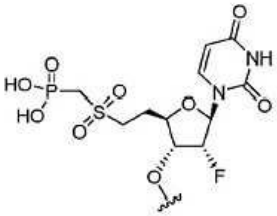
화학식 (24A)



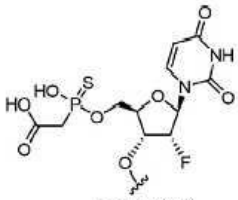
화학식 (25A)



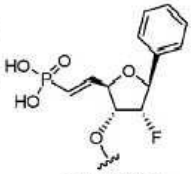
화학식 (26A)



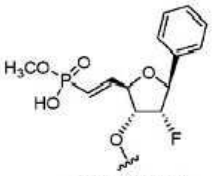
화학식 (27A)



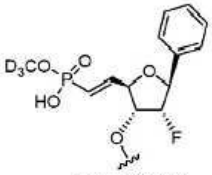
화학식 (28A)



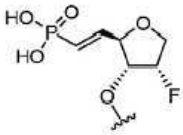
화학식 (29A)



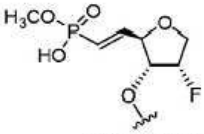
화학식 (29AX)



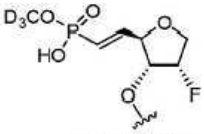
화학식 (29AY)



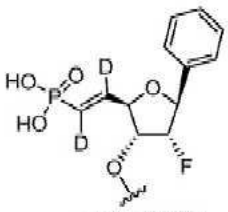
화학식 (29B)

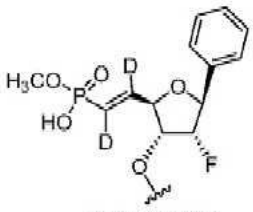


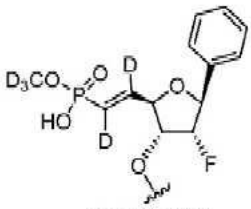
화학식 (29BX)

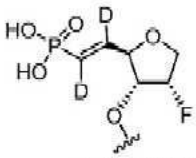


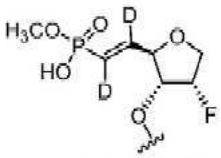
화학식 (29BY)

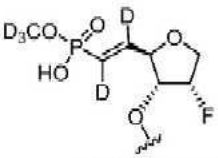

화학식 (30A)

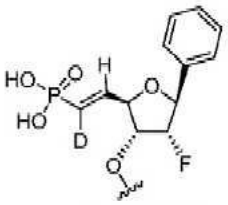

화학식 (30AX)

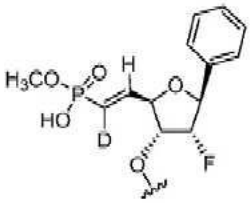

화학식 (30AY)

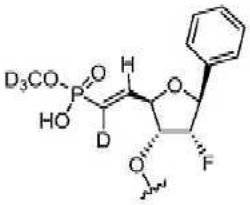

화학식 (30B)

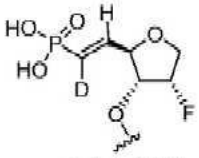

화학식 (30BX)

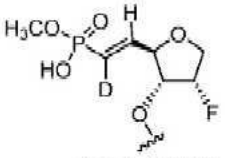

화학식 (30BY)

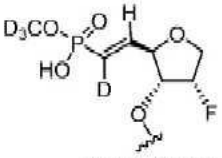

화학식 (31A)

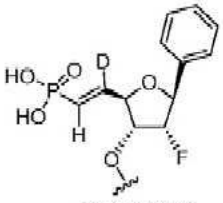

화학식 (31AX)

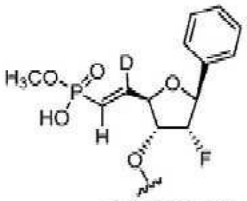

화학식 (31AY)

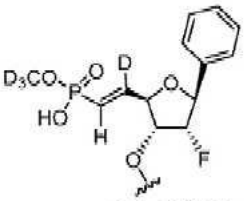

화학식 (31B)

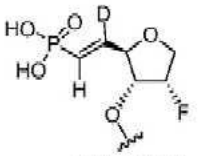

화학식 (31BX)

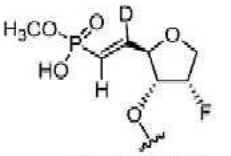

화학식 (31BY)

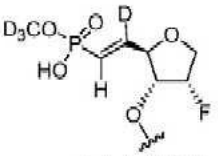

화학식 (32A)


화학식 (32AX)

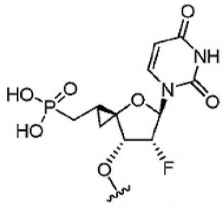

화학식 (32AY)

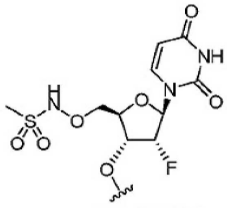

화학식 (32B)

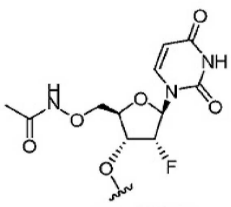

화학식 (32BX)


화학식 (32BY)

[0081]

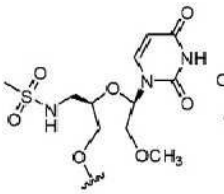

화학식 (33A)


화학식 (34A)

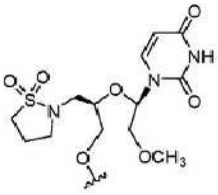

화학식 (35A)

[0082] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함한다.

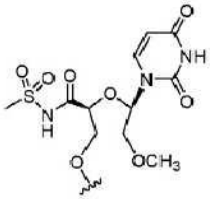
[0083] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 화학식 (71A) 내지 (86A), 화학식 (79XA) 내지 (82XA), 화학식 (79YA) 내지 (82YA); 화학식 (86XA), 화학식 (86X'A), 화학식 (86Y) 및 화학식 (86Y'):



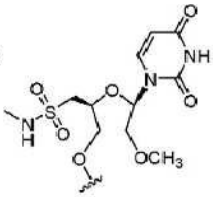
화학식 (71A)



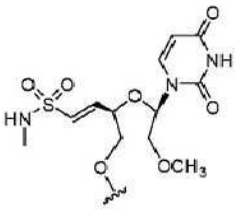
화학식 (72A)



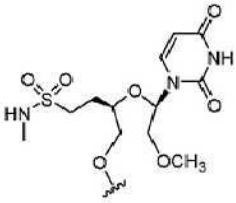
화학식 (73A)



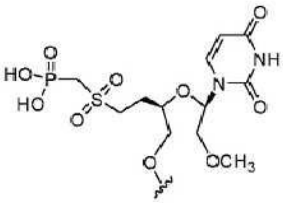
화학식 (74A)



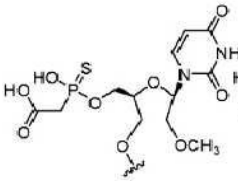
화학식 (75A)



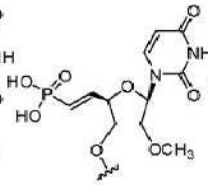
화학식 (76A)



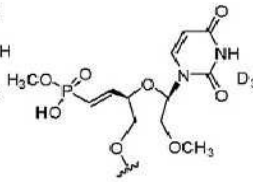
화학식 (77A)



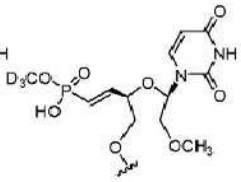
화학식 (78A)



화학식 (79A)

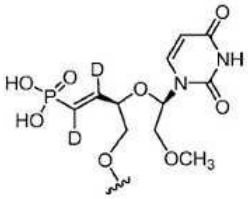


화학식 (79XA)

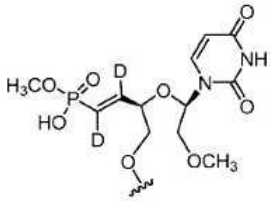


화학식 (79YA)

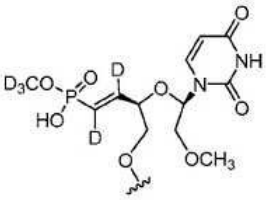
[0084]



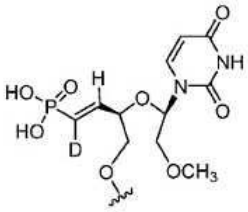
화학식 (80A)



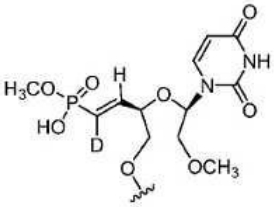
화학식 (80XA)



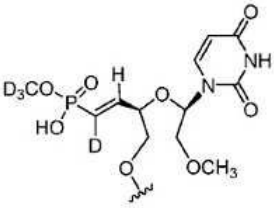
화학식 (80YA)



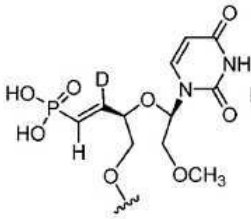
화학식 (81A)



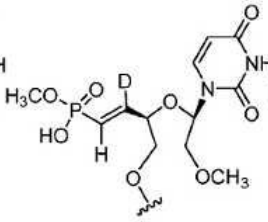
화학식 (81XA)



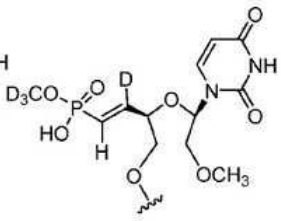
화학식 (81YA)



화학식 (82A)

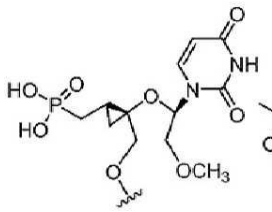


화학식 (82XA)

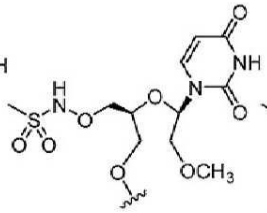


화학식 (82YA)

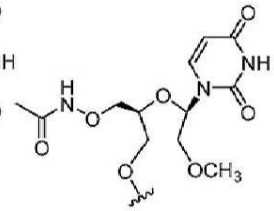
[0085]



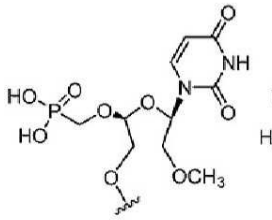
화학식 (83A)



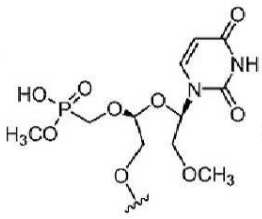
화학식 (84A)



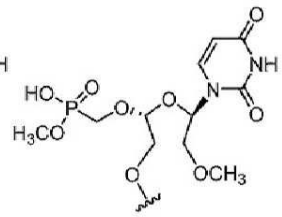
화학식 (85A)



화학식 (86A)

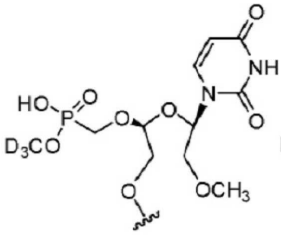


화학식 (86XA)

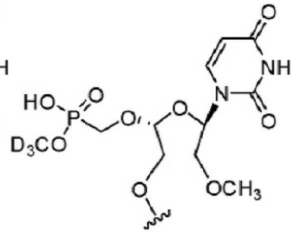


화학식 (86X'A)

[0086]



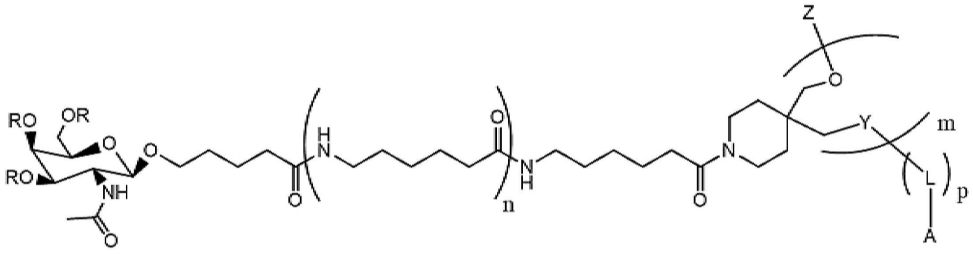
화학식 (86Y)



화학식 (86Y')

[0087] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함한다.

[0088] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, siNA는 갈락토사민을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 화학식 (VI)의 N-아세틸갈락토사민(GalNAc):



이며, 식 중

[0089] m은 1, 2, 3, 4 또는 5이며;

[0090] n은 각각 독립적으로 1 또는 2이며;

[0091] p는 0 또는 1이며;

[0092] R은 각각 독립적으로 H이며;

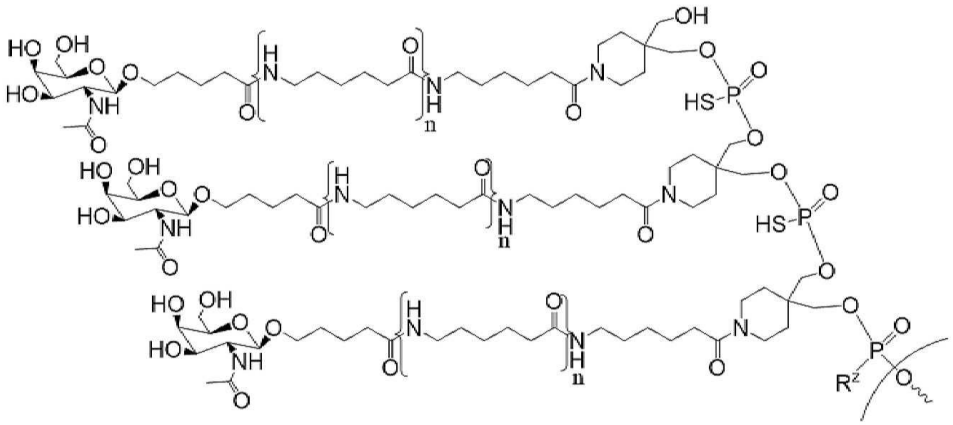
[0093] Y는 각각 독립적으로 -O-P(=O)(SH)-, -O-P(=O)(O)-, -O-P(=O)(OH)- 및 -O-P(S)S-로부터 선택되며;

[0094] Z는 H 또는 제2 보호기이며;

[0095] L은 링커이거나 L과 Y의 조합은 링커이며;

[0096] A는 H, OH, 제3 보호기, 활성화기 또는 올리고뉴클레오타이드이다.

[0097] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 화학식 (VII)의 N-아세틸갈락토사민(GalNAc):

[0098] 
이며, 식 중 R^z는 OH 또는 SH이며; n은 각각 독립적으로 1 또는 2이다.

[0099] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, (i) siNA의 적어도 1개의 말단은 평활 말단이거나; (ii) siNA의 적어도 1개의 말단은 돌출부를 포함하며, 여기서 돌출부는 적어도 1개의 뉴클레오타이드를 포함하거나; (iii) siNA의 양 말단은 돌출부를 포함하며, 여기서 돌출부는 적어도 하나의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0100] 개시된 siNA 분자의 일부 실시양태에서, (i) 표적 유전자는 바이러스 유전자이거나; (ii) 표적 유전자는 DNA 바이러스로부터 유래한 유전자이거나; (iii) 표적 유전자는 이중 가닥 DNA(dsDNA) 바이러스로부터 유래한 유전자이거나; (iv) 표적 유전자는 헤파드나바이러스로부터 유래한 유전자이거나; (v) 표적 유전자는 B형 간염 바이러스(HBV)로부터 유래한 유전자이거나; (vi) 표적 유전자는 유전자형 A 내지 J 중 임의의 하나의 HBV로부터 유래한 유전자이거나; (vii) 표적 유전자는 HBV의 S 유전자 또는 X 유전자로부터 선택된다.

[0101] 본 개시내용은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4 및 표 5에서 나타낸 바와 같은 siNA를 제공한다.

[0102] 본 개시내용은 본원에서 개시되는 siNA; 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 본원에서 개시되는 바와 같이 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 siNA를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 추가 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 추가 치료제는 뉴클레오타이드 유사체, 뉴클레오사이드 유사체, 캡시드 조립 조절제(CAM), 재조합 인터페론, 진입 억제제, 소분자 면역조절제 및 올리고뉴클레오타이드 요법, 예컨대, 추가 siNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), NAP 또는 STOPS™으로부터 선택된다.

[0103] 본 개시내용은 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 이는 대상체에게 본원에서 개시되는 siNA 또는 본원에서 개시되는 siNA를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 본 개시내용은 개시되는 siNA 또는 조성물의 대상체에서 질환을 치료하기 위한 용도를 추가로 제공한다. 본 개시내용은 대상체에서 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 siNA 또는 조성물을 추가로 제공한다.

[0104] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, 질환은 바이러스 질환이며, 이는 DNA 바이러스 또는 이중 가닥 DNA(dsDNA) 바이러스에 의해 선택적으로 야기된다. 일부 실시양태에서, dsDNA 바이러스는 헤파드나바이러스이다. 일부 실시양태에서, 헤파드나바이러스는 B형 간염 바이러스(HBV)이며, 선택적으로 HBV는 HBV 유전자형 A 내지 J로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 방법 및 단계는 추가 HBV 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물 및 추가 HBV 치료제는 동시에 투여되거나 순차적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 추가 HBV 치료제는 뉴클레오타이드 유사체, 뉴클레오사이드 유사체, 캡시드 조립 조절제(CAM), 재조합 인터페론, 진입 억제제, 소분자 면역조절제 및 올리고뉴클레오타이드 요법으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 질환은 코로나바이러스에 의해 야기되는 질환이며, 선택적으로 코로나바이러스는 SARS-CoV-2이다.

[0105] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, 질환은 간 질환이다. 일부 실시양태에서, 간 질환은 비알코올성 지방간 질환(NAFLD) 또는 간세포암종(HCC)이다. 일부 실시양태에서, NAFLD는 비알코올성 지방간염(NASH)이다. 일부 실시양태는 대상체에게 간 질환 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 간 질환 치료제는 퍼옥시솜 증식 활성화 수용체(PPAR) 효능제, 파네소이드 X 수용체(FXR) 효능제, 지질 변경제 및 인크레틴 기반 요법으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, (i) PPAR 효능제는 PPARα 효능제, 이중 PPARα/δ 효능제, PPARɣ 효능제 및 이중 PPARα/ɣ 효능제로부터 선택되거나; (ii) 지질 변경제는 아람콜이거나; (iii) 인크레틴 기반 요법은 글루카곤 유사 펩타이드 1(GLP-1) 수용체 효능제 또는 다이펩티딜 펩타이드분해효소

4(DPP-4) 억제제이다. 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물 및 간 질환 치료제는 동시에 투여되거나 순차적으로 투여된다.

[0106] 개시되는 방법 또는 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 적어도 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg 14 mg/kg 또는 15 mg/kg의 용량으로 투여된다.

[0107] 개시되는 방법 또는 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg, 0.5 mg/kg 내지 40 mg/kg 0.5 mg/kg 내지 30 mg/kg, 1 mg/kg 내지 50 mg/kg, 1 mg/kg 내지 40 mg/kg, 1 mg/kg 내지 30 mg/kg, 1 mg/kg 내지 20 mg/kg, 3 mg/kg 내지 50 mg/kg, 3 mg/kg 내지 40 mg/kg, 3 mg/kg 내지 30 mg/kg, 3 mg/kg 내지 20 mg/kg, 3 mg/kg 내지 15 mg/kg, 3 mg/kg 내지 10 mg/kg, 4 mg/kg 내지 50 mg/kg, 4 mg/kg 내지 40 mg/kg, 4 mg/kg 내지 30 mg/kg, 4 mg/kg 내지 20 mg/kg, 4 mg/kg 내지 15 mg/kg, 4 mg/kg 내지 10 mg/kg, 5 mg/kg 내지 50 mg/kg, 5 mg/kg 내지 40 mg/kg, 5 mg/kg 내지 30 mg/kg, 5 mg/kg 내지 20 mg/kg, 5 mg/kg 내지 15 mg/kg 또는 5 mg/kg 내지 10 mg/kg의 용량으로 투여된다.

[0108] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 투여된다.

[0109] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 적어도 매일 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회, 적어도 매주 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 또는 적어도 매월 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 투여된다.

[0110] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 적어도 매 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21일 적어도 1회 투여된다.

[0111] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 또는 21일 또는 적어도 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, 35, 40, 45, 50, 51, 52, 53, 54 또는 55주의 기간 동안 투여된다.

[0112] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 5 mg/kg 또는 10 mg/kg의 단일 용량, 매주 1회 10 mg/kg의 3회 용량, 매3일 1회 10 mg/kg의 3회 용량 또는 매3일 1회 10 mg/kg의 5회 용량으로 투여된다.

[0113] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 1 mg/kg 내지 15 mg/kg, 1 mg/kg 내지 10 mg/kg, 2 mg/kg 내지 15 mg/kg, 2 mg/kg 내지 10 mg/kg, 3 mg/kg 내지 15 mg/kg 또는 3 mg/kg 내지 10 mg/kg의 범위로 6회 용량으로 투여되며; 제1 용량 및 제2 용량은 적어도 3일 간격으로 선택적으로 투여되며; 제2 용량 및 제3 용량은 적어도 4일 간격으로 선택적으로 투여되며; 제3 용량 및 제4 용량, 제4 용량 및 제5 용량 및/또는 제5 용량 및 제6 용량은 적어도 7일 간격으로 선택적으로 투여된다.

[0114] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 입자 또는 바이러스 벡터로 투여되며, 상기 바이러스 벡터는 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스(AAV), 알파바이러스, 플라비바이러스, 단순 포진 바이러스, 렌티바이러스, 홍역 바이러스, 피코르나바이러스, 폭스바이러스, 레트로바이러스 및 랍도바이러스의 벡터로부터 선택적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 재조합 바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 AAVrh.74, AAVrh.10, AAVrh.20, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11, AAV-12 및 AAV-13으로부터 선택된다.

[0115] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 전신 투여 또는 국소 투여된다.

[0116] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, siNA 또는 조성물은 정맥내, 피하 또는 근육내 투여된다.

[0117] 전술한 일반적인 설명 및 다음의 상세한 설명은 모두 예시적이고 설명적이며 청구되는 바와 같은 본 개시내용의 추가 설명을 제공하기 위한 것이다. 다른 목적, 이점 및 신규한 특징은 개시내용의 다음의 도면의 간단한 설명 및 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용으로부터 통상의 기술자에게 용이하게 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0118] **도 1**은 예시적인 siNA 분자를 예시한다.

도 2은 예시적인 siNA 분자를 예시한다.

도 3a 내지 도 3h는 예시적인 이중 가닥 siNA 분자를 예시한다.

도 4는 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-009 또는 ds-siNA-010으로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 나타낸다.

도 5a는 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-017(GalNAc를 첨가) 또는 ds-siNA-018(GalNAc를 첨가)로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 나타낸다.

도 5b는 운반체(G01), 대조군 2, 대조군 7 또는 대조군 8로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 나타낸다.

도 6은 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-011, ds-siNA-012 또는 ds-siNA-013으로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 나타낸다.

도 7은 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-026, ds-siNA-027, ds-siNA-028, ds-siNA-029, ds-siNA-030, ds-siNA-031 또는 ds-siNA-032로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 나타낸다.

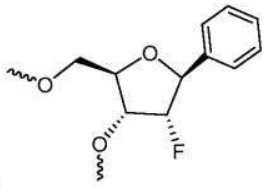
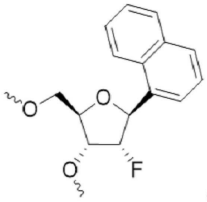
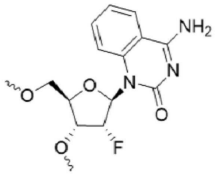
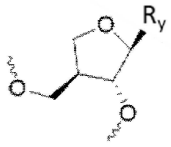
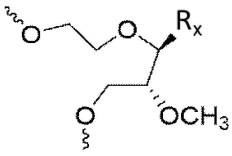
도 8은 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-046, ds-siNA-047, ds-siNA-048 또는 ds-siNA-049로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

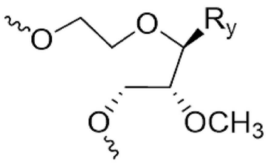
[0119] 염기 대신에 고유한 화학적 모이어티를 포함할 수 있고/있거나, 중앙 푸라노스 고리(즉, 미잠금 뉴클레오타이드)의 3' 및 4' 탄소 사이의 결합이 결여될 수 있고/있거나 포스페이트 모방기(이러한 뉴클레오티드는 이후 "뉴클레오타이드 포스페이트 모방체"로 지칭될 수 있음)를 보유할 수 있는 신규한 변형된 핵염기 단량체가 본원에서 개시된다. 또한, 변형된 핵염기(즉, 뉴클레오타이드)를 포함하는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자가 본원에서 개시된다.

[0120] 일반적으로, 본원에서 설명되는 siNA 분자는 이중 가닥 siNA(ds-siNA) 분자일 수 있다. 본원에서 설명되는 siNA 분자는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 본원에서 설명되는 siNA 분자는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함할 수 있다. 본원에서 설명되는 siNA 분자는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 이상의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함할 수 있다. 본원에서 설명되는 siNA 분자는 적어도 하나의 인산화 차단제를 포함할 수 있다. 본원에서 설명되는 siNA 분자는 5' 안정화 말단 캡(개시되는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하나 이에 제한되지 않음)을 포함할 수 있다. 본원에서 설명되는 siNA 분자는 갈락토사민을 포함할 수 있다. 본원에서 설명되는 siNA 분자는 1개 이상의 평활 말단을 포함할 수 있다. 본원에서 설명되는 siNA 분자는 1개 이상의 돌출부를 포함할 수 있다.

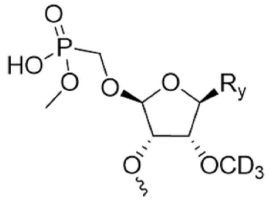
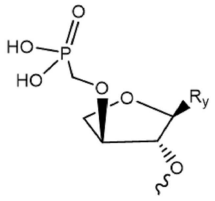
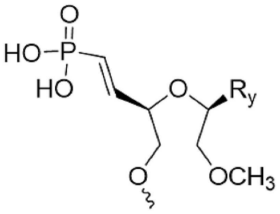
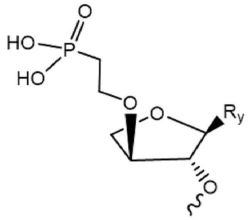
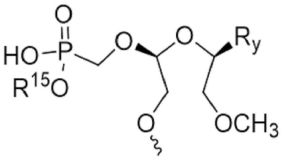
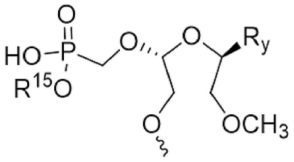
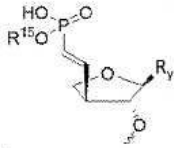
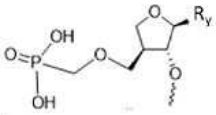
[0121] 예를 들어, 본 개시내용은 구조:

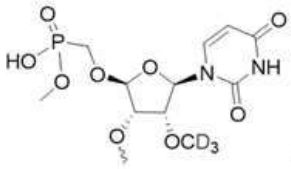
[0122]  (fB),  (fN),  (f(4nh)Q) 또는  (apN)(식 중 R_y는 핵염기임)를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 및 구조:  (식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H임)를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드

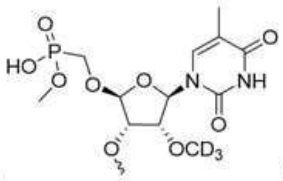
를 제공한다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오타이드는 구조:

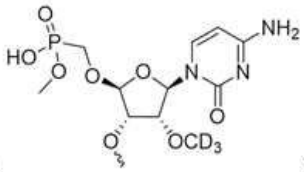
[0123]  를 포함할 수 있으며, 식 중 R_y는 핵염기이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

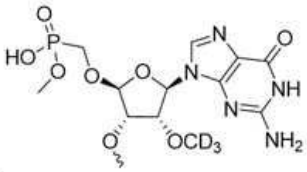
[0124] 또한, 본 개시내용은 임의의 개시되는 siNA의 안티센스 가닥의 5' 말단에서 안정화 말단 캡 역할을 할 수 있는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 제공한다. 개시되는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체는 다음의 구조를 포함하나 이에 제한되지 않는다:

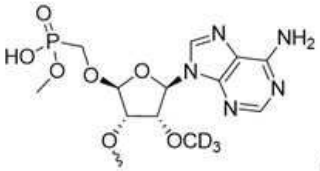
[0125]  (omeco-d3 뉴클레오타이드),  (4h 뉴클레오타이드),  (v-mun 뉴클레오타이드),  (c2o-4h 뉴클레오타이드),  (omceo-mun*광학이성질체1),  (omceo-mun*광학이성질체2),  (4h-vp 뉴클레오타이드) 및  (coc-4h 뉴클레오타이드); 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 개시되는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체는 다음의 구조를 포함하나 이에 제한되지 않는다:


(omeco-d3U),

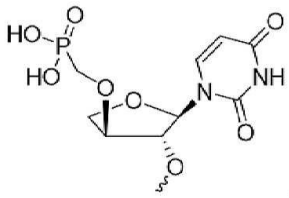

(omeco-d3T),

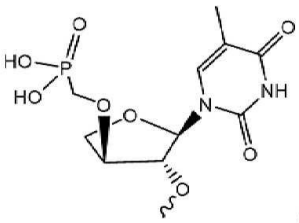

(omeco-d3C),

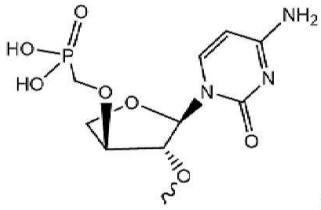

(omeco-d3G),

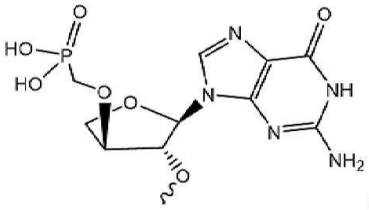

(omeco-d3A),

[0126]

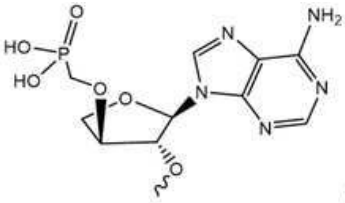

(4hU),

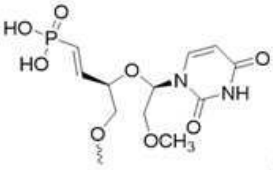

(4hT),

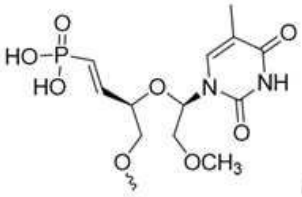

(4hC),

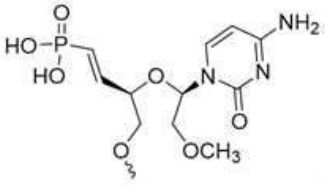

(4hG),

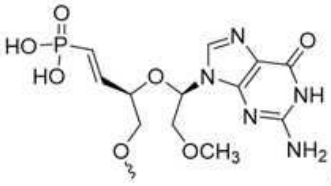
[0127]

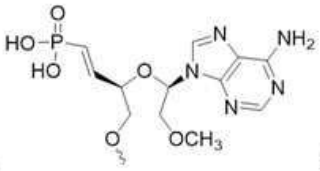

(4hA),

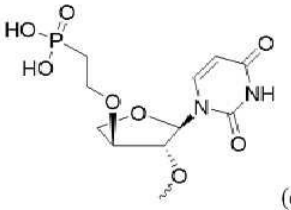

(v-munU),


(v-munT),

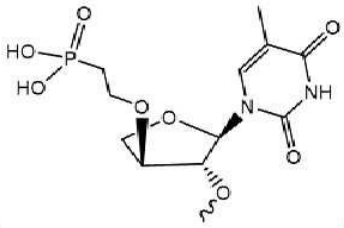

(v-munC),


(v-munG),

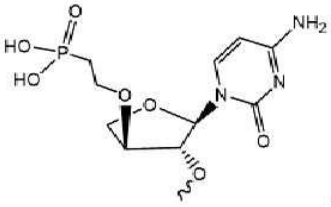

(v-munA),



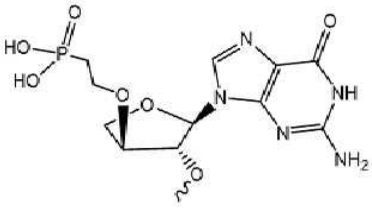
(c2o-4hU),



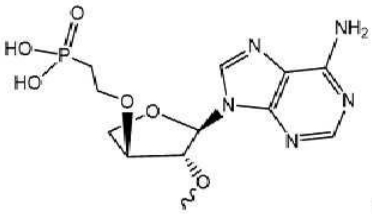
(c2o-4hT),



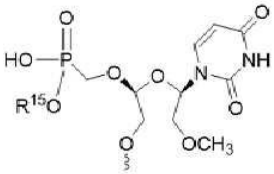
(c2o-4hC),



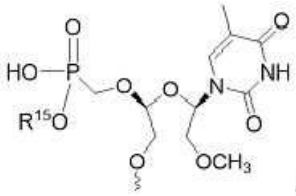
(c2o-4hG),



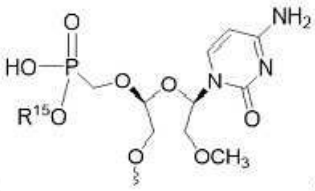
(c2o-4hA),



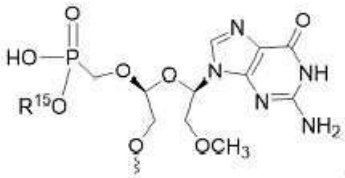
(omeco-munU),



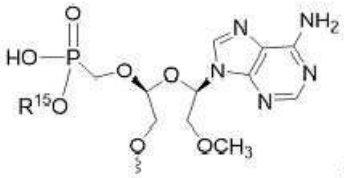
(omeco-munT),



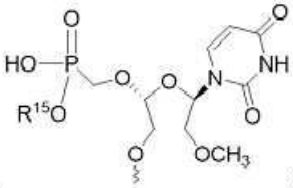
(omeco-munC),



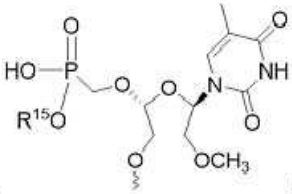
(omeco-munG),



(omeco-

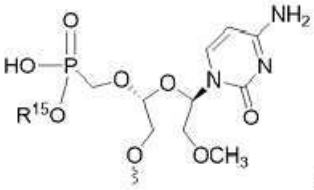


munA),

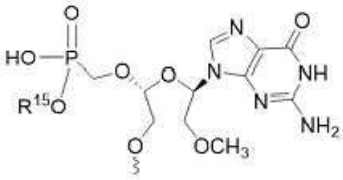


(omeco-munU),

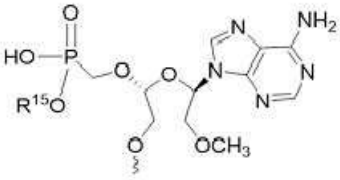
(omeco-



munT),

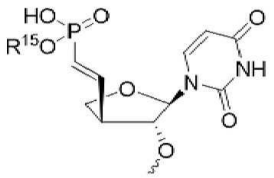


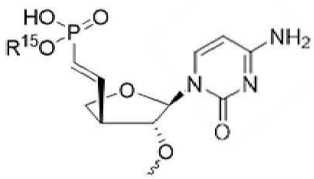
(omeco-munC),

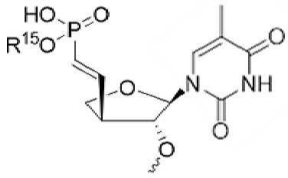


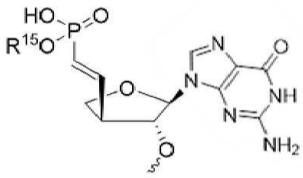
(omeco-munG),

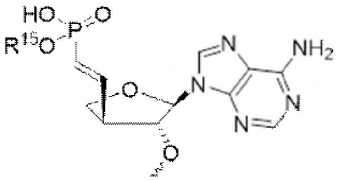
(omeco-munA) ,

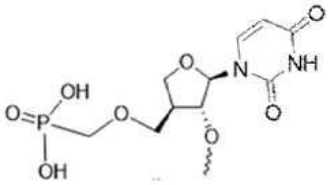

(4h-vp -U),

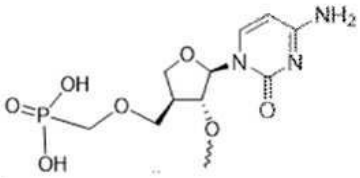

(4h-vp -C),

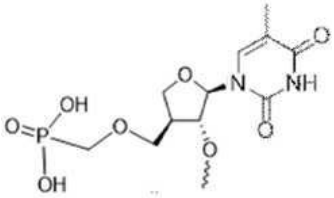

(4h-vp -T),

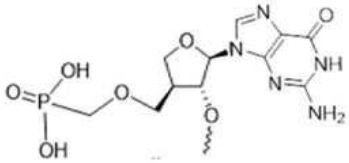

(4h-vp -G),

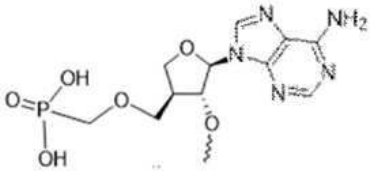

(4h-vp -A),


(coc-4hU),


(coc-4hC),


(coc-4hT),


(coc-4hG) 및


(coc-4hA); 식 중 R^{15}는 H 또는 CH_3이다.

[0128] 개시되는 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자는 안티센스 가닥의 5' 말단의 전술한 변형된 뉴클레오타이드 및/또는 전술한 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체 중 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개를 포함할 수 있다.

[0129] 실제로, 본 개시내용의 짧은 간섭 핵산(siNA) 분자는

[0130] (a) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은

[0131] (i) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0132] (ii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이거나 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이고 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

[0133] 안티센스 가닥이되, 상기 표적 유전자에 상응하는 상기 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은

[0134] (iii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0135] (iv) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥; 또는

[0136] (b) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은

[0137] (i) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0138] (ii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

[0139] 안티센스 가닥이되, 상기 표적 유전자에 상응하는 상기 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은

[0140] (iii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

[0141] (iv) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함하는 안티센스 가닥; 또는

[0142] (c) 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은

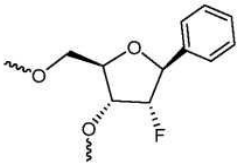
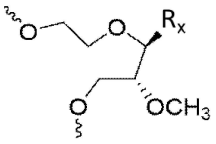
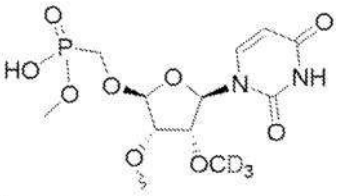
[0143] (i) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

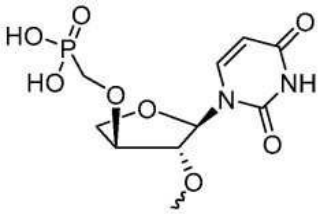
[0144] (ii) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이거나 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이고 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 센스 가닥; 및

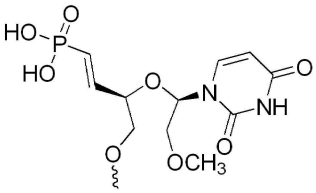
[0145] 안티센스 가닥이되, 상기 표적 유전자에 상응하는 상기 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은

[0146] (iii) 길이가 15 내지 30개의 뉴클레오타이드이며,

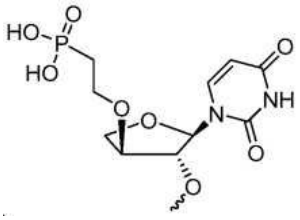
[0147] (iv) 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함할 수 있으며;

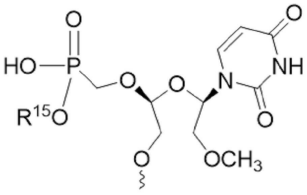
[0148] 이는 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥이  (fB) 및  (식 중 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴, 또는 H임) 선택되는 변형된 뉴클레오타이드 중 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개를 포함하는 한; 및/또는 안티센스 가닥이  (omeco-


d3U),


(4hU),

(v-mun),


(c2o-4h) 및


(omeco-munU, R^{15}는 CH_3)(식 중 R^{15}는 H 또는 CH_3임)로부터 선택되는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하는 한 그러하다.

[0149] 추가로, 본 개시내용의 siNA는 1개 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결, 1개 이상의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결 또는 이들의 조합을 각각 독립적으로 포함하는 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. siNA는 인산화 차단제, 갈락토사민 및/또는 5' 안정화 말단 캡(위에서 언급되는 것 이외)을 포함할 수 있다. siNA는 갈락토사민과 같은 표적화 모이어티에 접합될 수 있다.

[0150] 본원에서 설명되는 siNA 분자 중 2개 이상을 포함하는 조성물이 본원에서 추가로 개시된다.

[0151] 임의의 설명되는 siNA 분자 및 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물이 본원에서 추가로 개시된다. 또한, 이러한 조성물은 추가 치료제를 포함할 수 있거나, 추가 치료제와 함께(동시에 또는 순차적으로) 투여될 수 있다.

[0152] 약제로서 사용하기 위한 본원에서 설명되는 siNA 분자 중 2개 이상을 포함하는 조성물이 본원에서 추가로 개시된다.

[0153] 약제로서 사용하기 위한 임의의 설명되는 siNA 분자 및 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물이 본원에서 추가로 개시된다. 또한, 이러한 약제는 추가 치료제를 포함할 수 있거나, 추가 치료제와 함께(동시에 또는 순차적으로) 투여될 수 있다.

[0154] 또한, 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 방법이 본원에서 추가로 개시되며, 방법은 대상체에게 임의의 본원에서 설명되는 siNA 분자(또는 이들의 조합) 또는 조성물/약제를 투여하는 단계를 포함한다.

[0155] 질환을 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서 임의의 본원에서 설명되는 siNA 분자(또는 이들의 조합)의 용도가 본원에서 추가로 개시된다.

[0156] **짧은 간섭 핵산(siNA) 분자**

[0157] 위에서 나타내는 바와 같이, 본 개시내용은 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA 분자를 제공한다. 임의의 본원에서 설명되는 siNA 분자는 이중 가닥 siNA(ds-siNA) 분자일 수 있다. 용어 "siNA 분자" 및 "ds-siNA 분자"는 상호교환적으로 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, ds-siNA 분자는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함한다.

[0158] 본 개시내용의 목적을 위해, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 일반적으로 (a) 적어도 1개의 인산화 차단제, 접합된 모이어티 및/또는 5' 안정화 말단 캡; 및 (b) 짧은 간섭 핵산(siNA)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 본원에서 개시되는 인산화 차단제이다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 본원에서 개시되는 갈락토사민이다. 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 본원에서 개시되는 5' 안정화 말단 캡이다.

[0159] siNA는 본원에서 개시되는 임의의 제1 뉴클레오타이드, 제2 뉴클레오타이드, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 서열을 포함할 수 있다. siNA는 5 내지 100, 5 내지 90, 10 내지 100, 10 내지 90, 10 내지 80, 10 내지 70, 10 내지 60, 10 내지 50, 10 내지 30, 10 내지 25, 15 내지 100, 15 내지 90, 15 내지 80, 15 내지 70, 15 내지 60, 15 내지 50, 15 내지 30 또는 15 내지 25개의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. siNA는 적어도 5, 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 또는 40개의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. siNA는 50, 45, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34,

33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 또는 19개 이하의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다. siNA는 단일 가닥(ss-siNA)일 수 있다. siNA는 이중 가닥(ds-siNA)일 수 있다.

[0160] ds-siNA는 (a)15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 30, 17 내지 25, 17 내지 24, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21, 18 내지 30, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 19 내지 30, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 20 내지 25, 20 내지 24, 20 내지 23, 21 내지 25, 21 내지 24 또는 21 내지 23개의 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥; 및 (b) 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 30, 17 내지 25, 17 내지 24, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21, 18 내지 30, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 19 내지 30, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 20 내지 25, 20 내지 24, 20 내지 23, 21 내지 25, 21 내지 24 또는 21 내지 23개의 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 (a) 약 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23개의 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥; 및 (b) 약 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23개의 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 (a) 약 또는 19개의 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥; 및 (b) 21개의 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 (a) 약 또는 21개의 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥; 및 (b) 23개의 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다.

[0161] 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 포스포다이에스터(PO) 링커, 포스포로싸이오에이트(PS) 링커, 포스포로다이싸이오에이트 링커, 메실 포스포라미데이트(Ms) 및 PS-모방체 링커로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, PS-모방체 링커는 황 링커이다. 일부 실시양태에서, 링커는 뉴클레오사이드간 링커이다. 대안적으로 또는 추가적으로, 링커는 siNA 분자의 뉴클레오타이드를 적어도 1개의 인산화 차단제, 접합된 모이어티 또는 5' 안정화 말단 캡에 연결할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 접합된 모이어티를 인산화 차단제 또는 5' 안정화 말단 캡에 연결한다.

[0162] 본 개시내용의 예시적인 siNA 분자는 도 1에서 나타나 있다. 도 1에서 나타낸 바와 같이, 예시적인 siNA 분자는 센스 가닥(101) 및 안티센스 가닥(102)을 포함한다. 센스 가닥(101)은 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(103)을 포함할 수 있다. 제1 올리고뉴클레타이드 서열(103)은 1개 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(109)을 포함할 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(109)은 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(103)의 5' 또는 3' 말단에 있는 뉴클레오티드 사이에 있을 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(109)은 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(103)의 5' 말단으로부터 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(103)은 1개 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드(110)를 포함할 수 있다. 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(103)은 1개 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드(111)를 포함할 수 있다. 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(103)은 2'-플루오로 뉴클레오타이드(110) 및 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드(111)로부터 독립적으로 선택되는 15개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 센스 가닥(101)은 인산화 차단제(105)를 추가로 포함할 수 있다. 센스 가닥(101)은 갈락토사민(106)을 추가로 포함할 수 있다. 안티센스 가닥(102)은 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(104)을 포함할 수 있다. 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(104)은 1개 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(109)을 포함할 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(109)은 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(104)의 5' 또는 3' 말단에 있는 뉴클레오티드 사이에 있을 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(109)은 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(104)의 5' 말단으로부터 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(109)은 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(104)의 3' 말단으로부터 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(104)은 1개 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드(110)를 포함할 수 있다. 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(104)은 1개 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드(111)를 포함할 수 있다. 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(104)은 2'-플루오로 뉴클레오타이드(110) 및 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드(111)로부터 독립적으로 선택되는 15개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 안티센스 가닥(102)은 5' 안정화 말단 캡(107)을 추가로 포함할 수 있다. siNA는 1개 이상의 평활 말단을 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, siNA의 일 말단은 돌출부(108)를 포함할 수 있다. 돌출부(108)는 센스 가닥(101)의 일부일 수 있다. 돌출부(108)는 안티센스 가닥(102)의 일부일 수 있다. 돌출부(108)는 제1 뉴클레오타이드 서열(103)과 구별될 수 있다. 돌출부(108)는 제2 뉴클레오타이드 서열(104)과 구별될 수 있다. 돌출부(108)는 제1 뉴클레오타이드 서열(103)의 일부일 수 있다. 돌출부(108)는 제2 뉴클레오타이드 서열(104)의 일부일 수 있다. 돌출부(108)는 1개 이상의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 돌출부(108)는 1개 이상의 데옥시리보뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 돌출부(108)는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 돌출부(108)는 1개 이상의 변형된 리

보뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 센스 가닥(101)은 안티센스 가닥(102)보다 짧을 수 있다. 센스 가닥(101)은 안티센스 가닥(102)과 동일한 길이일 수 있다. 센스 가닥(101)은 안티센스 가닥(102)보다 길 수 있다.

[0163] 본 개시내용의 예시적인 siNA 분자는 도 2에서 나타나 있다. 도 2에서 나타낸 바와 같이, 예시적인 siNA 분자는 센스 가닥(201) 및 안티센스 가닥(202)을 포함한다. 센스 가닥(201)은 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(203)을 포함할 수 있다. 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(203)은 1개 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(209)을 포함할 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(209)은 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(203)의 5' 또는 3' 말단에 있는 뉴클레오티드 사이에 있을 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(209)은 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(203)의 5' 말단으로부터 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(203)은 1개 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드(210)를 포함할 수 있다. 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(203)은 1개 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드(211)를 포함할 수 있다. 제1 올리고뉴클레오타이드 서열(203)은 2'-플루오로 뉴클레오타이드(210) 및 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드(211)로부터 독립적으로 선택되는 15개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 센스 가닥(201)은 인산화 차단제(205)를 추가로 포함할 수 있다. 센스 가닥(201)은 갈락토사민(206)을 추가로 포함할 수 있다. 안티센스 가닥(202)은 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(204)을 포함할 수 있다. 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(204)은 1개 이상의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(209)을 포함할 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(209)은 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(204)의 5' 또는 3' 말단에 있는 뉴클레오티드 사이에 있을 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(209)은 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(204)의 5' 말단으로부터 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결(209)은 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(204)의 3' 말단으로부터 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(204)은 1개 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드(210)를 포함할 수 있다. 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(204)은 1개 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드(211)를 포함할 수 있다. 제2 올리고뉴클레오타이드 서열(204)은 2'-플루오로 뉴클레오타이드(210) 및 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드(211)로부터 독립적으로 선택되는 15개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 안티센스 가닥(202)은 5' 안정화 말단 캡(207)을 추가로 포함할 수 있다. siNA는 1개 이상의 돌출부(208)를 추가로 포함할 수 있다. 돌출부(208)는 센스 가닥(201)의 일부일 수 있다. 돌출부(208)는 안티센스 가닥 (202)의 일부일 수 있다. 돌출부(208)는 제1 뉴클레오타이드 서열(203)과 구별될 수 있다. 돌출부(208)는 제2 뉴클레오타이드 서열(204)과 구별될 수 있다. 돌출부(208)는 제1 뉴클레오타이드 서열(203)의 일부일 수 있다. 돌출부(208)는 제2 뉴클레오타이드 서열(204)의 일부일 수 있다. 돌출부(208)는 제1 뉴클레오타이드 서열(203)의 3' 말단에 인접할 수 있다. 돌출부(208)는 제1 뉴클레오타이드 서열(203)의 5' 말단에 인접할 수 있다. 돌출부(208)는 제2 뉴클레오타이드 서열(204)의 3' 말단에 인접할 수 있다. 돌출부(208)는 제2 뉴클레오타이드 서열(204)의 5' 말단에 인접할 수 있다. 돌출부(208)는 1개 이상의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 돌출부(208)는 1개 이상의 데옥시리보뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 돌출부(208)는 TT 서열을 포함할 수 있다. 돌출부(208)는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 돌출부(208)는 본원에서 개시되는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드(*예를 들어*, 2-플루오로 뉴클레오타이드, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체 또는 변형된 핵염기를 갖는 뉴클레오타이드)를 포함할 수 있다. 돌출부(208)는 1개 이상의 변형된 리보뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 센스 가닥(201)은 안티센스 가닥(202)보다 짧을 수 있다. 센스 가닥(201)은 안티센스 가닥(202)과 동일한 길이일 수 있다. 센스 가닥(201)은 안티센스 가닥(202)보다 길 수 있다.

[0164] 도 3a 내지 도 3h는 예시적인 ds-siNA 변형 패턴을 도시한다. 도 3a 내지 도 3g에서 나타낸 바와 같이, 예시적인 ds-siNA 분자는 다음 식을 가질 수 있다:

[0165] $5'\text{-}A_n^1B_n^2A_n^3B_n^4A_n^5B_n^6A_n^7B_n^8A_n^9\text{-}3'$

[0166] $3'\text{-}C_q^1A_q^2B_q^3A_q^4B_q^5A_q^6B_q^7A_q^8B_q^9A_q^{10}B_q^{11}A_q^{12}\text{-}5'$

[0167] 여기서,

[0168] 상부 가닥은 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은 15 내지 30개의 뉴클레오타이드를 포함하며;

[0169] 하부 가닥은 안티센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은 15 내지 30

개의 뉴클레오타이드를 포함하며;

[0170] A는 각각 독립적으로 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 또는 5' 안정화 말단 캡 또는 인산화 차단제를 포함하는 뉴클레오타이드이며;

[0171] B는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며;

[0172] C는 돌출 뉴클레오타이드를 나타내며 이는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드, 데옥시뉴클레오타이드 또는 유라실이며;

[0173] n^1은 길이 1 내지 6개의 뉴클레오타이드이며;

[0174] n^2, n^6, n^8, q^3, q^5, q^7, q^9, q^{11} 및 q^{12}는 각각 독립적으로 길이가 0개 내지 1개의 뉴클레오타이드이며;

[0175] n^3 및 n^4는 각각 독립적으로 길이가 1 내지 3개의 뉴클레오타이드이며;

[0176] n^5는 길이 1 내지 10개의 뉴클레오타이드이며;

[0177] n^7는 길이 0 내지 4개의 뉴클레오타이드이며;

[0178] n^9, q^1 및 q^2는 각각 독립적으로 길이가 0 내지 2개의 뉴클레오타이드이며;

[0179] q^4는 길이가 0 내지 3개의 뉴클레오타이드이며;

[0180] q^6은 길이가 0 내지 5개의 뉴클레오타이드이며;

[0181] q^8은 길이가 2 내지 7개의 뉴클레오타이드이며;

[0182] q^{10}은 길이가 2 내지 11개의 뉴클레오타이드이다.

[0183] ds-siNA는 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. 접합된 모이어티는 임의의 본원에서 개시되는 갈락토사민을 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 5' 안정화 말단 캡을 추가로 포함할 수 있다. 5' 안정화 말단 캡은 바이닐 포스포네이트일 수 있습니다. 5' 안정화 말단 캡은 안티센스 가닥의 5' 말단에 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 예시적인 ds-siNA 분자는 다음 식을 가질 수 있다:

[0184] $5'\text{-}A_{2-4}\ B_1A_{1-3}\ B_{2-3}\ A_{2-10}\ B_{0-1}A_{0-4}B_{0-1}\ A_{0-2}\text{-}3'$

[0185] $3'\text{-}C_2A_{0-2}B_{0-1}A_{0-3}B_{0-1}A_{0-5}B_{0-1}A_{2-7}\ B_1A_{2-11}\ B_1A_1\text{-}5'$

[0186] 여기서,

[0187] 상부 가닥은 센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은 15 내지 30개의 뉴클레오타이드를 포함하며;

[0188] 하부 가닥은 안티센스 가닥이되, 표적 유전자에 상응하는 RNA와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적인 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 상기 제2 뉴클레오타이드 서열은 15 내지 30

개의 뉴클레오타이드를 포함하며;

[0189] A는 각각 독립적으로 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 또는 5' 안정화 말단 캡 또는 인산화 차단제를 포함하는 뉴클레오타이드이며;

[0190] B는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며;

[0191] C는 돌출 뉴클레오타이드를 나타내며 이는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드, 데옥시뉴클레오타이드 또는 유라실이다.

[0192] ds-siNA는 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. 접합된 모이어티는 임의의 본원에서 개시되는 갈락토사민을 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 5' 안정화 말단 캡을 추가로 포함할 수 있다. 5' 안정화 말단 캡은 바이닐 포스포네이트일 수 있습니다. 바이닐 포스포네이트는 중수소화 바이닐 포스포네이트일 수 있다. 중수소화 바이닐 포스포네이트는 일중수소화 바이닐 포스포네이트일 수 있다. 중수소화 바이닐 포스포네이트는 일이중수소화 바이닐 포스포네이트일 수 있다. 5' 안정화 말단 캡은 안티센스 가닥의 5' 말단에 부착될 수 있다. 5' 안정화 말단 캡은 안티센스 가닥의 3' 말단에 부착될 수 있다. 5' 안정화 말단 캡은 센스 가닥의 5' 말단에 부착될 수 있다. 5' 안정화 말단 캡은 센스 가닥의 3' 말단에 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다.

[0193] 도 3a 내지 도 3h에 나타낸 예시적인 ds-siNA는 (i) 19 내지 21개의 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥; 및 (ii) 21 내지 23개의 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 선택적으로 (iii) 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있으며, 접합된 모이어티(예를 들어, 도 3a 내지 도 3g에서 G3으로 표시되는 GalNAc)는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 3' 말단 또는 5' 말단에 부착된다. ds-siNA는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 20 및 21에 있는 뉴클레오타이드로 구성되는 2개의 뉴클레오타이드 돌출부를 포함할 수 있다. ds-siNA는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 22 및 23에 있는 뉴클레오타이드로 구성되는 2개의 뉴클레오타이드 돌출부를 포함할 수 있다. ds-siNA는 1, 2, 3, 4, 5, 6개 또는 그 이상의 포스포로싸이오에이트(ps) 뉴클레오사이드간 연결 또는 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결(Ms)을 추가로 포함할 수 있다. 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결 또는 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결(Ms)은 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2 또는 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결 또는 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결(Ms)은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2 또는 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결 또는 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결(Ms)은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 19 및 20, 위치 20 및 21, 위치 21 및 22 및 또는 위치 22 및 23의 뉴클레오타이드 사이에 있을 수 있다. 도 3a 내지 도 3h에서 나타낸 바와 같이, 센스 가닥의 4 내지 6개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드일 수 있다. 도 3a 내지 도 3h에서 나타낸 바와 같이, 안티센스 가닥의 2 내지 5개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드일 수 있다. 도 3a 내지 도 3h에서 나타낸 바와 같이, 센스 가닥의 13 내지 15개의 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드일 수 있다. 도 3a 내지 도 3h에서 나타낸 바와 같이, 안티센스 가닥의 14 내지 19개의 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드일 수 있다. 도 3a 내지 도 3h에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 센스 가닥과 안티센스 가닥의 2'-플루오로 뉴클레오타이드 사이에서 염기 쌍을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥

의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다.

[0194] 도 3a에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 19개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 3, 7 내지 9, 12 및 17에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1, 2, 4 내지 6, 10, 11, 13 내지 16, 18 및 19에 있는 센스 가닥; (b) 안티센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2 및 14에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며; 위치 1, 3 내지 13 및 15 내지 21에 있는 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 있는 1개 이상의 뉴클레오타이드는 푸라노스 고리의 3' 및 4' 위치 사이의 결합이 파괴된 3',4' seco 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다(예를 들어, mun34).

[0195] 도 3b에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 19개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 3, 7, 8 및 17에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1, 2, 4 내지 6, 9 내지 16, 18 및 19에 있는 센스 가닥; (b) 안티센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2 및 14에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며; 위치 1, 3 내지 13 및 15 내지 21에 있는 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드

간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 있는 1개 이상의 뉴클레오타이드는 푸라노스 고리의 3' 및 4' 위치 사이의 결합이 파괴된 3',4' seco 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다(예를 들어, mun34).

[0196] 도 3c에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 19개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 3, 7 내지 9, 12 및 17에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1, 2, 4 내지 6, 10, 11, 13 내지 16, 18 및 19에 있는 센스 가닥; (b) 안티센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 안티센스 가닥에 있는 뉴클레오타이드는 교번되는 1:3 변형 패턴을 포함하며, 1개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며 3개의 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 안티센스 가닥상에서 2 내지 5개의 교번 1:3 변형 패턴을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클

레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 있는 1개 이상의 뉴클레오타이드는 푸라노스 고리의 3' 및 4' 위치 사이의 결합이 파괴된 3',4' seco 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다(예를 들어, mun34).

[0197] 도 3d에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 19개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 5 및 7 내지 9에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 4, 6 및 10 내지 19에 있는 센스 가닥; (b) 안티센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 안티센스 가닥에 있는 뉴클레오타이드는 교번되는 1:3 변형 패턴을 포함하며, 1개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며 3개의 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 안티센스 가닥상에서 2 내지 5개의 교번 1:3 변형 패턴을 포함할 수 있다. 교번 1:3 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 2, 6, 10, 14 및/또는 18 위치 중 임의의 위치의 뉴클레오타이드에서 시작할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오

타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 있는 1개 이상의 뉴클레오타이드는 푸라노스 고리의 3' 및 4' 위치 사이의 결합이 파괴된 3',4' seco 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다(예를 들어, mun34).

[0198] 도 3e에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 19개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 5 및 7 내지 9에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 4, 6 및 10 내지 19에 있는 센스 가닥; (b) 안티센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 안티센스 가닥에 있는 뉴클레오타이드는 교번되는 1:2 변형 패턴을 포함하며, 1개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이며 2개의 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드인 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 안티센스 가닥상에서 2 내지 5개의 교번 1:2 변형 패턴을 포함할 수 있다. 교번 1:2 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 2, 5, 8, 14 및/또는 17 위치 중 임의의 위치의 뉴클레오타이드에서 시작할 수 있다. 일부 실시양태에서, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 19개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 5 및 7 내지 9에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 4, 6 및 10 내지 19에 있는 센스 가닥; (b) 안티센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 8, 14 및 17에 있으며; 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1, 3, 4, 6, 7, 9 내지 13, 15, 16 및 18 내지 21에 있는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가

닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 있는 1개 이상의 뉴클레오타이드는 푸라노스 고리의 3' 및 4' 위치 사이의 결합이 파괴된 3',4' seco 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다(예를 들어, mun34).

[0199] 도 3f에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 19개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 5 및 7 내지 9에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 4, 6 및 10 내지 19에 있는 센스 가닥; (b) 안티센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있으며; 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1, 3 내지 5, 7 내지 13, 15 및 17 내지 21에 있는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 1, 2, 3 또는 4개는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 1개는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 3개 이하는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 2개 이하는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 6에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 14에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 f4P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 1, 2, 3 또는 4개는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 1개는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 3개 이하는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 2개 이하는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 6에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 14에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 f2P 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 1, 2, 3 또는 4개는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 1개는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 3개 이하는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부

터 위치 2, 6, 14 및 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드 중 적어도 2개 이하는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 6에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 14에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 16에 있는 2'-플루오로-뉴클레오타이드는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 있는 1개 이상의 뉴클레오타이드는 푸라노스 고리의 3' 및 4' 위치 사이의 결합이 파괴된 3',4' seco 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다(예를 들어, mun34).

[0200] 도 3g에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 5, 9 내지 11, 14 및 19에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 4, 6 내지 8, 12, 13, 15 내지 18, 20 및 21에 있는 센스 가닥; 및 (b) 안티센스 가닥이되, 23개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2 및 14에 있으며; 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1, 3 내지 13, 및 15 내지 23에 있는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. ds-siNA는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2와 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 19 및 20; 및 위치 20 및 21 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센

스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 있는 1개 이상의 뉴클레오타이드는 푸라노스 고리의 3' 및 4' 위치 사이의 결합이 파괴된 3',4' seco 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다(예를 들어, mun34).

[0201] 도 3h에서 나타낸 바와 같이, ds-siNA는 (a) 센스 가닥이되, 21개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 7 및 9 내지 11에 있으며, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 6, 8 및 12 내지 21에 있는 센스 가닥; 및 (b) 안티센스 가닥이되, 23개의 뉴클레오타이드로 구성되며, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및 16에 있으며; 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1, 3 내지 5, 7 내지 13, 15 및 17 내지 23에 있는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. 선택적으로, 안티센스 가닥의 5' 말단의 위치 22 및 23에 있는 뉴클레오타이드는 미잠금 뉴클레오타이드일 수 있다. 선택적으로, ds-siNA는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된 접합된 모이어티를 추가로 포함할 수 있다(도시되지 않음). ds-siNA는 선택적으로 안티센스 가닥(도시됨)의 5' 말단에 부착된 바이닐 포스포네이트를 포함할 수 있으나, 일부 실시양태에서, 본원에서 개시되는 5' 말단 캡도 적합할 수 있다. ds-siNA는 (i) 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2, 위치 2 및 3 및 위치 20 및 21의 뉴클레오타이드 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (ii) 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2; 위치 2 및 3; 위치 21 및 22; 및 위치 22 및 23 사이에 있는 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1에 있는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 위치 1의 2'-

O-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥의 3' 말단으로부터 위치 1의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 d2vd3 뉴클레오타이드, d2vd3U 뉴클레오타이드, omeco-d3 뉴클레오타이드, omeco-d3U 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, 4hU 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, d2vm 뉴클레오타이드 또는 d2vmA 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 fB, fN, f(4nh)Q, f4P, f2P 또는 fX 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 센스 또는 안티센스 가닥상에 있는 적어도 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 있는 1개 이상의 뉴클레오타이드는 푸라노스 고리의 3' 및 4' 위치 사이의 결합이 파괴된 3',4' seco 변형된 뉴클레오타이드일 수 있다(예를 들어, mun34).

[0202] **siNA 센스 가닥**

[0203] 임의의 본원에서 설명되는 siNA 분자는 센스 가닥을 포함할 수 있다. 센스 가닥은 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 제1 뉴클레오타이드 서열은 길이가 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 17 내지 23, 19 내지 23 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 길이가 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 길이가 적어도 19개의 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 길이가 적어도 21개의 뉴클레오타이드일 수 있다.

[0204] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 제1 뉴클레오타이드 서열과 동일한 길이이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 제1 뉴클레오타이드 서열보다 더 길다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 제1 뉴클레오타이드 서열보다 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 뉴클레오타이드를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 데옥시리보핵산(DNA)을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, DNA는 타이민(T)이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 TT 서열을 추가 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 제1 뉴클레오타이드 서열에 인접한 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드는 임의의 본원에서 개시되는 변형된 뉴클레오타이드(*예를 들어*, 2'-플루오로 뉴클레오타이드, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체 또는 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오타이드)로부터 독립적으로 선택된다.

[0205] 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2′ -플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드에 있는 뉴클레오타이드의 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 변형된 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열에 있는 뉴클레오타이드의 100%는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 변형된 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

[0206] 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 약 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 30, 17 내지 25, 17 내지 24, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21, 18 내지 30, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 19 내지 30, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 20 내지 25, 20 내지 24, 20 내지 23, 21 내지 25, 21 내지 24 또는 21 내지 23개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 약 2 내지 20개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 약 5 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서,

제1 뉴클레오타이드 서열 중 약 10 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 약 12 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 12개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 13개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 14개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 15개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 16개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 17개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 18개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 19개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 21개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 20개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 19개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 18개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 17개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 16개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 15개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 14개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 13개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 피리미딘이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 피리미딘이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 퓨린이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 퓨린이다. 일부 실시양태에서, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다.

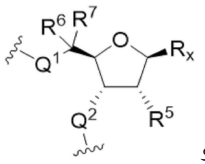
[0207] 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 2 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 2 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 2 내지 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4 또는 1 내지 3개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 2개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 3개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 4개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 5개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 10개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 7개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 6개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 5개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 4개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부

실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 3개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 2개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 피리미딘이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 피리미딘이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 퓨린이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 퓨린이다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

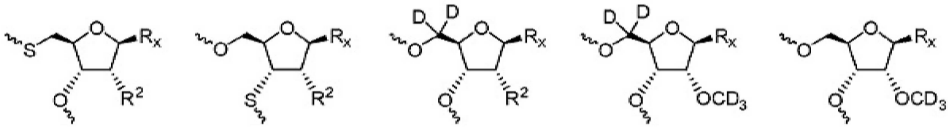
[0208] 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 적어도 2개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 적어도 3개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 적어도 4개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 적어도 5개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 7에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 8에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 9에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 12에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 17에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

[0209] 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 적어도 2개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 적어도 3개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 및/또는 19에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 5에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 7에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 8에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 9에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 10에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 11에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 12에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 14에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 17에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 19에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 7, 8, 9, 12 및/또는 17에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오

로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 7, 8 및/또는 17에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 3, 7, 8, 9, 12 및/또는 17에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 5, 7, 8 및/또는 9에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 5, 9, 10, 11, 12 및/또는 19에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

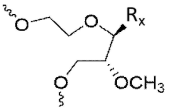
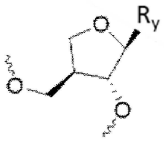
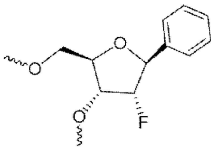
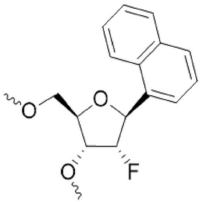
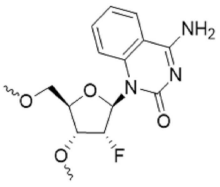
[0210] 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 화학식 (V):  의 뉴클레오타이드 모방체이며, 식 중 R_x는 독립적으로 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이며, Q^1 및 Q^2는 독립적으로 S 또는 O이며, R^5는 독립적으로 $-OCD_3$, -F 또는 $-OCH_3$이며, R^6 및 R^7은 독립적으로 H, D 또는 CD_3이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

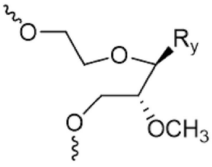
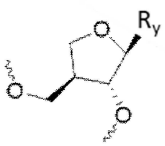
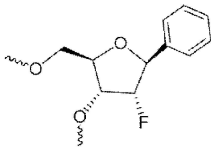
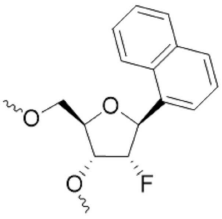
[0211] 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 화학식 (16) 내지 화학식 (20):

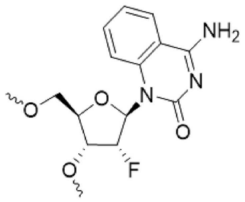


화학식 (16) 화학식 (17) 화학식 (18) 화학식 (19) 화학식 (20)

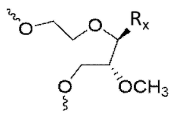
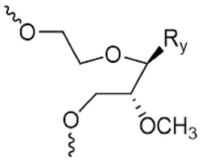
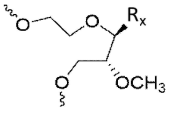
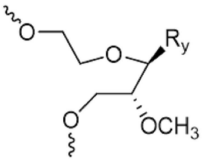
[0212] 의 뉴클레오타이드 모방체이며, 식 중 R_x는 독립적으로 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이며 R^2는 F 또는 $-OCH_3$이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0213] 일부 실시양태에서, 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두는 다음의 화학적 구조:  ,  (apN)  (fB),  (fN) 또는  (f(4nh)Q)를 갖는 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 각각 독립적으로 포함하며; 식 중 R_y는 핵염기이며 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0214] 일부 실시양태에서, 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두는 다음의 화학적 구조:  (mun34),  (apN),  (fB),  (fN) 또는



(f(4nh)Q)를 갖는 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 각각 독립적으로 포함하며; 식 중 R_y는 핵염기이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0215] 본 개시내용의 목적을 위해, 변형된 뉴클레오타이드는 센스 가닥의 임의의 위치에 있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오타이드는 5' 말단을 기준으로 센스 가닥의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23에 있을 수 있다. 예를 들어, 변형된 뉴클레오타이드가  또는  (mun34)인 경우, 이는 5' 말단을 기준으로 센스 가닥의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오타이드가  또는  (mun34)인 경우, 이는 센스 가닥의 5' 말단을 기준으로 위치 3, 16, 17 또는 18에 위치할 수 있다.

[0216] 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 리보핵산(RNA)을 포함하거나 이로 구성되거나 이로 본질적으로 구성된다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 변형된 RNA를 포함하거나 이로 구성되거나 이로 본질적으로 구성된다. 일부 실시양태에서, 변형된 RNA는 2'-*O*-메틸 RNA 및 2'-플루오로 RNA로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열 중 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 RNA 및 2'-플루오로 RNA로부터 독립적으로 선택된다.

[0217] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포다이에스터(PO) 뉴클레오사이드간 연결, 포스포로싸이오에이트(PS) 뉴클레오사이드간 연결, 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결(Ms), 포스포로다이싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결 및 PS-모방체 뉴클레오사이드간 연결로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, PS-모방체 뉴클레오사이드간 연결은 설포 뉴클레오사이드간 연결이다.

[0218] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 또는 3개 또는 그 이하의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3 또는 1 내지 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1 내지 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 2 내지 4개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 3에서 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다.

[0219] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 또는 3개 또는 그 이하의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4,

1 내지 3 또는 1 내지 2개의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 1 내지 2개의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 2 내지 4개의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다.

[0220] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 아래 "변형된 뉴클레오타이드"라는 표제의 하위 부문에서 개시되는 임의의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 5' 안정화 말단 캡을 포함할 수 있며, 5' 안정화 말단 캡은 아래 "5' 안정화 말단 캡"이라는 표제의 하위 부문에서 개시되는 것 중에서 선택될 수 있다.

[0221] **siNA 안티센스 가닥**

[0222] 임의의 본원에서 설명되는 siNA 분자는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. 안티센스 가닥은 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 제2 뉴클레오타이드 서열은 길이가 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 17 내지 23, 19 내지 23 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 길이가 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 길이가 적어도 19개의 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 길이가 적어도 21개의 뉴클레오타이드일 수 있다.

[0223] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 제2 뉴클레오타이드 서열과 동일한 길이이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 제2 뉴클레오타이드 서열보다 더 길다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 제2 뉴클레오타이드 서열보다 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 뉴클레오타이드를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 센스 가닥과 동일한 길이이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 센스 가닥보다 더 길다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 센스 가닥보다 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 뉴클레오타이드를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 데옥시리보핵산(DNA)을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, DNA는 타이민(T)이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 TT 서열을 추가 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 제2 뉴클레오티드 서열에 인접한 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드는 임의의 본원에서 개시되는 변형된 뉴클레오타이드(*예를 들어*, 2'-플루오로 뉴클레오타이드, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체 또는 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오타이드)로부터 독립적으로 선택된다.

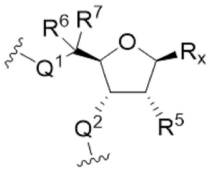
[0224] 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드에 있는 뉴클레오타이드의 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 변형된 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열에 있는 뉴클레오타이드의 100%는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 2'-플루오로 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0225] 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 약 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 30, 17 내지 25, 17 내지 24, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21, 18 내지 30, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 19 내지 30, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 20 내지 25, 20 내지 24, 20 내지 23, 21 내지 25, 21 내지 24 또는 21 내지 23개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 약 2 내지 20개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 약 5 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 약 10 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 약 12 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 12개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 13개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 14개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 15개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 16개의 변형된 뉴클레오타이드

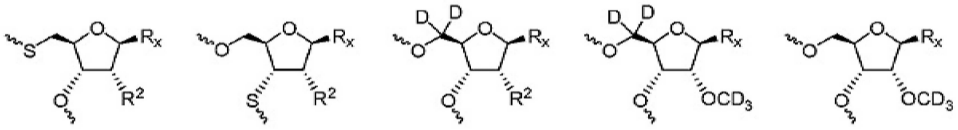
는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 17개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 18개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 약 19개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 21개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 20개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 19개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 18개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 17개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 16개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 15개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 14개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 13개 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 피리미딘이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 피리미딘이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 퓨린이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 퓨린이다. 일부 실시양태에서, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다.

[0226] 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 2 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 2 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 2 내지 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4 또는 1 내지 3개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 2개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 3개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 4개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 5개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 10개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 7개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 6개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 5개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 4개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 3개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 2개 또는 그 이하의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 피리미딘이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 피리미딘이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 퓨린이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 퓨린이다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

[0227] 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체이다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 화학식

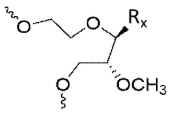
(V):  의 뉴클레오타이드 모방체이며, 식 중 R_x는 독립적으로 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이며, Q^1 및 Q^2는 독립적으로 S 또는 O이며, R^5는 독립적으로 $-OCD_3$, -F 또는 $-OCH_3$이며, R^6 및 R^7은 독립적으로 H, D 또는 CD_3이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

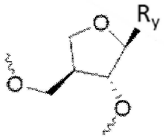
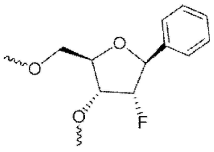
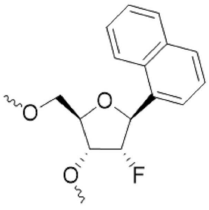
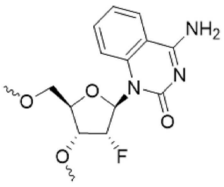
[0228] 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 화학식 (16) 내지 화학식 (20):



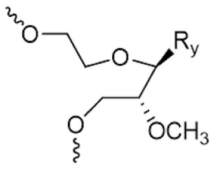
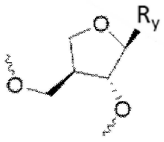
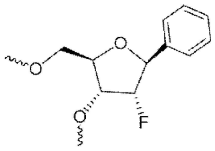
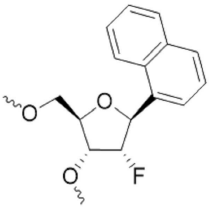
화학식 (16) 화학식 (17) 화학식 (18) 화학식 (19) 화학식 (20)

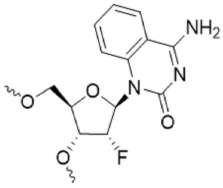
[0229] 의 뉴클레오타이드 모방체이며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이며 R^2는 독립적으로 F 또는 $-OCH_3$이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0230] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥, 센스 가닥 또는 둘 모두는 다음의 화학적 구조:  ,

 (apN),  (fB),  (fN) 또는  (f(4nh)Q)를 갖는 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 각각 독립적으로 포함하며; 식 중 R_y는 핵염기이며 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0231] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥, 센스 가닥 또는 둘 모두는 다음의 화학적 구조:

 (mun34),  (apN),  (fB),  (fN) 또는

 (f(4nh)Q)를 갖는 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5개 또는 그 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 각각 독립적으로 포함하며; 식 중 R_y는 핵염기이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0232] 본 개시내용의 목적을 위해, 변형된 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 임의의 위치에 있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오타이드는 5' 말단을 기준으로 안티센스 가닥의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,

11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23에 있을 수 있다.

[0233] 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17, 및/또는 18에 있는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18에 있는 적어도 2개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18에 있는 적어도 3개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18에 있는 적어도 4개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 및/또는 18에 있는 적어도 5개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및/또는 14에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 6 및/또는 16에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 14 및/또는 16에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 6, 10, 14 및/또는 18에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2, 5, 8, 14 및/또는 17에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 5에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 6에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 8에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 10에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 14에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 16에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 17에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 18에 있는 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

[0234] 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드는 교번하는 1:3 변형 패턴으로 배열되며, 1개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이고 3개의 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며, 교번하는 1:3 변형 패턴은 적어도 2회 발생한다. 일부 실시양태에서, 교번하는 1:3 변형 패턴은 2 내지 5회 발생한다. 일부 실시양태에서, 교번하는 1:3 변형 패턴 중 적어도 2개는 연속적으로 발생한다. 일부 실시양태에서, 교번하는 1:3 변형 패턴 중 적어도 2개는 비연속적으로 발생한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1, 2, 3, 4 또는 5개의 교번하는 1:3 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 2, 6, 10, 14 및/또는 18에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:3 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 2에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:3 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 6에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:3 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 10에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:3 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 14에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:3 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 18에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

[0235] 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드는 교번하는 1:2 변형 패턴으로 배열되며, 1개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드이고 2개의 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드이며, 교번하는 1:2 변형 패턴은 적어도 2회 발생한다. 일부 실시양태에서, 교번하는 1:2 변형 패턴은 2 내지 5회 발생한다. 일부 실시양태에서, 교번하는 1:2 변형 패턴 중 적어도 2개는 연속적으로 발생한다. 일부 실시양태에서, 교번하는 1:2 변형 패턴 중 적어도 2개는 비연속적으로 발생한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1, 2, 3, 4 또는 5개의 교번하는 1:2 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 2, 5, 8, 14 및/또는

17에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:2 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 2에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:2 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 5에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:2 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 8에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:2 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 14에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 교번하는 1:2 변형 패턴은 안티센스 가닥의 5' 말단으로부터 뉴클레오타이드 위치 17에서 시작된다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

[0236] 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 리보핵산(RNA)을 포함하거나 이로 구성되거나 이로 본질적으로 구성된다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 변형된 RNA를 포함하거나 이로 구성되거나 이로 본질적으로 구성된다. 일부 실시양태에서, 변형된 RNA는 2'-*O*-메틸 RNA 및 2'-플루오로 RNA로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열 중 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23개의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-*O*-메틸 RNA 및 2'-플루오로 RNA로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체이다.

[0237] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 포스포다이에스터(PO) 뉴클레오사이드간 연결, 포스포로싸이오에이트(PS) 뉴클레오사이드간 연결, 포스포로다이싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결 및 PS-모방체 뉴클레오사이드간 연결로부터 독립적으로 선택되는 1개 이상의 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, PS-모방체 뉴클레오사이드간 연결은 설포 뉴클레오사이드간 연결이다.

[0238] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 또는 3개 또는 그 이하의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3 또는 1 내지 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3 또는 1 내지 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 2 내지 8개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 3 내지 8개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 4 내지 8개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 1 및 2의 뉴클레오타이드 사이에 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결은 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 2 및 3의 뉴클레오타이드 사이에 있다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 3에서 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 1 내지 3에서 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 (a) 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단으로부터 위치 1 내지 3의 뉴클레오타이드 사이에 있는 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오사이드간 연결; 및 (b) 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단으로부터 위치 1 내지 3에 있는 뉴클레오타이드 사이에 있는 2개의 포스포로싸이오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다.

[0239] 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15 또는 그 이상의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 또는 3개 또는 그 이하의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3 또는 1 내지 2개의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3 또는 1 내지 2개의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 2 내지 8개의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가

닥은 3 내지 8개의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 4 내지 8개의 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다.

[0240] 일부 실시양태에서, ds-siNA의 적어도 1개의 말단은 평활 말단이다. 일부 실시양태에서, ds-siNA의 적어도 1개의 말단은 돌출부를 포함하며, 돌출부는 적어도 1개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, ds-siNA의 양 말단은 돌출부를 포함하며, 돌출부는 적어도 1개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌출부는 1 내지 5개의 뉴클레오타이드, 1 내지 4개의 뉴클레오타이드, 1 내지 3개의 뉴클레오타이드 또는 1 내지 2개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌출부는 1 내지 2개의 뉴클레오타이드로 구성된다.

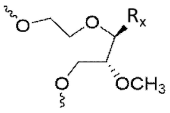
[0241] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 아래 "변형된 뉴클레오타이드"라는 표제의 하위 부문에서 개시되는 임의의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 5' 안정화 말단 캡을 포함할 수 있며, 5' 안정화 말단 캡은 아래 "5' 안정화 말단 캡"이라는 표제의 하위 부문에서 개시되는 것 중에서 선택될 수 있다.

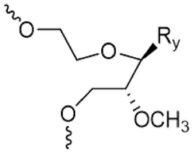
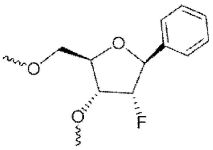
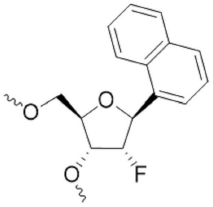
[0242] **변형된 뉴클레오타이드**

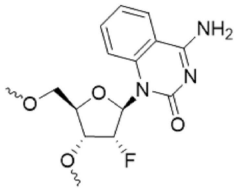
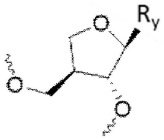
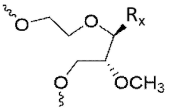
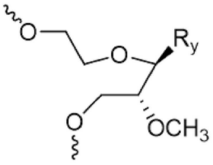
[0243] 본원에서 개시되는 siNA 분자는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에서 개시되는 센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 제1 뉴클레오타이드 서열은 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에서 개시되는 안티센스 가닥은 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 제2 뉴클레오타이드 서열은 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드는 제1 뉴클레오타이드 서열에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 인접해 있으며, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드는 제2 뉴클레오타이드 서열에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 인접해 있으며, 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드로 대체된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드로 대체된다.

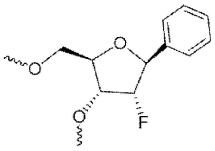
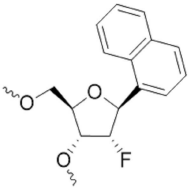
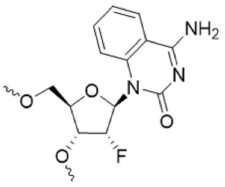
[0244] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자, siNA, 센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열, 안티센스 가닥 및 제2 뉴클레오타이드 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, siNA 분자, siNA, 센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열, 안티센스 가닥 및 제2 뉴클레오타이드 서열에 있는 뉴클레오타이드의 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%는 변형된 뉴클레오타이드이다.

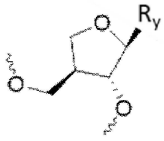
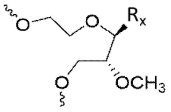
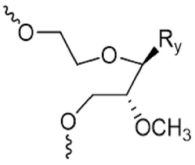
[0245] 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체, 잠금 핵산, 미잠금 핵산 및 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오타이드로 구성되는 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 미잠금 핵산은 2',3'-미잠금 핵산이다. 일부 실시양태에서, 미잠금 핵산은 3',4'-미잠금 핵산(예를 들어, mun34)이며, 여기서 푸라노스 고리는 3' 및 4' 탄소 사이의 결합이 결여되어 있다.

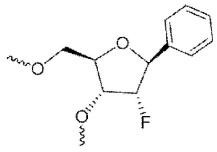
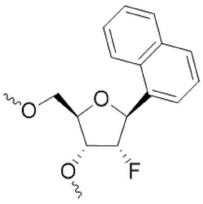
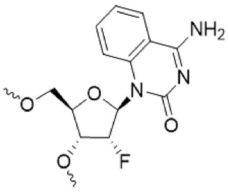
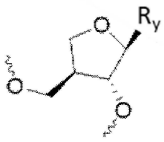
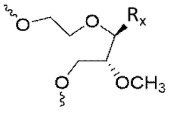
[0246] 일부 양태에서, 본 개시내용의 siNA는  (식 중 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H),

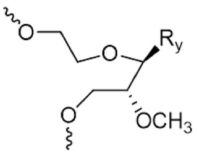
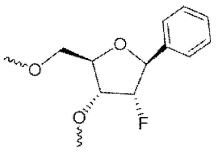
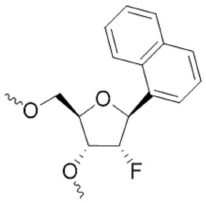
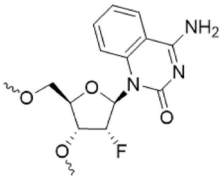
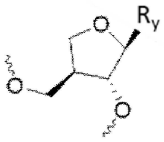
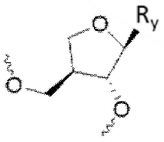
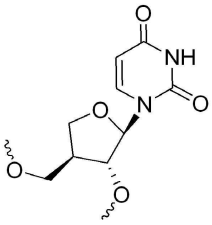
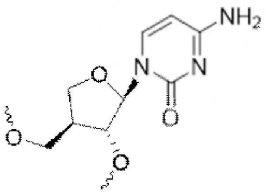
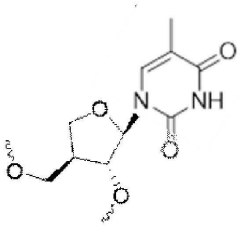
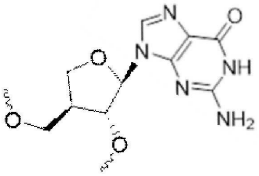
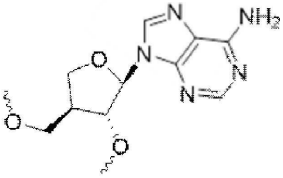

(mun34)(식 중 R_y는 핵염기), 
(fB), 
(fN),


(f(4nh)Q) 및 
(apN)(식 중 R_y는 핵염기) 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, siNA는 이러한 변형된 뉴클레오타이드 중 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개 또는 그 이상을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 
(식 중 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H), 

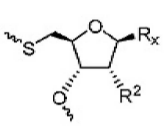
(mun34)(식 중 R_y는 핵염기), 
(fB), 
(fN), 
(f(4nh)Q)

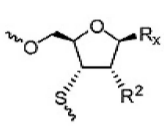
또는 
(apN)(식 중 R_y는 핵염기) 또는 이들의 조합 중 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5개 또는 그 이상을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥은 
(식 중 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H), 
(mun34)(식 중 R_y는 핵염기),

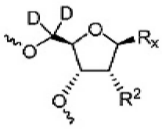

(fB), 
(fN), 
(f(4nh)Q) 또는 
(apN)(식 중 R_y는 핵염기) 또는 이들의 조합 중 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5 또는 그 이상을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 
(식 중 R_x는 핵염기,

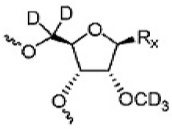
아릴, 헤테로아릴 또는 H),  (mun34)(식 중 R_y는 핵염기),  (fB),  (fN),  (f(4nh)Q) 또는  (apN)(식 중 R_y는 핵염기) 또는 이들의 조합 중 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5개 또는 그 이상을 각각 독립적으로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다. 예를 들어,  (apN)의 일부 실시양태에서, 변형된 뉴클레오타이드는 구조가  (apU),  (apC),  (apT),  (apG) 또는  (apA)일 수 있다.

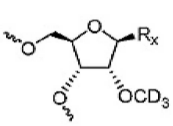
[0247] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siRNA는 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체와 같은 다른 변형된 뉴클레오타이드를 추가적으로 포함할 수 있다. 예를 들어, 개시되는 siNA는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 이상의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 이상의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 제1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 이상의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 안티센스 가닥은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 이상의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 제2 뉴클레오타이드 서열은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 이상의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 화학식 (16) 내지 화학식 (20):


화학식 (16)


화학식 (17)


화학식 (18)

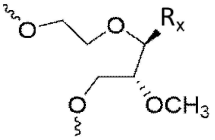
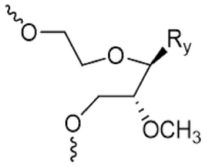

화학식 (19)


화학식 (20)

[0248] 의 뉴클레오타이드 모방체

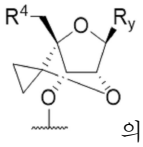
이며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이며 R^2는 독립적으로 F 또는 $-OCH_3$이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

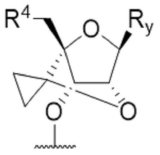
[0249] 일부 실시양태에서, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 적어도 1개의 2'-플루오로 뉴클레오타이드, 적어도 1개의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 및 적어도 1개의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 제1 뉴클레오타이드 서열에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 제2 뉴클레오타이드 서열에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 인접해 있다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 2'-플루오로 뉴클레오타이드 모방체를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드 모방체를 포함하지 않는다.

[0250] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siRNA, 센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열, 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열은  (식 중 Rx는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H); 또는  (mun34)(식 중 R_y는 핵염기)인 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

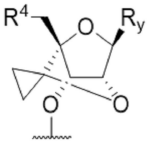
[0251] **인산화 차단제**

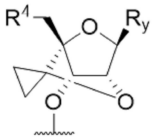
[0252] 인산화 차단제를 포함하는 siNA 분자가 추가로 본원에서 개시된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하는 뉴클레오타이드로 대체된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하는 뉴클레오타이드로 대체된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 인산화 차단제를 함유하도록 추가로 변형된다.

[0253] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (IV):  의 인산화 차단제를 포함하며, 식 중 R_y는 핵염기이며, R^4는 $-O-R^{30}$ 또는 $-NR^{31}R^{32}$이며, R^{30}은 C_1-C_8 치환 또는 미치환 알킬이며; R^{31} 및 R^{32}는 부착되는 질소와 함께 치환 또는 미치환 복소환 고리를 형성한다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0254] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (IV):  화학식 (IV)의 인산화

차단제를 포함하며, 식 중 R_y는 핵염기이며, R^4는 $-OCH_3$ 또는 $-N(CH_2CH_2)_2O$이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0255] 일부 실시양태에서, siNA 분자는 (a) 화학식 (IV):  의 인산화 차단제이되, 식 중 R_y는 핵염기이며, R^4는 $-O-R^{30}$ 또는 $-NR^{31}R^{32}$이며, R^{30}은 C_1-C_8 치환 또는 미치환 알킬이며; R^{31} 및 R^{32}는 부착되는 질소와 함께 치환 또는 미치환 복소환 고리를 형성하는 인산화 차단제; 및 (b) 짧은 간섭 핵산(siNA)이되, 인산화 차단제가 siNA에 접합되는 짧은 간섭 핵산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다.

[0256] 일부 실시양태에서, siNA 분자는 (a) 화학식 (IV):  화학식 (IV)의 인산화 차단제이되, 식 중 R_y는 핵염기이며, R^4는 $-OCH_3$ 또는 $-N(CH_2CH_2)_2O$인 인산화 차단제; 및 (b) 짧은 간섭 핵산(siNA)이되, 인산화 차단제는 siNA에 접합되는 짧은 간섭 핵산을 포함한다.

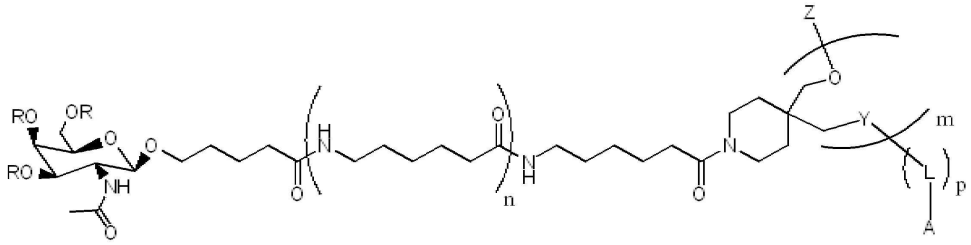
[0257] 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 링커는 포스포다이에스터 링커, 포스포로싸이오에이트 링커, 메실 포스포라미데이트 링커 및 포스포로다이싸이오에이트 링커로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0258] **접합된 모이어티**

[0259] 접합된 모이어티를 포함하는 siNA 분자가 추가로 본원에서 개시된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 갈락토사민, 펩타이드, 단백질, 스테롤, 지질, 인지질, 바이오틴, 페녹사진, 활성 약물 물질, 콜레스테롤, 페난트리딘, 안트라퀴논, 아크리딘, 플루오레세인, 로다민, 쿠마린 및 염료로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 링커는 포스포다이에스터 링커, 포스포로싸이오에이트 링커, 포스포로다이싸이오에이트 링커 및 메실 포스포라미데이트 링커로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0260] 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 갈락토사민이다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA는

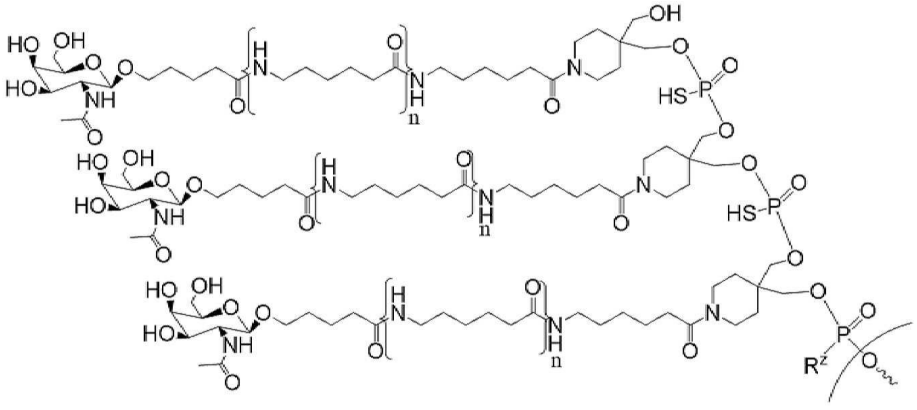
갈락토사민인 접합된 모이어티에 부착된다. 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 N-아세틸갈락토사민(GalNAc)이다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 GalNAc를 포함한다. 일부 실시양태에서, GalNAc는 화학식 (VI):



의 GalNAc 이며, 식 중 m은 1, 2, 3, 4 또는 5이며; n은 각각 독립적으로 1 또는 2이며; p는 0 또는 1이며; R은 각각 독립적으로 H 또는 제1 보호기이며; Y는 각각 독립적으로 -O-P(=O)(SH)-, -O-P(=O)(O)-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(S)S- 및 -O-로부터 선택되며; Z는 H 또는 제2 보호기이며; L은 링커이거나 L과 Y의 조합은 링커이며; A는 H, OH, 제3 보호기, 활성화기 또는 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 제1 보호기는 아세틸이다. 일부 실시양태에서, 제2 보호기는 트라이메톡시트라이틸(TMT)이다. 일부 실시양태에서, 활성화기는 포스포라미다이트기이다. 일부 실시양태에서, 포스포라미다이트기는 사이아노에톡시 *N,N*-다이아이소프로필포스포라미다이트기이다. 일부 실시양태에서, 링커는 C6-NH_2기이다. 일부 실시양태에서, A는 짧은 간섭 핵산(siNA) 또는 siNA 분자이다. 일부 실시형태에서, m은 3이다. 일부 실시양태에서, R은 H이며, Z는 H이며, n은 1이다. 일부 실시양태에서, R은 H이며, Z는 H이며, n은 2이다.

[0261] 일부 실시양태에서, GalNAc는 화학식 (VII):

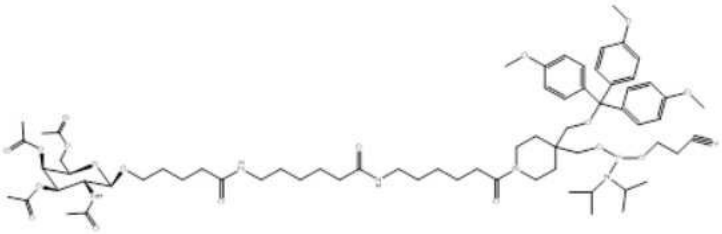
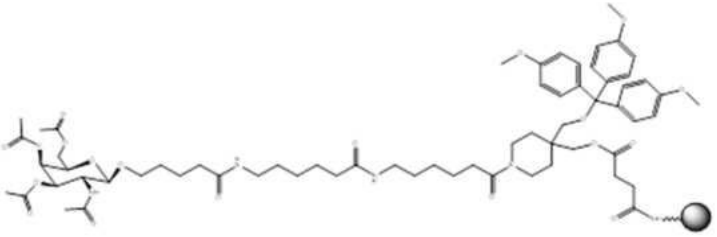
[0262]



,

[0263] 이며, 식 중 R^z는 OH 또는 SH이며; n은 각각 독립적으로 1 또는 2이다. 일부 실시양태에서, 표적화 리간드는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 GalNAc 단위를 포함할 수 있는 GalNAc 표적화 리간드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 리간드는 GalNAc2, GalNAc3, GalNAc4(화학식 VII의 GalNAc, 식 중 n=1 및 R^z=OH), GalNAc5 및 GalNAc6으로부터 선택되는 GalNAc일 수 있다.

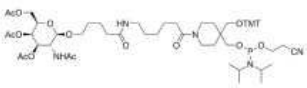
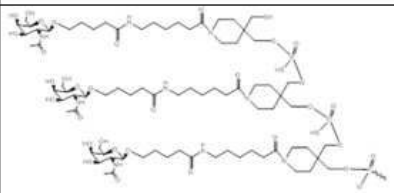
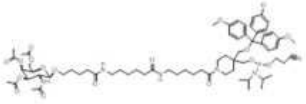
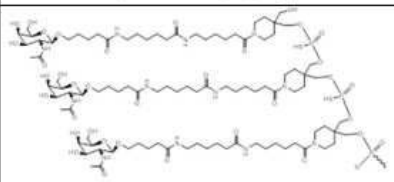
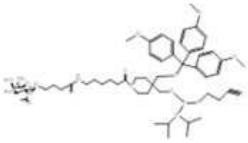
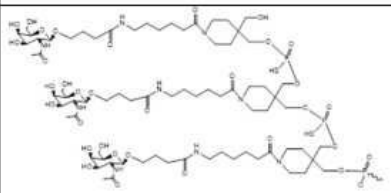
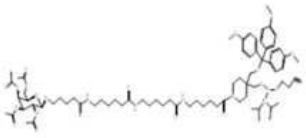
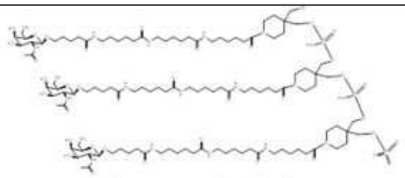
[0264] 일부 실시양태에서, GalNAc는 GalNAc 아미다이트(즉, 화합물 40-9, 실시예 22 *참조*), GalNAc 4 CPG(즉, 화합물 40-8, 실시예 22 및 실시예 23 *참조*), GalNAc 포스포라미다이트 또는 GalNAc4-ps-GalNAc4-ps-GalNAc4일 수 있다. 이러한 GalNAc 모이어티는 아래에 나타나 있다:

GalNAc 4 모이어티
GalNAc4 포스포라미다이트 
GalNAc4 CPG 

[0265]

[0266] GalNAc3, GalNAc4, GalNAc5 및 GalNAc6은 합성 동안 1, 2 또는 3개의 모이어티로 본원에서 개시되는 siNA에 접합될 수 있다. GalNAc1 및 GalNAc2와 같은 추가 GalNAc 모이어티는 합성 후 접합을 사용하여 5' 및 3'-GalNAc를 형성하는 데 사용될 수 있다.

[0267] **GalNAc 포스포라미다이트**

GalNAc 빌딩 블록	올리고 부착 후(명칭)
GalNAc-3 포스포라미다이트 	 (GalNAc3-(PS)2-p)
GalNAc-4 포스포라미다이트 	 (GalNAc4-(PS)2-p)
GalNAc-5 포스포라미다이트 	 (GalNAc5-(PS)2-p)
GalNAc-6 포스포라미다이트 	 (GalNAc6-(PS)2-p)

[0268]

[0269] 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양

태에서, 갈락토사민은 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 3' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 갈락토사민은 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 링커는 포스포다이에스터(p 또는 po) 링커, 포스포로싸이오에이트(ps) 링커, 메실 포스포라미데이트 링커(Ms), 포스포라미다이트(HEG) 링커, 트라이에틸렌 글라이콜(TEG) 링커 및/또는 포스포로다이싸이오에이트 링커로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 링커는 p-(PS)2, (PS)2-p-TEG-p, (PS)2-p-HEG-p 및 (PS)2-p-(HEG-p)2로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

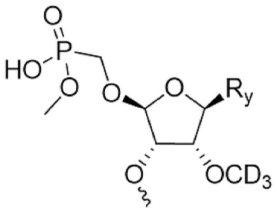
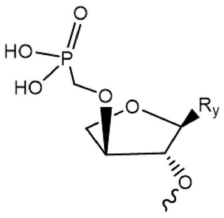
[0270] 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 지질 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA는 지질 모이어티인 접합된 모이어티에 부착된다. 지질 잔기의 예는 콜레스테롤 모이어티, 싸이오에스터, 예를 들어, 헥실-S-트라이틸싸이올, 싸이오콜레스테롤, 지방족 사슬, 예를 들어, 도데칸다이올 또는 운데실 잔류물, 인지질, 예를 들어, 다이-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트라이에틸암모늄 1-di-O-헥사데실-rac-글리세로-S-H-포스포네이트, 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글라이콜, 아다만테인 아세트산, 팔미틸 모이어티 또는 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카보닐-옥시콜레스테롤 모이어티를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

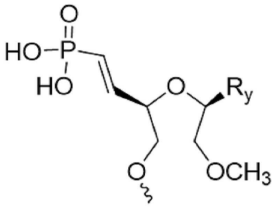
[0271] 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 활성 약물 물질이다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA는 활성 약물 물질인 접합된 모이어티에 부착된다. 활성 약물 물질의 예는 아스피린, 와파린, 페닐부타존, 이부프로펜, 수프로펜, 펜부펜, 케토프로펜, (5)-(+)- 프라노프로펜, 카프로펜, 단실사르코신, 2,3,5-트라이아이오도벤조산, 플루페남산, 폴린산, 벤조싸이아다이아자이드, 클로로싸이아자이드, 디아제핀, 인도메티신, 바르비투르산염, 세팔로스포린, 설파제, 항당뇨병제, 항균제 또는 항생제를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

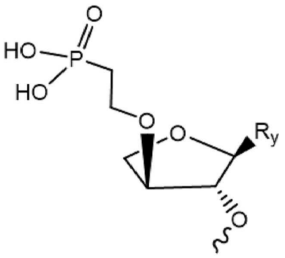
[0272] **5' 안정화 말단 캡**

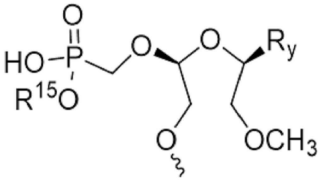
[0273] 5' 안정화 말단 캡을 포함하는 siNA 분자가 추가로 본원에서 개시된다. 본원에서 사용되는 용어 "5' 안정화 말단 캡" 및 "5' 말단 캡"은 상호교환적으로 사용된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하는 뉴클레오타이드로 대체된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하는 뉴클레오타이드로 대체된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 센스 가닥 또는 제1 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 안티센스 가닥 또는 제2 뉴클레오타이드 서열의 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 5' 안정화 말단 캡을 함유하도록 추가로 변형된다.

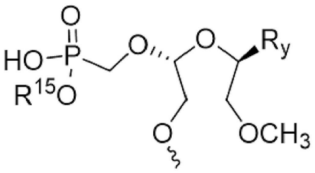
[0274] 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 5' 포스페이트 모방체이다. 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 변형된 5' 포스페이트 모방체이다. 일부 실시양태에서, 변형된 5' 포스페이트는 화학적으로 변형된 5' 포스페이트이다. 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 5'-바이닐 포스포네이트이다. 일부 실시양태에서, 5'-바이닐 포스포네이트는 5'-(*E*)-바이닐 포스포네이트 또는 5'-(*Z*)-바이닐 포스포네이트이다. 일부 실시양태에서, 5'-바이닐 포스포네이트는 중수소화 바이닐 포스포네이트이다. 일부 실시양태에서, 중수소화 바이닐 포스포네이트는 일중수소화 바이닐 포스포네이트이다. 일부 실시양태에서, 중수소화 바이닐 포스포네이트는 이중수소화 바이닐 포스포네이트이다. 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 포스페이트 모방체이다. 포스페이트 모방체의 예는 문헌[Parmar 등, *J Med Chem,* 201861(3):734-744], 국제 공보 제WO2018/045317호 및 제WO2018/044350호 및 미국 특허 번호 제10,087,210호에서 개시되며, 이는 각각 전문이 참조에 의해 원용된다.

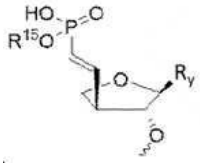
[0275] 일부 양태에서, 본 개시내용은  (omeco-d3 뉴클레오타이드),  (4h 뉴

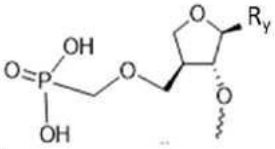

클레오타이드), (v-mun 뉴클레오타이드),

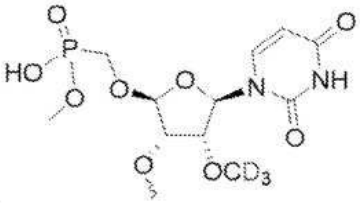

(c2o-4h 뉴클레오타이드),

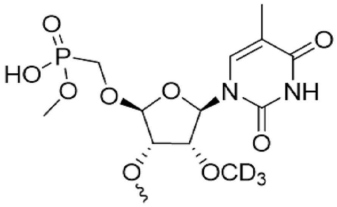

(omceo-mun*광학이성질체1),

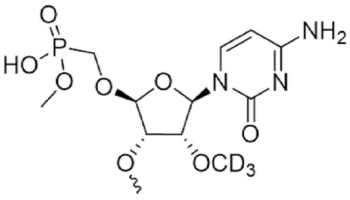

(omceo-mun*광학이성질체2),

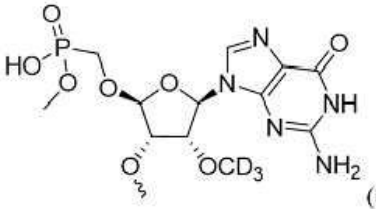

(4h-vp 뉴클레오타이드) 및

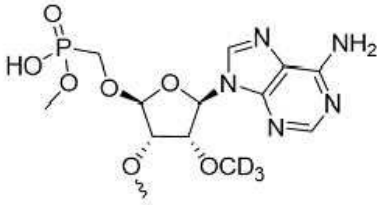

(coc-4h 뉴클레오타이드)로부터 선택되는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하는 siNA를 제공하며; 식 중 R_y는 핵염기이며 R^{15}는 H 또는 CH_3이다. 일부 실시양태에서, 핵염기는 타이민, 사이토신, 구아닌, 아데닌, 유라실 및 이들의 유사체 또는 유도체로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 개시되는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체는 다음의 구조를 포함하나 이에 제한되지 않는다:

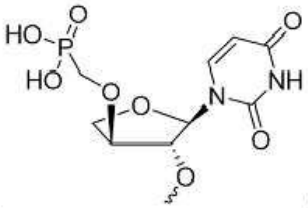

(omeco-d3U),

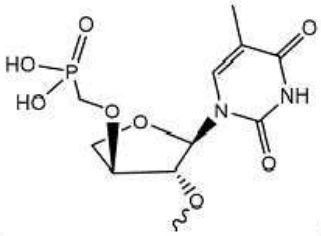

(omeco-d3T),

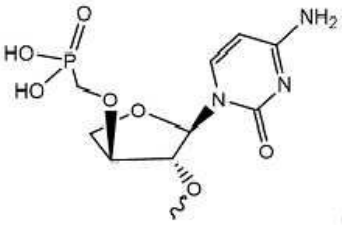

(omeco-d3C),

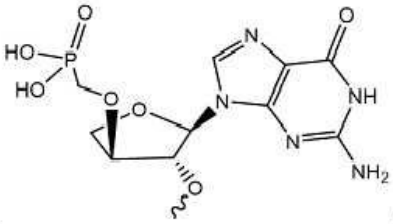

(omeco-d3G),

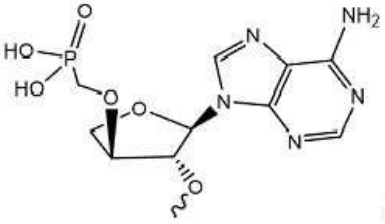


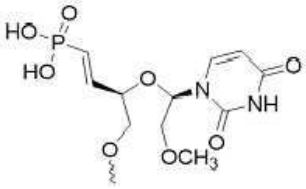

(omeco-d3A),

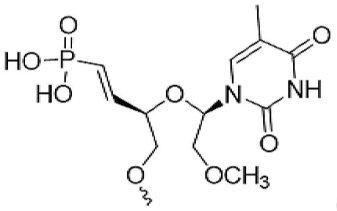

(4hU),

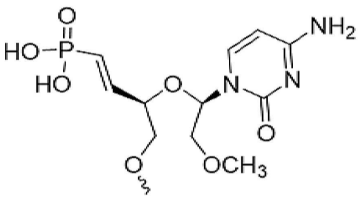

(4hT),


(4hC),

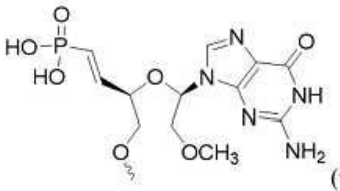

(4hG),


(4hA),

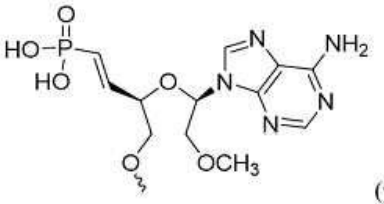

(v-munU),


(v-munT),

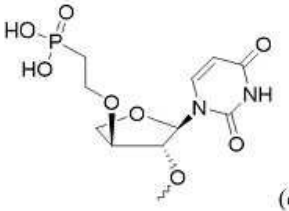
(v-munC),



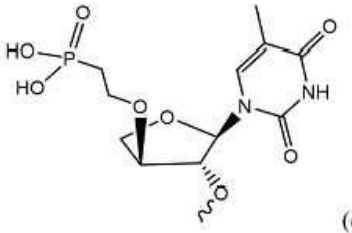
(v-munG),



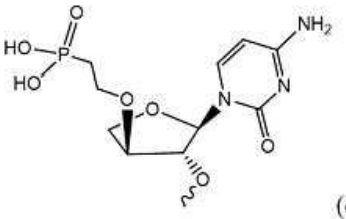
(v-munA),



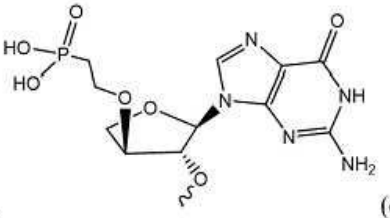
(c2o-4hU),



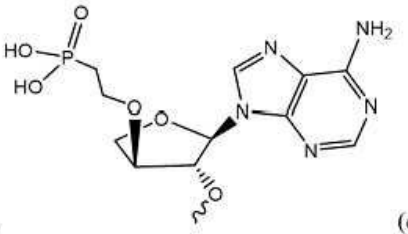
(c2o-4hT),



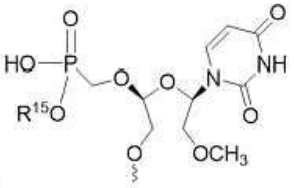
(c2o-4hC),



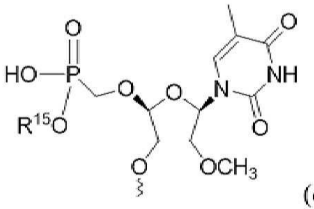
(c2o-



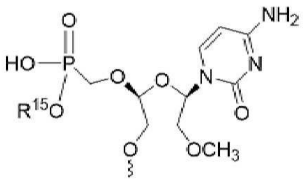
4hG),



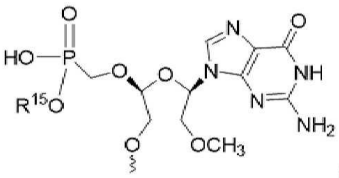
(c2o-4hA),



(omeco-munU),

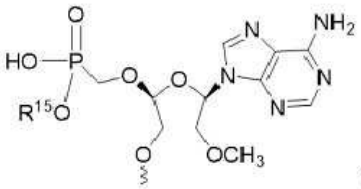


(omeco-munT),

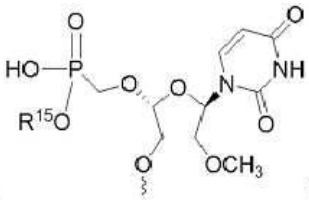


(omeco-munC),

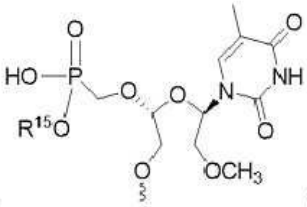
(omeco-munG),



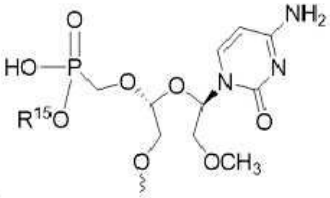
(omeco-munA),



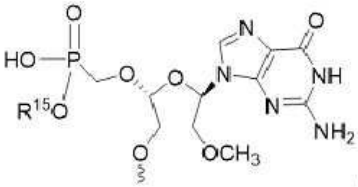
(omeco-munU),



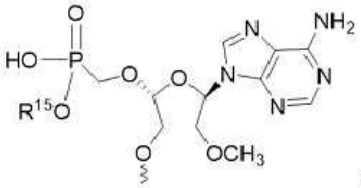
(omeco-munT),



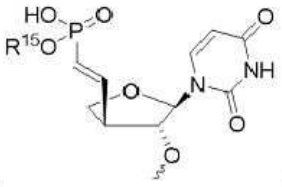
(omeco-munC),



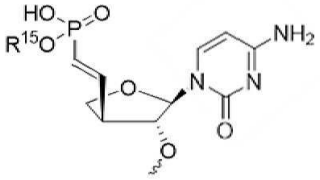
(omeco-munG),



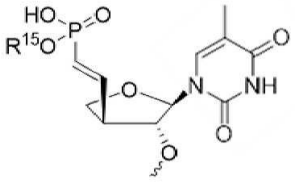
(omeco-munA),



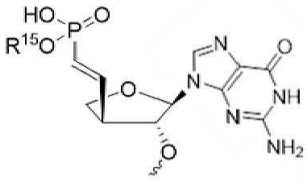
(4h-vp -U),



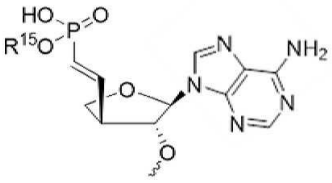
(4h-vp -C),



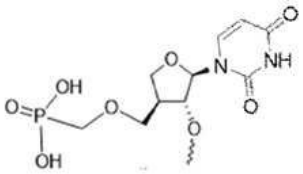
(4h-vp -T),



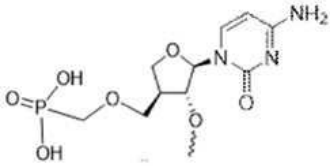
(4h-vp -G),



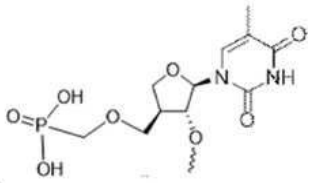
(4h-vp -A),



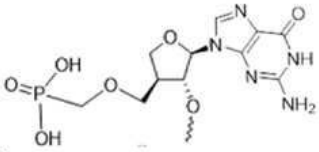
(coc-4hU),



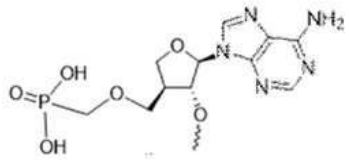
(coc-4hC),



(coc-4hT),

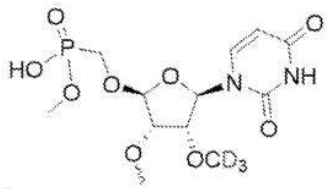


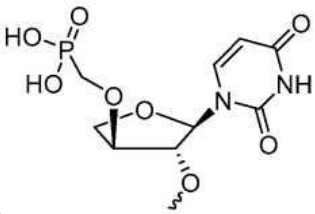
(coc-4hG) 및

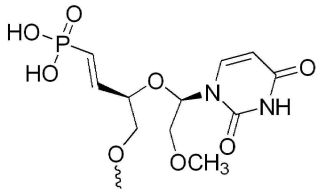


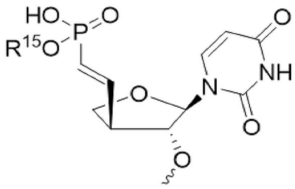
(coc-4hA); 식 중 R^{15}는 H 또는 CH_3이다.

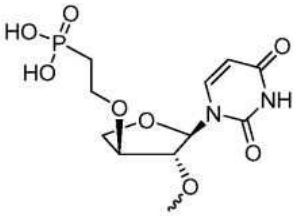
[0276] 일부 양태에서, 본 개시내용은

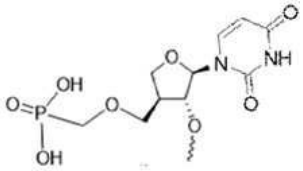
[0277] 

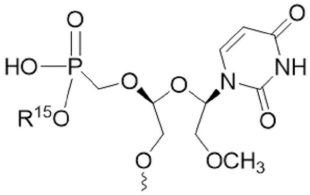
(omeco-d3U), 

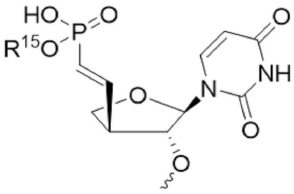
(4hU), 

(v-mun), 

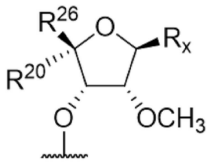
(4h-vp -U), 

(c2o-4h), 

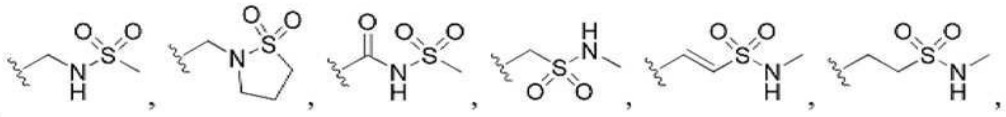
(coc-4hU), 

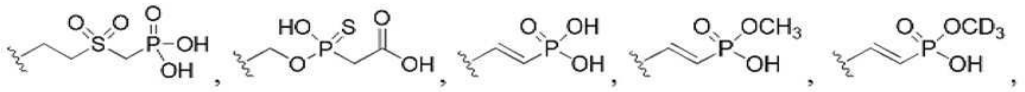
(omeco-munU, 식 중 R^{15}는 CH_3) 및 

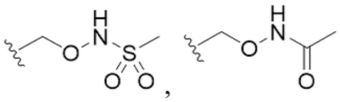
로부터 선택되는 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하는 siNA를 제공하며; 식 중 R^{15}는 H 또는 CH_3이다. 일부 실시양태에서, 이러한 신규한 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체(예를 들어, omeco-d3 뉴클레오타이드, 4h 뉴클레오타이드, v-mun 뉴클레오타이드, c2o-4h 뉴클레오타이드, coc-4h 뉴클레오타이드, omeco-mun 뉴클레오타이드, 4h-vp 뉴클레오타이드 또는 d2vm 뉴클레오타이드) 중 하나는 안티센스 가닥의 5' 말단에 위치하며; 그러나, 이러한 신규한 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체는 센스 가닥의 5' 말단, 안티센스 가닥의 3' 말단 또는 센스 가닥의 3' 말단에 포함될 수도 있다.

[0278] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (Ia): 

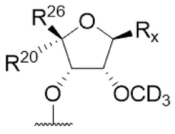
의 5' 안정화 말단 캡을 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 포함할 수 있으며, 식 중 R_x는 H, 핵염기, 아릴 또는 헤테로아릴이며; R^{26}은

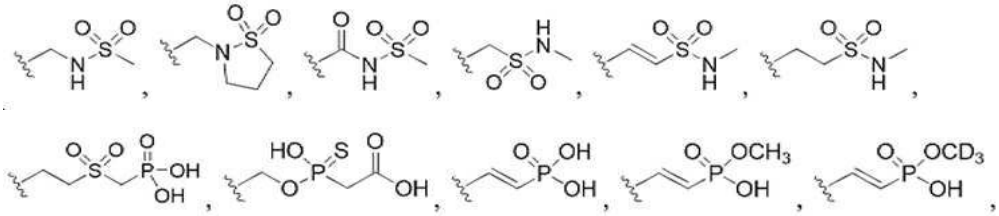


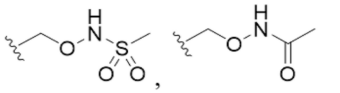




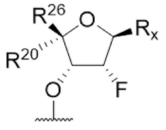
, -CH=CD-Z, -CD=CH-Z, -CD=CD-Z, $-(CR^{21}R^{22})_n-Z$ 또는 $-(C_2-C_6$ 알케닐렌$)-Z$이며 R^{20}은 H이거나; R^{26} 및 R^{20}은 함께 $-(CR^{21}R^{22})_n-Z$ 또는 $-(C_2-C_6$ 알케닐렌$)-Z$로 치환된 3원 내지 7원 탄소환 고리를 형성하며; n은 1, 2, 3 또는 4이며; Z는 $-ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$, $-NR^{23}SO_2R^{24}$이며; R^{21} 및 R^{22}는 독립적으로 수소 또는 C_1-C_6 알킬이거나, R^{21} 및 R^{22}는 함께 옥소기를 형성하며; R^{23}은 수소 또는 C_1-C_6 알킬이며; R^{24}는 $-SO_2R^{25}$ 또는 $-C(O)R^{25}$이거나; R^{23} 및 R^{24}는 부착되는 질소와 함께 치환 또는 비치환 복소환 고리를 형성하며; R^{25}는 C_1-C_6 알킬이며; m은 1, 2, 3 또는 4이다. 일부 실시양태에서, R^1은 아릴이다. 일부 실시양태에서, 아릴은 페닐이다.

[0279] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (Ib):  의 5' 안정화 말단 캡을 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 포함할 수 있으며, 식 중 R_x는 H, 핵염기, 아릴 또는 헤테로아릴이며; R^{26}은

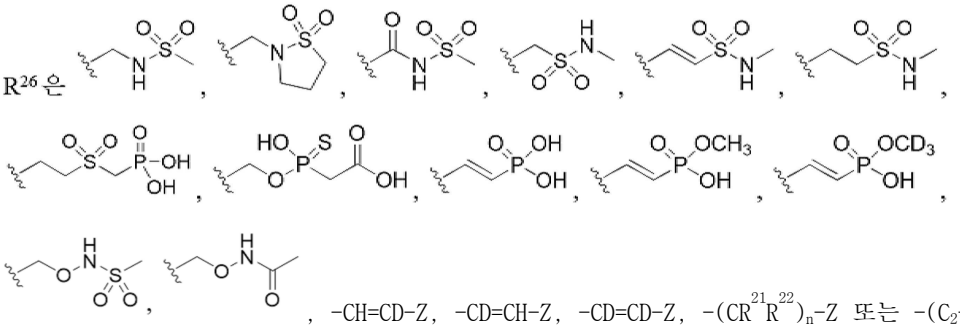




, -CH=CD-Z, -CD=CH-Z, -CD=CD-Z, $-(CR^{21}R^{22})_n-Z$ 또는 $-(C_2-C_6$ 알케닐렌$)-Z$이며 R^{20}은 H이거나; R^{26} 및 R^{20}은 함께 $-(CR^{21}R^{22})_n-Z$ 또는 $-(C_2-C_6$ 알케닐렌$)-Z$로 치환된 3원 내지 7원 탄소환 고리를 형성하며; n은 1, 2, 3 또는 4이며; Z는 $-ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$, $-NR^{23}SO_2R^{24}$이며; R^{21} 및 R^{22}는 독립적으로 수소 또는 C_1-C_6 알킬이거나, R^{21} 및 R^{22}는 함께 옥소기를 형성하며; R^{23}은 수소 또는 C_1-C_6 알킬이며; R^{24}는 $-SO_2R^{25}$ 또는 $-C(O)R^{25}$이거나; R^{23} 및 R^{24}는 부착되는 질소와 함께 치환 또는 비치환 복소환 고리를 형성하며; R^{25}는 C_1-C_6 알킬이며; m은 1, 2, 3 또는 4이다. 일부 실시양태에서, R^1은 아릴이다. 일부 실시양태에서, 아릴은 페닐이다.

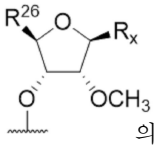
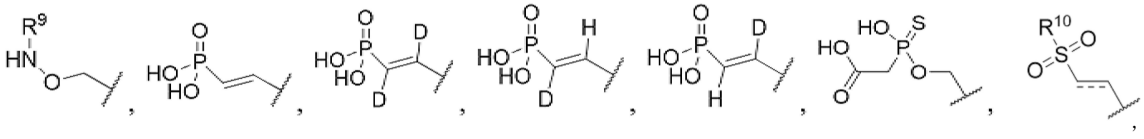
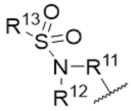
[0280] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (Ic):  의 5' 안정화 말단 캡을 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 포함할 수 있으며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또

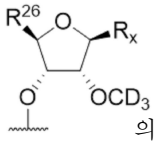
는 H이며,

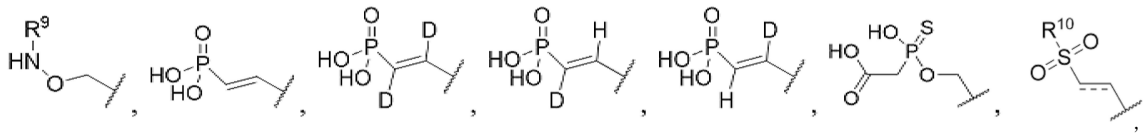
[0281] R^{26}은  , -CH=CD-Z, -CD=CH-Z, -CD=CD-Z, $-(CR^{21}R^{22})_n-Z$ 또는 $-(C_2-C_6$ 알케닐렌$)-Z$이며 R^{20}은 수소이거나; R^{26} 및 R^{20}은 함께 $-(CR^{21}R^{22})_n-Z$ 또는 $-(C_2-C_6$ 알케닐렌$)-Z$로 치환된 3원 내지 7원 탄소환 고리를 형성하며; n은 1, 2, 3 또는 4이며;

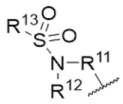
[0282] Z는 $-ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$ 또는 $-NR^{23}SO_2R^{24}$이며; R^{21} 및 R^{22}는 독립적으로 수소 또는 C_1-C_6 알킬이거나, R^{21} 및 R^{22}는 함께 옥소기를 형성하며; R^{23}은 수소 또는 C_1-C_6 알킬이며; R^{24}는 $-SO_2R^{25}$ 또는 $-C(O)R^{25}$이거나;

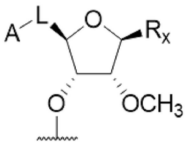
[0283] R^{23} 및 R^{24}는 부착되는 질소와 함께 치환 또는 미치환 복소환 고리를 형성하며; R^{25}는 C_1-C_6 알킬이며; m은 1, 2, 3 또는 4이다. 일부 실시양태에서, R^1은 아릴이다. 일부 실시양태에서, 아릴은 페닐이다.

[0284] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (IIa):  의 5' 안정화 말단 캡을 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 포함할 수 있으며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이며, R^{26}은  , $-CH_2SO_2NHCH_3$ 또는  이며, R^9는 $-SO_2CH_3$ 또는 $-COCH_3$이며, ---- 는 이중 또는 단일 결합이며, R^{10} = $-CH_2PO_3H$ 또는 $-NHCH_3$이며, R^{11}은 $-CH_2-$ 또는 -CO-이며, R^{12}는 H이며 R^{13}은 CH_3이거나 R^{12} 및 R^{13}은 함께 $-CH_2CH_2CH_2-$를 형성한다. 일부 실시양태에서, R^1은 아릴이다. 일부 실시양태에서, 아릴은 페닐이다.

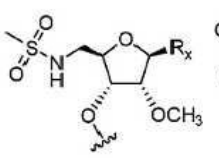
[0285] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (IIb):  의 5' 안정화 말단 캡을 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 포함할 수 있으며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이며, R^{26}은



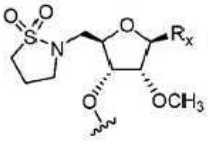
$-CH_2SO_2NHCH_3$ 또는  이며, R^9는 $-SO_2CH_3$ 또는 $-COCH_3$이며, 는 이중 또는 단일 결합이며, R^{10} = $-CH_2PO_3H$ 또는 $-NHCH_3$이며, R^{11}은 $-CH_2-$ 또는 $-CO-$이며, R^{12}는 H이며 R^{13}은 CH_3이거나 R^{12} 및 R^{13}은 함께 $-CH_2CH_2CH_2-$를 형성한다. 일부 실시양태에서, R^1은 아릴이다. 일부 실시양태에서, 아릴은 페닐이다.

[0286] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (III):  의 5' 안정화 말단 캡을 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 포함할 수 있으며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이며, L은 $-CH_2-$, $-CH=CH-$, $-CO-$ 또는 $-CH_2CH_2-$이며, A는 $-ONHCOCH_3$, $-ONHSO_2CH_3$, $-PO_3H$, $-OP(SOH)CH_2CO_2H$, $-SO_2CH_2PO_3H$, $-SO_2NHCH_3$, $-NHSO_2CH_3$ 또는 $-N(SO_2CH_2CH_2CH_2)$이다. 일부 실시양태에서, R^1은 아릴이다. 일부 실시양태에서, 아릴은 페닐이다.

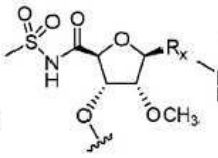
[0287] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (1) 내지 화학식 (16), 화학식 (9X) 내지 화학식 (12X), 화학식 (16X), 화학식 (9Y) 내지 화학식 (12Y), 화학식 (16Y), 화학식 (21) 내지 화학식 (36), 화학식 36X, 화학식 (41) 내지 (56), 화학식 (49X) 내지 (52X), 화학식 (49Y) 내지 (52Y), 화학식 56X, 화학식 56Y, 화학식 (61) 및 화학식 (62):



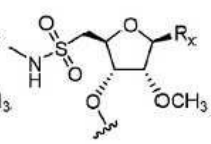
화학식 (1)



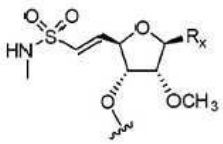
화학식 (2)



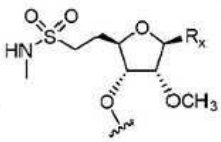
화학식 (3)



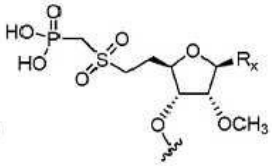
화학식 (4)



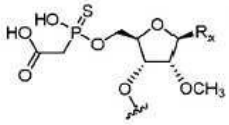
화학식 (5)



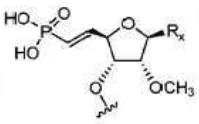
화학식 (6)



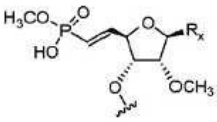
화학식 (7)



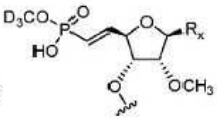
화학식 (8)



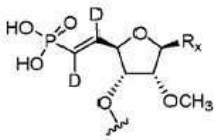
화학식 (9)



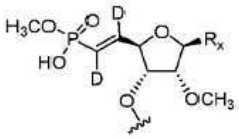
화학식 (9X)



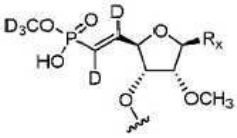
화학식 (9Y)



화학식 (10)

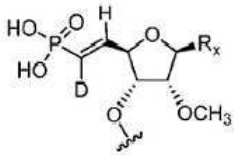


화학식 (10X)

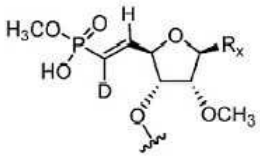


화학식 (10Y)

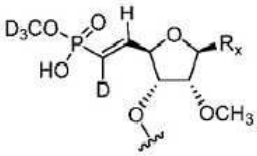
[0288]



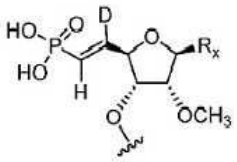
화학식 (11)



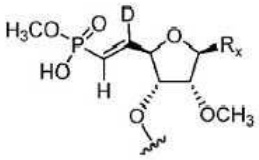
화학식 (11X)



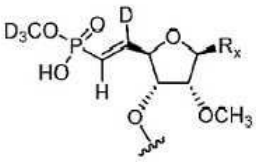
화학식 (11Y)



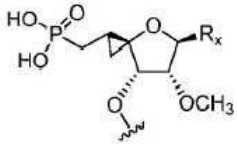
화학식 (12)



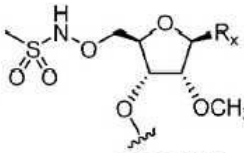
화학식 (12X)



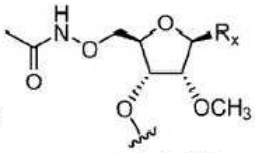
화학식 (12Y)



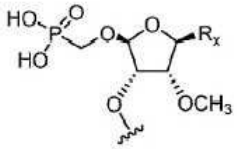
화학식 (13)



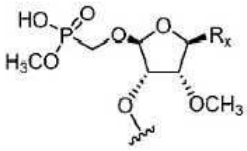
화학식 (14)



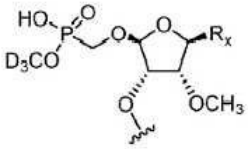
화학식 (15)



화학식 (16)

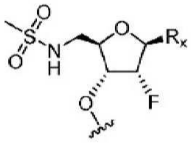


화학식 (16X)

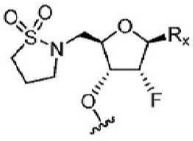


화학식 (16Y)

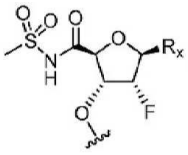
[0289]



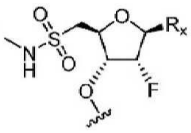
화학식 (21)



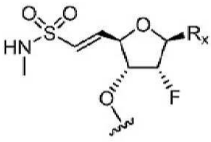
화학식 (22)



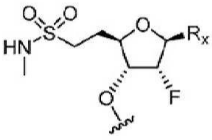
화학식 (23)



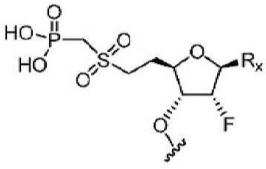
화학식 (24)



화학식 (25)

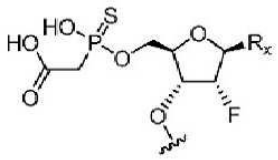


화학식 (26)

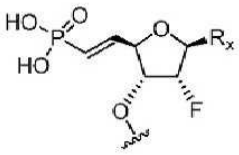


화학식 (27)

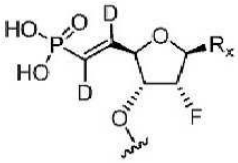
[0290]



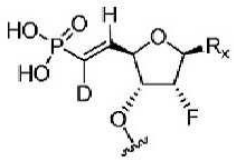
화학식 (28)



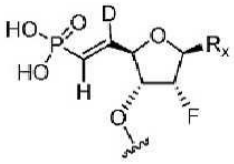
화학식 (29)



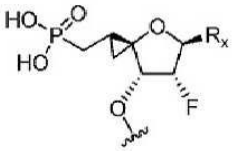
화학식 (30)



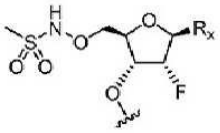
화학식 (31)



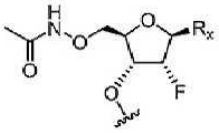
화학식 (32)



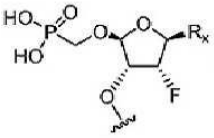
화학식 (33)



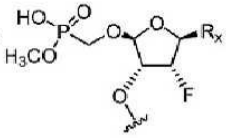
화학식 (34)



화학식 (35)

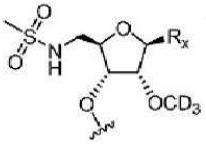


화학식 (36)

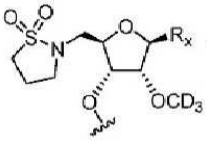


화학식 (36X)

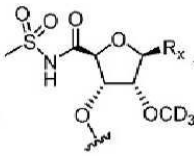
[0291]



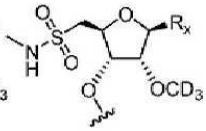
화학식 (41)



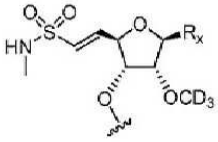
화학식 (42)



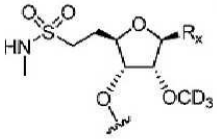
화학식 (43)



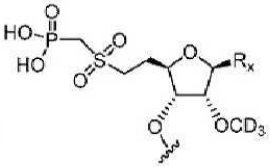
화학식 (44)



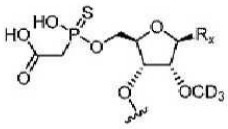
화학식 (45)



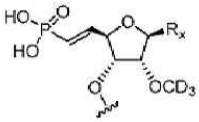
화학식 (46)



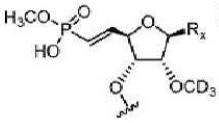
화학식 (47)



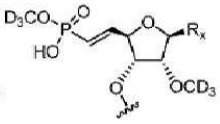
화학식 (48)



화학식 (49)

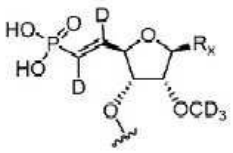


화학식 (49X)

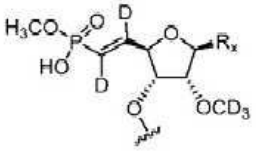


화학식 (49Y)

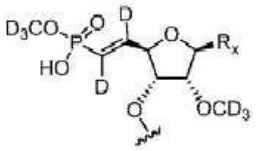
[0292]



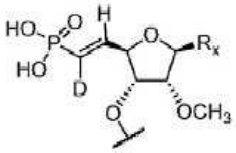
화학식 (50)



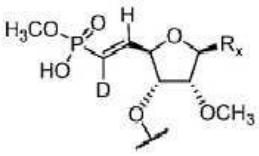
화학식 (50X)



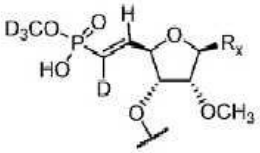
화학식 (50Y)



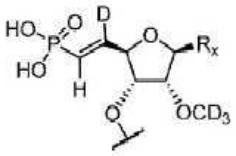
화학식 (51)



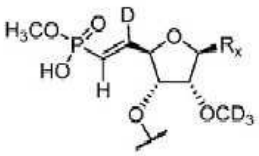
화학식 (51X)



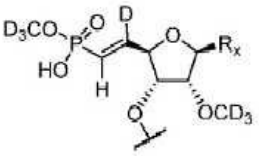
화학식 (51Y)



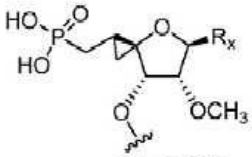
화학식 (52)



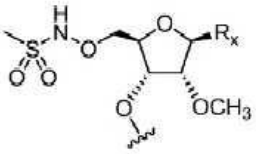
화학식 (52X)



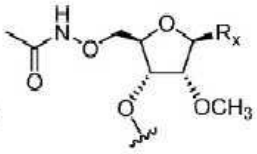
화학식 (52Y)



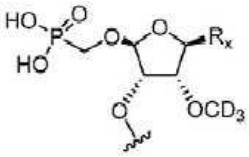
화학식 (53)



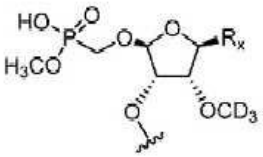
화학식 (54)



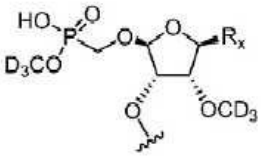
화학식 (55)



화학식 (56)

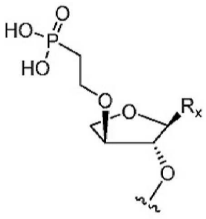


화학식 (56X)

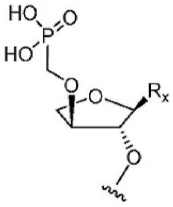


화학식 (56Y)

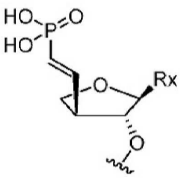
[0293]



화학식 (61)

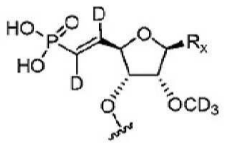


화학식 (62)

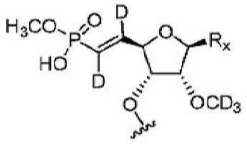


[0294] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함할 수 있으며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다.

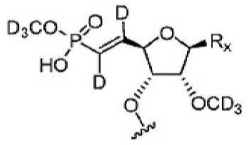
[0295] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (50), 화학식 (50X), 화학식 (50Y), 화학식 (56), 화학식 (56X), 화학식 (56Y), 화학식 (61), 화학식 (62) 및 화학식 (63):



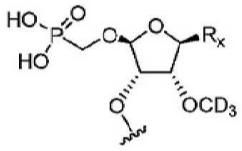
화학식 (50)



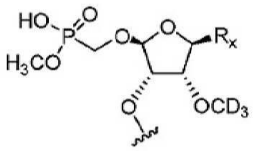
화학식 (50X)



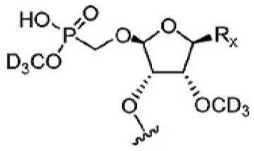
화학식 (50Y)



화학식 (56)

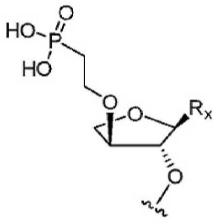


화학식 (56X)

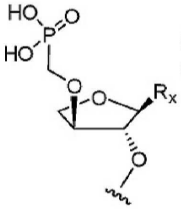


화학식 (56Y)

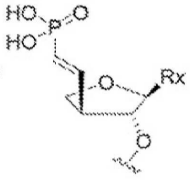
[0296]



화학식 (61)



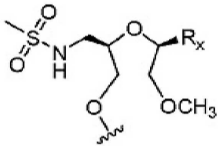
화학식 (62)



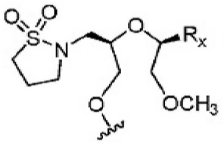
화학식 (63)

[0297] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다.

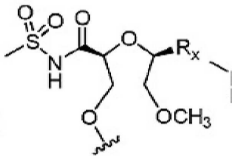
[0298] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (71) 내지 화학식 (86), 화학식 (79X) 내지 화학식 (82X), 화학식 (79Y) 내지 (82Y), 화학식 86X, 화학식 86X', 화학식 86Y 및 화학식 86Y':



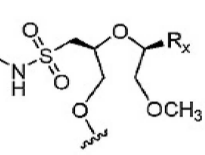
화학식 (71)



화학식 (72)

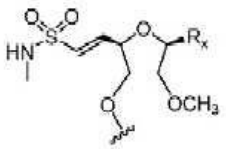


화학식 (73)

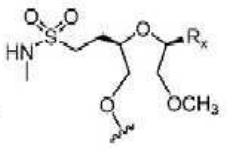


화학식 (74)

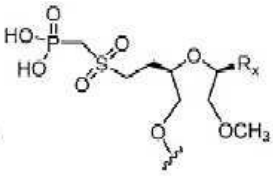
[0299]



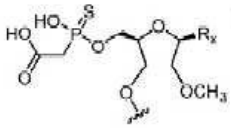
화학식 (75)



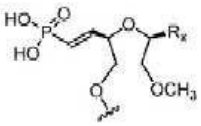
화학식 (76)



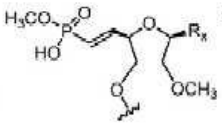
화학식 (77)



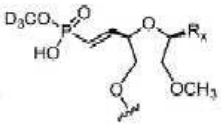
화학식 (78)



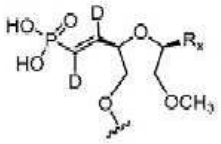
화학식 (79)



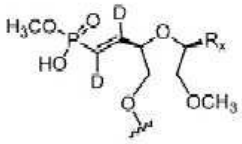
화학식 (79X)



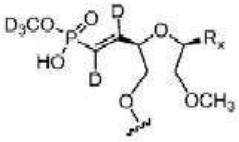
화학식 (79Y)



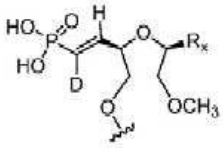
화학식 (80)



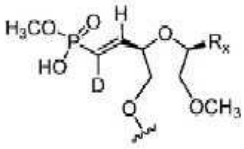
화학식 (80X)



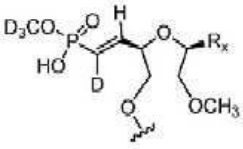
화학식 (80Y)



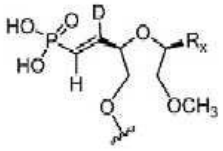
화학식 (81)



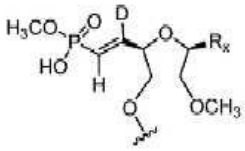
화학식 (81X)



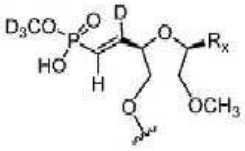
화학식 (81Y)



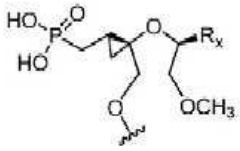
화학식 (82)



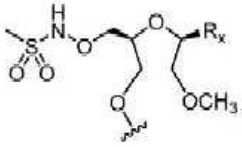
화학식 (82X)



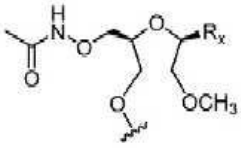
화학식 (82Y)



화학식 (83)

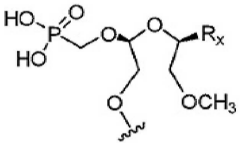


화학식 (84)

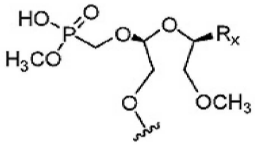


화학식 (85)

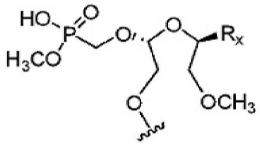
[0300]



화학식 (86)

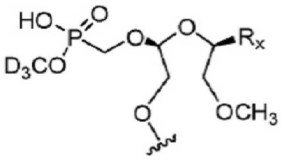


화학식 (86X)

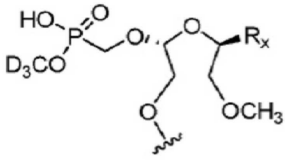


화학식 (86X')

[0301]



화학식 (86Y)



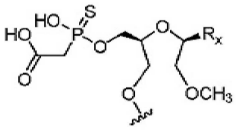
화학식 (86Y')

[0302] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다.

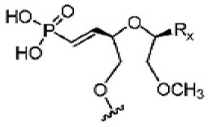
[0303] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (78), 화학식 (79), 화학식 (79X), 화학식

(79Y), 화학식 (86), 화학식 (86X)및 화학식 (86X'):

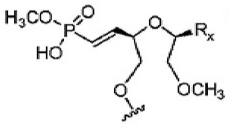
[0304]



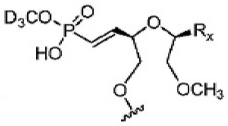
화학식 (78)



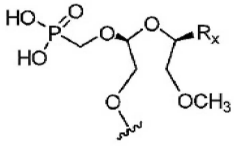
화학식 (79)



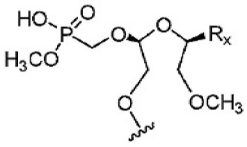
화학식 (79X)



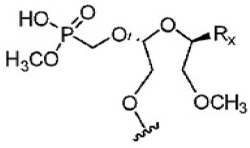
화학식 (79Y)



화학식 (86)



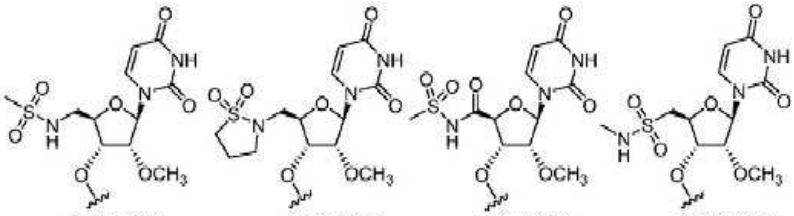
화학식 (86X)



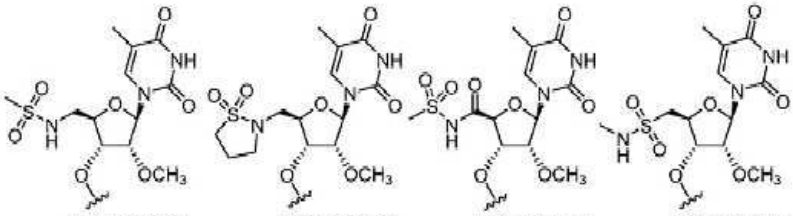
화학식 (86X')

[0305] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함하며, 식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H이다.

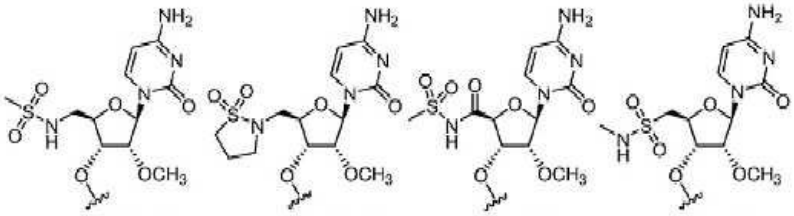
[0306] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (1A) 내지 (15A), 화학식 (1A-1) 내지 (7A-1), 화학식 (1A-2) 내지 (7A-2), 화학식 (1A-3) 내지 (7A-3), 화학식 (1A-4) 내지 (7A-4), 화학식 (9B) 내지 (12B), 화학식 (9AX) 내지 (12AX), 화학식 (9AY) 내지 (12AY), 화학식 (9BX) 내지 (12BX) 및 화학식 (9BY) 내지 (12BY):



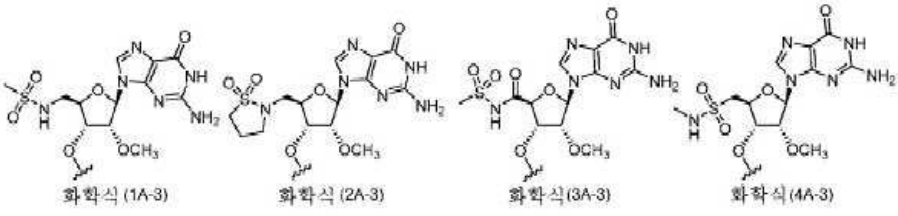
화학식 (1A) 화학식 (2A) 화학식 (3A) 화학식 (4A)



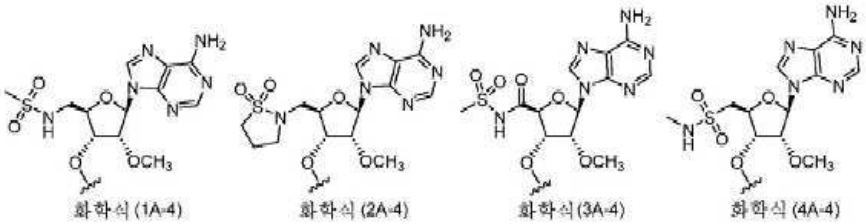
화학식 (1A-1) 화학식 (2A-1) 화학식 (3A-1) 화학식 (4A-1)



화학식 (1A-2) 화학식 (2A-2) 화학식 (3A-2) 화학식 (4A-2)

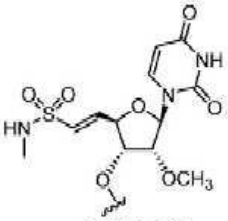


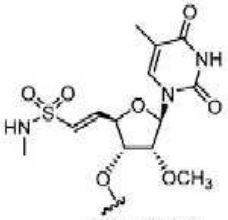
화학식 (1A-3) 화학식 (2A-3) 화학식 (3A-3) 화학식 (4A-3)

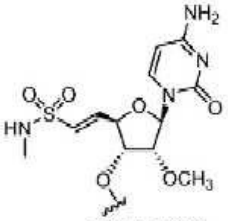


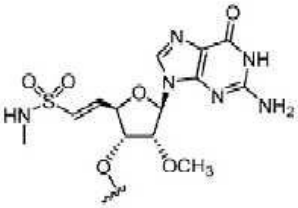
화학식 (1A-4) 화학식 (2A-4) 화학식 (3A-4) 화학식 (4A-4)

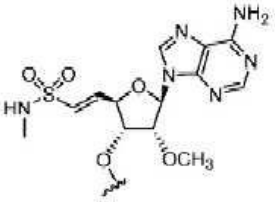
[0307]

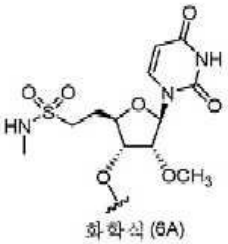

화학식 (5A)

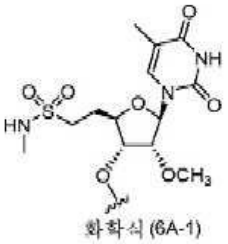

화학식 (5A-1)

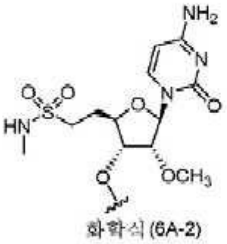

화학식 (5A-2)

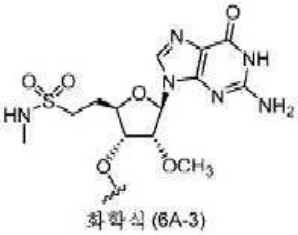

화학식 (5A-3)

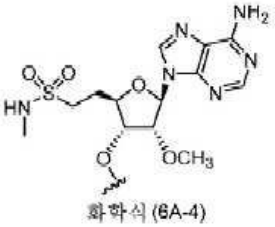

화학식 (5A-4)

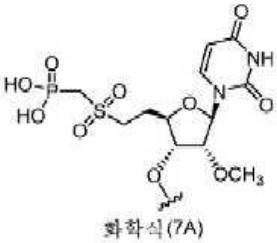

화학식 (6A)

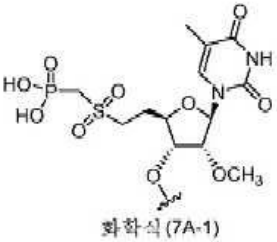

화학식 (6A-1)

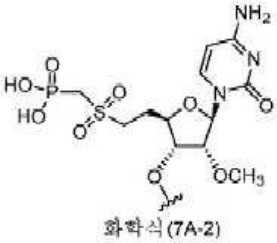

화학식 (6A-2)


화학식 (6A-3)

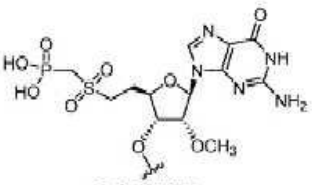

화학식 (6A-4)


화학식 (7A)

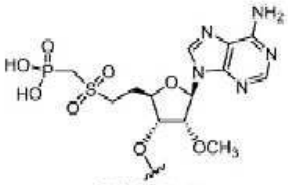

화학식 (7A-1)


화학식 (7A-2)

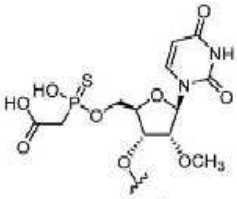
[0308]



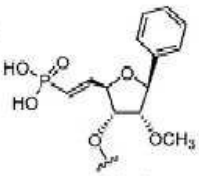
화학식 (7A-3)



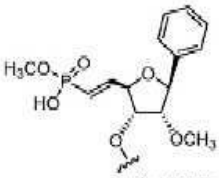
화학식 (7A-4)



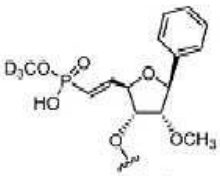
화학식 (8A)



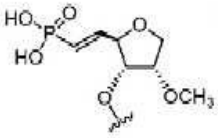
화학식 (9A)



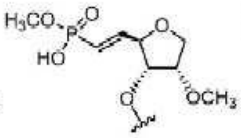
화학식 (9AX)



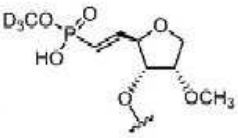
화학식 (9AY)



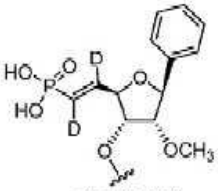
화학식 (9B)



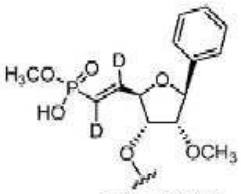
화학식 (9BX)



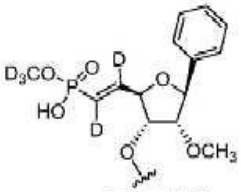
화학식 (9BY)



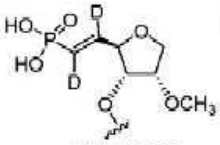
화학식 (10A)



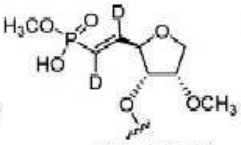
화학식 (10AX)



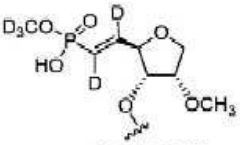
화학식 (10AY)



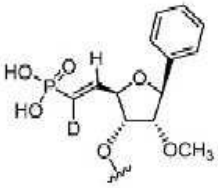
화학식 (10B)



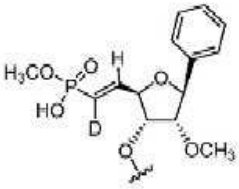
화학식 (10BX)



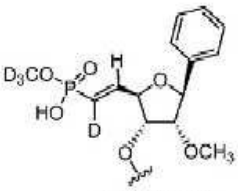
화학식 (10BY)



화학식 (11A)

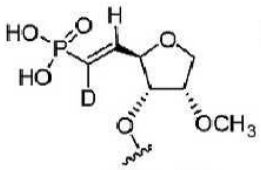


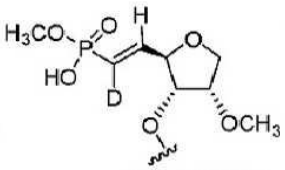
화학식 (11AX)

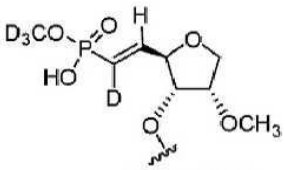


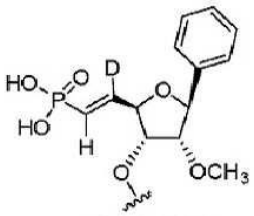
화학식 (11AY)

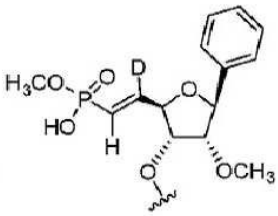
[0309]

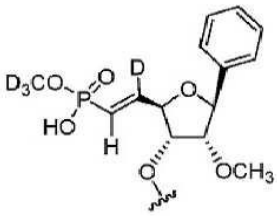

화학식 (11B)

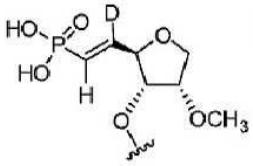

화학식 (11BX)

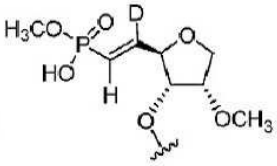

화학식 (11BY)

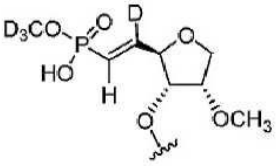

화학식 (12A)


화학식 (12AX)

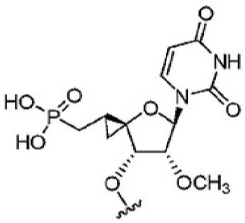

화학식 (12AY)

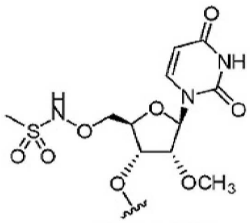

화학식 (12B)

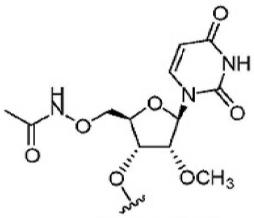

화학식 (12BX)


화학식 (12BY)

[0310]

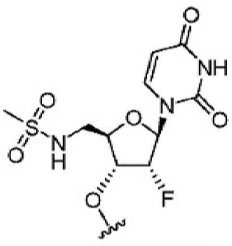

화학식 (13A)

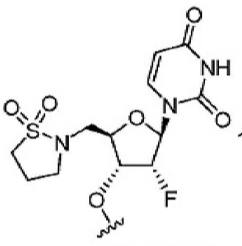

화학식 (14A)

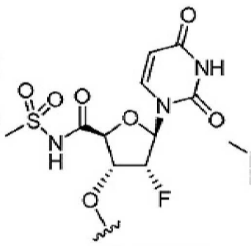

화학식 (15A)

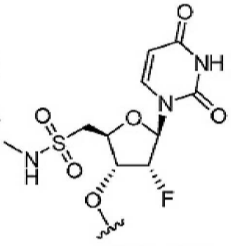
[0311] 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함한다.

[0312] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (21A) 내지 (35A), 화학식 (29B) 내지 (32B), 화학식 (29AX) 내지 (32AX), 화학식 (29AY) 내지 (32AY), 화학식 (29BX) 내지 (32BX) 및 화학식 (29BY) 내지 (32BY):로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함한다.

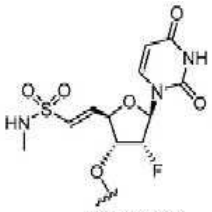

화학식 (21A)

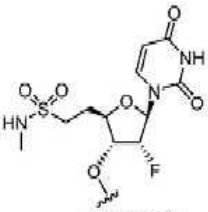

화학식 (22A)

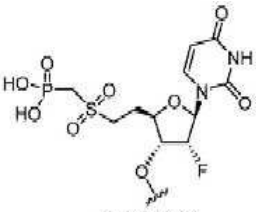

화학식 (23A)

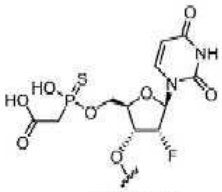

화학식 (24A)

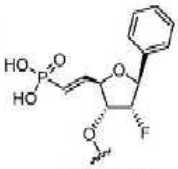
[0313]

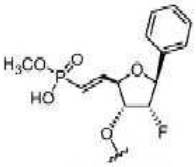

화학식 (25A)

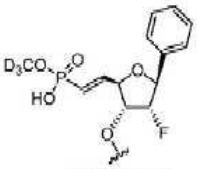

화학식(26A)

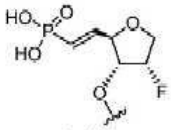

화학식(27A)

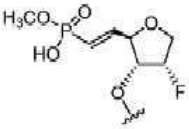

화학식 (28A)

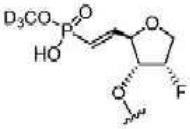

화학식 (29A)

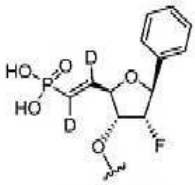

화학식 (29AX)

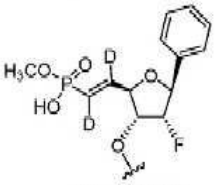

화학식 (29AY)

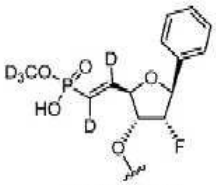

화학식 (29B)

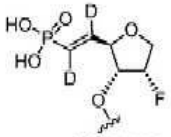

화학식 (29BX)

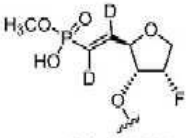

화학식 (29BY)

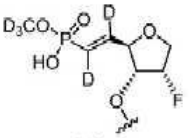

화학식 (30A)

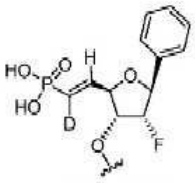

화학식 (30AX)

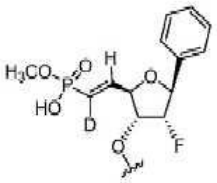

화학식 (30AY)

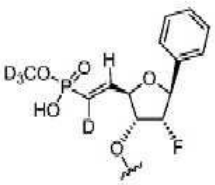

화학식 (30B)


화학식 (30BX)

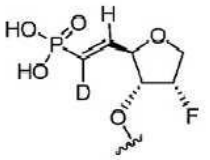

화학식 (30BY)

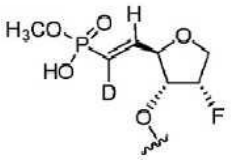

화학식 (31A)

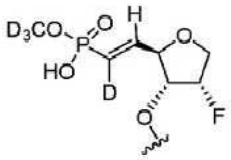

화학식 (31AX)

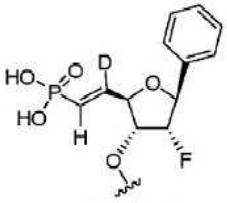

화학식 (31AY)

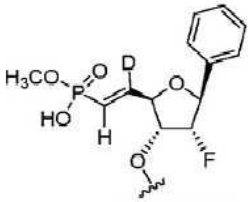
[0314]

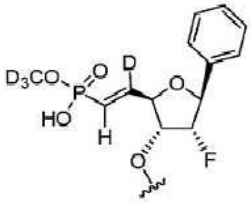

화학식 (31B)

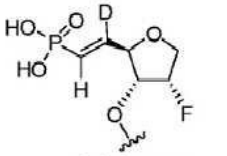

화학식 (31BX)

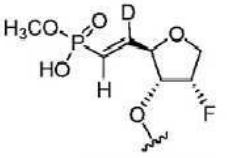

화학식 (31BY)

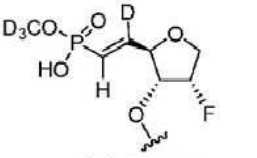

화학식 (32A)

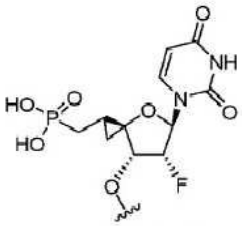

화학식 (32AX)

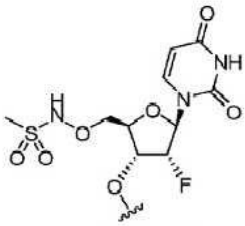

화학식 (32AY)

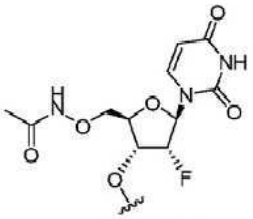

화학식 (32B)


화학식 (32BX)


화학식 (32BY)

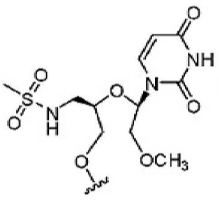

화학식 (33A)

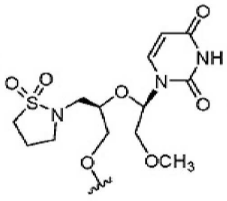

화학식 (34A)

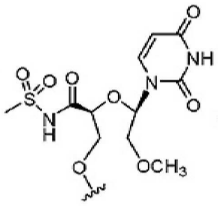

화학식 (35A)

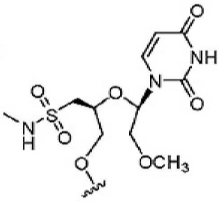
[0315]

[0316] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (71A) 내지 (86A), 화학식 (79XA) 내지 (82XA), 화학식 (79YA) 내지 (82YA); 화학식 (86XA), 화학식 (86X'A), 화학식 (86Y) 및 화학식 (86Y'):

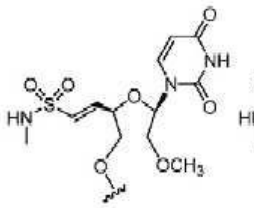

화학식 (71A)


화학식 (72A)

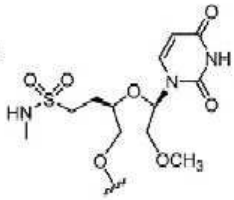

화학식 (73A)


화학식 (74A)

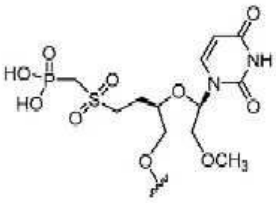
[0317]



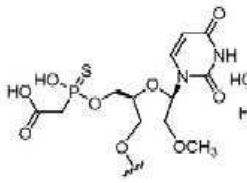
화학식 (75A)



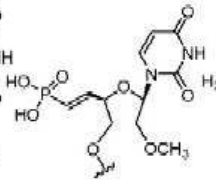
화학식 (76A)



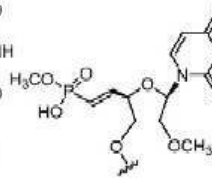
화학식 (77A)



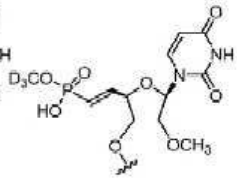
화학식 (78A)



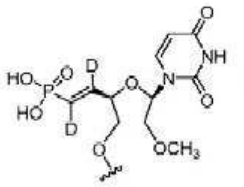
화학식 (79A)



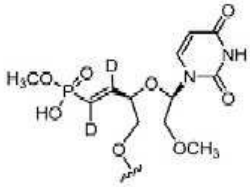
화학식 (79XA)



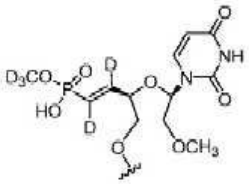
화학식 (79YA)



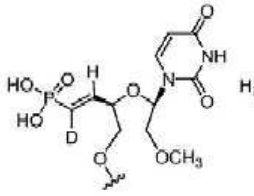
화학식 (80A)



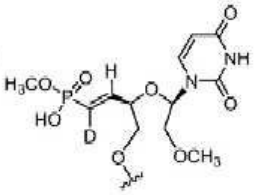
화학식 (80XA)



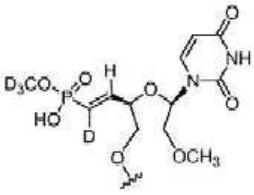
화학식 (80YA)



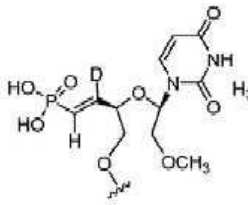
화학식 (81A)



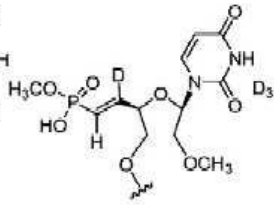
화학식 (81XA)



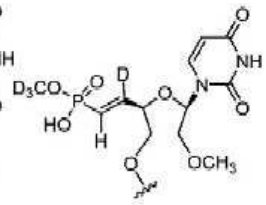
화학식 (81YA)



화학식 (82A)

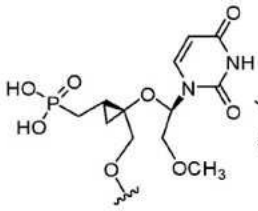


화학식 (82XA)

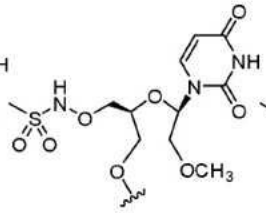


화학식 (82YA)

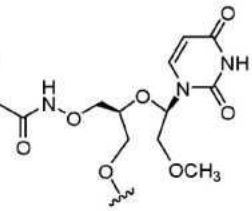
[0318]



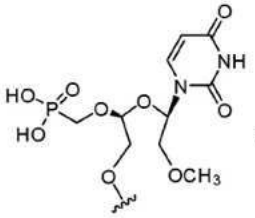
화학식 (83A)



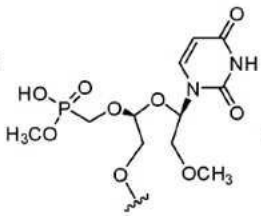
화학식 (84A)



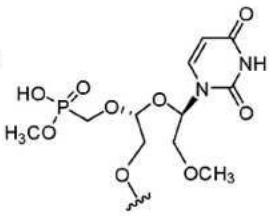
화학식 (85A)



화학식 (86A)

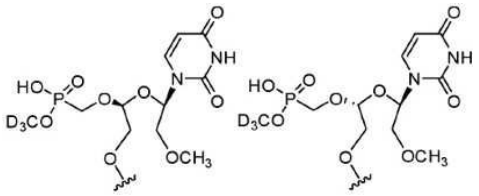


화학식 (86XA)



화학식 (86X'A)

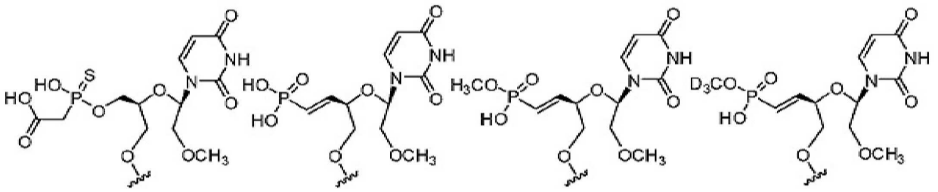
[0319]



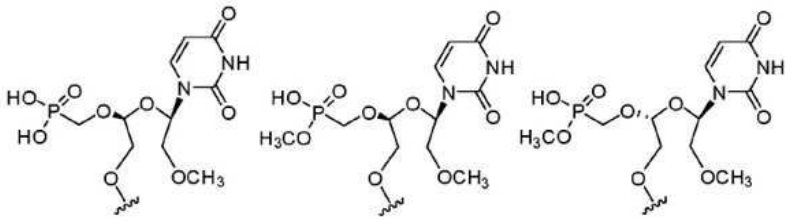
[0320] 화학식 (86Y) 화학식 (86Y') 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함한다.

[0321] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자는 화학식 (78A), 화학식 (79A), 화학식 (79XA), 화학식 (79YA), 화학식 (86A), 화학식 (86XA) 및 화학식 (86X'A):

[0322]



화학식 (78A) 화학식 (79A) 화학식 (79XA) 화학식 (79YA)



[0323] 화학식 (86A) 화학식 (86XA) 화학식 (86X'A) 로 구성되는 군으로부터 선택되는 5' 안정화 말단 캡을 포함한다.

[0324] 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 안티센스 가닥의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 링커를 통해 안티센스 가닥의 5' 말단에 부착된다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 링커는 포스포다이에스터(p 또는 po) 링커, 포스포로싸이오에이트(ps) 링커, 메실 포스포라미데이트(Ms) 링커, 포스포라미다이트(HEG) 링커, 트라이에틸렌 글라이콜(TEG) 링커 및/또는 포스포로다이싸이오에이트 링커로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 링커는 p-(PS)2, (PS)2-p-TEG-p, (PS)2-p-HEG-p 및 (PS)2-p-(HEG-p)2로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0325] 위에서 나타내는 바와 같이, 본 개시내용은 임의의 본원에서 설명되는 siNA 분자, 센스 가닥, 안티센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열 또는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 조성물을 제공한다. 개시된 siNA 및 이의 조성물은 다양한 질환 및 상태(예를 들어, 바이러스 질환, 간 질환 등)의 치료에 사용될 수 있다.

[0326] **링커**

[0327] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siRNA, 센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열, 안티센스 가닥 및/또는 제2 뉴클레오타이드 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23개 또는 그 이상의 뉴클레오사이드간 링커를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 뉴클레오사이드간 링커는 포스포다이에스터(p 또는 po) 링커, 포스포로싸이오에이트(ps) 링커, 메실 포스포라미데이트 링커(Ms) 및 포스포로다이싸이오에이트 링커로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0328] 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siRNA 센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열, 안티센스 가닥 및/또는 제2 뉴클레오타이드 서열은 접합된 모이어티, 인산화 차단제 및/또는 5' 말단 캡을 siRNA, 센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열, 안티센스 가닥 및/또는 제2 뉴클레오타이드 서열에 부착하는 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 링커는 포스포다이에스터(p 또는 po) 링커, 포스포로싸이오에이트(ps) 링커, 메실 포스포라미데이트(Ms), 포스포라미다이트(HEG) 링커, 트라이에틸렌 글라이콜(TEG) 링커 및/또는 포스포로다이싸이오에이트 링커로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

일부 실시양태에서, 1개 이상의 링커는 p-(PS)2, (PS)2-p-TEG-p, (PS)2-p-HEG-p 및 (PS)2-p-(HEG-p)2로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0329] **예시적인 siNA**

[0330] 위에서 언급한 바와 같이, 본원에서 개시되는 siNA는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 fB, fN 또는 4(4nh)Q를 포함할 수 있다. f2P, f4P 및 fX와 같은 다른 2'-플루오로 뉴클레오타이드도 개시되는 siNA에 포함될 수 있다. 개시되는 2'-플루오로 뉴클레오타이드(예를 들어, fB, fN, 또는 4(4nh)Q 및 표에서 굵은체로 표시되는 것)를 포함하는 siNA는 개시되는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 중 1개 이상을 포함할 수 있으며 1개 이상의 2'-플루오로 뉴클레오타이드는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 또는 둘 모두에 존재할 수 있다. 표 1은 이러한 2'-플루오로 뉴클레오타이드를 포함하는 예시적인 siNA를 나타낸다.

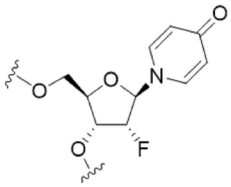
표 1

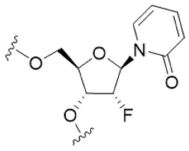
[0331] **2'-플루오로 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA**

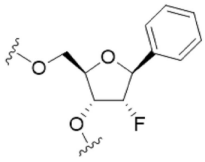
명칭	SS/AS 5'에서 3'
ds-siNA-001	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 1)
	mAps**f2P**psmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 2)
ds-siNA-002	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 3)
	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**f4P**mAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 4)
ds-siNA-003	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 5)
	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmA**f2P**mCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 6)
ds-siNA-004	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 7)
	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**f2P**mA**f2P**mCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 8)
ds-siNA-005	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 9)
	mAps**fB**psmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 10)
ds-siNA-006	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 11)
	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**fB**mAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 12)
ds-siNA-007	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 13)
	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**fB**mA**fB**mCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 14)
ds-siNA-008	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 15)
	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**f2P**mAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 16)
ds-siNA-023	5'-mCpsmCpsmGmUfGmUfGf**(4nh)Q**fAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-(ps)2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 63)
	3'-mCpsmUpsmGmGfCmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGmCfGmAmApsfGps**d2vd3U**-5' (서열 식별 번호: 64)
ds-siNA-024	5'-mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-(ps)2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 65)
	3'-mCpsmUpsmGmGfCmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGf**(4nh)Q**fGmAmApsfGps**d2vd3U**-5' (서열 식별 번호: 66)

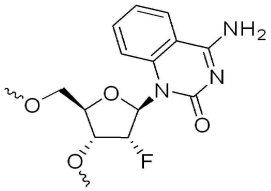
ds-siNA-025	5'-mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-(ps)2GalNAc4** (서열 식별 번호: 67)
	3'-mCpsmUpsmGmGf**(4nh)Q**mAmCfAmCmGmUmGmAfAmGmCfGmAmApsfGps**d2vd3U**-5' (서열 식별 번호: 68)

mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; 5dcd3X = 화학식 17의 뉴클레오타이드; 5dfX = 화학식 16의 뉴클레오타이드; vX= 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; d2vX = 중수소화 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; vmX = 5' 바이닐 포스포네이트, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드;

; f4P = 

; f2P = 

; fB = 

; f(4nh)Q = 

; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X는 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T)이다.

[0332] 추가적으로 또는 대안적으로, 개시되는 siNA는 또한 신규한 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체(예를 들어, omeco-d3U, 4hU, v-mun, c2o-4h, omeco-mun, d2vmA, coc-4h, 4H-VP 뉴클레오타이드)를 포함할 수 있다. 표 2는 이러한 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하는 예시적인 siNA를 나타낸다. 개시되는 신규한 포스페이트 모방체(예를 들어, omeco-d3U, 4hU, v-mun, c2o-4h, omeco-mun, coc-4h, 또는 d2vmA이며 및 표에서 굵은체로 표시되는 것)를 포함하는 siNA는 개시되는 신규한 포스페이트 모방체 중 1개 이상을 포함할 수 있으며 1개 이상의 신규한 포스페이트 모방체는 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 존재할 수 있다.

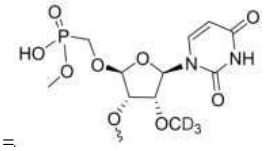
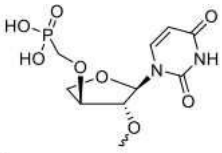
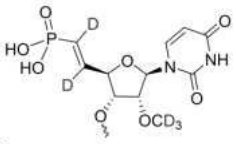
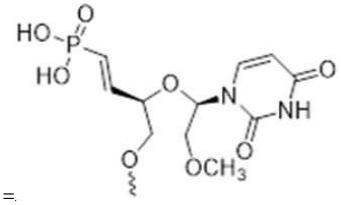
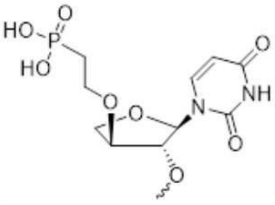
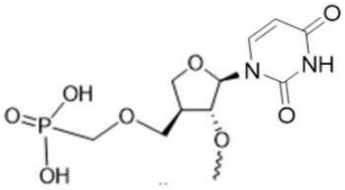
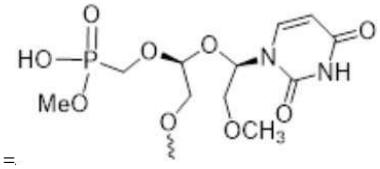
표 2

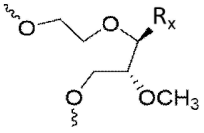
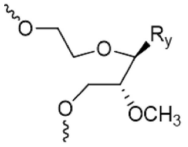
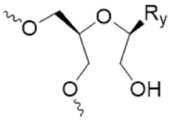
[0333] **뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하는 siNA**

명칭	SS/AS 5'에서 3'
ds-siNA-009	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 17)
	omeco-d3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 18)
ds-siNA-010	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 19)
	4hUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 20)
ds-siNA-011	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 21)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 22)
ds-siNA-012	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 23)
	v-munUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 24)
ds-siNA-013	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 25)
	c2o-4hUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 26)

ds-siNA-014	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 27)
	omeco-munUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 28)
ds-siNA-015	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 29)
	omeco-munUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 30)
ds-siNA-016	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 33)
	d2vmApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmA**f2P**mCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 34)
ds-siNA-050	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 111)
	coc-4hUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsm UpsmC (서열 식별 번호: 112)

mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; 5dcd3X = 화학식 17의 뉴클레오타이드; 5dfX = 화학식 16의 뉴클레오타이드; vX= 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; d2vX = 중수소화 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; vmX = 5' 바이닐 포스포네이트, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드;

omeco-d3U =  ; 4hU =  ; d2vd3U =  ; v-munU =  ; c2o-4hU =  ; coc-4hU =  ; omeco-munU =  ; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X는 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T)이다.

[0334] 추가적으로 또는 대안적으로, 개시되는 siNA는 또한 신규 미잠금 뉴클레오타이드 단량체를 포함할 수 있다. 이러한 신규한 미잠금 뉴클레오타이드는 구조가  (식 중 R_x는 핵염기, 아릴, 헤테로아릴 또는 H) 또는, 더 구체적으로,  (mun34)이며 식 중 R_y는 핵염기이다. 이러한 미잠금 뉴클레오타이드는 2'에서 3' 결합이 누락된(예를 들어, ) 당해 기술분야에서 공지된 미잠금 핵산(UNA)과 구별된다. 표 3은 이러한 미잠금 뉴클레오타이드를 포함하는 예시적인 siNA를 나타낸다. 3',4' UNA(예를 들어, mun34)를

포함하는 siNA는 개시되는 3', 4' UNA 중 1개 이상을 포함할 수 있으며 1개 이상의 3', 4' UNA는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 존재할 수 있다.

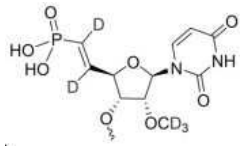
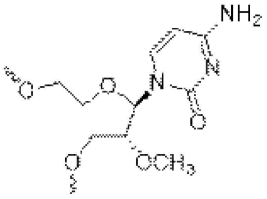
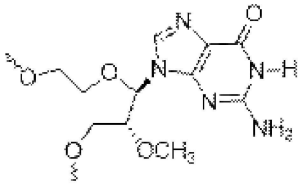
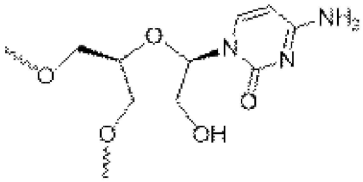
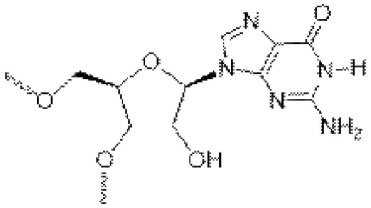
표 3

[0335] **변형된 미잠금 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA**

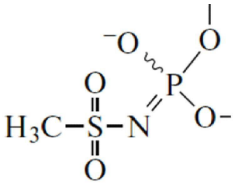
명칭	SS/AS(5'에서 3')
ds-siNA-017	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 35)
	mUpsfGpsmAmAfG**mun34C**mGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 36)
ds-siNA-018	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 37)
	mUpsfGpsmAmAfGmC**mun34G**fAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 38)
ds-siNA-019	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 39)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmC**mun34G**fAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 40)
ds-siNA-034	mCpsmCps**mun34**GmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 93)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-035	mCpsmCpsmG**mun34U**fGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 95)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-036	mCpsmCpsmGmUfG**mun34U**fGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 96)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-037	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfA**mun34C**mUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 97)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-038	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmC**mun34U**mUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 98)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-039	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmU**mun34U**mCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 99)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-040	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmU**mun34C**mGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 100)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-041	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmC**mun34G**mCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 101)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-042	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmG**mun34C**mUmUmCmA (서열 식별 번호: 102)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)

ds-siNA-043	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmC**mun34U**mUmCmA (서열 식별 번호: 103)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-044	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmU**mun34U**mCmA (서열 식별 번호: 104)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)
ds-siNA-045	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmU**mun34C**mA (서열 식별 번호: 105)
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)

mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; 5dcd3X = 화학식 17의 뉴클레오타이드; 5dfX = 화학식 16의 뉴클레오타이드; vX= 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; d2vX = 중수소화 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; vmX = 5' 바이닐 포스포네이트, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드;

d2vd3U =  ; mun34C =  ; mun34G =  ; unC =  ; unG =  ; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X는 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T)

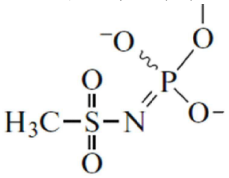
[0336] 추가적으로 또는 대안적으로, 개시되는 siNA는 또한 1개 이상의 메실 포스포로아미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함할 수 있다. 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결(또한 "yp"로도 공지됨)은 구조가



일 수 있다. 표 4는 이러한 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함하는 예시적인 siNA를 나타낸다. 메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결(표에서 "yp"로 표시되고 굵은체로 표시됨)을 포함하는 siNA는 1개 이상의 yp 연결을 포함할 수 있으며 1개 이상의 yp 연결은 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 존재할 수 있다.

표 4

[0337] **메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함하는 siNA**

명칭	SS/AS(5'에서 3')
ds-siNA-020	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 69)
	3'-mApsmGpsmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUypfUypmA-5' (서열 식별 번호: 70)
ds-siNA-021	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 71)
	3'-mAypmGypmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5' (서열 식별 번호: 72)
ds-siNA-022	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 73)
	3'-mAypmGypmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUypfUypmA-5' (서열 식별 번호: 74)
mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X은 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T); yp =  .	

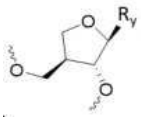
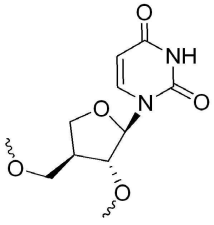
[0338] 추가적으로 또는 대안적으로, 개시되는 siNA는 또한 본원에서 "apN"로 지칭되는 신규한 단량체를 포함하며, 이는 구조가  이며, 식 중 Ry는 핵염기(예를 들어, U, A, G, T, C)를 나타내며, 일부 실시양태에서, apN은 "apU"이며, 이는 구조가  이다. 표 5은 이러한 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 예시적인 siNA를 나타낸다. apU 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA(표에서 "aU"로 표시되고 굵은체로 표시됨)는 1개 이상의 apU 뉴클레오타이드를 포함할 수 있으며 1개 이상의 apU 뉴클레오타이드는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 또는 둘 모두에서 존재할 수 있다.

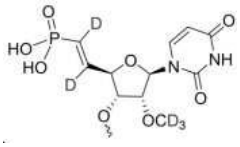
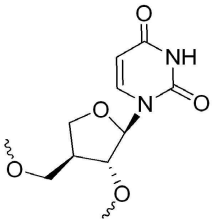
표 5

[0339] **변형된 apU 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA**

명칭	SS/AS(5'에서 3')
ds-siNA-026	mCpsmCpsmG**aU**fGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 77)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 78)
ds-siNA-027	mCpsmCpsmGmUfG**aU**fGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 79)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 80)
ds-siNA-028	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmU**aU**mCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 81)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 82)

ds-siNA-029	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCaUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 83)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 84)
ds-siNA-030	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUaUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 85)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 86)
ds-siNA-031	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 87)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGaUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 88)
ds-siNA-032	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 89)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsaUpsmC (서열 식별 번호: 90)
ds-siNA-033	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 91)
	aUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 92)

mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; 5dcd3X = 화학식 17의 뉴클레오타이드; 5dfX = 화학식 16의 뉴클레오타이드; vX= 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; d2vX = 중수소화 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; vmX = 5' 바이닐 포스포네이트, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드;

d2vd3U =  ; aU =  ; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X는 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T)이다.

[0340] **표적 유전자**

[0341] 이론에 얽매이지 않고, 세포 내로 진입 시, 임의의 본원에서 개시되는 ds-siNA 분자는 세포에 있는 단백질과 상호작용하여 RNA 유도 침묵 복합체(RISC)를 형성할 수 있다. ds-siNA가 RISC의 일부가 되면, ds-siNA는 풀어져 단일 가닥 siNA(ss-siNA)를 형성할 수 있다. ss-siNA는 ds-siNA의 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. 안티센스 가닥은 상보적 전령 RNA(mRNA)에 결합할 수 있으며, 이는 mRNA를 코딩하는 유전자의 침묵을 초래한다.

[0342] 표적 유전자는 세포에 있는 임의의 유전자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 바이러스 유전자이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 유전자는 DNA 바이러스로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, DNA 바이러스는 이중-가닥 DNA(dsDNA) 바이러스이다. 일부 실시양태에서, dsDNA 바이러스는 헤파드나바이러스이다. 일부 실시양태에서, 헤파드나바이러스는 B형 간염 바이러스(HBV)이다. 일부 실시양태에서, HBV는 HBV 유전자형 A 내지 J로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 질환은 RNA 바이러스에 의해 야기된다. 일부 실시양태에서, RNA 바이러스는 단일 가닥 RNA 바이러스(ssRNA 바이러스)이다. 일부 실시양태에서, ssRNA 바이러스는 양성-센스 단일 가닥 RNA 바이러스((+)ssRNA 바이러스)이다. 일부 실시양태에서, (+)ssRNA 바이러스는 코로나바이러스이다. 일부 실시양태에서, 코로나바이러스는 β-코로나바이러스이다. 일부 실시양태에서, β-코로나 바이러스는 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2)(또한 임시 명칭 2019 신종 코로나바이러스 또는 2019-nCoV로도 공지됨), 인간 코로나바이러스 OC43(hCoV-OC43), 중동 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(MERS-CoV, 임시 명칭 2012 신종 코로나바이러스 또는 2012-nCoV로도 공지됨) 및 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(SARS-CoV, 또한 SARS-CoV-1로도 공지됨)로 구성되는 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, β-코로나바이러스는 코로나-19의 원인 물질인 SARS-CoV-2이다. 일부 예시적인 표적 유전자는 본 명세서 마지막 부분의 표 17에서 나타나 있다.

[0343] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 HBV의 S 유전자 또는 X 유전자로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, HBV는 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제U95551.1호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 서열 식별 번호: 55의 뉴클레오타이드 서열에서 나타낸 유전체 서열을 갖는다.

[0344] 예시적인 HBV 유전체 서열은 전문이 참조에 의해 원용되는 Genbank 수탁 번호 제KC315400.1호에 상응하는 서열 식별 번호: 60에서 나타나 있다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 2307..3215,1..1623은 중합효소 단백질을 코딩하는 중합효소/RT 유전자 서열에 상응한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 2848..3215,1..835는 대형 S 단백질을 코딩하는 PreS1/S2/S 유전자 서열에 상응한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 3205..3215,1..835는 중형 S 단백질을 코딩하는 PreS2/S 유전자 서열에 상응한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 155..835는 소형 S 단백질을 코딩하는 S 유전자 서열에 상응한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 1374..1838은 X 단백질을 코딩하는 X 유전자 서열에 상응한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 1814..2452는 프리코어/코어 단백질을 코딩하는 PreC/C 유전자 서열에 상응한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 1901..2452는 코어 단백질을 코딩하는 C 유전자 서열에 상응한다. HBV 유전체는 바이러스 프로모터(preS2, preS1, 코어 및 X) 및 인핸서 요소(ENH1 및 ENH2)와 같은 바이러스 조절 요소를 추가로 포함한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 1624..1771은 ENH2에 상응한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 1742..1849는 코어 프로모터에 상응한다. 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 1818...3215,1..1930은 코어 및 중합효소 단백질을 코딩하는 전유전체 RNA(pgRNA)에 상응한다.

[0345] 일부 실시양태에서, 센스 가닥은 HBV의 X 영역 또는 HBV의 S 영역에서 시작되는 바이러스 표적 RNA 서열과 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적이거나 이와 혼성화하는 서열을 포함한다. 바이러스 표적은 예를 들어, 수탁번호 제KC315400.1호(유전형 B, "gt B") 또는 유전형 A, C 또는 D 중 임의의 하나에 있는 표적 부위의 5' 말단에서 시작될 수 있다. 통상의 기술자는 예를 들어, 문헌[Wing-Kin Sung, 등, *Nature Genetics* 44:765 (2012)]에서 설명되는 바와 같이 HBV 위치를 이해할 것이다. 일부 실시양태에서, S 영역은 소형 S 단백질(유전자형 B KC315400.1 단리체에 있음, 위치 #155)의 시작부터 X 단백질(유전자형 B KC315400.1 단리체에 있음, 위치 #1373)의 시작 전으로 정의된다. 일부 실시양태에서, X 영역은 시작 X 단백질(유전자형 B KC315400.1 단리체에 있음, 위치 #1374)의 시작부터 DR2 부위(유전자형 B KC315400.1 단리체에 있음, 위치 #1603)의 끝까지로 정의된다.

[0346] 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 55의 위치 200 내지 720 또는 1100 내지 1700 내에 있는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 55의 위치 200 내지 280, 300 내지 445, 460 내지 510, 650 내지 720, 1170 내지 1220, 1250 내지 1300 또는 1550 내지 1630 내에 있는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 55의 위치 200 내지 230, 250 내지 280, 300 내지 330, 370 내지 400, 405 내지 445, 460 내지 500, 670 내지 700, 1180 내지 1210, 1260 내지 1295, 1520 내지 1550 또는 1570 내지 1610 내에 있는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적이다. 일부 실시양태에서, 제2 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 55의 위치 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 또는 1584에서 시작하는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 상보적이다.

[0347] 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드는 서열 식별 번호: 55 내에 있는 뉴클레오타이드 영역과 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일하며, 단, 서열 식별 번호: 55의 타이민(Ts)은 유라실(U)로 대체된다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 55의 위치 200 내지 720 또는 1100 내지 1700 내에 있는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 55의 위치 200 내지 280, 300 내지 445, 460 내지 510, 650 내지 720, 1170 내지 1220, 1250 내지 1300 또는 1550 내지 1630 내에 있는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17

내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 55의 위치 200 내지 230, 250 내지 280, 300 내지 330, 370 내지 400, 405 내지 445, 460 내지 500, 670 내지 700, 1180 내지 1210, 1260 내지 1295, 1520 내지 1550 또는 1570 내지 1610 내에 있는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 55의 위치 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 또는 1584에서 시작하는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 적어도 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일하다.

[0348] 여러 질환을 야기하는 코로나바이러스는 비구조 단백질(nsp)을 코딩하는 유전체 영역, 더 구체적으로 nsp8 내지 nsp15를 코딩하는 영역에서 고수준의 상동성을 공유한다. 실제로, 2019-nCoV의 약 뉴클레오타이드 12900에서 약 뉴클레오티드 19900까지의 대략 7kB β-코로나바이러스 서열 전체에 걸쳐 대략 65%의 동일성이 있으며, nsp8 내지 nsp15의 유전체 범위의 일부 하위 부분은 95% 이상의 동일성을 포함할 수 있다. 이러한 영역의 모든 유전자는 복제와 연관되는 비구조 단백질을 코딩한다. 따라서, 유전체의 이러한 부분은 MERS-CoV, SARS-CoV-1 및 SARS-CoV-2와 같은 다수의 상이한 유형의 코로나바이러스에 대한 광범위한 치료를 제공할 수 있는 siNA를 사용한 표적화에 적합하다.

[0349] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 SARS-CoV-2의 유전체로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, SARS-CoV-2는 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제NC_045512.2호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 서열 식별 번호: 74의 뉴클레오타이드 서열에서 나타낸 유전체 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 서열 식별 번호: 74 내에서 길이가 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 17 내지 23, 19 내지 23 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드 및 바람직하게는 길이가 19 내지 21개의 뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 가닥 서열은 서열 식별 번호: 74의 위치 190 내지 216, 233 내지 279, 288 내지 324, 455 내지 477, 626 내지 651, 704 내지 723, 3352 내지 3378, 5384 내지 5403, 6406 내지 6483, 7532 내지 7551, 9588 내지 9606, 10484 내지 10509, 11609 내지 11630, 11834 내지 11853, 12023 내지 12045, 12212 내지 12234, 12401 내지 12420, 12839 내지 12867, 12885 내지 12924, 12966 내지 12990, 13151 내지 13176, 13363 내지 13386, 13388 내지 13416, 13458 내지 13416, 13458 내지 13520, 13762 내지 13790, 14290 내지 14312, 14404 내지 14429, 14500 내지 14531, 14623 내지 14642, 14650 내지 14687, 14698 내지 14717, 14722 내지 14748, 14750 내지 14777, 14821 내지 14846, 14854 내지 14873, 14875 내지 14903, 14962 내지 14990, 14992 내지 15020, 15055 내지 15140, 15172 내지 15200, 15310 내지 15332, 15346 내지 15367, 15496 내지 15518, 15622 내지 15644, 15838 내지 15869, 15886 내지 15905, 15985 내지 16010, 16057 내지 16079, 16186 내지 16205, 16430 내지 16448, 16822 내지 16865, 16954 내지 16976, 17008 내지 17042, 17080 내지 17111, 17137 내지 17156, 17269 내지 17289, 17530 내지 17549, 17563 내지 17582, 17680 내지 17699, 17746 내지 17765, 17857 내지 17876, 17956 내지 17975, 18100 내지 18122, 18196 내지 18218, 19618 내지 19639, 19783 내지 19802, 19831 내지 19850, 20107 내지 20130, 20776 내지 20795, 21502 내지 21524, 24302 내지 24325, 24446 내지 24465, 24620 내지 24651, 24662 내지 24684, 25034 내지 25057, 25104 내지 25128, 25364 내지 25387, 25502 내지 25530, 26191 내지 26227, 26232 내지 26267, 26269 내지 26330, 26332 내지 26394, 26450 내지 26481, 26574 내지 26600, 27003 내지 27064, 27093 내지 27111, 27183 내지 27212, 27382 내지 27407, 27511 내지 27533, 27771 내지 27818, 28270 내지 28296, 28397 내지 28434, 28513 내지 28546, 28673 내지 28692, 28706 내지 28726, 28744 내지 28794, 28799 내지 28827, 28946 내지 28972, 28976 내지 29034, 29144 내지 29172, 29174 내지 29196, 29228 내지 29259, 29285 내지 29305, 29342 내지 29394, 29444 내지 29463, 29543 내지 29566, 29598 내지 29630, 29652 내지 29687, 29689 내지 29731, 29733 내지 29757 또는 29770 내지 29828 내에 있는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드, 및 바람직하게는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드, 및 가장 바람직하게는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 상보적이다. 일부 실시양태에서, 센스 가닥 서열은 서열 식별 번호: 74의 위치 190 내지 216, 233 내지 279, 288 내지 324, 455 내지 477, 626 내지 651, 704 내지 723, 3352 내지 3378, 5384 내지 5403, 6406 내지 6483, 7532 내지 7551, 9588 내지 9606, 10484 내지 10509, 11609 내지 11630, 11834 내지 11853, 12023 내지 12045, 12212 내지 12234, 12401 내지 12420, 12839 내지 12867, 12885 내지 12924, 12966 내지 12990, 13151 내지 13176, 13363 내지 13386, 13388 내지 13416, 13458 내지 13416, 13458

내지 13520, 13762 내지 13790, 14290 내지 14312, 14404 내지 14429, 14500 내지 14531, 14623 내지 14642, 14650 내지 14687, 14698 내지 14717, 14722 내지 14748, 14750 내지 14777, 14821 내지 14846, 14854 내지 14873, 14875 내지 14903, 14962 내지 14990, 14992 내지 15020, 15055 내지 15140, 15172 내지 15200, 15310 내지 15332, 15346 내지 15367, 15496 내지 15518, 15622 내지 15644, 15838 내지 15869, 15886 내지 15905, 15985 내지 16010, 16057 내지 16079, 16186 내지 16205, 16430 내지 16448, 16822 내지 16865, 16954 내지 16976, 17008 내지 17042, 17080 내지 17111, 17137 내지 17156, 17269 내지 17289, 17530 내지 17549, 17563 내지 17582, 17680 내지 17699, 17746 내지 17765, 17857 내지 17876, 17956 내지 17975, 18100 내지 18122, 18196 내지 18218, 19618 내지 19639, 19783 내지 19802, 19831 내지 19850, 20107 내지 20130, 20776 내지 20795, 21502 내지 21524, 24302 내지 24325, 24446 내지 24465, 24620 내지 24651, 24662 내지 24684, 25034 내지 25057, 25104 내지 25128, 25364 내지 25387, 25502 내지 25530, 26191 내지 26227, 26232 내지 26267, 26269 내지 26330, 26332 내지 26394, 26450 내지 26481, 26574 내지 26600, 27003 내지 27064, 27093 내지 27111, 27183 내지 27212, 27382 내지 27407, 27511 내지 27533, 27771 내지 27818, 28270 내지 28296, 28397 내지 28434, 28513 내지 28546, 28673 내지 28692, 28706 내지 28726, 28744 내지 28794, 28799 내지 28827, 28946 내지 28972, 28976 내지 29034, 29144 내지 29172, 29174 내지 29196, 29228 내지 29259, 29285 내지 29305, 29342 내지 29394, 29444 내지 29463, 29543 내지 29566, 29598 내지 29630, 29652 내지 29687, 29689 내지 29731, 29733 내지 29757 또는 29770 내지 29828 내에 있는 15 내지 30, 15 내지 25, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 17 내지 25, 17 내지 23, 17 내지 22, 17 내지 21 또는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드, 및 바람직하게는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드 및 가장 바람직하게는 19 내지 21개의 뉴클레오타이드와 동일하다.

[0350] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 SARS-CoV의 유전체로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, SARS-CoV는 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제NC_004718.3호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 유전체를 갖는다.

[0351] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 MERS-CoV의 유전체로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, MERS-CoV는 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제NC_019843.3호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 유전체를 갖는다.

[0352] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 hCoV-OC43의 유전체로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, hCoV-OC43은 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제NC_006213.1호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 유전체를 갖는다.

[0353] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 간 대사에 관여한다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 전자 수송 사슬의 억제제이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 MCJ 단백질(MCJ/DnaJC15 또는 메틸화 제어 J 단백질)을 코딩한다. 일부 실시양태에서, MCJ 단백질은 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제NM_013238.3호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 서열 식별 번호: 56의 mRNA 서열에 의해 코딩된다.

[0354] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 TAZ이다. 일부 실시양태에서, TAZ는 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제NM_000116.5호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 서열 식별 번호: 57의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0355] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 안지오포이에틴 유사 3(ANGPTL3)이다. 일부 실시양태에서, ANGPTL3은 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제NM_014495.4호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 서열 식별 번호: 60의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0356] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 다이아실글리세롤 아실전이효소 2(DGAT2)이다. 일부 실시양태에서, DGAT2은 전문이 참조에 의해 원용되는 GenBank 수탁 번호 제NM_001253891.1호의 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 서열 식별 번호: 59의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0357] **조성물**

[0358] 위에서 나타내는 바와 같이, 본 개시내용은 임의의 본원에서 설명되는 siNA 분자, 센스 가닥, 안티센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열 또는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 조성물을 제공한다. 조성물은 본원에서 설명되는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개 또는 그 이상의 siNA 분자를 포함할 수 있다. 조성물은 서열 식별 번호: 1 및 2 중 임의의 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 서열 식별 번호: 51 내지 74 중 임의의 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 서열 식별 번호: 1 및 2 중 임의의 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 서열 식별 번호: 51

내지 74 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0359] 대안적으로, 조성물은 (a) 인산화 차단제; 및 (b) 짧은 간섭 핵산(siNA)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 임의의 본원에서 개시되는 인산화 차단제이다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 개시되는 siNA이다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 설명되는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열 또는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 설명되는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열 또는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, siNA는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 및 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 임의의 본원에서 개시되는 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오티드 모방체로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 개시되는 변형 패턴을 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0360] 일부 실시양태에서, 조성물은 (a) 접합된 모이어티; 및 (b) 짧은 간섭 핵산(siNA)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 임의의 본원에서 개시되는 갈락토사민이다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 개시되는 siNA이다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 설명되는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열 또는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 설명되는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열 또는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, siNA는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 및 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 임의의 본원에서 개시되는 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오티드 모방체로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 개시되는 변형 패턴을 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0361] 일부 실시양태에서, 조성물은 (a) 5' 안정화 말단 캡; 및 (b) 짧은 간섭 핵산(siNA)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 임의의 본원에서 개시되는 5 안정화 말단 캡이다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 개시되는 siNA이다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 설명되는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열 또는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, siNA는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 및 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 임의의 본원에서 개시되는 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오티드 모방체로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 개시되는 변형 패턴을 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0362] 일부 실시양태에서, 조성물은 (a) 적어도 1개의 인산화 차단제, 접합된 모이어티 또는 5' 안정화 말단 캡; 및 (b) 짧은 간섭 핵산(siNA)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 인산화 차단제는 임의의 본원에서 개시되는 인산화 차단제이다. 일부 실시양태에서, 접합된 모이어티는 임의의 본원에서 개시되는 갈락토사민이다. 일부 실시양태에서, 5' 안정화 말단 캡은 임의의 본원에서 개시되는 5 안정화 말단 캡이다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 개시되는 siNA이다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 설명되는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 제1 뉴클레오타이드 서열 또는 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, siNA는 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 뉴클레오타이드 및 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 2'-플루오로 뉴클레오타이드 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드는 임의의 본원에서 개시되는 2'-플루오로 또는 2'-*O*-메틸 뉴클레오티드 모방체로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, siNA는 임의의 본원에서 개시되는 변형 패턴을 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0363] 조성물은 약제학적 조성물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 1개 이상의 약제학적으로 허용 가능한 담체(부가제) 및/또는 희석제와 함께 제제화되는 특정량의 본원에서 설명되는 1개 이상의 siNA 분자를 포함한다. 약제학적 조성물은 다음에 적합하도록 구성되는 것을 포함하여 고체 또는 액체 형태로 투여하기 위해 특수하게 제제화될 수 있다: (1) 경구 투여, 예를 들어, 드렌치(drench)(수성 또는 비수성 용액 또는 현탁액), 정제, *예를 들어*, 협측, 설하 및 전신 흡수를 표적으로 하는 정제, 볼루스, 산제, 과립제, 혀에 적용하기 위한 페이스트; (2) 비경구 투여, 예를 들어, 피하, 근육내, 정맥내 또는 경막외 주사에 의해, 예를 들어, 멸균 용액 또는 현탁액 또는 서방형 제제로서; (3) 국부 적용, 예를 들어, 피부에 적용되는 크림, 연고 또는 제어 방출 패치 또는 스프레이; (4) 질내 또는 직장내, 예를 들어, 질좌제, 크림 또는 폼으로서; (5) 설하; (6) 안구; (7)

경피; 또는 (8) 비강.

[0364] 본원에서 사용되는 어구 "치료적 유효량"은 임의의 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 유익/유해비로 동물에 있는 세포의 적어도 하위집단에 일부 목적하는 치료 효과를 생성하기 위해 효과적인 화합물, 물질 또는 본 개시내용의 siNA를 포함하는 조성물의 양을 의미한다.

[0365] 어구 "약제학적으로 허용 가능한"은 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하기 위해 사용하기에 적합한, 건전한 의학적 판단의 범위 내에서, 합리적인 이익/위험 비율에 적합한 그러한 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 투여 형태를 지칭하기 위해 본원에서 사용된다.

[0366] 습윤제, 유화제 및 활택제, 예컨대 황산 라우릴 나트륨 및 스테아르산마그네슘뿐만 아니라, 착색제, 방출제, 코팅제, 감미료, 향료 및 향수 제제, 보존제 및 황산화제는 또한 조성물에 존재할 수 있다.

[0367] 약제학적으로 허용 가능한 항산화제의 예는 (1) 수용성 항산화제, 예컨대, 아스코르브산, 시스테인 하이드로클로라이드, 소듐 바이설페이트, 소듐 메타바이설페이트, 소듐 설파이트 등; (2) 지용성 황산화제, 예컨대, 아스코르빌 팔미테이트, 뷰틸화 하이드록시아니솔(BHA), 뷰틸화 하이드록시톨루엔(BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속 킬레이트화제, 예컨대 시트르산, 에틸렌다이아민 테트라아세트산(EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등을 포함한다.

[0368] 본 개시내용의 제제는 경구, 비강, 국소(협측 및 설하를 포함), 직장, 질내 및/또는 비경구 투여에 적합한 것을 포함한다. 상기 제형은 편리하게는 단위 투여 형태로 제시될 수 있고, 약학의 분야에 널리 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 단일 투여 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료되는 숙주, 특정 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 단일 투여 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 일반적으로 치료 효과를 생성하는 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)의 양일 것이다. 일반적으로, 100% 중, 이러한 양은 약 0.1% 내지 약 99%의 활성 성분, 바람직하게는, 약 5% 내지 약 70%, 가장 바람직하게는, 약 10% 내지 약 30%의 활성 성분의 범위일 것이다.

[0369] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 제제는 사이클로덱스트린, 셀룰로스, 리포솜, 마이셀 형성제, *예를 들어*, 담즙산 및 중합체성 담체, *예를 들어*, 폴리에스터 및 폴리안하이드라이드로 구성되는 군으로부터 선택되는 부형제; 및 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 상위에서 언급되는 제제는 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)이 경구로 생체이용 가능하게 한다.

[0370] 이러한 제제 또는 조성물을 제조하는 방법은 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)을 담체 및, 선택적으로, 하나 이상의 보조 성분과 회합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제제는 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)을 액체 담체, 또는 미분된 고체 담체 또는 둘 모두와 균일하고 친밀하게 회합시킨 후, 필요한 경우, 생성물을 성형하여 제조된다.

[0371] 경구 투여에 적합한 본 개시내용의 제제는 캡슐, 카세, 환제, 정제, 로젠지(가향 기준, 보통 수크로스 및 아카시아 또는 트라가칸트를 사용), 산제, 과립제의 형태이거나, 또는 수성 또는 비수성 액체 중의 용액 또는 현탁액으로서, 또는 수중유 또는 유중수 액체 유화액으로서, 또는 엘릭시르 또는 시럽으로서, 또는 파스틸(불활성 기제, 예컨대 젤라틴 및 글리세린, 또는 수크로스 및 아카시아를 사용)로서 및/또는 구강 세척제 등으로서일 수 있으며, 각각은 활성 성분으로서 기결정량의 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)을 함유한다. 또한, 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)은 볼루스, 연질약 또는 페이스트로서 투여될 수 있다.

[0372] 경구 투여를 위한 본 개시내용의 고체 투여 형태(캡슐, 정제, 환제, 당제, 산제, 과립제, 트루치(trouch) 등)에서, 활성 성분은 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 담체, 예컨대, 소듐 시트레이트 또는 다이칼슘 포스페이트 및/또는 다음 중 임의의 것과 혼합된다: (1) 충전제 또는 증량제, 예컨대, 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및/또는 규산; (2) 결합제, 예컨대, 카복시메틸셀룰로스, 알지네이트, 젤라틴, 폴리바이닐 피롤리돈, 수크로스 및/또는 아카시아; (3) 보습제, 예컨대, 글리세롤; (4) 붕해제, 예컨대, 한천-한천, 칼슘 카보네이트, 감자 또는 타피오카 전분, 알진산, 특정 실리케이트 및 소듐 카보네이트; (5) 용액 지연제, 예컨대, 파라핀; (6) 흡수 가속화제, 예컨대, 4차 암모늄 화합물 및 계면활성제, 예컨대, 폴록사머 및 소듐 라우릴 설페이트; (7) 습윤제, 예컨대, 세틸 알코올, 글리세롤 모노스테아레이트 및 비이온성 계면활성제; (8) 흡수제, 예컨대, 카올린 및 벤토나이트 점토; (9) 윤활제, 예컨대, 활석, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글라이콜, 소듐 라우릴 설페이트, 아연 스테아레이트, 소듐 스테아레이트, 스테아르산 및 이들의 혼합물; (10) 착색제; 및 (11) 제어 방출제, 예컨대, 크로스포비돈 또는 에틸 셀룰로스.

[0373] 캡슐, 정제 및 환제의 경우에, 약제학적 조성물은 또한 완충제를 포함할 수 있다. 유사한 유형의 고체 조성물은

또한 락토스 또는 유당뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 및 기타와 같은 부형제를 사용하여 연질 쉘 및 경질 쉘의 젤라틴 캡슐에서 충전제로서 사용될 수 있다.

[0374] 정제는 임의로 하나 이상의 보조 성분과 함께 압축 또는 성형으로 만들 수 있다. 압축 정제를 결합제(예를 들면, 젤라틴 또는 하이드록시프로필메틸 셀룰로스), 활택제, 불활성 희석제, 보존제, 붕괴제(예를 들면, 나트륨 전분 글리콜레이트 또는 가교결합된 나트륨 카복시메틸 셀룰로스), 표면-활성제 또는 분산제를 사용하여 제조할 수 있다. 성형 정제는 불활성 액체 희석제로 적신 분말의 화합물의 혼합물을 적합한 기계에서 성형함으로써 제조될 수 있다.

[0375] 본 개시내용의 약제학적 조성물의 정제, 및 다른 고체 투여 형태, 예컨대, 당제, 캡슐, 환제 및 과립은 선택적으로 코팅 및 셸(shell), 예컨대, 장용 코팅 및 약제학적 제제화 분야에서 공지되어 있는 다른 코팅으로 스코어링되거나 제조될 수 있다. 이들은 또한 원하는 방출 프로필을 제공하기 위한 다양한 비율의 하이드록시프로필메틸 셀룰로오스, 다른 중합체 매트릭스, 리포좀 및/또는 마이크로스피어를 사용하여 본원의 활성 성분의 느린 방출 또는 제어 방출을 제공하도록 제형화될 수 있다. 이들은 신속한 방출을 위해 제제화, *예를 들어*, 동결-건조될 수 있다.

[0376] 이들은, 예를 들어, 박테리아-보유 필터를 통한 여과에 의해, 또는 사용 직전에 멸균수 또는 일부 다른 멸균 주사 가능한 매질 중 용해될 수 있는 멸균 고체 조성물 형태에 멸균제를 혼입시켜 멸균될 수 있다. 이러한 조성물은 또한 선택적으로 불투명화제를 함유할 수 있고, 활성 성분(들)만을, 또는 우선적으로, 선택적으로, 지연된 방식으로 위장관의 특정 부분에서 방출하는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물의 예로는 중합체 물질 및 왁스를 포함한다. 활성 성분은 또한 적절하면 상기 기재된 부형제 중 하나 이상에 의해 마이크로캡슐화된 형태일 수 있다.

[0377] 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)의 경구 투여를 위한 액체 투여 형태는 약제학적으로 허용 가능한 유화액, 마이크로에멀션, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함한다. 활성 성분에 더하여, 액체 투약 형태는, 예를 들어, 물 또는 다른 용매, 가용화제 및 유화제, 예컨대, 에틸 알코올, 아이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글라이콜, 1,3-뷰틸렌 글라이콜, 오일(특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참깨유), 글리세롤, 테트라하이드로퓨릴 알코올, 폴리에틸렌 글라이콜 및 솔비탄의 지방산 에스터 및 이들의 혼합물과 같이 당해 기술분야에서 통상적으로 사용되는 불활성 희석제를 함유할 수 있다.

[0378] 불활성 희석제 외에, 경구 조성물은 또한 습윤제, 유화제 및 현탁화제, 감미제, 향미제, 착색제, 방향제 및 보존제와 같은 애쥬번트를 포함할 수 있다.

[0379] 현탁액은 활성 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)에 더하여, 예를 들어, 에톡실화 아이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스터, 미세결정질 셀룰로스, 알루미늄 메타하이드록사이드, 벤토나이트, 한천-한천 및 트라가칸트 및 이들의 혼합물과 같은 현탁화제를 함유할 수 있다.

[0380] 직장 또는 질 투여를 위한 본 개시내용의 약제학적 조성물의 제제는, 1개 이상의 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)를, 실온에서 고체이지만, 체온에서는 액체이고, 따라서, 직장 또는 질강에서 용융되고 활성제(*예를 들어*, siNA 분자)를 방출하는, 예를 들어, 코코아 버터, 폴리에틸렌 글라이콜, 좌약 왁스 또는 살리실레이트를 포함하는 1개 이상의 적합한 비자극성 부형제 또는 담체와 혼합하여 제조될 수 있는 좌약으로서 제시될 수 있다.

[0381] 또한, 질 투여에 적합한 본 개시내용의 제제는 적절한 것으로 당해 기술분야에서 공지된 이러한 담체를 함유하는 질좌제, 탐폰, 크림, 겔, 페이스트, 폼 또는 스프레이 제제를 포함한다.

[0382] 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)의 국소 또는 경피 투여를 위한 투약 형태는 분말, 스프레이, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 겔, 용액, 패치 및 흡입제를 포함한다. 활성 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)은 멸균 조건하에 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 필요할 수 있는 임의의 보존제, 완충제 또는 추진제와 혼합될 수 있다.

[0383] 연고, 페이스트, 크림 및 겔은, 본 개시내용의 활성 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)에 더하여, 동물 및 식물성 지방, 오일, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸트, 셀룰로스 유도체, 폴리에틸렌 글라이콜, 실리콘, 벤토나이트, 규산, 활석 및 산화 아연 또는 이들의 혼합물과 같은 부형제를 함유할 수 있다.

[0384] 분말 및 스프레이는, 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)에 더하여, 락토스, 활석, 규산, 알루미늄 하

이드록사이드, 칼슘 실리케이트 및 폴리아마이드 산제 또는 이러한 물질의 혼합물과 같은 부형제를 함유할 수 있다. 스프레이는 클로로플루오로탄화수소 및 휘발성 비치환 탄화수소, 예컨대, 부탄 및 프로판과 같은 통상적인 분사제를 추가로 함유할 수 있다.

[0385] 피부경유 패치는 신체에 대한 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)의 제어된 전달을 제공하는 부가된 이점을 갖는다. 이러한 투여 형태는 활성 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)을 적절한 매질에 용해 또는 분산시켜 제조될 수 있다. 흡수 증강제는 또한 피부에 걸친 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)의 유입(flux)을 증가시키도록 사용될 수 있다. 이러한 유입의 속도는 속도 제어 막을 제공하거나 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)을 중합체 매트릭스 또는 겔에 분산시켜 제어될 수 있다.

[0386] 안과용 제제, 안 연고, 산제, 용액 등이 또한 본 개시내용의 범위 내인 것으로 상정된다.

[0387] 비경구 투여에 적합한 본 개시내용의 약제학적 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 멸균 등장성 수성 또는 비수성 용액, 분산액, 현탁액 또는 유화액 또는 당, 알코올, 항산화제, 완충제, 세균발육저지제, 의도된 수용자의 혈액과 제제를 등장성으로 만드는 용질, 또는 현탁화제 또는 증점제를 함유할 수 있는, 멸균 주사용 용액 또는 분산액으로 사용 직전에 재구성될 수 있는 멸균 산제와 조합되는 본 개시내용의 1개 이상의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)를 포함한다.

[0388] 본 개시내용의 약제학적 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올(예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글라이콜, 폴리에틸렌 글라이콜 등), 및 이들의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대, 올리브 오일, 및 주사 가능한 유기 에스터, 예컨대, 에틸 올레에이트를 포함한다. 적절한 유동성은 예를 들면 레시틴과 같은 코팅 재료의 사용에 의해, 분산의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다.

[0389] 이러한 조성물은 또한 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제와 같은 애쥬번트를 함유할 수 있다. 당해 화합물에 대한 미생물 작용의 방지는 다양한 항균 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 소르브산, 등을 포함함으로써 보장될 수 있다. 또한, 당, 염화나트륨 등과 같은 등장제를 조성물에 포함시키는 것이 바람직할 수 있다. 또한, 모노스테아린산 알루미늄 및 젤라틴과 같이 흡수를 지연시키는 작용제를 포함함으로써 주사성 약제학적 형태의 장기간 흡수를 야기할 수 있다.

[0390] 일부 경우에, 약물의 효과를 연장하기 위해, 피하 또는 근육내 주사로부터 약물의 흡수를 늦추는 것이 바람직하다. 이는 불량한 수용해도를 갖는 결정질 재료 또는 무정질 재료의 액체 현탁액의 사용에 의해 달성될 수 있다. 약물의 흡수 속도는 이후 이의 분해 속도에 따라 달라지며, 이는 결국 결정 크기 및 결정질 형태에 따라 달라질 수 있다. 대안적으로, 비경구 투여된 약물 형태의 흡수 지연은 약물을 오일 비히클에 용해시키거나 현탁시킴으로써 달성된다.

[0391] 주사 가능한 데포 형태는 폴리락타이드-폴리글라이콜리드와 같은 생분해성 중합체에서 대상 화합물(예를 들어, siNA 분자)의 마이크로캡슐화된 매트릭스를 형성하여 제조된다. 약물 대 중합체의 비, 및 이용되는 특정 중합체의 속성에 따라, 약물 방출 속도가 제어될 수 있다. 다른 생분해성 폴리머의 예는 폴리(오쏘에스터) 및 폴리(무수물)을 포함한다. 데포 주사가능한 제형은 또한 신체 조직과 호환가능한 리소솜 또는 마이크로에멀젼에 약물을 포획함으로써 제조된다.

[0392] 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)이 약제로서 인간 및 동물에게 투여되는 경우, 이들은 그 자체로 또는, 예를 들어, 0.1 내지 99%(더 바람직하게는, 10 내지 30%)의 활성 성분을 약제학적으로 허용 가능한 담체와 조합하여 함유하는 약제학적 조성물로서 제공될 수 있다.

[0393] **치료 및 투여**

[0394] 본 개시내용의 siNA 분자는 질환의 치료가 필요한 대상체에서 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 질환의 치료가 필요한 대상체에서 질환을 치료하는 방법은 대상체에게 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 질환의 치료가 필요한 대상체에서 질환을 치료하는 방법은 대상체에게 임의의 본원에서 개시되는 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0395] 본 개시내용의 제제(*예를 들어*, siNA 분자 또는 조성물)는 경구, 비경구, 국소 또는 직장으로 제공될 수 있다. 이들은 물론 각각의 투여 경로에 적합한 형태로 제공된다. 예를 들어, 이들은 정제 또는 캡슐 형태로, 주사, 주입 또는 흡입에 의한 투여에 의해; 로션 또는 연고에 의해 국소로; 및 좌제에 의해 직장으로 투여된다. 경구 투여가 바람직하다.

[0396] 본원에서 사용되는 어구 "비경구 투여" 및 "비경구 투여되는"은 장 및 국소 투여 이외의 일반적으로 주사에 의한 투여 방식을 의미하며 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 기관간, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내 및 흉골내 주사 및 주입을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0397] 본원에서 사용되는 문구 "전신 투여", "전신적으로 투여된", "말초 투여" 및 "말초로 투여된"은 중추 신경계 내로 직접 투여되지 않는 화합물, 약물 또는 다른 물질의 투여를 의미하며, 따라서 이는 환자의 전신에 진입하고, 따라서 신진대사 및 다른 유사한 과정, 예를 들어 피하 투여에 종속된다.

[0398] 이러한 화합물은 경구로, 예를 들면 스프레이에 의한 것처럼 비강으로, 직장으로, 질내로, 비경구로, 수조내로 및 산제, 연고 또는 드랍에 의해 협측 및 설하를 포함하여 국소로를 포함하는 임의의 적합한 투여 경로에 의해 치료를 위해 인간 및 다른 동물에게 투여될 수 있다.

[0399] 선택된 투여 경로와 무관하게, 적합한 수화된 형태로 사용될 수 있는 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자) 및/또는 본 개시내용의 약제학적 조성물은 통상의 기술자에게 공지된 종래의 방법에 의해 약제학적으로 허용 가능한 투여 형태로 제제화된다.

[0400] 본 개시내용의 약제학적 조성물에서 활성 성분의 실제 투여 수준은 환자에 대한 독성 없이 특정 환자에 대해 목적하는 치료 반응, 조성물 및 투여 방식을 달성하기에 효과적인 활성 성분의 양을 수득하도록 변할 수 있다.

[0401] 선택된 투여량 수준은 사용되는 본 개시내용의 특정 화합물(*예를 들어*, siNA 분자), 또는 이의 에스터, 염 또는 아마이드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정 화합물(들)의 배설 또는 대사 속도, 흡수 속도 및 정도, 치료 기간, 사용되는 특정 화합물(들)과 함께 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료받는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 일반적인 건강 및 이전 병력, 및 의료 분야에서 널리 공지된 유사 인자를 포함하는 다양한 인자에 의존할 것이다.

[0402] 당해 기술 분야의 통상의 기술을 가진 의사 또는 수의사는 필요한 약제학적 조성물의 유효량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사 또는 수의사는 목적하는 치료 효과를 달성하기 위해 필요한 것보다 낮은 수준에서 약제학적 조성물에서 사용되는 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)의 투여를 시작하고 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점진적으로 증가시킬 수 있다.

[0403] 일반적으로, 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)의 적합한 1일 투여량은 치료 효과를 생성하는데 효과적인 최저 용량인 화합물의 양이다. 이러한 유효 용량은 일반적으로 위에 기재된 인자에 따라 달라진다. 바람직하게는, 화합물은 약 0.01 mg/kg 내지 약 200 mg/kg, 더 바람직하게는 약 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 보다 더 바람직하게는 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.11, 0.12, 0.13, 0.14, 0.15, 0.16, 0.17, 0.18, 0.19, 0.20, 0.21, 0.22, 0.23, 0.24, 0.25, 0.26, 0.27, 0.28, 0.29, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.50, 0.55, 0.60, 0.65, 0.7, 0.75, 0.8, 0.85, 0.9, 0.95 또는 1 mg/kg 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20 또는 15 mg/kg 미만의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물의 총 1일 용량은 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 또는 100 mg 이상이다.

[0404] 본원에서 설명되는 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)이 다른 것과 공동 투여되는 경우, 유효량은 화합물이 단독으로 사용되는 경우보다 적을 수 있다.

[0405] 목적하는 경우, 활성 화합물(*예를 들어*, siNA 분자)의 효과적인 1일 용량은, 선택적으로, 단위 투여 형태로 1일 전체에 걸쳐 적절한 간격으로 별도로 투여되는 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 하위 용량으로 투여될 수 있다. 바람직한 투약은 1일 1회 투여이다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 1주 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 1개월 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 매 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21일 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 매 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8주 1회 투여된다.

[0406] **질환**

[0407] 본원에서 설명되는 siNA 분자 및 조성물은 질환을 치료하기 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 질환을 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자 또는 조성물의 용도가 추가로 본원에서 개시된

다.

[0408] 일부 실시양태에서, 질환은 바이러스 질환이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 질환은 DNA 바이러스에 의해 야기된다. 일부 실시양태에서, DNA 바이러스는 이중가닥 DNA(dsDNA 바이러스)이다. 일부 실시양태에서, dsDNA 바이러스는 헤파드나바이러스이다. 일부 실시양태에서, 헤파드나바이러스는 B형 간염 바이러스(HBV)이다.

[0409] 일부 실시양태에서, 질환은 간 질환이다 일부 실시양태에서, 간 질환은 비알코올성 지방간 질환(NAFLD)이다. 일부 실시양태에서, NAFLD는 비알코올성 지방간염(NASH)이다. 일부 실시양태에서, 간 질환은 간세포암종(HCC)이다.

[0410] 본 개시내용의 siNA 분자는 질환의 치료가 필요한 대상체에서 질환을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 질환의 치료가 필요한 대상체에서 질환을 치료하거나 예방하는 방법은 대상체에게 임의의 본원에서 개시되는 siNA 분자를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 질환의 치료가 필요한 대상체에서 질환을 치료하거나 예방하는 방법은 대상체에게 임의의 본원에서 개시되는 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0411] 개시되는 방법 및 용도의 일부 실시양태에서, 질환은 호흡기 질환이다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 바이러스 감염이다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 바이러스 폐렴이다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 급성 호흡기 감염이다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 감기이다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 중증 급성 호흡기 증후군(SARS)이다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 중동 호흡기 증후군(MERS)이다. 일부 실시양태에서, 질환은 코로나바이러스 질환 2019(예를 들어, 코로나-19)이다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 기침, 인후통, 콧물, 재채기, 두통, 발열, 숨가쁨, 근육통, 복통, 피로, 호흡 곤란, 지속적인 흉통 또는 압박감, 각성 곤란, 후각 및 미각 상실, 근육 또는 관절통, 오한, 메스꺼움 또는 구토, 코막힘, 설사, 객혈, 결막 충혈, 가래 생성, 흉부 압박감 및 심계항진으로부터 선택되는 1개 이상의 증상을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 부비동염, 중이염, 폐렴, 급성 호흡 곤란 증후군, 파종성 혈관내 응고, 심낭염 및 신부전으로부터 선택되는 합병증을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 호흡기 질환은 특발성이다.

[0412] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 치료적 유효량의 본원에서 개시되는 1개 이상의 siNA 또는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 코로나바이러스 감염을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 코로나바이러스 감염은 중동 호흡기 증후군(MERS), 중증 급성 호흡기 증후군(SARS) 및 코로나-19로 구성되는 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 1개 이상의 추가 코로나바이러스 치료제로 치료되었다. 일부 실시양태에서, 대상체는 1개 이상의 추가 코로나바이러스 치료제로 동시에 치료된다.

[0413] **siNA의 투여**

[0414] 임의의 본원에서 개시되는 siNA의 투여는 당해 기술분야에서 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, siNA는 피하(SC) 또는 정맥내(IV) 전달에 의해 투여된다. 본 개시내용의 제제(*예를 들어*, siNA 또는 조성물)는 경구, 비경구, 국소 또는 직장으로 제공될 수 있다. 이들은 물론 각각의 투여 경로에 적합한 형태로 제공된다. 예를 들어, 이들은 정제 또는 캡슐 형태로, 주사, 주입 또는 흡입에 의한 투여에 의해; 로션 또는 연고에 의해 국소로; 및 좌제에 의해 직장으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 피하 투여가 바람직하다.

[0415] 본원에서 사용되는 어구 "비경구 투여" 및 "비경구 투여되는"은 장 및 국소 투여 이외의 일반적으로 주사에 의한 투여 방식을 의미하며 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 기관간, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내 및 흉골내 주사 및 주입을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0416] 본원에서 사용되는 문구 "전신 투여", "전신적으로 투여된", "말초 투여" 및 "말초로 투여된"은 중추 신경계 내로 직접 투여되지 않는 화합물, 약물 또는 다른 물질의 투여를 의미하며, 따라서 이는 환자의 전신에 진입하고, 따라서 신진대사 및 다른 유사한 과정, 예를 들어 피하 투여에 종속된다.

[0417] 이러한 화합물은 경구로, 예를 들면 스프레이에 의한 것처럼 비강으로, 직장으로, 질내로, 비경구로, 수조내로 및 산제, 연고 또는 드랍에 의해 협측 및 설하를 포함하여 국소로를 포함하는 임의의 적합한 투여 경로에 의해 치료를 위해 인간 및 다른 동물에게 투여될 수 있다.

[0418] 선택된 투여 경로와 무관하게, 적합한 수화된 형태로 사용될 수 있는 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA) 및/또는 본 개시내용의 약제학적 조성물은 통상의 기술자에게 공지된 종래의 방법에 의해 약제학적으로 허용 가능한 투여 형태로 제제화된다.

[0419] 본 개시내용의 약제학적 조성물에서 활성 성분의 실제 투여 수준은 환자에 대한 독성 없이 특정 환자에 대해 목적하는 치료 반응, 조성물 및 투여 방식을 달성하기에 효과적인 활성 성분의 양을 수득하도록 변할 수 있다.

[0420] 선택된 투여량 수준은 사용되는 본 개시내용의 특정 화합물(*예를 들어*, siNA), 또는 이의 에스터, 염 또는 아마이드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정 화합물(들)의 배설 또는 대사 속도, 흡수 속도 및 정도, 치료 기간, 사용되는 특정 화합물(들)과 함께 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료받는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 일반적인 건강 및 이전 병력, 및 의료 분야에서 널리 공지된 유사 인자를 포함하는 다양한 인자에 의존할 것이다.

[0421] 당해 기술 분야의 통상의 기술을 가진 의사 또는 수의사는 필요한 약제학적 조성물의 유효량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사 또는 수의사는 목적하는 치료 효과를 달성하기 위해 필요한 것보다 낮은 수준에서 약제학적 조성물에서 사용되는 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA)의 투여를 시작하고 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점진적으로 증가시킬 수 있다.

[0422] 일반적으로, 본 개시내용의 화합물(*예를 들어*, siNA)의 적합한 1일 투여량은 치료 효과를 생성하는데 효과적인 최저 용량인 화합물의 양이다. 이러한 유효 용량은 일반적으로 위에 기재된 인자에 따라 달라진다. 바람직하게는, 화합물은 약 0.01 mg/kg 내지 약 200 mg/kg, 더 바람직하게는 약 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 보다 더 바람직하게는 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 약 1 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 15 mg/kg 또는 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.11, 0.12, 0.13, 0.14, 0.15, 0.16, 0.17, 0.18, 0.19, 0.20, 0.21, 0.22, 0.23, 0.24, 0.25, 0.26, 0.27, 0.28, 0.29, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.50, 0.55, 0.60, 0.65, 0.7, 0.75, 0.8, 0.85, 0.9, 0.95 또는 1 mg/kg 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 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 또는 30 mg/kg 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20 또는 15 mg/kg 미만의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물의 총 1일 용량은 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 또는 100 mg 이상이다.

[0423] 목적하는 경우, 활성 화합물(*예를 들어*, siNA)의 효과적인 1일 용량은, 선택적으로, 단위 투여 형태로 1일 전체에 걸쳐 적절한 간격으로 별도로 투여되는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 하위 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15회 투여된다. 바람직한 투약은 1일 1회 투여이다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 1주 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 1개월 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 매 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21일 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 3일마다 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 매 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15주 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 매월 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 매 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개월 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70일의 기간에 걸쳐 적어도 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, 51, 52 또는 53회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52 또는 53주의 기간에 걸쳐 적어도 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, 51, 52 또는 53회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52 또는 53개월의 기간에 걸쳐 적어도 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, 51, 52 또는 53회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70주의 기간 동안 적어도 1주 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70개월의 기간 동안 적어도 1주 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70주의 기간 동안 적어도 1주 2회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70개월의 기간 동안 적어도 1주 2회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70주의 기간 동안 적어도 매 2주 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70개월의 기간 동안 적어도 매 2주 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70주의 기간 동안 적어도 매 4주 1회 투여된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 적어도 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 또는 70개월의 기간 동안 적어도 매 4주 1회 투여된다.

[0424] 일부 실시양태에서, 본원에서 개시되는 siNA 또는 조성물 중 임의의 하나는 입자 또는 바이러스 벡터로 투여된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스(AAV), 알파바이러스, 플라비바이러스, 단순 포진 바이러스, 렌티바이러스, 홍역 바이러스, 피코나바이러스, 폭스바이러스, 레트로바이러스 또는 랍도바이러스의 벡터이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 재조합 바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 AAVrh.74, AAVrh.10, AAVrh.20, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11, AAV-12 및 AAV-13으로부터 선택된다.

[0425] 설명되는 방법의 대상체는 포유동물일 수 있으며, 이는 인간 및 비인간 포유동물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 성인 인간과 같은 인간이다.

[0426] 일부 실시양태는 치료적 유효량의 본 개시내용의 1개 이상의 siNA 또는 본 개시내용의 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 대상체에서 바이러스의 바이러스 부하를 감소시키고/시키거나 대상체에서 바이러스 항원의 수준을 감소시키는 단계를 포함하는 바이러스에 감염된 대상체에서 HBV 바이러스를 치료하는 방법을 포함한다. siNA는 바이러스에 있는 표적 RNA의 일부, 예를 들어, HBV의 X 영역 및/또는 S 영역에 상보적이거나 이와 혼성화할 수 있다.

[0427] **병용 요법**

[0428] 본원에서 개시되는 임의의 방법은 대상체에게 추가 HBV 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 본원에서 개시되는 임의의 조성물은 추가 HBV 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 추가 HBV 치료제는 뉴클레오타이드 유사체, 뉴클레오사이드 유사체, 캡시드 조립 조절제(CAM), 재조합 인터페론, 진입 억제제, 소분자 면역조절제 및 올리고뉴클레오타이드 요법으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 추가 HBV 치

료제는 HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1(서열 식별 번호: 61), ASO 2(서열 식별 번호: 62) 재조합 인터페론 알파 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, 라미부딘, 텔비부딘, 아데포비르 디피복실, 클레부딘, 엔테카비르, 테노포비르 알라페나미드, 테노포비르 디소프록실, NVR3-778, BAY41-4109, JNJ-632, JNJ-3989(ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB-729, VIR-2218, RG6346(DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ-440, NZ-4, RG7907, EDP-514, AB-423, AB-506, ABI-HO3733 및 ABI-H2158로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드 요법은 핵산 중합체 또는 S-항원 수송 억제 올리고뉴클레오타이드 중합체(NAP 또는 STOPS), siRNA 및 ASO로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드 요법은 추가 siNA이다. 일부 실시양태에서, 추가 siNA는 ds-siNA-001 내지 ds-siNA-025 중 임의의 것으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드 요법은 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO)이다. 일부 실시양태에서, ASO는 ASO 1(서열 식별 번호: 61) 또는 ASO 2(서열 식별 번호: 62)이다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA는 STOPS와 공동 투여된다. 예시적인 STOPS는 국제 공개 번호 제WO2020/097342호 및 미국 공개 번호 제2020/0147124호에서 설명되어 있으며, 이는 둘 모두 전문이 참조에 의해 원용된다. 일부 실시양태에서, STOPS는 ALG-010133이다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA는 테노포비르와 공동 투여된다. 일부 실시양태에서, 임의의 본원에서 개시되는 siNA는 CAM과 공동 투여된다. 예시적인 CAM은 문헌[Berke 등, *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(8):e00560-17], 문헌[Klumpp 등, Gastroenterology, 2018, 154(3):652-662.e8], 국제 출원 제PCT/US2020/017974호, 제PCT/US2020/026116호 및 제PCT/US2020/028349호 및 미국 출원 제16/789,298호, 제16/837,515호 및 제16/849,851호에서 설명되며, 이는 각각 전문이 참조에 의해 원용된다. 일부 실시양태에서, CAM은 ALG-000184, ALG-001075, ALG-001024, JNJ-632, BAY41-4109 또는 NVR3-778이다. 일부 실시양태에서, siNA 및 HBV 치료제는 동시에 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA 및 HBV 치료제는 동시에 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA 및 HBV 치료제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA는 HBV 치료제 투여 전 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA는 HBV 치료제 투여 후 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA 및 HBV 치료제는 별도의 용기에 있다. 일부 실시양태에서, siNA 및 HBV 치료제는 동일한 용기에 있다.

[0429] 본원에서 개시되는 임의의 방법은 대상체에게 간 질환 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 본원에서 개시되는 임의의 조성물은 간 질환 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 간 질환 치료제는 퍼옥시솜 증식 활성화 수용체(PPAR) 효능제, 파네소이드 X 수용체(FXR) 효능제, 지질 변경제 및 인크레틴 기반 요법으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, PPAR 효능제는 PPARα 효능제, 이중 PPARα/δ 효능제, PPARγ 효능제 및 이중 PPARα/γ 효능제로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 이중 PPARα 효능제는 피브레이트이다. 일부 실시양태에서, PPARα/δ 효능제는 엘라피브라노르이다. 일부 실시양태에서, PPARγ 효능제는 싸이아졸리딘다이온(TZD)이다. 일부 실시양태에서, TZD는 피오글리타존이다. 일부 실시양태에서, 이중 PPARα/γ 효능제는 사로글리타자르이다. 일부 실시양태에서, FXR 효능제는 오베티콜산(OCA)이다. 일부 실시양태에서, 지질 변경제는 아람콜이다. 일부 실시양태에서, 인크레틴 기반 요법은 글루카곤 유사 펩타이드 1(GLP-1) 수용체 효능제 또는 다이펩티딜 펩타이드분해효소 4(DPP-4) 억제제이다. 일부 실시양태에서, GLP-1 수용체 효능제는 엑세나타이드 또는 리라글루타이드이다. 일부 실시양태에서, DPP-4 억제제는 시타글립틴 또는 빌다클립틴이다. 일부 실시양태에서, siNA 및 간 질환 치료제는 동시에 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA 및 간 질환 치료제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA는 간 질환 치료제 투여 전 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA는 간 질환 치료제 투여 후 투여된다. 일부 실시양태에서, siNA 및 간 질환 치료제는 별도의 용기에 있다. 일부 실시양태에서, siNA 및 간 질환 치료제는 동일한 용기에 있다.

[0430] **정의**

[0431] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 기술 분야에서 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 갖는다. 다음 참고문헌은 통상의 기술자에게 본 발명에 사용되는 많은 용어의 일반적인 정의를 제공한다: 문헌[Singleton 등, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (제2판 1994)]; 문헌[The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker 편집, 1988)]; 문헌[The Glossary of Genetics, 제5판, R. Rieger 등, (편집), Springer Verlag (1991)]; 및 문헌[Hale 및 Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)]. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 다음 용어는 달리 명시되지 않는 한, 이하에 부여된 의미를 갖는다. 본 명세서에서 사용된 용어는 단지 특정 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려고 의도된 것이 아니다.

[0432] 본원에서 사용된 용어 단수형 표현은 "1개 이상"을 의미하며 문맥이 부적절하지 않는 한 복수형을 포함한다.

[0433] 본원에서 사용되는 용어 "환자" 및 "대상체"는 본 개시내용의 방법에 의해 치료될 유기체를 지칭한다. 이러한

유기체는 바람직하게는 포유동물(*예를 들어*, 해양 생물, 유인원, 말, 소, 돼지, 개, 고양이 등)이고 더 바람직하게는 인간이다.

[0434] 본원에서 사용되는 용어 "유효량"은 유익하거나 목적하는 결과를 달성하기에 충분한 화합물(*예를 들어*, 본 개시 내용의 siNA)의 양을 지칭한다. 유효량은 1회 이상의 투여, 적용 또는 투여량으로 투여될 수 있으며 특정 제제 또는 투여 경로로 제한되는 것은 아니다.

[0435] 본원에서 사용되는 용어 "치료"는 예를 들어 병태, 질환, 장애의 개선을 초래하는 임의의 효과, 예를 들어, 경감, 감소, 조정, 개선 또는 제거 또는 이의 증상의 개선을 포함한다.

[0436] 본원에서 사용되는 용어 "경감하다" 및 "경감"은, 예를 들어, 중증도를 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 감소시키는 것과 같은 병태의 중증도를 감소시키는 것을 지칭한다.

[0437] 본원에서 사용되는, 용어 "약제학적 조성물"은 활성 제제와 담체, 불활성 또는 활성의 조합을 지칭하여, 조성물을 *생체내* 또는 *생체외*에서 진단 또는 치료 용도에 특히 적합하게 한다.

[0438] 본원에서 사용되는 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 임의의 표준 약제학적 담체, 예컨대, 포스페이트 완충 식염수 용액, 물, 유화액(*예를 들어*, 유/수 또는 수/유 유화액) 및 다양한 유형의 습윤제를 지칭한다. 조성물은 또한 안정화제 및 보존제를 포함할 수도 있다. 담체, 안정화제 및 보조제의 예는 예를 들어, 문헌 [Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 제15판, Mack Publ. Co., Easton, PA [1975]]참조.

[0439] 측정 가능한 값(*예를 들어*, 중량, 시간 및 용량)을 지칭하는 경우 본원에서 사용되는 용어 "약"은 지정된 값의 ±10%, ±5%, ±1% 또는 ±0.1%와 같은 변동을 포괄하는 것을 지칭한다.

[0440] 본원에서 사용되는 용어 "핵염기"는 뉴클레오사이드를 형성하는 질소 함유 생물학적 화합물을 지칭한다. 핵염기의 예는 타이민, 유라실, 아데닌, 사이토신, 구아닌 및 이들의 유사체 또는 유도체를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0441] 설명 전반에 걸쳐, 조성물이 특정 성분을 갖거나 포함하거나 구비하는 것으로 설명되거나 또는 과정 및 방법이 특정 단계를 갖거나 포함하거나 구비하는 것으로 설명되는 경우, 추가적으로, 인용된 성분으로 본질적으로 구성되거나 구성되는 본 개시의 조성물이 있고, 인용된 처리 단계로 본질적으로 구성되거나 구성되는 본 개시내용에 따른 과정 및 방법이 있는 것으로 상정된다.

[0442] 일반적으로, 백분율을 지정하는 구성은 달리 지정하지 않는 한 중량 기준이다. 또한, 변수에 정의가 수반되지 않으면 변수의 이전 정의가 제어한다.

[0443] 본 명세서에서 인용되는 모든 간행물 및 특허는 각각의 개별 간행물 또는 특허가 구체적으로 그리고 개별적으로 언급되어 참조에 의해 원용되는 것처럼 참조에 의해 본원에 원용되며 간행물이 인용되는 것과 관련되는 방법 및/또는 물질을 개시하고 설명하기 위해 참조에 의해 본원에 원용된다. 임의의 간행물의 인용은 출원일 이전의 이의 개시내용을 위한 것이며, 본 개시내용이 선행 개시내용으로 인해 이러한 간행물보다 우선할 자격이 없음을 인정하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 추가로, 제공된 간행물의 날짜는 독립적으로 확인될 필요가 있을 수도 있는 실제 간행일과는 상이할 수 있다.

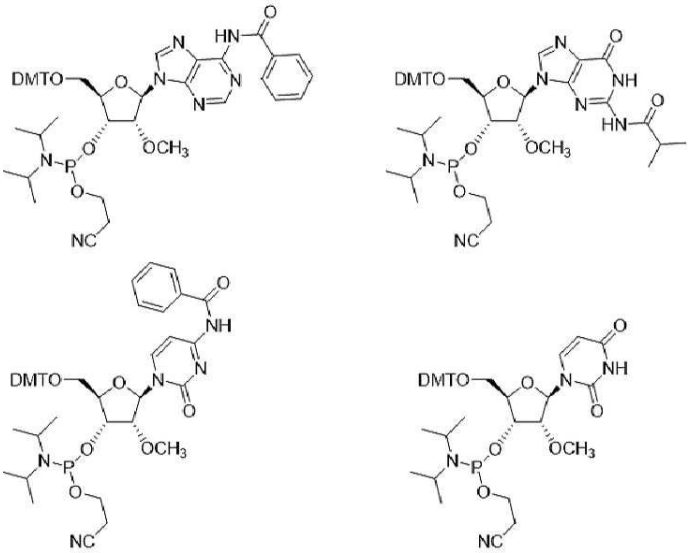
[0444] **실시예**

[0445] **실시예 1: siNA 합성**

[0446] 본 실시예는 표 1 내지 표 5에서 개시되는 siNA(ds-siNA ID로 식별됨)와 같은 ds-siNA를 합성하는 예시적인 방법을 설명한다.

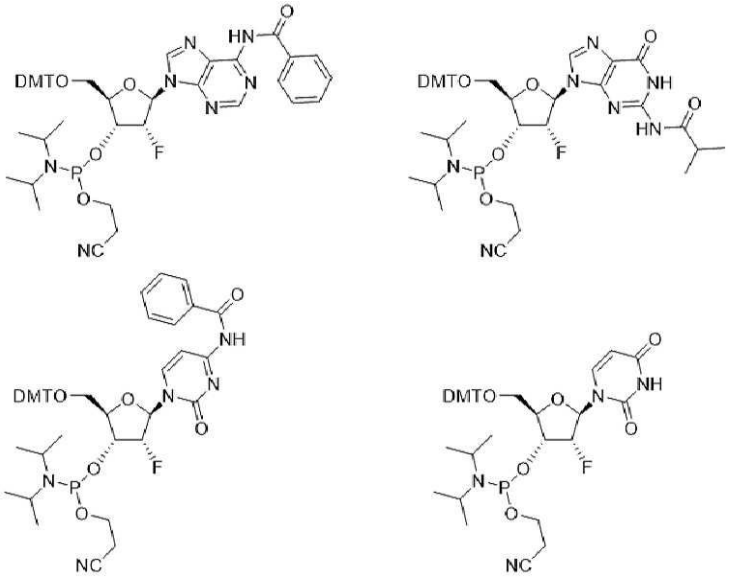
[0447] 2'-*O*-Me 포스포라미다이트 5'-*O*-DMT-데옥시 아데노신(NH-Bz), 3'-*O*-(2-사이아노에틸-N,N-다이아이소프로필 포스포라미다이트, 5'-*O*-DMT-데옥시 구아노신(NH-ibu), 3'-O-(2-사이아노에틸-N,N-다이아이소프로필 포스포라미다이트, 5'-*O*-DMT-데옥시 사이토신(NH-Bz), 3'-O-(2-사이아노에틸-N,N-다이아이소프로필 포스포라미다이트, 5'-*O*-DMT-유리딘 3'-*O*-(2-사이아노에틸-N,N-다이아이소프로필 포스포라미다이트 및 고체 지지체를 Chemgenes Corp. MA로부터 구매하였다.

[0448]



[0449] 2'-F -5'-*O*-DMT-(NH-Bz) 아데노신-3'-*O*-(2-사이아노에틸-N,N-다이아이소프로필 포스포라미다이트, 2'-F -5'-*O*-DMT-(NH-ibu)- 구아노신, 3'-*O*-(2-사이아노에틸-N,N-다이아이소프로필 포스포라미다이트, 5'-*O*-DMT-(NH-Bz)-사이토신, 2'-F-3'-*O*-(2-사이아노에틸-N,N-다이아이소프로필 포스포라미다이트, 5'-O-DMT-유리딘, 2'-F-3'-*O*-(2-사이아노에틸-N,N-다이아이소프로필 포스포라미다이트 및 고체 지지체를 Thermo Fischer Milwaukee WI, USA로부터 구매하였다.

[0450]



[0451] 모든 단량체를 건조제(P_2O_5, RT 24h)가 있는 진공 건조기에서 건조하였다. 뉴클레오타이드에 부착되는 고체 지지체(CPG) 및 범용 지지체를 LGC 및 Chemgenes에서 구입하였다. 합성 후 작업 흐름을 위한 화학 물질 및 용매는 VWR/Sigma와 같은 상업적으로 이용 가능한 공급원에서 구입하였으며 어떠한 정제 또는 처리 없이 사용하였다. 용매(아세토나이트릴) 및 용액(아미다이트 및 활성화제)을 합성 동안 분자체 위에 보관하였다.

[0452] 올리고뉴클레오타이드를 CPG 지지체상에 사전에 로드된 올리고뉴클레오타이드의 3' 잔기부터 시작하여 표준 올리고뉴클레오타이드 포스포라미다이트 화학을 사용하여 DNA/RNA 합성기(Expedite 8909 또는 ABI-394 또는 MM-48)상에서 합성하였다. 5-(에틸싸이오)-1*H*-테트라졸 활성화제의 존재하에 CH_3CN 중 포스포라미다이트의 0.1M 용액을 고체 결합된 올리고뉴클레오타이드에 연장 커플링한 후 표준 캡핑, 산화 및 탈보호하여 변형된 올리고뉴클레오티드를 수득하였다. 0.1M I_2, THF:피리딘;물-7:2:1을 산화제로 사용하였으며 DDTT((다이메틸아미노-메틸리덴) 아미노)-3H-1,2,4-다이싸이아자올린-3-싸이온은 올리고뉴클레오타이드 포스포로싸이오에이트의 합성을 위한 황 전달제로 사용하였다. 모든 변형된 포스포라미다이트의 단계적 커플링 효율은 98% 초과였다.

[0453]

시약	상세한 설명
탈블록 용액	다이클로로메테인(DCM) 중 3% 다이클로로아세트산(DCA)
아미다이트 농도	무수 아세토나이트릴 중 0.1 M
활성화제	0.25 M 에틸-싸이오-테트라졸(ETT)
캡-A 용액	피리딘/THF 중 아세트산 무수물
캡-B 용액	THF 중 16% 1-메틸이미다졸
산화 용액	0.02M I_2, THF: 피리딘: 물-7:2:1
황화 용액	피리딘/아세토나이트릴 1:1 중 0.2 M DDTT

[0454] **절단 및 탈보호:**

[0455] 고체 지지체로부터의 탈보호 및 절단을 암모니아 메틸아민(1:1, AMA)의 혼합물을 사용하여 15분 동안 65℃에서 달성하였다. 범용 링커를 사용한 경우, 탈보호를 90분 동안 65℃에서 방치하거나 고체 지지체를 암모니아 수용액(28%)으로 55℃에서 8 내지 16시간 동안 가열하여 염기 불안정한 보호기를 탈보호화하였다.

[0456] **미정제 siNA 또는 미가공 분석의 정량화**

[0457] 샘플을 탈이온수(1.0mL)에 용해시키고 다음과 같이 정량화하였다: 블랭킹을 먼저 Thermo Scientific™ Nanodrop UV 분광광도계 또는 BioTek™ Epoch™ 플레이트 판독기에서 물 단독(2 ul)으로 수행한 후 올리고 샘플 판독을 260 nm에서 수득하였다. 미정제 물질을 건조하고 -20℃로 보관한다.

[0458] **미정제 HPLC/LC-MS 분석**

[0459] 미정제 샘플의 0.1 OD를 조 HPLC 및 LC-MS 분석을 위해 분석하였다. 미정제 LC-MS 데이터를 확인한 후 정제 단계를 필요한 경우 순도에 따라 수행하였다.

[0460] HPLC 정제

[0461] 접합되지 않은 GalNac 변형된 올리고뉴클레오타이드를 음이온 교환 HPLC로 정제하였다. 완충제는 10% CH_3CN, pH 8.5 (완충제 A) 중 20 mM 소듐 포스페이트 및 10% CH_3CN, 1.0 M NaBr, pH 8.5 (완충제 B) 중 20 mM 소듐 포스페이트였다. 전장 올리고뉴클레오타이드를 함유하는 분획을 풀링하였다.

[0462] 정제된 SiNA의 탈염

[0463] 이후, 정제된 건조 siNA를 Sephadex G-25 M(Amersham Biosciences)을 사용하여 탈염시켰다. 카트리지를 10 mL의 탈이온수로 3회 컨디셔닝하였다. 마지막으로, 2.5 mL의 RNAse가 없는 물에 완전히 용해된 정제된 siNA를 매우 느린 적하 용리로 카트리지에 적용하였다. 무염 siNA를 3.5 ml 탈이온수를 사용하여 스크류 캡 바이알에 직접 용리시켰다. 대안적으로, 일부 접합되지 않은 siNA를 Pall AcroPrep™ 3K MWCO 탈염 플레이트를 사용하여 탈염시켰다.

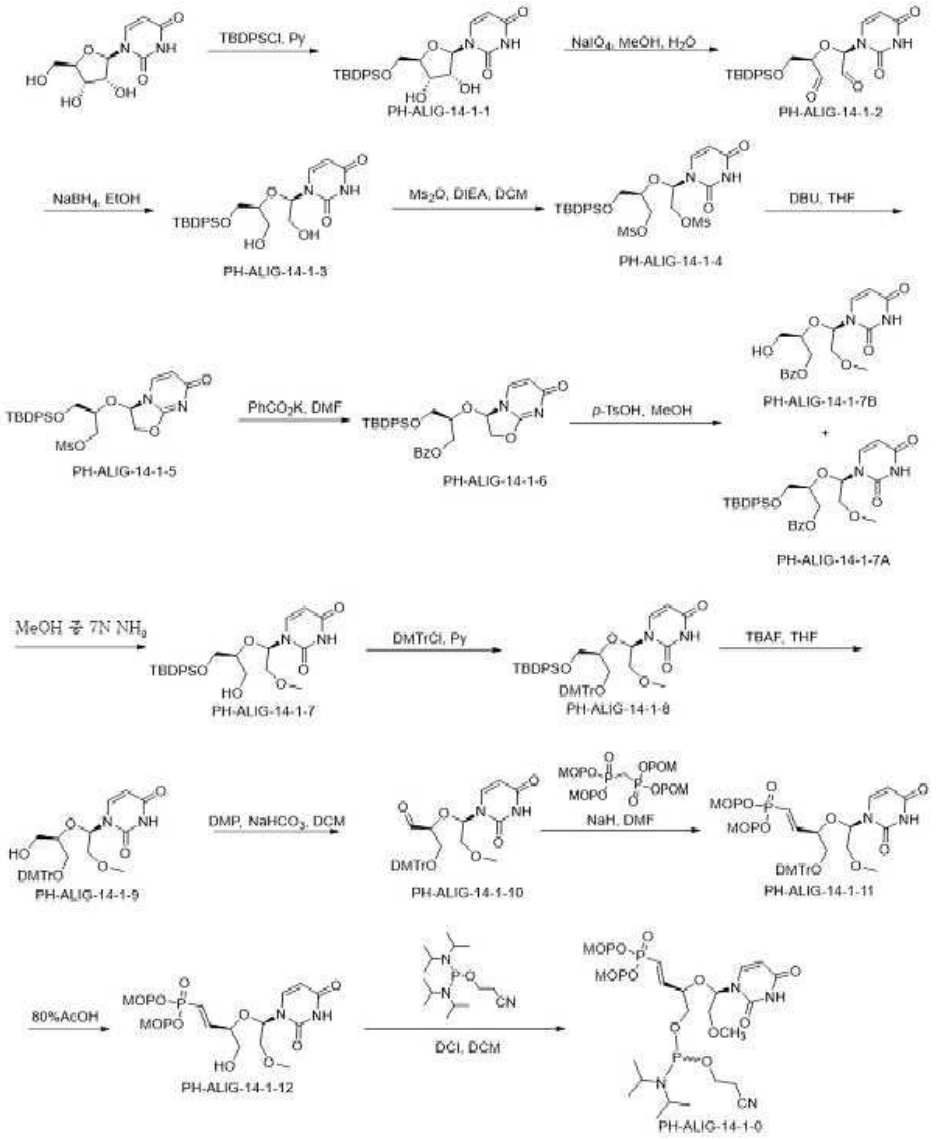
[0464] IEX HPLC 및 전기분무 LC/MS 분석

[0465] 대략 0.10 OD의 siNA를 물에 용해시킨 후 IEX-HPLC 및 LC/MS 분석을 위해 HPLC 오토샘플러 바이알에 피펫팅하였다. 분석적 HPLC 및 ES LC-MS를 통해 화합물의 동일성과 순도를 확인하였다.

[0466] 이중 제조:

[0467] 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드(센스 및 안티센스 가닥)를 어닐링(몰 당량으로 1:1, 90℃에서 2분 동안 가열한 후 실온에서 점진적으로 냉각)하여 이중 ds-siNA를 수득하였다. 최종 화합물을 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 분석하였다.

[0468] 실시예 2



[0469]

[0470] 반응식 -1

[0471] PH-ALIG-14-1-1의 제조

[0472] 아르곤의 불활성 대기로 퍼징되고 유지되는 5000 mL 3목 둥근 바닥 플라스크에 유리딘(150.00 g, 614.24 mmol, 1.00 당량), 피리딘(2.2 L), TBDPSCl(177.27 g, 644.95 mmol, 1.05 당량)을 배치하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 생성된 혼합물을 농축하였다. 생성된 용액을 3 x 1000 mL의 다이클로로메테인으로 추출하였으며 유기층을 조합하였다. 생성된 혼합물을 3 x 1L의 0.5N HCl(수성) 및 2 x 500 mL의 0.5N $NaHCO_3$(수성)으로 세척하였다. 생성된 혼합물을 2 x 1 L의 H_2O로 세척하였다. 혼합물을 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여액을 농축하였다. 이는 262 g (미정제) PH-ALIG-14-1-1을 생성하였다. LC-MS (m/z) 483.00 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.35 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.64 (m, 4H), 7.52 - 7.40 (m, 6H), 5.80 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 5.50 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 5.28 (dd, J = 8.0, 2.2 Hz, 1H), 5.17 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 4.15 - 4.05 (m, 2H), 4.00 - 3.85 (m, 2H), 3.85 - 3.73 (m, 1H), 1.03 (s, 9H).

[0473] PH-ALIG-14-1-2의 제조

[0474] 아르곤의 불활성 대기로 퍼징되고 유지되는 10 L 3목 둥근 바닥 플라스크에 MeOH (5000 mL) 중 PH-ALIG-14-1-1(260.00 g, 538.7 mmol, 1.0 당량)의 용액을 배치하였다. 이후, H_2O(1600 mL) 중 $NaIO_4$(126.8 g, 592.6 mmol,

1.1 당량)의 용액을 0℃에서 여러 배치로 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응을 0℃에서 3 L의 $Na_2S_2O_3$(포화)를 첨가하여 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x1L의 다이클로로메테인으로 추출하고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여액을 농축하였다. 이는 290 g(미정제)의 PH-ALIG-14-1-2를 백색 고체로서 생성하였다.

[0475] PH-ALIG-14-1-3의 제조

[0476] 아르곤의 불활성 대기로 퍼징되고 유지되는 5L 3목 둥근 바닥 플라스크에 PH-ALIG-14-1-2(290 g, 603.4 mmol, 1.0 당량), EtOH(3L)를 배치하였다. 이후, 0℃에서 부분적으로 $NaBH_4$(22.8 g, 603.4 mmol, 1.0 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 2000 mL의 물/얼음을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x1000 mL의 다이클로로메테인으로 추출하고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여액을 농축하였다. 이는 230 g(미정제)의 PH-ALIG-14-1-3을 백색 고체로서 생성하였다. LC-MS:m/z 485.10 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.28 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.63 - 7.37 (m, 11H), 5.84 (dd, J = 6.4, 4.9 Hz, 1H), 5.44 (dd, J = 8.0, 2.2 Hz, 1H), 5.11 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.78 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.65 (dd, J = 11.4, 5.7 Hz, 1H), 3.60 - 3.52 (m, 5H), 3.18 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 0.96 (s, 9H).

[0477] PH-ALIG-14-1-4의 제조

[0478] 아르곤의 불활성 대기로 퍼징되고 유지되는 5000 mL 3목 둥근 바닥 플라스크에 DCM(1200 mL) 중 PH-ALG-14-1-3(120 g, 1 당량)의 용액을 배치하였다. 이후, 0℃에서 DIEA(95.03 g, 3 당량)를 첨가하였다. 여기에 0℃에서 부분적으로 메테인설폰산 무수물(129g, 3 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 1000 mL의 물/얼음을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x500 mL의 다이클로로메테인으로 추출하고 유기층을 조합하였으며 무수 마그네슘 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여액을 농축하였다. 이는 160 g(미정제)의 PH-ALG-14-1-4를 황색 고체로서 생성하였다; LC-MS (m/z) 641.05$[M+H]^+$

[0479] PH-ALIG-14-1-5의 제조

[0480] 1 L 둥근 바닥 플라스크에 THF (1600 mL), DBU (108g, 2.8 당량) 중 PH-ALG-14-1-4(160.00 g, 1.00 당량)의 용액을 배치하였다. 생성된 용액을 30℃에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 3000 mL의 물/얼음을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x500 mL의 다이클로로메테인으로 추출하고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여액을 농축하였다. 이는 150 g(미정제)의 PH-ALG-14-1-5를 갈색 오일로 생성하였다.; LC-MS:(ES,m/z) :567.25$[M+H]^+$

[0481] ^{1}HNMR(400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.83 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.67 - 7.55 (m, 4H), 7.55 - 7.35 (m, 6H), 6.05 (dd, J = 5.9, 1.7 Hz, 1H), 5.72 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 4.81 (dd, J = 10.4, 5.8 Hz, 1H), 4.58 - 4.46 (m, 2H), 4.42 (p, J = 5.2, 4.6 Hz, 1H), 4.33 (dd, J = 10.6, 5.9 Hz, 1H), 3.79 - 3.70 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 0.98 (s, 9H).

[0482] PH-ALIG-14-1-6의 제조

[0483] 아르곤의 불활성 대기로 퍼징되고 유지되는 3000 mL 둥근 바닥 플라스크에 PH-ALIG-14-1-5(150.00 g, 201.950 mmol, 1. 당량), DMF (1300.00 mL), 포타슘 벤조에이트(44.00 g, 1.0 당량)를 배치하였다. 생성된 용액을 80℃에서 1.5시간 동안 교반하였다. 이후, 500 mL의 물/얼음을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x500 mL의 다이클로로메테인으로 추출하고, 생성된 혼합물을 3 x1000 ml의 H_2O로 세척하였다. 생성된 혼합물을 농축하였다. 잔류물을 EA/PE(99:1)를 이용하여 실리카 겔 컬럼상에 적용하였다. 수집된 분획을 조합하고 농축하였다. 이는 40 g의 PH-ALIG-14-1-6를 황색 오일로 생성하였다. LC-MS: m/z 571.20 $[M+H]^+$; 1HNMR:(400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.97 - 7.91 (m, 2H), 7.89 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.74 - 7.51 (m, 7H), 7.51 - 7.31 (m, 6H), 6.16 (m, 1H), 5.76 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 4.78 (m, 1H), 4.61 (m, 1H), 4.55 - 4.46 (m, 2H), 4.38 (m, 1H), 3.82 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 0.97 (s, 9H)

[0484] PH-ALIG-14-1-7A의 제조

[0485] 2 L 둥근 바닥 플라스크에, PH-ALIG-14-1-6(30.00 g, 1 당량), MeOH (1.20 L), p-톨루엔설폰산(4.50 g, 0.5 당

량)을 배치하였다. 생성된 용액을 70℃에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 3 L의 $NaHCO_3$(포화)의 첨가에 의해 켄칭하였다. 용액의 pH 값을 $NaHCO_3$(포화)를 사용하여 7로 조정하였다. 생성된 용액을 3x1 L의 에틸 아세테이트로 추출하였고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여과액을 진공하에서 농축하였다. 미정제 생성물을 다음 조건 (IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, 실리카 겔; 이동상, 30 내에서 PE/EA = 25/75로 증가하는 PE/EA = 50/50; 검출기, 254. 이는 11.5 g(7 단계에서 3.1% 수율)의 **PH-ALIG-14-1-7A**를 백색 고체로서 생성한다. LC-MS: m/z 625.15$[M+Na]^+$; ^{1}HNMR:(400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.37 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.99 - 7.93 (m, 2H), 7.74 - 7.65 (m, 1H), 7.63 - 7.50 (m, 7H), 7.50 - 7.33 (m, 6H), 6.08 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.49 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.43 (m, 1H), 4.03 - 3.96 (m, 1H), 3.70 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 3.62 - 3.49 (m, 2H), 3.21 (s, 3H), 0.97 (s, 9H).

[0486] **PH-ALIG-14-1-7의 제조**

[0487] 2L 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-1-7A**(11.50 g)를 배치하였다. MeOH(690.00 mL) 중 7M NH_3(g)에 30℃에서 도입하였다. 생성된 용액을 30℃에서 밤새 교반하였다. 생성된 혼합물을 진공하에 농축시켰다. 미정제 생성물을 다음 조건 (IntelFlash-1)으로 Flash에 의해 정제하였다: 컬럼, 실리카 겔; 이동상, 60 내에서 PE/EA = 1/99로 증가하는 PE/EA = 60/40; 검출기, 254. 이는 8.1 g(97% 수율)의 **PH-ALIG-14-1-7**을 백색 고체로서 생성하였다. LC-MS-: m/z 499.35 $[M+H]^+$; ^{1}HNMR: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.31 (s, 1H), 7.64 - 7.50 (m, 5H), 7.48 - 7.35 (m, 6H), 6.02 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 5.45 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.80 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 3.58 (m, 7H), 3.27 (s, 3H), 0.96 (s, 9H).

[0488] **PH-ALIG-14-1-8의 제조**

[0489] 250 mL 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-1-7**(8.10 g, 1 당량), 피리딘(80.0 mL), DMTr-Cl(7.10 g, 1.3 당량)을 배치하였다. 플라스크를 배기시키고 아르곤으로 3회 플러싱하였다. 생성된 용액을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 이후, 반응을 $NaHCO_3$(포화) 500 mL를 첨가하여 켄칭하였다. 생성된 용액을 2x500 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여과액을 진공하에서 농축하였다. 미정제 생성물을 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash에 의해 정제하였다: 컬럼, C18; 이동상, 30 내에서 ACN/H_2O=95/5로 증가하는 ACN/H_2O=5/95; 검출기, 254. 이는 11.5 g(88% 수율)의 **PH-ALIG-14-1-8**을 백색 고체로서 생성하였다; LC-MS: m/z 823.40 $[M+Na]^+$; 1HNMR: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.37 (s, 1H), 7.55 - 7.18 (m, 20H), 6.92 - 6.83 (m, 4H), 6.14 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 5.48 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.74 (m, 7H), 3.57 (m, 4H), 3.25 (m, 5H), 0.84 (s, 9H).

[0490] **PH-ALIG-14-1-9의 제조**

[0491] 1000 mL 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-1-8**(11.5 g, 1.00 당량), THF(280.00 mL), TBAF(14.00 mL, 1.00 당량)를 배치하였다. 생성된 용액을 3시간 동안 실온에서 교반하였다. 이후, 1 L의 물을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x500 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여과액을 진공하에서 농축하였다. 미정제 생성물을 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash에 의해 정제하였다: 컬럼, C18; 이동상, 30 내에서 ACN/H_2O=95/5로 증가하는 ACN/H_2O=5/95; 검출기, 254. 이는 7.8 g(98% 수율)의 **PH-ALIG-14-1-9**을 백색 고체로서 생성하였다. LC-MS: m/z 561.20 $[M-H]^-$; ^{1}HNMR: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.32 (s, 1H), 7.66 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.52 - 7.39 (m, 2H), 7.39 - 7.20 (m, 7H), 6.96 - 6.83 (m, 4H), 6.17 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 5.63 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.63 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 3.90 - 3.46 (m, 9H), 3.26 (s, 5H), 3.19 - 2.98 (m, 2H).

[0492] **PH-ALIG-14-1-10의 제조**

[0493] 3 L 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-1-9**(7.80 g, 1.00 당량), DCM(300.00 mL), $NaHCO_3$(3.50 g, 3 당량)를 배치하였다. 이후, 0℃에서 교반하면서 Dess-Martin(7.06 g, 1.2 당량)을 첨가하였 생성된 용액을 0℃에서 20분 동안 교반하였다. 생성된 용액을 5시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 물/얼음조로 0℃로 냉각시켰다. 이후, 반응을 $NaHCO_3$:$Na_2S_2O_3$=1:1 500 mL를 첨가하여 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x500 mL의 에틸 아세테이

트로 추출하였고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여과액을 진공하에서 농축하였다. 미정제 생성물을 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash에 의해 정제하였다: 컬럼, C18; 이동상, 30 내에서 ACN/H_2O=95/5로 증가하는 ACN/H_2O=5/95; 검출기, 254. 이는 5.8 g(75% 수율)의 **PH-ALIG-14-1-10**을 백색 고체로서 생성하였다. LC-MS: m/z 558.80 $[M-H]^-$; ^{1}HNMR-:(300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.35 - 11.22 (m, 1H), 9.43 (s, 1H), 7.75 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.49 - 7.19 (m, 8H), 6.90 (m, 5H), 6.00 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 5.66 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.75 (s, 7H), 3.70 - 3.56 (m, 3H), 3.29 (d, J = 3.7 Hz, 3H).

[0494] **PH-ALIG-14-1-11의 제조**

[0495] 250 mL 3 둥근 바닥 플라스크에 THF(150.00 mL), NaH(1.07 g, 60%w, 3.00 당량)를 배치하였다. 플라스크를 배기시키고 아르곤으로 3회 플러싱하였으며 반응 혼합물을 -78℃로 냉각시켰다. 이후, [[(비스[[(2,2-다이메틸프로파노일)옥시]메톡시]포스포릴)메틸([(2,2-다이메틸프로파노일)옥시]메톡시)포스포릴]옥시]메틸 2,2-다이메틸프로파노에이트(14.60 g, 2.6 당량, 60 mL THF 중)를 -78℃에서 10분 동안 교반하면서 적가하였으며, 생성된 용액을 -78℃에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 10분 동안 -78℃에서 교반하면서 **PH-ALIG-14-1-10**(5.00 g, 1.00 당량, 50 mL THF 중)을 적가하였다. 생성된 용액을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 이후, 반응을 400 mL의 NH_4Cl(포화)을 첨가하여 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x400 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여과액을 진공하에서 농축하였다. 미정제 생성물을 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash에 의해 정제하였다: 컬럼, C18; 이동상, 30 내에서 ACN/H_2O=95/5로 증가하는 ACN/H_2O=5/95; 검출기, 254. 이는 7.2 g(미정제)의 **PH-ALIG-14-1-11**을 고체로서 생성하였다. LC-MS: m/z :865.10 $[M-H]^-$

[0496] **PH-ALIG-14-1-12의 제조**

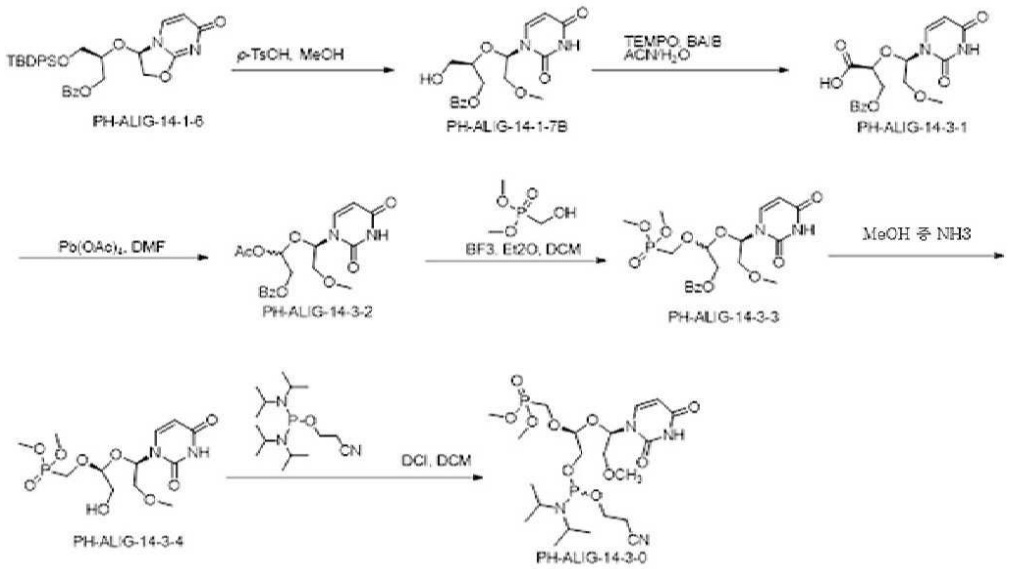
[0497] 500 mL 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-1-11**(6.00 g), H_2O(30.00 mL), AcOH(120.00 mL)를 배치하였다. 생성된 용액을 50℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물/얼음조로 0℃로 냉각시켰다. 이후, 반응을 $NaHCO_3$(포화) 2 L를 첨가하여 켄칭하였다. 용액의 pH 값을 $NaHCO_3$(포화)를 사용하여 7로 조정하였다. 생성된 용액을 3x500 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였고 유기층을 조합하였으며 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여과액을 진공하에서 농축하였다. 미정제 생성물을 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash에 의해 정제하였다: 컬럼, C18; 이동상, 30 내에서 ACN/H_2O=95/5로 증가하는 ACN/H_2O=5/95; 검출기, 254. 이는 2.6 g(2단계 수율 44%)의 **PH-ALIG-14-1-12**를 황색 오일로 생성하였다. LC-MS: m/z 587.25 $[M+Na]^+$; ^{1} HNMR:(300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.31 (s, 1H), 7.73 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.63 (ddd, J = 24.2, 17.2, 4.2 Hz, 1H), 6.14 - 5.96 (m, 2H), 5.65 - 5.48 (m, 5H), 5.09 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.17 (s, 1H), 3.65 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 3.52 (m, 2H), 3.27 (s, 3H), 1.15 (d, J = 3.7 Hz, 18H); ^{31}PNMR-:(162 MHz, DMSO-d_6) δ 17.96.

[0498] **PH-ALIG-14-1-0의 제조**

[0499] 250 mL 3구 둥근 바닥 플라스크에 DCM(60.00 mL), DCI(351.00 mg, 1.2 당량), 3-[[비스(다이아이소프로필아미노)포스파닐]옥시]프로페인나이트릴(971.00 mg, 1.3 당량), 4A MS를 배치하였다. 플라스크를 배기시키고 아르곤으로 3회 플러싱하였으며 반응 혼합물을 0℃로 냉각시켰다. 이후, 0℃에서 30초 동안 교반하면서 **PH-ALIG-14-1-12**(1.40 g, 1.00 당량, 30mL DCM 중)를 적가하였다. 생성된 용액을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 이후, 50 mL의 물을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 3x50 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였고 유기층을 조합하였다. 생성된 혼합물을 3 x50 ml의 NaCl(포화)로 세척하였다. 혼합물을 무수 마그네슘 설페이트상에서 건조시켰다. 고체를 여과하였다. 여과액을 진공하에서 농축하였다. 미정제 생성물을 Prep-Archiral-SFC에 의해 다음 조건으로 정제하였다: 컬럼: Ultimate Diol, 2*25 cm, 5 μm; 이동상 A: CO_2, 이동상 B: ACN(0.2% TEA); 유량: 50 mL/분; 구배: 등용매 30% B; 컬럼 온도(20℃): 35; 배압(bar): 100; 파장: 254 nm; RT1(분): 2.58; 샘플 용매: MeOH--HPLC; 주입 부피: 1 mL; 실행 횟수: 4. 이는 1.31 g(65% 수율)의 **PH-ALIG-14-1-0**를 황색 오일로 생성하였다. LC-MS: m/z 763.40 $[M-H]^-$; 1HNMR-: (300 MHz, 아세토나이트릴-d_3) δ 9.05 (s, 1H), 7.51 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.64 (dddd, J = 23.8, 17.1, 4.8, 1.9 Hz, 1H), 6.23 - 5.92 (m, 2H), 5.70 - 5.51 (m, 5H), 4.38 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 3.96 - 3.56 (m, 8H), 3.35 (s, 3H), 2.70 (m, 2H), 1.33 - 1.14

(m, 30H); 31 PNMR-:(아세토나이트릴-d_3) δ 148.75, 148.53, 16.68.

[0500] 실시예 3



[0501]

[0502] 반응식 -2

[0503] PH-ALIG-14-1-7B의 제조

[0504] MeOH(1000mL) 중 **PH-ALIG-14-1-6**(23 g, 40.300 mmol, 1.00 당량) 및 *p*-TsOH(9.02 g, 52.390 mmol, 1.3 당량)의 용액을 아르곤 대기하에 40℃에서 밤새 교반하였다. 반응물을 0℃에서 포화 소듐 바이카보네이트(수성)으로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (2 x 500 mL)로 추출하였다. 조합한 유기층을 물(2x500 mL)로 세척하였고, 무수 $MgSO_4$상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 다음 조건으로 역 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 ACN, 30분 내에 10% 내지 90% 구배; 검출기, UV 254 nm. 이는 **PH-ALIG-14-1-7B**(5.3 g, 36.%)를 무색 오일로 생성하였다.; LC-MS:(ES, *m/z*): 365 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.20 (s, 1H), 8.09 - 7.78 (m, 2H), 7.63 - 7.50 (m, 2H), 7.51 - 7.35 (m, 2H), 5.95 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 5.51 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.73 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.41(dd, J = 11.9, 3.3 Hz, 1H), 4.17 (dd, J = 11.9, 6.3 Hz, 1H), 3.69 (dq, J = 10.1, 6.8, 6.3 Hz, 1H), 3.48 - 3.40 (m, 2H), 3.39 - 3.29 (m, 2H), 3.07 (s, 3H).

[0505] PH-ALIG-14-3-1의 제조

[0506] 250 mL 3구 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-1-7B**(7.00 g, 19.212 mmol, 1.00 당량), ACN(60.00 mL), H_2O(60.00 mL), TEMPO(0.72 g, 4.611 mmol, 0.24 당량), BAIB(13.61 g, 42.267 mmol, 2.20 당량)를 배치하였다. 생성된 용액을 30℃에서 1 밤새 교반하였다. 이후, 200 mL의 물/얼음을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 2x200 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였고, 생성된 혼합물을 2 x200 ml의 물로 세척하였다. 혼합물을 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰고 농축하였다. 미정제 생성물을 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, 30분 이내에 ACN/H_2O=95/5로 증가하는 ACN/H_2O=5/95; 검출기, UV 254 nm; 생성물을 수득하였다. 이는 5 g(68.8%)의 **PH-ALIG-14-3-1**을 고체로서 생성하였다. LC-MS:(ES, *m/z*): 379 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.24 (s, 1H), 11.31 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.18 - 7.83 (m, 2H), 7.81 - 7.63 (m, 2H), 7.61 - 7.42 (m, 2H), 6.01 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.61 (dd, J = 8.0, 2.2 Hz,1H), 4.72 - 4.40 (m, 3H), 3.73 - 3.55 (m, 2H), 3.22 (s, 3H).

[0507] PH-ALIG-14-3-2의 제조

[0508] 250 mL 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-3-1**(4.5 g, 11.894 mmol, 1.00 당량), DMF(90.00 mL,), $Pb(OAc)_4$(15.82 g, 35.679 mmol, 3.00 당량)를 배치하였다. 생성된 용액을 30℃에서 밤새 교반하였다. 이후,

200 mL의 물/얼음을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 2x200 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였다. 생성된 혼합물을 2 x200 ml의 물로 세척하였다. 혼합물을 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰고 농축하였다. 미정제 생성물을 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, 30분 이내에 ACN/H_2O=95/5로 증가하는 ACN/H_2O=5/95; 검출기, UV 254 nm; 생성물을 수득하였다. 이는 4 g의 **PH-ALIG-14-3-2**를 오일로서 생성하였다; LC-MS:(ES, *m/z*): 415 $[M+Na]^+$; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.39 (s, 1H), 7.93 (dd, *J* = 24.2, 7.6 Hz, 2H), 7.75 - 7.46 (m, 4H), 6.35 - 6.03 (m, 2H), 5.71 - 5.47 (m, 1H), 4.60 - 4.14 (m, 2H), 3.88 - 3.54 (m, 2H), 3.26(d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 2.03 (d, *J* = 49.7 Hz, 3H).

[0509] **PH-ALIG-14-3-3의 제조**

[0510] 아르곤의 불활성 대기로 퍼징되고 유지된 250 mL 3 목 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-3-2**(4.00 g, 10.195 mmol, 1.00 당량), DCM(80.00 mL), 다이메틸 하이드록시메틸포스포네이트(22.85 g, 163.114 mmol, 16.00 당량), $BF_3.Et_2O$(28.94 g, 203.91 mmol, 20 당량)를 배치하였다. 생성된 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 500 mL의 물/얼음을 첨가하여 반응을 켄칭하였다. 생성된 용액을 2x500 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였다. 생성된 혼합물을 2 x500 ml의 물로 세척하였다. 혼합물을 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰고 농축하였다. 잔류물을 다이클로로메테인/메탄올(20/1)과 함께 실리카겔 컬럼에 적용하였다. 이는 2 g(41.5%)의 **PH-ALIG-14-3-3**을 고체로서 생성하였다.

[0511] LC-MS:(ES, m/z): 490 $[M+H_2O]$+; 1H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.39 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.96 (dt, J = 11.5, 9.3 Hz, 2H), 7.81 - 7.40 (m, 4H), 6.29 - 5.98 (m, 1H), 5.56 (dd, J = 12.2, 8.1 Hz, 1H), 5.28 - 4.99 (m, 1H),4.29 (dp, J = 25.1, 5.9 Hz, 2H), 4.16 - 3.84 (m, 2H), 3.75 - 3.53 (m, 7H), 3.28 (d, J = 12.5 Hz, 2H).

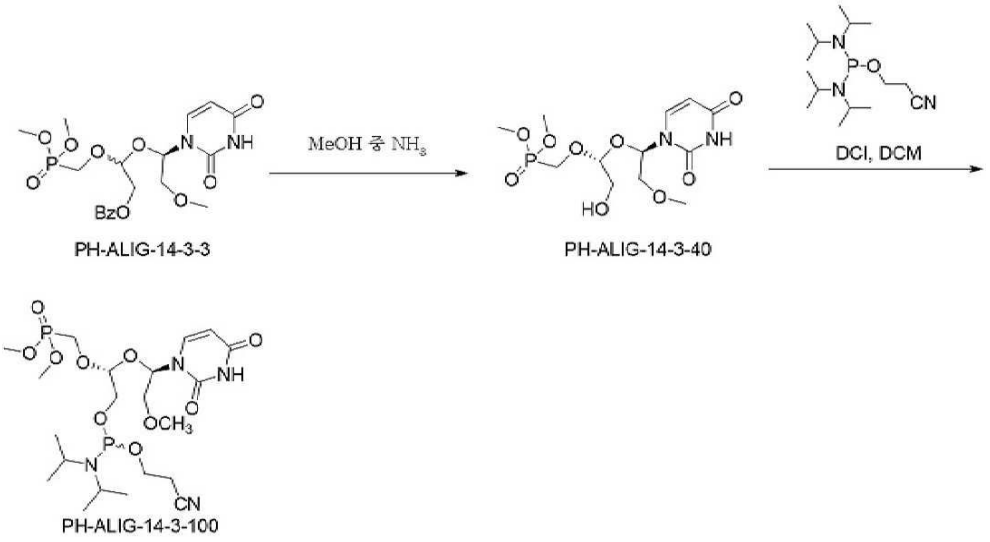
[0512] **PH-ALIG-14-3-4의 제조**

[0513] 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 **PH-ALIG-14-3-3**(2.00 g, 4.234 mmol, 1.00 당량)을 배치하였으며, THF (20.00 mL) 중 7M NH_3(g)을 첨가하였다. 생성된 용액을 25℃에서 밤새 교반하였으며, 생성된 혼합물을 진공하에 농축하였다. 미정제 생성물을 Prep-sfc 컬럼: Lux 5um i-셀룰로스-5, 3*25 cm, 5 μm; 이동상 A: CO_2, 이동상 B: MeOH(0.1% 2M NH_3-MEOH); 유속: 70 mL/분; 구배: 등용매 50% B; 컬럼 온도(25℃): 35; 배압(bar): 100; 파장: 220 nm; RT1(분): 3.75; RT2(분): 4.92; 샘플 용매: MeOH: DCM=1: 1; 주입 부피: 1 mL; 실행 횟수: 15로 정제하였다. 이는 330 mg(21.2%)의 **PH-ALIG-14-3-4**를 고체로서 생성하였다. 1H-NMR-: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.14 (s, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.06 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 5.64 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.63 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.98 (d, *J* = 9.8 Hz, 2H), 3.70 (dd, *J* = 10.7, 1.2 Hz, 8H), 3.63 (dd, *J* = 6.0, 3.2 Hz,1H), 3.29 (s, 3H).

[0514] **PH-ALIG-14-3-0의 제조**

[0515] DCM(10mL) 중 3-{[비스(다이아이소프로필아미노)포스파닐]옥시}프로페인나이트릴(324.10 mg, 1.075 mmol, 1.2 당량) 및 1H-이미다졸-4,5-다이카보나이트릴(126.99 mg, 1.075 mmol, 1.2 당량)의 교반 용액에 **PH-ALIG-14-3-4**(330 mg, 0.9 mmol, 1.00 당량)를 아르곤 대기하에 25℃에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 25℃에서 30분 동안 교반하였다. 반응을 물/얼음으로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (2 x 10 mL)로 추출하였다. 조합한 유기층을 물(2x10 mL)로 세척하였고, 무수 $MgSO_4$상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 컬럼: Ultimate Diol, 2*25 cm, 5 μm; 이동상 A: CO2, 이동상 B: ACN; 유량: 50 mL/분; 구배: 등용매 30% B; 컬럼 온도(25℃): 35; 배압(bar): 100; 파장: 254 nm; RT1(분): 3.95; 샘플 용매: ACN; 주입 부피: 1 mL; 실행 횟수: 10. 이는 **PH-ALIG-14-3-0**(349 mg, 68.4%)을 밝은 황색 오일로서 생성하였다. LC-MS:(ES, *m/z*): 567.25 $[M+H]^+$; 1H-NMR: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.38 (s, 1H), 7.64 (dd, *J* = 8.0, 1.3 Hz, 1H), 6.09 (dt, *J* = 5.8, 3.4 Hz, 1H), 5.65 (dd, *J* = 8.0, 3.2 Hz, 1H), 4.83 (q, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.03 (dt, *J* = 9.7, 2.2 Hz, 2H), 3.83 - 3.40 (m, 14H), 3.30 (s, 3H), 2.77 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 1.12 (ddd, *J* = 9.2, 6.7, 1.7 Hz, 12H); ^{31}P NMR (DMSO-d_6) δ 148.0, 147.6, 23.1

[0516] 실시예 4



[0517]

[0518] 반응식 -3

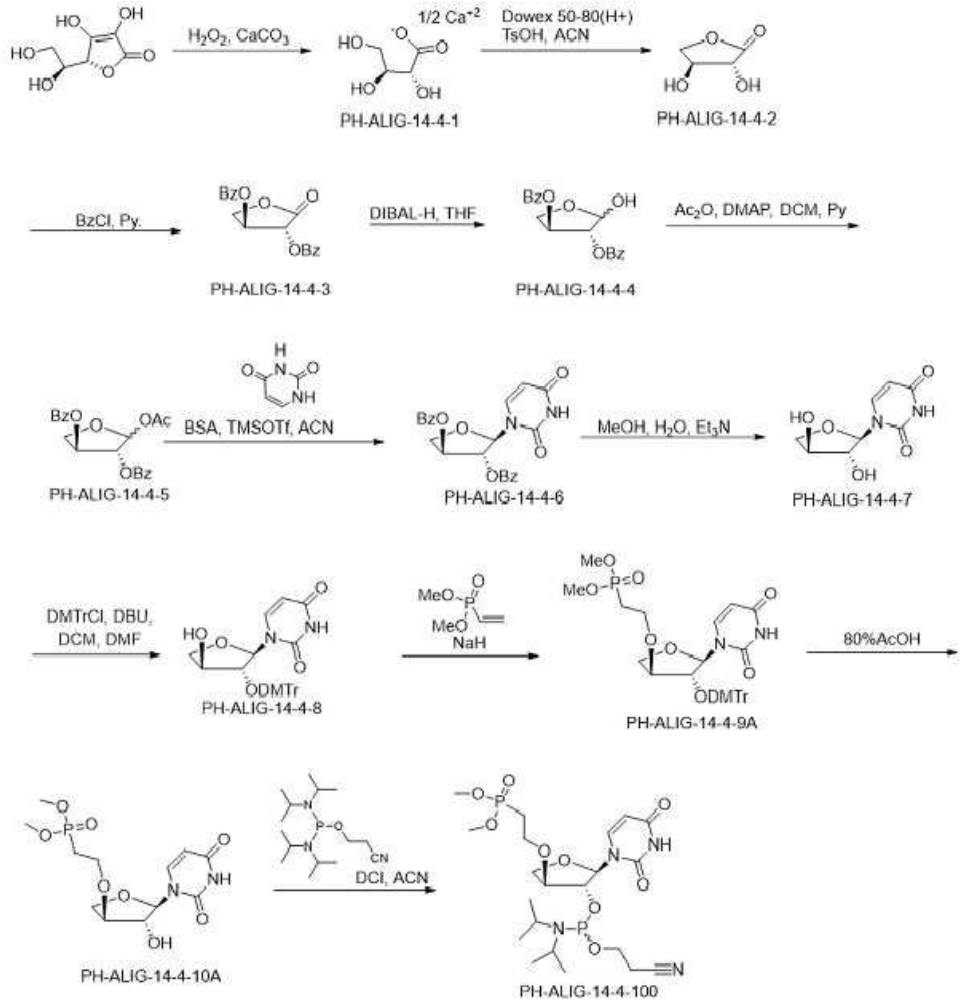
[0519] PH-ALIG-14-3-40의 제조

[0520] 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 2 PH-ALIG-14-3-3(2.00 g, 4.234 mmol, 1.00 당량)을 배치하였으며, THF(20.00 mL) 중 7M NH_3(g)을 첨가하였다. 생성된 용액을 25℃에서 밤새 교반하였으며, 생성된 혼합물을 진공하에 농축하였다. 미정제 생성물을 prep-sfc 컬럼: Lux 5um i-셀룰로스-5, 3*25 cm, 5 μm; 이동상 A: CO2, 이동상 B: MeOH(0.1% 2M NH_3-MeOH); 유속: 70 mL/분; 구배: 등용매 50% B; 컬럼 온도(℃): 35; 배압(bar): 100; 파장: 220 nm; RT1(분): 3.75; RT2(분): 4.92; 샘플 용매: MeOH: DCM=1: 1; 주입 부피: 1 mL; 실행 횟수: 15로 정제하였다. 이는 320 mg(22.8%)의 PH-ALIG-14-3-40를 고체로서 생성하였다. 1 H-NMR- -14-3-40: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.11 (s, 1H), 7.70 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.03 (t, J = 6.1 Hz, 1H), 5.64 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.76 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 4.07 - 3.85 (m, 1H), 3.79 (dd, J = 13.9, 9.3 Hz, 1H), 3.73 - 3.55 (m, 9H), 3.41 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 3.28 (s, 3H).

[0521] PH-ALIG-14-3-100의 제조

[0522] DCM 중 3-{[비스(다이아이소프로필아미노)포스파닐]옥시}프로페인나이트릴(517.58 mg, 1.717 mmol, 1.2 당량) 및 1H-이미다졸-4,5-다이카보나이트릴(202.79 mg, 1.717 mmol, 1.2 당량)의 교반 용액/혼합물에 PH-ALIG-14-3-40(527 mg, 1.431 mmol, 1.00 당량)을 아르곤 대기하에 25℃에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 25℃에서 30분 동안 교반하였다. 반응을 물/얼음으로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (2 x 10 mL)로 추출하였다. 조합한 유기층을 물(2x10 mL)로 세척하였고, 무수 MgSO4 상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 컬럼: Ultimate Diol, 2*25 cm, 5 μm; 이동상 A: CO_2, 이동상 B: ACN(0.1% DEA)--HPLC--merk; 유량: 50 mL/분; 구배: 등용매 30% B; 컬럼 온도(℃): 35; 배압(bar): 100; 파장: 254 nm; RT1(분): 4.57; 샘플 용매: ACN; 주입 부피: 1 mL; 실행 횟수: 10 PH-ALIG-14-3-100(264.8 mg, 31.7%)을 밝은 황색 오일로서 수득하였다. LC-MS:(ES, *m/z*): 567.25 $[M-H]^-$;: 1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.24 (s, 1H), 11.31 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.18 - 7.83 (m, 2H), 7.81 - 7.63 (m, 2H), 7.61 - 7.42 (m, 2H), 6.01 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.61 (dd, J = 8.0, 2.2 Hz,1H), 4.72 - 4.40 (m, 3H), 3.73 - 3.55 (m, 2H), 3.22 (s, 3H); ^{31}P NMR (DMSO-d_6) δ 148.01, 147.67, 22.8

[0523] 실시예 5



[0524]

[0525] 반응식 -4

[0526] PH-ALIG-14-4-1의 제조

[0527] H_2O(1.00 L) 중 아스코르브산(100.00 g, 567.78 mmol, 1.00 당량) 및 $CaCO_3$(113.0 g, 1129.02 mmol, 2 당량)의 교반된 혼합물에 H_2O_2(30%)(236.0 g, 6938.3 mmol, 12.22 당량)를 0℃에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 숯으로 처리하고 더 이상 과산화물이 검출되지 않을 때까지 70도로 가열하였다. 생성된 혼합물을 여과하였으며 필터 케이크를 온수(3x300 mL)로 세척하였다. 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 고체를 MeOH(200 mL)로 희석하였으며 혼합물을 5시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 여과하였으며, 필터 케이크를 MeOH (3x80 mL)로 세척하였다. 여액을 감압하에 농축시켜 L-트레오네이트 (86 g, 96.6%)를 백색 미정제 고체로서 수득하였다. 1H-NMR-: (300 MHz, 산화 중수소) δ 4.02 (dd, J = 4.6, 2.4 Hz, 1H), 3.91 (ddt, J = 7.6, 5.3, 2.2 Hz, 1H), 3.78 - 3.44 (m, 2H).

[0528] PH-ALIG-14-4-2의 제조

[0529] 5L 둥근 바닥 플라스크에 실온에서 L-트레오네이트(70.00 g, 518.150 mmol, 1.00 당량) 및 H_2O(2L)를 첨가하였다. 잔류물을 Dowex 50wX8,H(+)형태)을 사용하여 pH=1로 산성화하였다. 생성된 혼합물을 70℃에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 여과하였으며, 필터 케이크를 물(2x1 L)로 세척하였다. 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 고체를 (2x2 L)로 공동-증발시켰다. 이후, 고체를 ACN(700.00 mL)으로 희석하였으며, TsOH(5.35 g, 31.089 mmol, 0.06 당량)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 공기 대기하에 80℃에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 여과하였으며, 필터 케이크를 ACN(2x500 mL)으로 세척하였다. 여액을 감압하에 황색 오일로서 PH-ALIG-14-4-2 (70g, 미정제)로 농축시켰다.

[0530] PH-ALIG-14-4-3의 제조

[0531] 피리딘(280.00 mL) 중 **PH-ALIG-14-4-2**(70.0 g 미정제, 593.2 mmol, 1.00 당량)의 교반된 용액에 벤조일 클로라이드(207.62 g, 1.483 mol, 2.5 당량)를 아르곤 대기하에 0℃에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응을 포화 $NaHCO_3$(수성) (500 mL)를 0℃에서 첨가하여 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 CH_2Cl_2(3 x 500mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(2x300 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였으며 PE/EtOAc로 용리하여 **PH-ALIG-14-4-3**(80g, 41.4%)을 회백색 고체로서 수득하였다. LC-MS: (ES, m/z): 327 $[M+H]^+$; 1H-NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.18 - 8.04 (m, 4H), 7.68 - 7.61 (m, 2H), 7.50 (tt, J = 7.1, 1.4 Hz, 4H), 5.96 - 5.57 (m, 2H), 5.11 - 5.00 (m, 1H), 4.45 - 4.35 (m, 1H).

[0532] **PH-ALIG-14-4-4의 제조**

[0533] THF(1.50 L) 중 **PH-ALIG-14-4-3**(125 g, 383.078 mmol, 1.00 당량)의 교반된 용액에 아르곤 대기하에 -78℃에서 DIBAL-H(1M)(600 mL, 2 당량)를 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 -78℃에서 1시간 동안 교반하였다. 원하는 제품이 LCMS에 의해 검출되었습니다. 반응을 0℃에서 MeOH로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc(600 mL)로 희석하였다. 이후, 생성된 혼합물을 여과하였으며, 필터 케이크를 EtOAc(3x800 mL)로 세척하였다. 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 이는 **PH-ALIG-14-4-4**(73g, 조)를 무색 고체로서 생성하였다. LC-MS: (ES, m/z): 392 [M+Na+ACN]+; 1H-NMR-: (400 MHz, 클로로폼-d) δ 8.22 - 7.99 (m, 8H), 7.62 (dtd, J = 7.4, 4.4, 2.2 Hz, 4H), 7.48 (td, J = 7.8, 2.4 Hz, 8H), 5.87 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 5.77 (dt, J = 6.6, 3.6 Hz, 1H), 5.56 (d, J = 4.9 Hz, 2H), 5.50 (t, J = 4.3 Hz, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.63 (ddd, J = 10.4, 7.9, 6.1 Hz, 2H), 4.28 (dd, J = 10.3, 3.8 Hz, 1H), 3.99 (dd, J = 10.6, 3.2 Hz, 1H).

[0534] **PH-ALIG-14-4-5의 제조**

[0535] DCM(365.00 mL) 중 **PH-ALIG-14-4-4**(73.00 g, 222.344 mmol, 1.00 당량) 및 DMAP (271.63 mg, 2.223 mmol, 0.01 당량) 및 피리딘(365.00 mL)의 교반 용액에 아르곤 대기하에 0℃에서 Ac_2O(24.97 g, 244.6 mmol, 1.1 당량)를 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응을 포화 $NaHCO_3$(수성)로 0℃에서 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 CH_2Cl_2(3 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 $CuSO_4$(3x200 mL)로 세척하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였으며 PE/EtOAc로 용리하여 **PH-ALIG-14-4-5**(60 g, 73%)를 무색 오일로서 수득하였다. LC-MS: (ES, *m/z*): 434 $[M+Na+ACN]^+$; 1H-NMR: (400 MHz, 클로로폼-d) δ 8.17 - 8.02 (m, 8H), 7.63 (tddd, J = 7.9, 6.6, 3.2, 1.6 Hz, 4H), 7.57 - 7.44 (m, 8H), 6.66 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 6.40 (s, 1H), 5.83 - 5.53 (m, 4H), 4.67 (ddd, J = 23.4, 10.5, 6.2 Hz, 2H), 4.24 (dd, J = 10.5, 3.8 Hz, 1H), 4.19 - 4.01 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.06 (d, J = 3.2 Hz, 3H).

[0536] **PH-ALIG-14-4-6의 제조**

[0537] can(500.00 mL) 중 **PH-ALIG-14-4-5**(50.00 g, 135.005 mmol, 1.00 당량) 및 유라실(15.13 g, 135.005 mmol, 1 당량)의 교반된 혼합물에 BSA(54.81 g, 270.010 mmol, 2 당량)를 공기 대기하에 실온에서 부분적으로 첨가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 60℃에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, TMSOTf(90.02 g, 405.0 mmol, 3 당량)를 0℃에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 60℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 포화 $NaHCO_3$(수성)을 사용하여 pH=7로 중화시켰다. 생성된 혼합물을 CH_2Cl_2(3 x 400mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(2x400 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였으며 PE/EtOAc(1:1)로 용리하여 **PH-ALIG-14-4-6**(43 g, 75.4%)을 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS: (ES, *m/z*): $[M+H]^+$; 423 464 [M+H+ACN]+; 1H-NMR- : (300 MHz, 클로로폼-d) δ 9.08 - 8.89 (m, 1H), 8.17 - 7.94 (m, 4H), 7.70 - 7.43 (m, 7H), 6.19 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 5.84 - 5.71 (m, 2H), 5.62 (td, J = 3.3, 2.8, 1.4 Hz, 1H), 4.59 -4.44 (m, 2H), 4.14 (q, J = 7.2 Hz, 1H).

[0538] **PH-ALIG-14-4-7의 제조**

[0539] **PH-ALIG-14-4-6**(52.00 g, 123.108 mmol, 1 당량)의 용액을 642 ml의 $MeOH/H_2O/TEA$(5:1:1)에 실온에서 용해시켰

으며 더 이상 출발 물질이 검출되지 않을 때까지 가열 환류시켰다(2 내지 3시간). 생성된 혼합물을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 EtOAc(600 mL)에 용해시켰으며 유기층을 물(5x800 mL)로 추출하였다. 수성층을 진공하에 농축하여 **PH-ALIG-14-4-7**(21g, 미정제)을 회백색 고체로서 수득하였다. 조질의 생성물을 추가 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. LC-MS-: (ES, *m/z*): 213 [M-H]-; 1 H-NMR: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.26 (s, 1H), 7.68 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.65 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 5.59 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.39 (s, 1H), 4.10 - 3.97 (m, 4H).

[0540] **PH-ALIG-14-4-8의 제조**

[0541] DCM(80.00 mL) 및 DMF(200.00 mL) 중 **PH-ALIG-14-4-7**(16.00 g, 74.705 mmol, 1.00 당량) 및 DBU(22.75 g, 149.409 mmol, 2 당량)의 교반된 혼합물에 DMTr-Cl(7.88 g, 25.680 mmol, 1.1 당량)을 아르곤 대기하에 실온에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응을 포화 $NaHCO_3$(수성)(100 mL)를 0℃에서 첨가하여 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc(3 x 60 mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(2x50 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였으며 PE(0.5%TEA)/EtOAc(2:3)로 용리하여 **PH-ALIG-14-4-8**(25 g, 64.8%)을 회백색 고체로서 수득하였다.; LC-MS: (ES, *m/z*): 515 $[M-H]^-$; ^{1}H-NMR: (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.33 (s, 1H), 7.57 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.45 - 7.13 (m, 9H), 6.86 (t, J = 8.5 Hz, 4H), 5.94 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 5.58 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.15 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 3.97 - 3.79 (m, 3H), 3.73 (d, J = 2.3 Hz, 6H), 3.33 (d, J = 2.5 Hz, 1H).

[0542] **PH-ALIG-14-4-9A의 제조**

[0543] THF(240.00 mL) 중 **PH-ALIG-14-4-8**(6.00 g, 11.616 mmol, 1.00 당량)의 교반된 용액에 아르곤 대기하에 0℃에서 NaH (60%)(1.40 g, 35.003 mmol, 3 당량)를 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 다이메틸 에테닐포스포네이트(15.81 g, 116.2 mmol, 10.00 당량)를 첨가하였으며 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 밤새 교반하였다. 반응을 포화 NH_4Cl(수성)로 실온에서 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (3 x 100mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(3x80 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 다음 조건으로 역 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 이동상, 물 중 ACN, 30분 내에 5% 내지 95% 구배; 검출기, UV 254 nm **PH-ALIG-14-4-9A**(3.65 g, 48.15%)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0544] LC-MS: (ES, *m/z*): 675 [M+Na]+; 1 H-NMR-: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.39 (s, 1H), 7.44 - 7.36 (m, 3H), 7.34 - 7.21 (m, 7H), 6.93 - 6.83 (m, 4H), 6.08 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.55 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.08 (d, J = 11.0 Hz, 1H),3.92 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 3.82 - 3.71 (m, 7H), 3.57 (dd, J = 10.9, 3.6 Hz, 6H), 3.30 - 3.23 (m, 1H), 3.06 - 2.86 (m, 2H), 1.96 (dt, J = 18.1, 7.1 Hz, 2H).

[0545] **PH-ALIG-14-4-10A의 제조**

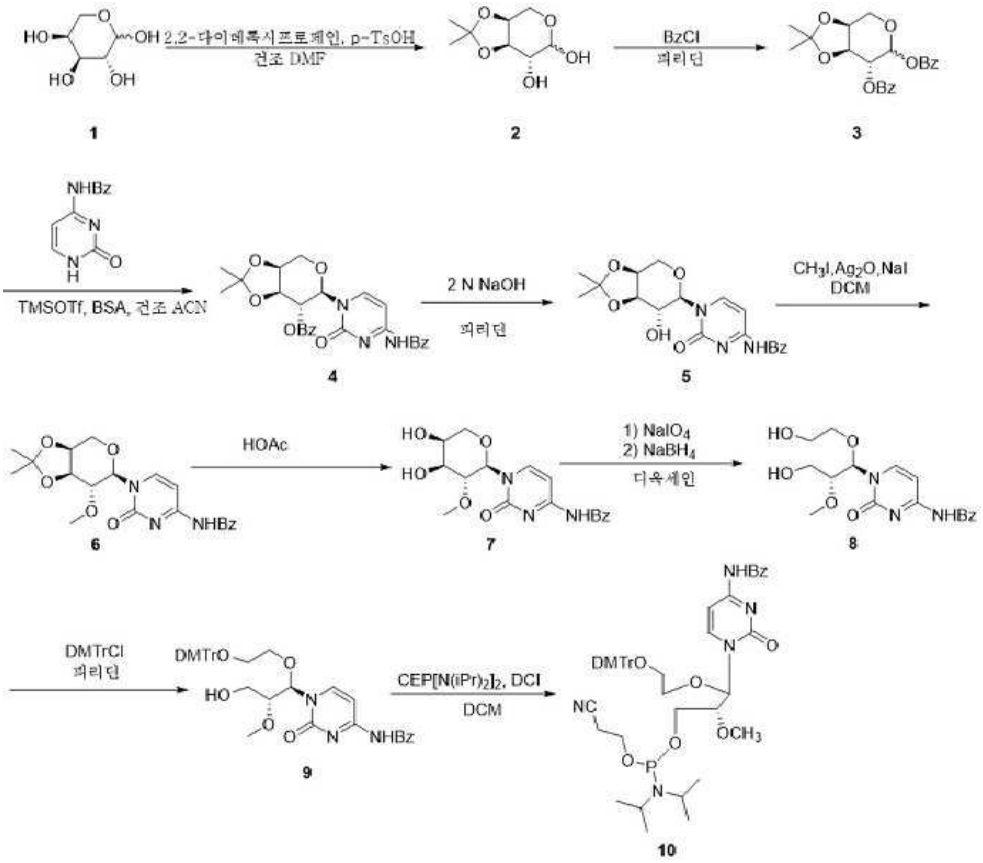
[0546] AcOH(12.00 mL) 및 H_2O(3.00 mL) 중 **PH-ALIG-14-4-9A**(2.80 g, 4.3 mmol, 1.00 당량)의 용액을 공기 대기하에 실온에서 밤새 교반하였다. 반응을 포화 $NaHCO_3$(수성)로 0℃에서 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 3x20 mL의 CH_2Cl_2로 세척하였다. 생성물은 수층에 있었다. 수층을 감압하에 농축하였다. 생성물을 다음 조건(Prep SFC80-2)으로 Prep-SFC에 의해 정제하였다: 컬럼, Green Sep Basic, 3*15 cm,; 이동상, CO_2(70%) 및 IPA(0.5% 2M NH_3-MeOH)(30%); 검출기, UV 254 nm; 생성물을 수득하였다. 이는 870 mg(57.89%)의 **PH-ALIG-14-4-10A**를 백색 고체로서 생성하였다. LC-MS: (ES, *m/z*): 351 [M+Na]+; 1H-NMR-: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.28 (s, 1H), 7.56 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.86 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 5.65 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 5.56 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.17 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 4.10 (d, J =4.3 Hz, 1H), 4.00 (dd, J = 10.1, 3.9 Hz, 1H), 3.87 (dt, J = 4.1, 1.3 Hz, 1H), 3.72 - 3.49 (m, 8H), 2.08 (dd, J = 7.1, 2.8 Hz, 1H), 2.05 - 1.96 (m, 1H).

[0547] **PH-ALIG-14-4-100의 제조**

[0548] 250 mL 3구 둥근 바닥 플라스크에 실온에서 Molecularsieve 및 ACN(30.00 mL)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 10분 동안 교반하였다. 이후, 교반된 용액에 3-[[비스(다이아이소프로필아미노)포스파닐]옥시] 프로페인나이트릴(1058.46 mg, 3.512 mmol, 1.5 당량) 및 DCI(359.12 mg, 3.043 mmol, 1.30 당량)

를 첨가하였다. 이후, 30 mL ACN 중 다이메틸 **PH-ALIG-14-4-10A**(820.00 mg, 2.341 mmol, 1.00 당량)를 아르곤 대기하에 실온에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 CH2Cl2(60mL)로 희석하였다. 조합한 유기층을 여과 후 물(3x40 mL)로 세척하였고, 무수 MgSO4 상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압하에서 농축하였다. 잔류물을 Prep-TLC(1:9 PE 중 0.5% TEA/EtOAc 중 10% EtOH)에 의해 정제하여 **PH-ALIG-14-4-100**(800 mg, 62.1%)을 무색 오일로서 수득하였다. LC-MS: (ES, *m/z*): 549 $[M-H]^-$; 1H-NMR: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.34 (s, 1H), 7.61 (dd, J = 8.1, 1.7 Hz, 1H), 5.80 (dd, J = 15.0, 1.8 Hz, 1H), 5.60 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.48 - 4.23 (m, 2H), 4.17 - 3.98 (m, 2H), 3.88 - 3.73 (m, 2H), 3.72 - 3.51 (m, 10H), 2.79 (q, J = 5.9 Hz, 2H), 2.07 (dtt, J = 17.9, 7.1, 3.2 Hz, 2H), 1.15 (ddd, J = 6.3, 3.8, 2.1 Hz, 12H); ^{31}P NMR (DMSO-d_6) δ 149.71, 149.35, 30.85, 30.75

[0549] **실시예 6**



[0550]

[0551] **반응식 -5**

[0552] **2의 제조**: (*J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1, 1992, 1943-1952) DMF(2.0 L) 중 1 (150.0 g, 1.0 mol)의 용액에 2,2-다이메톡시프로페인(312.0 g, 3.0 mol) 및 *p*-TsOH(1.7 g, 10.0 mmol)를 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였으며, 반응 후, 용매를 농축하여 미정제 생성물을 수득하였으며, 이를 다음 단계로 직접 사용하였다.

[0553] **3의 제조**: (*J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1, 1992, 1943-1952) 피리딘 (2.0 L) 중 2 (190.0 g, 1.0 mol)의 용액에 BzCl(560.0 g, 4.0 mol)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, 반응 후, 반응 혼합물을 얼음물에 부었으며, EA를 추출을 위해 첨가하였고, 유기상을 염수로 세척하였으며, Na_2SO_4상에서 건조시켰고, 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였으며, 이를 실리카 겔 컬럼(EA:PE = 1:5 내지 1:1)으로 정제하여 3(350.0 g, 87.9% 수율)을 수득하였다, ESI-LCMS: m/z =421.2 $[M+Na]^+$.

[0554] **4의 제조**: (J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1992, 1943-1952) MeCN(3.0 L) 중 3(240.0 g, 815.5 mmol)의 용액에 *N*-(2-옥소-1H-피리미딘-4-일) 벤즈아마이드(193.0 g, 897.0 mmol) 및 BSA(496.6 g, 2.4 mol)를 첨가하였다. 이후, 반응 혼합물을 50℃에서 30분 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 0℃로 냉각하고, TMSOTf(271.5 g, 1.2

mol)를 0℃에서 혼합물에 첨가한 후, 반응 혼합물을 70℃에서 2시간 동안 교반한 후, 반응 후, 용매를 농축하여 오일을 제공한 후, 혼합물이 약간 알칼리성을 유지하도록 $NaHCO_3$ 용액에 오일을 붓고, EA를 추출을 위해 첨가한 후, 유기상을 염수로 세척하고, Na_2SO_4로 건조하고 농축하여 미정제 생성물을 실리카겔 컬럼(EA:PE=1:3 내지 1:1)으로 정제하여 4(180.0 g, 44.9% 수율)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =491.2 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.19 (s, 1H), 8.20 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.01-7.84 (m, 4H), 7.73-7.57 (m, 2H), 7.50 (dt, J = 10.4, 7.7 Hz, 4H), 7.40 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.03 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 5.33 (dd, J = 9.4, 7.3 Hz, 1H), 4.66 (dd, J = 7.3, 5.3 Hz, 1H), 4.45-4.35 (m, 2H), 4.22 (dd, J = 13.7, 2.5 Hz, 1H), 1.58 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

[0555] **5의 제조**: 피리딘(800.0 mL) 중 4(78.0 g, 158.7 mmol)의 용액에 H_2O 및 MeOH(4:1, 2N)의 혼합 용매 중 NaOH(6.3 g, 158.7 mmol)의 용액을 첨가하였다. 이후, 반응 혼합물을 0℃에서 20분 동안 교반하였고, LC-MS 및 TLC는 원료가 사라졌음을 나타내었으며, 이후, 혼합물을 NH_4Cl의 용액에 붓고, EA를 추출을 위해 첨가하였으며, 유기상을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰으며, 농축시켜 미정제 생성물을으며 수득하였, 이를 실리카 겔 컬럼(DCM: MeOH = 30:1 내지 10:1)으로 정제하여 5(56.0 g, 91.0% 수율)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =388.1 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.29 (s, 1H), 8.16 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.08-7.99 (m, 2H), 7.67-7.60 (m, 1H), 7.53 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.35 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.63 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 5.51 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 4.35-4.13 (m, 3H), 3.78 (dt, J = 9.6, 6.5 Hz, 1H), 3.19 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 1.53 (s, 3H), 1.32 (s, 3H).

[0556] **6의 제조**: DCM(200.0 mL) 중 5(15.0 g, 38.7 mmol)의 용액에 Ag_2O(35.8 g, 154.8 mmol), CH_3I(54.6 g, 387.2 mmol) 및 NaI(1.1 g, 7.7 mmol)를 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후, 반응 후, 여액을 여과를 통해 수득하였고, 여액을 용매를 농축시켜 생성물 6(13.0 g, 75.2% 수율)을 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =402.30 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.30 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.00 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.71-7.20 (m, 4H), 5.56 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 4.33 (t, J = 6.1 Hz, 1H), 4.26 (dd, J = 6.2, 2.1 Hz, 1H), 4.20 (d, J = 13.5 Hz, 1H), 3.98 (dd, J = 13.5, 2.5 Hz, 1H), 3.66 (dd, J = 9.3, 6.6 Hz, 1H), 3.34 (s, 3H), 1.57 (s, 3H), 1.32 (s, 3H).

[0557] **7의 제조**: 6(12.0 g, 29.9 mmol)의 용액에 CH_3COOH(120.0 mL)를 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LC-MS 및 TLC는 원료 물질이 사라졌음을 나타내었으며, 이후 용매를 농축시켜 미정제 생성물 7(10.0 g, 83.3% 수율)을 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =362.1 $[M+H]^+$.

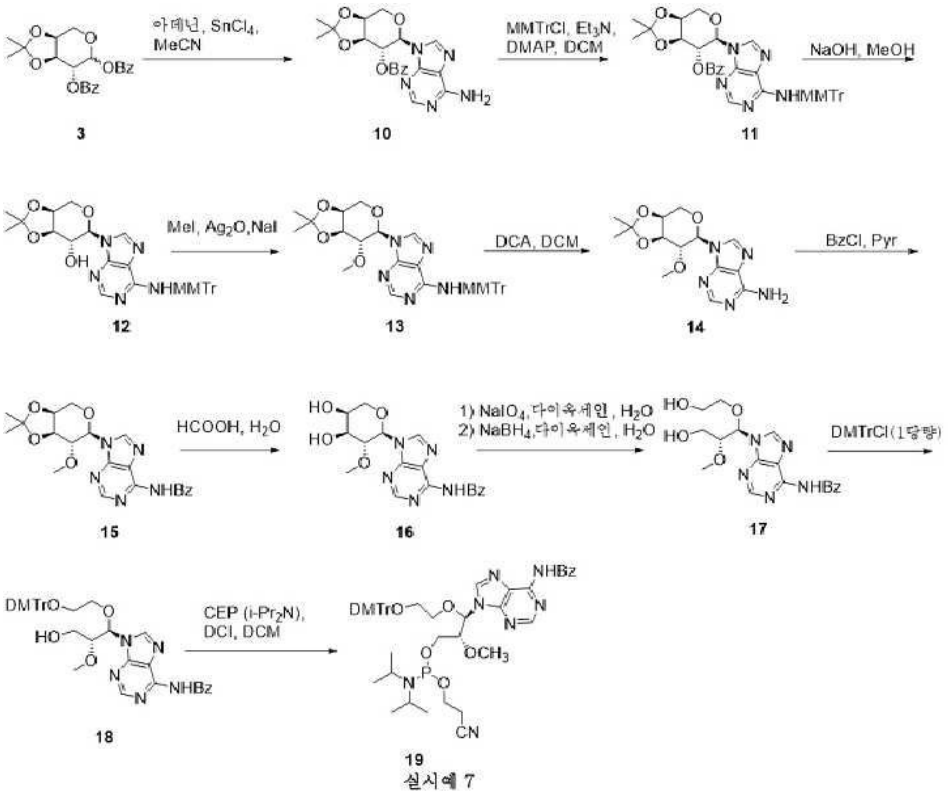
[0558] **8의 제조**: 다이옥세인:H_2O=3:1(120.0 mL) 중 7(10.0 g, 24.9 mmol)의 용액에 $NaIO_4$(8.8 g, 41.5 mmol)를 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LC-MS 및 TLC는 원료가 사라졌음을 나타낸 후, 반응 혼합물을 0℃로 냉각하였고, $NaBH_4$ (2.4 g, 41.5 mmol)를 혼합물에 첨가하였으며, 0℃에서 0.5시간 동안 교반하였고, LC-MS 및 TLC는 원료가 사라졌음을 나타낸 후, NH_4Cl을 혼합물에 첨가하여 pH를 약간 알칼리성으로 조정하였으며, 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였고, 실리카 겔 컬럼 (PE:EA=5:1 내지 1:1)으로 정제하여 8(8.0 g, 79.5% 수율)을 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =364.1 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.26 (s, 1H), 8.14 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.07-7.94 (m, 2H), 7.67-7.59 (m, 1H), 7.52 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.37 (s, 1H), 5.91 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.77 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.70 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 3.70 (ddd, J = 11.5, 5.0, 2.5 Hz, 1H), 3.57-3.39 (m, 6H), 3.31 (s, 3H).

[0559] **9의 제조**: 피리딘(50.0 mL) 중 8(4.0 g, 11.0 mmol)의 용액에 DMTrCl(5.5 g, 16.5 mmol)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LC-MS는 원료 물질이 20.0%이었으며, 생성물 대 부산물의 비율이 3.5:1임을 나타낸 후, 용매를 농축하여 잔류물을 수득하였고, 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 정제된 생성물 및 부산물이 총 5 g이 되게 한 후, 생성물을 SFC로 정제하여 9(3.0 g, 40.9% 수율)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =666.2 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.33 (s, 1H), 8.20 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 8.04 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.64 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.53 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 7.8 Hz, 3H), 7.36-7.18 (m,

7H), 6.89 (d, J = 8.4 Hz, 4H), 5.96 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.79 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 3.73 (s, 6H), 3.66-3.46 (m, 4H), 3.37 (s, 3H), 3.16 (ddd, J = 10.1, 7.1, 3.0 Hz, 1H), 3.04 (dt, J = 10.9, 3.4 Hz, 1H), 2.08 (s, 1H).

[0560] **10의 제조:** DCM(30.0 mL) 중 9(2.8 g, 4.2 mmol)의 용액에 CEP[N(iPr)$_2$]$_2$(1.3 g, 4.2 mmol) 및 DCI(601.2 mg, 5.1 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LC-MS는 9가 완전히 소모되었음을 나타낸다. 용액을 $NaHCO_3$ 용액으로 2회 세척하였고 염수로 세척하였으며 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 이후 농축하여 잔류물을 수득하였으며, 이를 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C_{18} 실리카겔; 이동상, CH_3CN/H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 1/1 증가시켜 20.0분 이내에 CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/0으로, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 90/10; 검출기, UV 254 nm로 수집하였다. 이는 **10**(2.8 g, 76.8% 수율)을 생성하였다. ESI-LCMS: m/z =866.2 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.34 (s, 1H), 8.22 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 8.09-7.98 (m, 2H), 7.64 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.53 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.31 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.24 (t, J = 9.1 Hz, 5H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 5.96 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.02-3.86 (m, 1H), 3.84-3.63 (m, 11H), 3.56 (dtq, J = 13.3, 6.6, 3.5, 3.1 Hz, 3H), 3.37 (s, 2H), 3.16 (ddd, J = 10.0, 6.8, 3.3 Hz, 1H), 3.04 (ddd, J = 10.7, 5.5, 3.0 Hz, 1H), 2.75 (td, J = 5.9, 2.3 Hz, 2H), 1.18-1.07 (m, 12H); ^{31}P NMR (DMSO-d_6) δ 148.02 (d, J = 12.0 Hz).

[0561] **실시예 7**



[0562] 실시예 7

[0563] **반응식 -6**

[0564] **10의 제조**: ACN(2000.0 mL) 중 **3**(200.0 g, 0.5 mol)의 용액에 DCM(1000.0 mL) 중 $SnCl_4$의 용액을 0℃에서 N_2하에 첨가하였으며, 반응 혼합물을 0℃에서 4시간 동안 N_2 대기하에 교반하였다. 이후 반응 용액을 포화 소듐 바이카보네이트 용액에 부었으며, 생성된 생성물을 EA(3*500.0 mL)로 추출하였다. 조합한 유기층을 물 및 염수로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였고, 이를 실리카 겔 컬럼(PE:EA = 5:1 내지 0:1)으로 정제하여 **10**(65.0 g, 31.4% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =412.0 $[M+H]^+$;

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.27 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.74-7.60 (m, 2H), 7.59-7.57 (m, 1H), 7.44-7.40 (m, 2H),7.24 (s, 2H), 5.90 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 7.4 Hz, 1H), 4.63 (t, 1H), 4.50-4.30 (m, 2H), 4.21 (dd, J = 13.6 Hz, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

[0565] **11의 제조**: DCM(500.0 mL) 중 **10**(40.0 g, 97.3 mmol)의 용액에 Et_3N(30.0 g, 297.0 mmol) 및 DMAP(1.2 g, 9.8 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 3회에 걸쳐 N_2로 교체한 후, MMTrCl(45.0 g, 146.1 mmol)을 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. TLC 및 LC-MS는 **10**이 소모되었음을 나타내었으며, 반응 혼합물을 얼음물 중 $NaHCO_3$ 수용액에 첨가하였다. 이후 생성물을 EA로 추출하였고, 유기상을 염수로 세척하였으며, 유기상을 Na_2SO_4상에서 건조시킨 후, 농축시켜 미정제 물질로서 **11**(66.5 g)을 수득하였고, 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0566] **12의 제조**: 피리딘(600.0 mL) 중 **11**(66.5 g, 97.3 mmol)의 용액에 2N NaOH(H_2O: MeOH=4:1)(200.0 mL)를 실온에서 첨가하였다. 이후 반응 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하였고, LC-MS 및 TLC는 원료가 사라졌음을 나타내었으며, 이후 혼합물을 NH_4Cl의 용액에 부었고, EA를 추출을 위해 첨가하였으며, 유기상을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였고, 이를 실리카 겔 컬럼(EA:PE = 1:5 내지 1:1)으로 정제하여 **12**(2 단계 동안 50.0 g, 88.7% 수율)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =580.4 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.44 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.36-7.16 (m, 13H), 6.89-6.80 (m, 2H), 5.59 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.35 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 4.32-4.12 (m, 4H), 4.08-3.95 (m, 3H), 3.72 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 1.17 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

[0567] **13의 제조**: CH_3I(200.0 mL) 중 **12**(46.0 g, 79.4 mmol)의 용액에 Ag_2O(36.6 g, 158.4 mmol) 및 NaI(6.0 g, 42.5 mmol)를 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 여과하였고 용매를 농축하여 다음 단계에서 직접 사용한 생성물 **13**(46.0 g, 97.6% 수율)을 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =594.3 $[M+H]^+$.

[0568] **14의 제조**: DCM(750.0 mL) 중 DCA(22.5 mL)의 교반된 용액에 **13**(46.0 g, 77.5 mmol) 및 Et_3Si(185.0 mL)를 실온에서 첨가하였다. 이후 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압하에 증발 건조시켜 잔류물을 수득하였고, 이를 $NaHCO_3$(50.0 mL)의 용액으로 슬러리화하여 **14**(19.0 g, 76% 수율)를 수득하였고, 이를 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0569] **15의 제조**: 피리딘(200.0 mL) 중 **14**(16.0 g, 49.7 mmol)의 용액에 0℃에서 BzCl(9.0 g, 64.7 mmol)을 첨가하였다. 이후 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LC-MS는 6을 완전히 소모하였음을 나타내었고, 이후 혼합물을 0℃로 냉각시켰으며, MeOH 및 H_2O 중 NaOH(2 N, 50.0 mL)의 용액을 반응 혼합물에 첨가하였고, 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반한 후, 혼합물을 NH_4Cl의 용액에 부었다. 생성물을 EA(300.0 mL)로 추출하였고, 유기 층을 염수로 세척하였으며, Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 이후 유기층을 농축시켜 잔류물을 수득하였고, 이를 PE:EA(8:1, 900.0 mL)로 슬러리로 정제하여 **15**(20.0 g, 95.0% 수율)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =426.2 $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 11.21 (s, 1H), 8.77-8.69 (m, 2H), 8.06 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.65 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.34-7.23 (m, 4H), 7.23-7.12 (m, 5H), 6.89-6.80 (m, 4H), 5.90 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.36-4.29 (m, 1H), 4.06 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 3.92 (dd, J = 25.0, 6.9 Hz, OH), 3.72 (d, J = 1.0 Hz, 7H), 3.59 (dt, J = 10.4, 6.6 Hz, 1H), 3.24 (s, 3H), 2.97 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 2.76 (q, J = 5.5 Hz, 2H), 1.14 (dd, J = 9.2, 5.7 Hz, 12H).

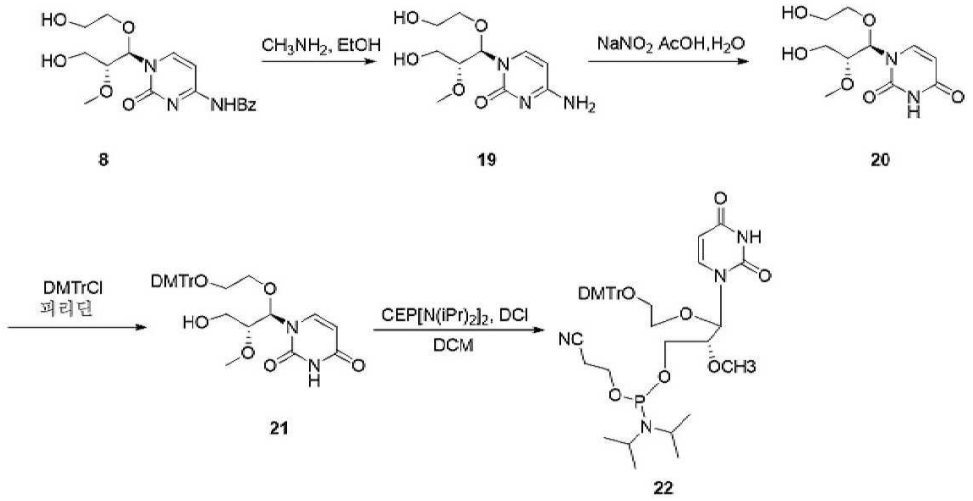
[0570] **16의 제조**: HCOOH(180.0 mL) 및 H_2O(20.0 mL)의 혼합 용액에 **15**(19.0 g, 44.7 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. LC-MS는 **15**가 완전히 소모되었음을 나타낸다. 이후 반응 혼합물을 농축시켜 잔류물을 수득하였고 이를 MeOH(100.0 mL)로 슬러리에 의해 정제하여 **16**(16.0 g, 92.7% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =385.9 $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.21 (s, 1H), 8.77 (d, J = 1.2 Hz, 2H), 8.09-8.02 (m, 2H), 7.70-7.61 (m, 1H), 7.56 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 5.56 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 5.21 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.94 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 4.18 (t, J = 9.1 Hz, 1H), 4.09 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.88-3.71 (m, 4H), 3.21-3.14 (m, 6H).

[0571] **17의 제조:** 다이옥세인(200.0 mL) 중 **16**(16.0 g, 41.4 mmol) 용액에 H_2O(32.0 mL) 및 $NaIO_4$(9.7 g, 45.5 mmol)를 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였고, LC-MS와 TLC는 원료가 사라졌음을 나타내었으며, 이후 반응 혼합물을 0℃로 냉각하였고, NaBH4(1.7 g, 45.5 mmol)를 혼합물에 첨가하여 0℃에서 0.5시간 동안 교반하였으며, LC-MS 및 TLC는 중간 상태가 사라졌음을 나타내었고, 이후 NH_4Cl을 혼합물에 첨가하여 pH가 약간 알칼리성이 되도록 조정하였으며, 실온에서 농축하여 미정제 생성물을 실리카 겔 컬럼(DCM: MeOH=20:1 내지 8:1)으로 정제하여 **17**(16.0 g, 99.5% 수율)을 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =388.0 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.18 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.09-7.99 (m, 2H), 7.65 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 5.90 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.88 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.08-3.98 (m, 2H), 3.78 (ddd, J = 12.1, 5.2, 3.1 Hz, 1H), 3.68-3.39 (m, 4H), 3.36 (s, 0H), 3.20 (s, 3H), 1.99 (s, 1H), 1.17 (t, J = 7.1 Hz, 1H).

[0572] **18의 제조:** 피리딘(50.0 mL) 중 **17**(12.0 g, 31.0 mmol)의 용액에 DMTrCl(11.5 g, 34.1 mmol)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LC-MS는 원료가 15.0% 남아 있고 생성물 대 부산물의 비율이 3.5:1임을 나타내었다. 이후 반응 용액을 빙수에 부었고, EA로 추출하였으며, 염수로 세척하였고, Na_2SO_4로 건조시켰으며, 여과하였고, 농축시켜 잔류물을 수득하였으며, 이를 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 정제된 생성물을 수득하고, 부산물을 총 13.0 g으로 수득한 후, 4.0 g의 미정제 물질을 SFC로 정제하여 **18**을 수득하였다(3.3 g, 15.4% 수율). ESI-LCMS: m/z =690.3 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.21 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.10-8.03 (m, 2H), 7.70-7.61 (m, 1H), 7.56 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.35-7.12 (m, 9H), 6.90-6.80 (m, 4H), 5.94 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.88 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.36 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 4.11 (dt, J = 7.4, 3.6 Hz, 1H), 3.82 (ddd, J = 11.9, 5.1, 3.1 Hz, 1H), 3.72 (d, J = 1.3 Hz, 7H), 3.64 (ddd, J = 11.9, 6.2, 4.2 Hz, 1H), 3.45 (qd, J = 7.0, 4.9 Hz, 2H), 3.24 (s, 3H), 3.09 (ddd, J = 9.9, 6.4, 3.2 Hz, 1H), 2.97 (ddd, J = 9.9, 5.7, 3.2 Hz, 1H), 1.23 (s, 0H), 1.06 (t, J = 7.0 Hz, 1H).

[0573] **19의 제조:** DCM (40.0 mL) 중 **18**(3.3 g, 4.8 mmol)의 현탁액에 DCI (0.5 g, 4.0 mmol) 및 $CEP[N(iPr)_2]_2$(1.6 g, 5.3 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 0.5시간 동안 교반하였다. LC-MS는 10가 완전히 소모되었음을 나타낸다. 용액을 $NaHCO_3$ 용액으로 2회 세척하였고 염수로 세척하였으며 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 이후 농축하여 잔류물을 수득하였으며, 이를 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C_{18} 실리카 겔; 이동상, CH_3CN/H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 1/1 증가시켜 20분 이내에 CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/0으로, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 1/0; 검출기, UV 254 nm로 수집하였다. 이는 **19**(3.0 g, 3.9 mmol, 81.2% 수율)를 백색 고체로서 생성하였다. ESI-LCMS: m/z =765.3 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.22 (s, 1H), 8.80-8.71 (m, 2H), 8.11-8.04 (m, 2H), 7.65 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.36-7.24 (m, 4H), 7.24-7.15 (m, 5H), 6.89-6.82 (m, 4H), 5.92 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 4.34 (dt, J = 7.5, 3.5 Hz, 1H), 4.08 (ddd, J = 10.7, 7.3, 2.7 Hz, 1H), 4.03-3.89 (m, 1H), 3.80-3.72 (m,10H), 3.67-3.53 (m, 2H), 3.47 (dp, J = 10.5, 3.4 Hz, 1H), 3.26 (s, 3H) 3.11 (ddd, J = 10.3, 6.2, 3.5 Hz, 1H), 3.00 (q, J = 6.6, 5.2 Hz, 1H), 2.77 (q, J = 5.6 Hz, 2H), 2.08 (s, 1H), 1.15 (t, J = 7.0 Hz, 12H).; ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d_6) δ 148.30, 147.99.

[0574] 실시예 8



[0575]

[0576] 반응식 -7

[0577] 19의 제조: EtOH(50.0 mL) 중 8(8.0 g, 22.0 mmol)의 용액에 CH_3NH_2(50.0 mL)의 용액을 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였고, 반응 후, 용매를 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며, 이를 EA(20.0 mL) 및 PE(10.0 mL)의 혼합 용매에 첨가한 후, 혼합물을 30분 동안 교반하였고 여과하여 19(5.5 g, 96.5% 수율)를 수득하였으며, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다.

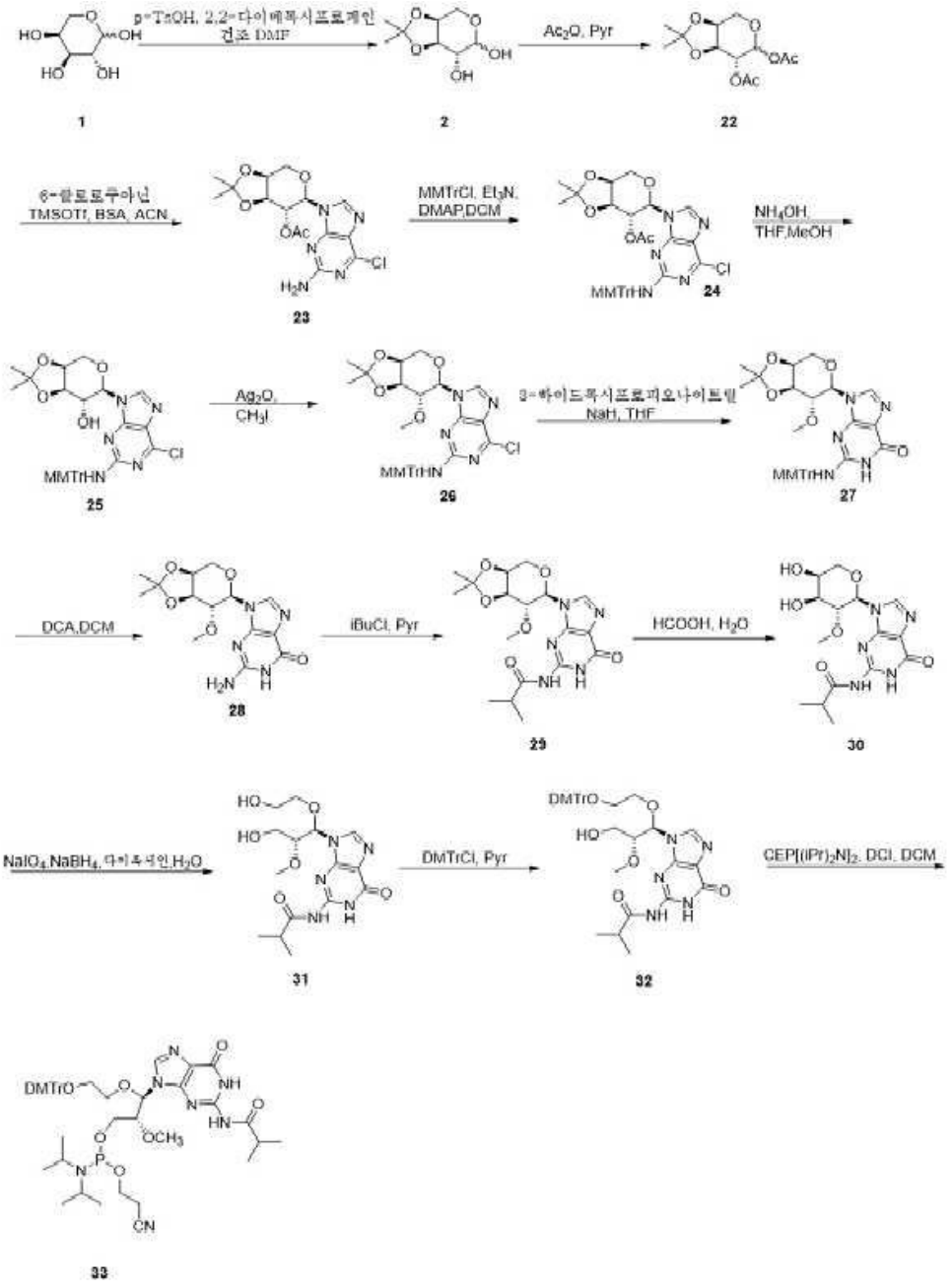
[0578] 20의 제조: (*J. Chem. Soc., Perkin Trans*. 1, 1992, 1943-1952) H_2O(50.0 mL) 및 AcOH(50.0 mL) 중 19(5.0 g, 19.3 mmol)의 용액에 $NaNO_2$(65.0 g, 772.0 mmol)를 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, 반응 후, 반응 혼합물을 농축하여 미정제 생성물을 수득하였으며, 이를 실리카 겔 컬럼(DCM: MeOH = 20:1 내지 6:1) 및 MPLC(ACN: H_2O = 0:100 내지 10:90)로 정제하여 20(3.0 g, 59.6% 수율)을 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =261.2 $(M+H)^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.29 (s, 1H), 7.66 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.67 (dd, J = 17.5, 7.6 Hz, 2H), 4.74 (d, J = 36.0 Hz, 2H), 3.86-3.63 (m, 1H), 3.58-3.40 (m, 6H).

[0579] 21의 제조: 피리딘(30.0 mL) 중 20(3.0 g, 11.5 mmol)의 용액에 DMTrCl(3.9 g, 11.5 mmol)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LC-MS는 원료가 20.0%이었으며, 생성물 대 부산물의 비율이 3:1임을 나타낸 후, 혼합물을 $NaHCO_3$(100.0 mL)의 용액에 부었고, EA(100.0 mL)로 추출하였으며, 염수로 세척하였고 Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 여과하였고, 농축시켜 잔류물을 수득하였으며, 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 정제된 생성물 및 부산물이 총 5.0 g이 되게 한 후, 생성물을 SFC로 정제하여 21(1.8 g)을 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =561.2 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.31 (s, 1H), 7.69 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.45-7.15 (m, 8H), 6.88 (d, J = 8.5 Hz, 4H), 5.71 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.64 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.79 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.60 (s, 1H), 3.51 (d, J = 5.5 Hz, 3H), 3.11 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 3.02 (d, J = 7.0 Hz, 1H).

[0580] 22의 제조: DCM(20.0 mL) 중 21(1.8 g, 3.2 mmol)의 용액에 $CEP[N(iPr)_2]_2$(1.0 g, 3.4 mmol) 및 DCI(321.0 mg, 2.7 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LC-MS는 21가 완전히 소모되었음을 나타낸다. 용액을 $NaHCO_3$ 용액으로 2회 세척하였고 염수로 세척하였으며 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 이후 농축하여 잔류물을 수득하였으며, 이를 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C_{18} 실리카 겔; 이동상, CH_3CN/H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 1/1 증가시켜 20.0분 이내에 CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/0으로, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 90/10; 검출기, UV 254 nm로 수집하였다. 이는 22(2.0 g, 82 % 수율)를 생성하였다. ESI-LCMS: m/z =761.2 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.35 (s, 1H), 7.73 (dd, J = 8.0, 2.0 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.35-7.18 (m, 7H), 6.94-6.82 (m, 4H), 5.81-5.74 (m, 1H),

5.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.11-3.85 (m, 1H), 3.82-3.67 (m, 11H), 3.67-3.50 (m, 5H), 3.17-3.09 (m, 1H), 3.09-3.01 (m, 1H), 2.74 (td, J = 5.8, 2.9 Hz, 2H), 1.13 (dd, J = 9.2, 6.7 Hz, 13H); ^{31}P NMR (DMSO-d_6) δ 148.09 (d, J = 41.8 Hz).

[0581] 실시예 9



[0582]

[0583] 반응식 -8

[0584] **2의 제조**(*J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1,* 1992, 1943-1952): DMF (1000.0 mL) 중 **1**(150.0 g, 999.1 mmol)의 용액에 P-TsOH (1.7 g, 10.0 mmol)를 첨가한 후, 2,2-다이메톡시-프로페인(312.2 g, 3.0 mol)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 5 시간 동안 실온에서 교반하였다. 90.0% 1이 TLC에 의해 소모되었다. 이후 $NaHCO_3$(8.4 g, 99.9 mmol)을 반응 혼합물에 첨가하였고, 30분 후 고체를 여과한 후, 유기상을 진공 농축하여 미정제 물질을 수득하였고, 이를 컬럼 크로마토그래피 (PE: EA = 1:1 내지 0:1)로 정제하여 화합물 **2**(115.0 g, 60.5% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0585] **22의 제조**(Rajkamal; Pathak, Navendu P.; Halder, Tanmoy; Dhara, Shubhajit; Yadav, Somnath[*Chemistry - A European Journal*, 2017, 23권, # 47, 페이지 11323 - 11329]) : 피리딘 (600.0 mL) 중 **2**(115.0 g, 604.6

mmol)의 용액을 0℃로 냉각한 후 Ac_2O(185.2 g, 1.81 mol)를 반응 혼합물에 적가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였으며, 원료 물질을 TLC에 의해 소모시켰다. 반응 용액을 물에 첨가하였으며, 생성물을 EA로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하였고, 유기상을 Na_2SO_4로 건조시켰으며, 농축시켜 **22**(150.0 g, 90.4% 수율)를 수득하였고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-d) δ 6.20 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 5.66 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.17 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 5.10 (dd, J = 7.0, 3.4 Hz, 1H), 4.40-4.25 (m, 3H), 4.21 (dd, J = 7.0, 6.1 Hz, 1H), 4.16-4.02 (m, 3H), 3.95 (dd, J = 12.9, 4.4 Hz, 1H), 2.17 (s, 1H), 2.15-2.03 (m, 12H), 1.56 (d, J = 4.0 Hz, 6H), 1.37 (d, J = 3.1 Hz, 6H).

[0586] **23의 제조**: ACN(2200.0 mL) 중 **22**(150.0 g, 546.9 mmol)의 용액에 6-클로로구아닌(139.1 g, 820.4 mmol) 및 BSA(333.7 g, 1.6 mol)를 실온에서 첨가한 후, 반응 혼합물을 3회에 걸쳐 N_2로 교체하였다. 반응물을 50℃에서 30분 동안 교반하였다. 이후 반응 혼합물을 N_2하에 0℃로 냉각시켰다. 이후 TMSOTf(182.1 g, 820.4 mmol)를 혼합물에 첨가하였다. 첨가 후, 반응물을 70℃에서 1.5시간 동안 교반하였다. TLC 및 LC-MS는 원료가 소모되었음을 나타내었다. 가장 많은 유기 용매를 진공에 의해 농축한 다음, 잔류물을 얼음물 중의 $NaHCO_3$의 수용액에 첨가하였고, 생성물을 EA (4.0 L)로 추출하였으며, 유기상을 Na_2SO_4상에서 건조시켰고, 여과하였으며 농축시켜 조물질을 수득하였고, 이를 컬럼 크로마토그래피 (DCM 대 DCM: EA=5:1)로 정제하여 화합물 **23**(82.0 g, 35.0% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =384.8 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.23 (s, 1H), 7.04 (d, J = 22.3 Hz, 2H), 5.57 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 5.40 (dd, J = 9.6, 7.3 Hz, 1H), 4.48 (dd, J = 7.4, 5.4 Hz, 1H), 4.40-4.30 (m, 2H), 4.11 (dd, J = 13.6, 2.4 Hz, 1H), 1.81 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

[0587] **24의 제조**: DCM(1000.0 mL) 중 **23**(82.0 g, 192.3 mmol)의 용액에 Et_3N(59.4 g, 576.9 mmol) 및 DMAP(2.4 g, 19.2 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 3회에 걸쳐 N_2로 교체한 후, MMTrCl(90.9 g, 288.4 mmol)을 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. TLC 및 LC-MS는 92.0% 원료가 소모되었음을 나타내었고, 반응 혼합물을 얼음물 중 $NaHCO_3$ 수용액에 첨가한 후, 생성물을 EA로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하였고, 유기상을 Na_2SO_4상에서 건조시킨 후, 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며, 이를 컬럼 크로마토그래피 (DCM)로 정제하여 화합물 **24**(110.0 g, 86.4% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =657.1 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.21 (s, 1H), 7.37-7.31 (m, 4H), 7.29-7.23 (m, 6H), 7.20-7.15 (m, 2H), 6.86-6.80 (m, 2H), 5.75 (s, 1H), 5.23 (dd, J = 9.6, 7.2 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.44-4.16 (m, 3H), 3.71 (s, 4H), 1.70 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.31 (s, 3H).

[0588] **25의 제조**: THF(500.0 mL) 및 MeOH(160.0 mL)의 혼합 용매 중 **24**(110.0 g, 164.3 mmol)의 용액에 NH_4OH(330.0 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였으며, 원료를 TLC 및 LC-MS에 의해 소모시켰다. 반응 액체를 물에 첨가하였으며, 생성물을 EA로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척한 후, 유기상을 Na_2SO_4상에서 건조시킨 후, 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며, 이를 컬럼 크로마토그래피 (PE: EA=10:1 내지 1:2)로 정제하여 화합물 **25**(98.0 g, 94.2% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =615.1 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.32 (s, 1H), 7.36 (dt, J = 8.2, 1.4 Hz, 4H), 7.31-7.21 (m, 6H), 7.15 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 6.85-6.76 (m, 2H), 5.57 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 4.69 (s, 1H), 4.25 (dt, J = 5.1, 2.4 Hz, 1H), 4.03 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 3.70 (s, 3H), 3.62-3.44 (m, 1H), 1.51 (s, 3H), 1.31 (s, 3H).

[0589] **26의 제조**(WO2011/95576, 2011, A1 참조): CH_3I(350.0 mL) 중 **25**(70.0 g, 114.0 mmol)의 용액에 Ag_2O(79.2 g, 342.0 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 4시간 동안 실온에서 교반하였다. TLC 및 LC-MS는 원료가 소모되었음을 나타내었다. 잔류물을 규조토로 여과하였고, 여액을 진공 농축하여 미정제 물질을 수득하였으며, 이를 컬럼 크로마토그래피 (PE: EA=10:1 내지 1:1)로 정제하여 화합물 **26**(28.0 g, 31.3% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =629.1 $[M+H]^+$.

[0590] **27의 제조**: THF(200.0 mL) 중 3-하이드록시-프로피오나이트릴(15.6 g, 219.7 mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. 반응 혼합물을 3회에 걸쳐 N_2로 대체하였다. 이어서, NaH(12.4 g, 310.0 mmol, 60.0%)를 반응 혼합

물에 차례로 첨가하였다. 반응물을 실온에서 30분 동안 교반한 후 반응물을 다시 0℃로 냉각시켰다. THF (150.0 mL) 중 **26**(26.0 g, 33.0 mmol)의 용액을 반응 혼합물에 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. TLC 및 LC-MS는 원료가 소모되었음을 나타내었다. 반응 액체를 물에 첨가하였으며, 생성물을 EA로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시킨 후, 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며, 이를 컬럼 크로마토그래피 (DCM: MeOH=50:1-30:1)로 정제하여 화합물 **27**(18.0 g, 88.0% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =610.7 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.68 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.34-7.15 (m, 12H), 6.92-6.81 (m, 2H), 4.46 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 4.22 (dt, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H), 4.07 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 3.84 (dd, *J* = 13.5, 2.1 Hz, 1H), 3.64-3.54 (m, 1H), 3.36 (dd, *J* = 13.3, 2.8 Hz, 1H), 3.08 (s, 3H), 2.59 (t, *J* = 6.0 Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.30 (s, 3H).

[0591] **28의 제조(**.; Beigelman, Leonid; Deval, Jerome; Jin , Zhinan WO2014/209979, 2014, A1): DCM(300.0 mL) 중 **27**(18.0 g, 29.5 mmol)의 용액에 트라이에틸실레인(70.0 mL) 및 DCA(10.0 mL)를 실온에서 첨가하였다. 이어서, 반응 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하였고, TLC 및 LC-MS는 원료 물질이 소모되었음을 나타내었다. 진공에 의해 거의 유기 용매를 농축한 후, PE(600.0 mL)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 유기상을 여과하여 고체를 수득하였고, 이를 MPLC(MeCN: H_2O = 40:60 내지 50:50)로 정제하여 화합물 **28**(7.5 g, 75.0% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =338.3 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.70 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 6.49 (s, 2H), 5.15 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 4.28 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 4.20 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 3.93 (ddd, *J* = 13.3, 10.6, 3.7 Hz, 2H), 3.26 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.33 (s, 3H);

[0592] **29의 제조:** Pyr(150.0 mL) 중 **28**(7.0 g, 20.6 mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. 이후 반응 혼합물에 i-BuCl(6.6 g, 61.8 mmol)을 적가하였다. 이후 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였고, TLC 및 LC-MS는 원료 물질이 소모되었음을 나타내었다. 반응 액체를 얼음물에 첨가하였으며, 생성물을 EA로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시킨 후, 여과하였으며, 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며, 이를 컬럼 크로마토그래피 (DCM: MeOH=100:1 내지 30:1)로 정제하여 화합물 **29**(5.8 g, 68.6% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =409.4 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.13 (s, 1H), 11.66 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 5.24 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 4.36-4.23 (m, 3H), 3.99-3.88 (m, 2H), 3.27 (s, 4H), 2.78 (hept, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.12 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H).

[0593] **30의 제조:** **29**(5.8 g, 14.1 mmol)의 용액을 실온에서 HCOOH (54.0 mL) 및 H_2O(6.0 mL)의 혼합 용매에 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. TLC 및 LC-MS는 원료가 소모되었음을 나타내었다. 반응 용액을 실온에서 진공으로 농축하여 화합물 **30**(5.2 g, 14.0 mmol, 98.0% 수율)을 수득하였고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. ESI-LCMS: m/z =368.4 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.13 (s, 1H), 11.72 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.14 (s, 2H), 5.19 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 3.93 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 12.4, 1.9 Hz, 1H), 3.77 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 3.69-3.62 (m, 2H), 3.20 (s, 3H), 2.79 (h, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.13 (dd, *J* = 6.9, 1.2 Hz, 6H).

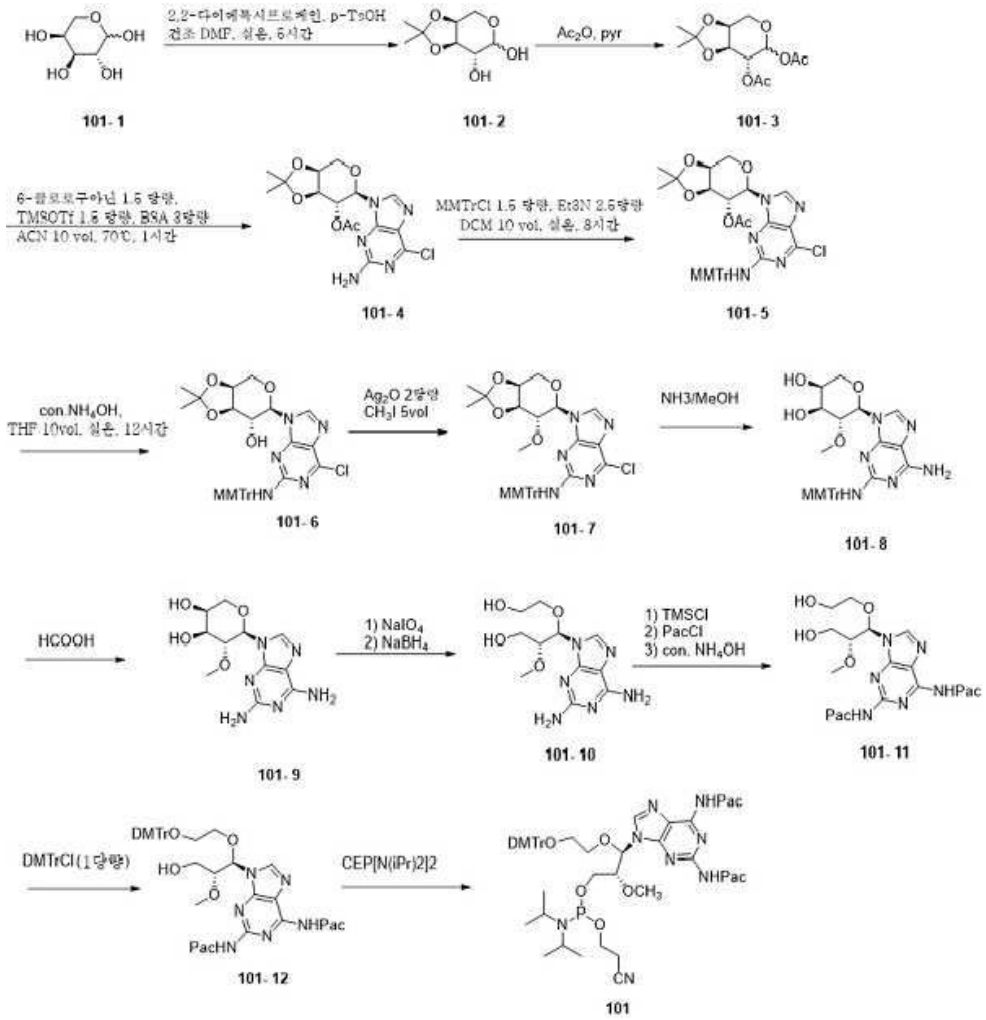
[0594] **31의 제조:** 다이옥세인(90.0 mL) 및 H_2O(30.0 mL) 중 **30**(5.2 g, 14.0 mmol)의 용액에 $NaIO_4$(3.7 g, 15.4 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 3 시간 동안 실온에서 교반하였다. LC-MS는 원료 물질이 소모되었음을 나타내었으며, 반응 용액을 0℃로 냉각시켰다. 이후 $NaBH_4$(970.0 mg, 25.2 mmol)를 반응 혼합물에 첨가하였으며, 원료 물질을 LC-MS로 3시간 후 소모시켰다. 반응액을 암모늄 클로라이드로 켄칭하였고, 1N HCl을 사용하여 pH를 6 내지 7로 조정하였으며, 혼합물 용액을 농축시켜 미정제 물질을 수득하였고, 이를 컬럼 크로마토그래피 (DCM: MeOH=100:1 내지 30:1)로 정제하여 화합물 **31**(4.0 g, 68.6% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =370.4 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.91 (d, *J* = 151.0 Hz, 2H), 8.62-8.51 (m, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.44-7.33 (m, 1H), 5.62 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.84 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.84 (dd, *J* = 7.7, 3.5 Hz, 1H), 3.76 (ddd, *J* = 12.1, 4.7, 2.7 Hz, 1H), 3.60 (ddd, *J* = 12.0, 5.8, 3.6 Hz, 1H), 3.46 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.77 (h, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.12 (dd, *J* = 6.8, 2.4 Hz, 6H);

[0595] **32의 제조:** **31**(4.0 g, 6.4 mmol)의 용액을 피리딘(100.0 mL)에 용해시키고, 반응 혼합물을 3회에 걸쳐 N_2로 대

체한 후, DMTrCl(5.1 g, 8.9 mmol)을 실온에서 반응 혼합물에 첨가하였다. 이후 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였고, TLC 및 LC-MS는 원료 물질이 소모되었음을 나타내었다. 반응 액체를 얼음물에 첨가하였으며, 생성물을 EA로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하였고, 유기상을 Na_2SO_4상에서 건조시킨 후, 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며, 이를 컬럼 크로마토그래피 (DCM: MeOH=100:1-30:1) 및 SFC로 정제하여 화합물 **32**(2.7 g, 37.1% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z =672.7 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.50 (s, 2H), 8.22 (s, 1H), 7.32-7.24 (m, 4H), 7.22-7.12 (m, 5H), 6.84 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 4H), 5.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.85 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.95 (dt, *J* = 7.4, 3.3 Hz, 1H), 3.85-3.77 (m, 1H), 3.73 (s, 7H), 3.65-3.57 (m, 1H), 3.43 (ddt, *J* = 9.9, 6.9, 3.4 Hz, 1H), 3.05 (ddd, *J* = 10.0, 6.2, 3.3 Hz, 1H), 2.96 (ddd, *J* = 10.0, 5.6, 3.4 Hz, 1H), 2.78 (p, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.11 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

[0596] **33의 제조:** DCM (35.0 mL) 중 **32**(2.7 g, 2.4 mmol)의 용액에 실온에서 DCI(390.0 mg, 2.0 mmol)를 첨가하였다. 이후 CEP $[N(iPr)_2]_2$(1.2 g, 2.5 mmol)를 반응 혼합물에 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. LC-MS는 원료가 소모되었음을 나타내었다. 반응액을 $NaHCO_3$의 수용액에 얼음물에 넣고 DCM으로 생성물을 추출하였으며 유기상을 염수로 세척하였고 유기상을 Na_2SO_4로 건조시킨 후 여과하였으며 농축하여 잔류물을 수득하였고, 이를 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, CH_3CN/H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 1/1 증가시켜 20.0분 이내에 CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/0으로, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 100/0; 검출기, UV 254 nm로 수집하였다. 이는 화합물 **33**(2.0 g, 56.4% 수율)을 백색 고체로서 생성하였다. ESI-LCMS: m/z =872.3 [M+H]+; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.79 (s, 2H), 8.23 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.35-7.07 (m, 9H), 6.92-6.75 (m, 4H), 5.52 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.21 (s, 1H), 4.10-3.99 (m, 1H), 3.84-3.65 (m, 10H), 3.63-3.52 (m, 2H), 3.45 (ddd, J = 10.2, 6.7, 3.6 Hz, 1H), 3.34 (s, 1H), 3.22 (s, 3H), 3.07 (ddd, J = 10.2, 6.4, 3.4 Hz, 1H), 2.97 (ddd, J = 10.0, 5.6, 3.5 Hz, 1H), 2.78 (dt, J = 12.2, 6.4 Hz, 3H), 1.20-1.05 (m, 18H), ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d_6) δ 148.20,147.13.

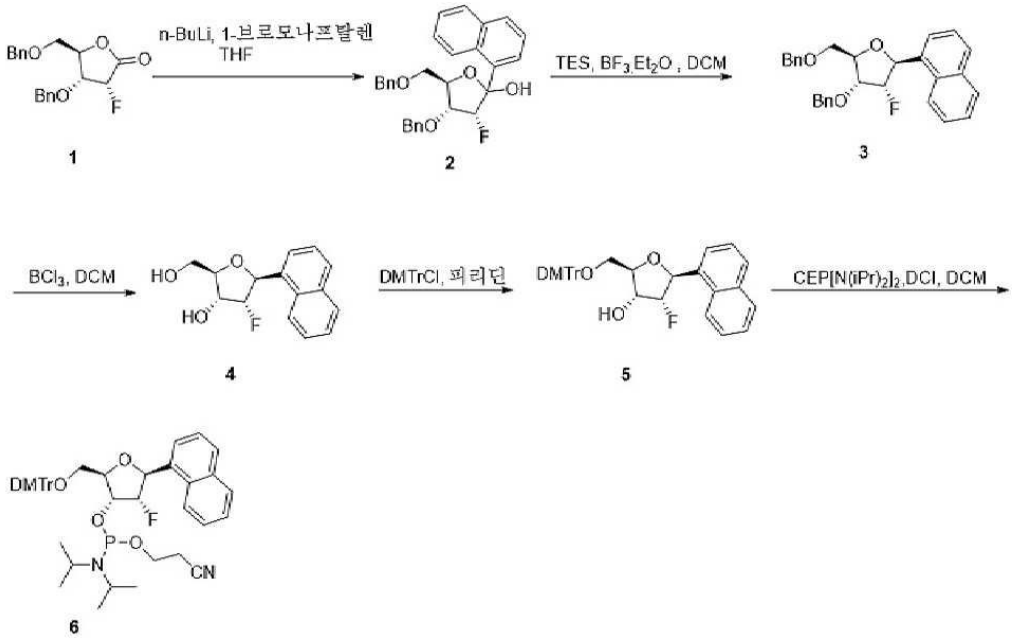
[0597] 실시예 10:



[0598]

[0599] 반응식 -9

[0600] 실시예 11



[0601]

[0602] 반응식 -10

[0603] **2의 제조:** 건조 THF(100.0 mL) 중 1-브로모나프탈렌(5.2 g, 25.0 mmol)의 용액에 n-BuLi(13.5 mL, 21.7 mmol, 1.6 M)를 -78℃에서 적가한 후, 혼합물을 -78℃에서 0.5 시간 동안 교반한 후, THF(20.0 mL) 중 **1**(5.5 g, 16.7 mmol)의 용액을 -70℃ 미만의 내부 온도를 유지하면서 적가한 후, 반응 혼합물을 -70℃에서 1시간 동안 교반하였다. LC-MS는 **1** 을 완전히 소모하였고, 반응물을 포화 암모늄 클로라이드 용액(80.0 mL)으로 켄칭하였으며, EA로 추출하였고, 유기층을 염수로 세척하였으며, Na_2SO_4로 건조시켰고, 감압하에 농축시켜 잔류물을 수득하였으며, 이를 다음 조건 (IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC로 정제하였다: 컬럼, C_{18} 실리카겔; 이동상, CH_3CN/H_2O(0.5% NH_4HCO_3)= 2/3 25분 이내에 증가시켜 CH_3CN/H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 4/1, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 3/2; 검출기, UV 254 nm에서 수집하였다. 이는 **2**(5.8 g, 76.3% 수율)을 백색 고체로서 생성하였다. ESI-LCMS: m/z 441 $[M-OH]^-$.

[0604] **3의 제조:** DCM(100.0 mL) 중 **2**(5.8 g, 12.6 mmol)의 용액에 BF_3 -78℃에서 TES(1.7 g, 14.7 mmol)를 첨가하였다. Et_2O(2.7 g, 18.9 mmol)를 -78℃에서 혼합물에 적가하였다. 혼합물을 -40℃에서 1시간 동안 교반하였다. LC-MS는 **2**가 완전히 소모되었음을 나타내었고 용액을 포화 소듐 바이카보네이트 용액(50.0 mL)에 첨가하였으며 DCM으로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 감압하에 농축시켜 잔류물을 수득하였고, 이를 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C_{18} 실리카 겔; 이동상, CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 2/3 25분 이내에 증가시켜 CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 4/1, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 7/3; 검출기, UV 254 nm에서 수집하였다. 이는 **3**(2.7 g, 48.2%)을 백색 고체로서 생성하였다. ESI-LCMS: m/z 460 $[M+H_2O]^+$; ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.01-8.00 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.88-7.87 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.77-7.76 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.56-7.49 (m, 2H), 7.38-7.23 (m, 11H), 6.98-5.94 (d, *J* = 26.9 Hz, 1H), 5.09-4.99 (dd, *J* = 61.1 Hz, 1H), 4.71-4.69 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.66-4.59 (m, 2H), 4.43-4.41 (d, *J* = 11.6 Hz, 2H), 4.14-4.08 (m, 1H), 4.02-4.00 (dd, *J* = 13.4 Hz, 1H), 3.81-3.78 (dd, *J* = 14.8 Hz, 1H); ^{19}F-NMR ($CDCl_3$): δ -193.24.

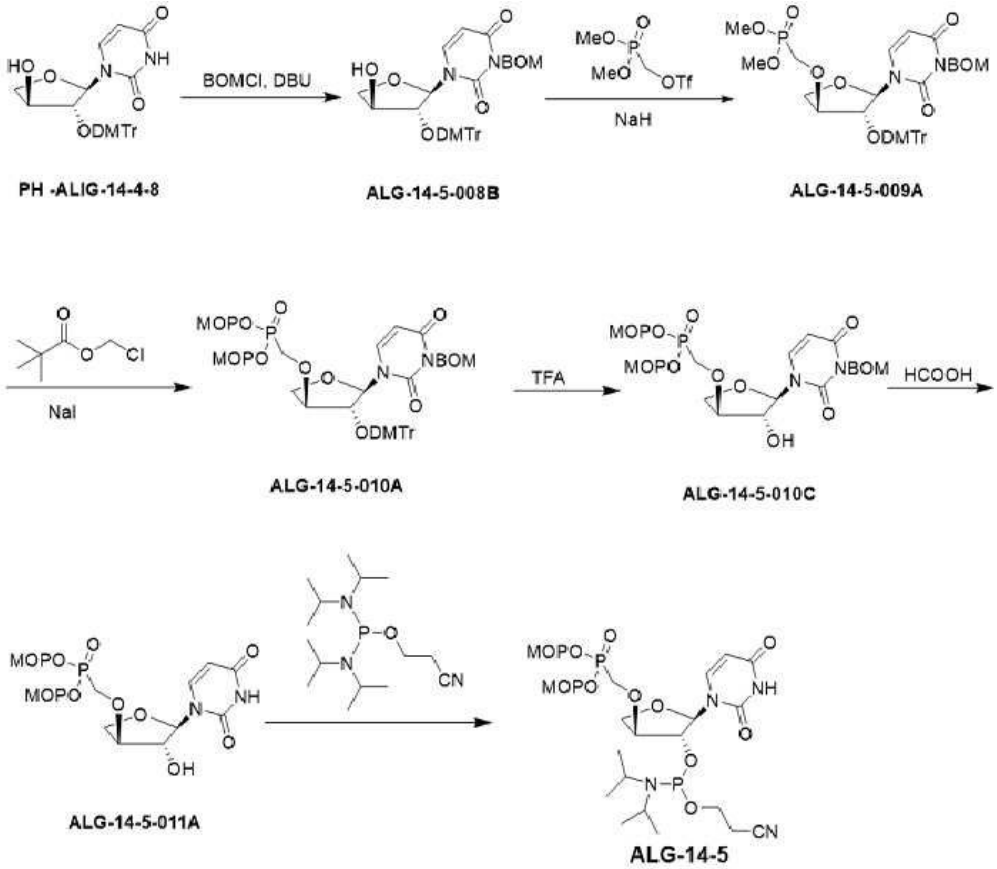
[0605] **4의 제조:** 건조 DCM(40.0 mL) 중 **3**(2.7 g, 6.0 mmol)의 용액에 BCl_3(36.0 mL, 36.0 mmol, 1 M)을 -78℃에서 적가하였으며, 반응 혼합물을 -78℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. LC-MS는 **3**이 완전히 소모되었음을 나타내었다. 반응 완료 후, 생성된 혼합물을 MeOH (20.0 mL)로 켄칭한 후, 소듐 하이드록사이드 용액(40.0 mL, 2 M)으로 중화시켰다. 혼합물을 DCM으로 추출하였고 농축하여 미정제 물질을 수득하였으며, 미정제 물질을 MeOH(30.0 mL)에 용해시켰고, 소듐 하이드록사이드 용액(30.0 mL, 4 M)을 첨가하였으며, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 혼합물을 EA로 추출하였고, 유기층을 염수로 세척하였으며, Na_2SO_4로 건조하였고, 감압 농축하여 잔류물을 수득하였으며, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피 (DCM: MeOH = 40:1 내지 15:1)로 정제하여 백색 고체로서 **4**(1.3 g, 81.2%)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 261 $[M-H]^-$; ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ 7.98-7.97 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H), 7.89-7.87 (m, 2H), 7.63-7.49 (m, 3H), 5.80-5.76 (d, *J* = 26.3 Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.85-4.76 (d, *J* = 58.4 Hz, 1H), 4.03-3.85 (m, 3H), 3.68-3.66 (m, 1H), 3.65-3.53 (m, 1H); ^{19}F-NMR (DMSO-d_6): δ -192.76.

[0606] **5의 제조:** 피리딘(20.0 mL) 중 **4** (1.3 g, 5.0 mmol)의 용액에 실온에서 DMTrCl(6.1 g, 16.0 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LC-MS는 **4**가 소모되었고 물(100.0 mL)이 첨가되었음을 나타내었다. 생성물을 EA로 추출하였고, 유기층을 염수로 세척하였으며, Na_2SO_4상에서 건조시켰고, 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였으며, 이를 실리카 겔(EA: PE = 1:30 내지 1:10)로 추가로 정제하여 황색 고체로서 **5**(2.2 g, 78.5%)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 563 $[M-H]^-$; ^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6): δ 8.03-7.99 (m, 2H), 7.91-7.86 (m, 2H), 7.64-7.57 (m, 2H), 7.49-7.48 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 7.40-7.24 (m, 8H), 6.89-6.88 (m, 4H), 5.92-5.88 (d, *J* = 26.6 Hz, 1H), 5.50-5.49 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.96-4.87 (d, *J* = 56.2 Hz, 1H), 4.18-4.14 (m, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.42-3.40 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 3.33 (m, 2H); ^{19}F-NMR (DMSO-d_6): δ -192.18.

[0607] **6의 제조:** DCM(20.0 mL) 중 **5**(2.2 g, 3.9 mmol)의 현탁액에 DCI(391.0 mg, 3.3 mmol) 및 $CEP[N(iPr)_2]_2$(1.4 g,

4.7 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LC-MS는 5가 완전히 소모되었음을 나타내었다. 용액을 포화 소듐 바이카보네이트 용액 및 염수로 연속적으로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였고, 이를 다음 조건(IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C_{18} 실리카 겔; 이동상, CH_3CN/H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 1/1 증가시켜 20분 이내에 CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/0으로, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O(0.5% NH_4HCO_3) = 1/0; 검출기, UV 254 nm로 수집하였다. 이는 6(2.5 g, 83.8%)을 백색 고체로서 생성하였다. ESI-LCMS: m/z 765 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8.07-7.86 (m, 4H), 7.64-7.56 (m, 2H), 7.49-7.45 (m, 2H), 7.41-7.21 (m, 8H), 6.89-6.84 (m, 4H), 6.02-5.93 (m, 1H), 5.19-4.98 (m, 1H), 4.61-4.34 (m, 1H), 4.26-4.24 (m, 1H), 3.74-3.73 (m, 6H), 3.70-3.61 (m, 1H), 3.57-3.42 (m, 4H), 3.29-3.24 (m, 1H), 2.67-2.64 (m, 1H), 2.56-2.52 (m, 1H), 1.09-1.04 (m, 1H), 0.98-0.97 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.89-0.87 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H); ^{19}F-NMR (DMSO-d_6): δ -191.75, -191.76, -191.84, -191.85; ^{31}P-NMR (DMSO-d_6): δ 149.51, 149.47, 149.16, 149.14.

[0608] 실시예 12



[0609]

[0610] 반응식 -11

[0611] ALG-14-5-008B의 제조

[0612] DMF (70 mL) 중 PH-ALIG-14-4-8(실시예 5로부터 유래함)(6.6 g, 10.86 mmol, 85% 순도, 1 당량) 및 DBU(3.31 g, 21.72 mmol, 3.27 mL, 2 당량)의 용액에 0℃에서 BOMCl(2.55 g, 16.29 mmol, 2.26 mL, 1.5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 EtOAc(180 mL)로 희석하였고, H_2O(80 mL*3), 및 염수 (80 mL)로 세척하였으며, Na_2SO_4상에서 건조시켰고, 여과하였으며, 감압하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 80 g SepaFlash® Silica Flash Column, 10 내지 60%의 용리제, EtOAc/PE 구배 @ 60 mL/분)에 의해 정제하여 ALG-14-5-008B(5.2 g, 70% 수율)를 백색 발포체로서 수득하였다. LCMS (ESI): *m/z* 659.1. ; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 7.63 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.40 - 7.15(m,

14H), 6.85 (t, *J*=8.0 Hz, 4H), 5.97 (s, 1H), 5.75 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 5.39 - 5.26 (m, 2H), 5.24 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.97 (s, 1H), 3.94 - 3.83 (m, 2H), 3.68 (d, *J*=10.0 Hz, 6H), 3.38 (s, 1H)

[0613] ALG-14-5-009A의 제조

[0614] THF(50 mL) 중 ALG-14-5-008B(5.2 g, 8.17 mmol, 1 *당량*) 및 다이메톡시포스포릴메틸 트라이플루오로메테인설포네이트(6.67 g, 24.50 mmol, 3 *당량*)의 용액에 -5℃에서 NaH (816.65 mg, 20.42 mmol, 60% 순도, 2.5 *당량*)를 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O(50 mL)를 첨가하여 켄칭하였고, EtOAc(100 mL)로 희석한 후, H_2O(50 mL), 염수 (50 mL)로 세척하였으며, 유기층을 Na_2SO_4상에서 건조시켰고, 여과하였으며, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 80 g SepaFlash® Silica Flash Column, 0 내지 50%의 용리제, EtOAc/DCM 구배 @ 60 mL/분)에 의해 정제하여 ALG-14-5-009A(4.2 g, 66.42% 수율)를 백색 발포체로서 수득하였다. LCMS (ESI): m/z 781.1 $[M+Na]^+$, ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 7.49 - 7.25 (m, 14H), 7.21 - 7.15 (m, 1H), 6.82 (d, *J*=8.8 Hz, 4H), 6.46 (s, 1H), 5.65 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 5.57 - 5.39 (m, 2H), 4.72 (s, 2H), 4.16 - 4.07 (m, 2H), 3.93 (dd, *J*=2.6, 10.8 Hz, 1H), 3.81 - 3.59 (m, 11H), 3.81 - 3.59 (m, 1H), 3.24 (dd, *J*=10.6, 13.5 Hz, 1H), 3.10 (dd, *J*=9.8, 13.3 Hz, 1H), 2.79 (d, *J*=2.2 Hz, 1H); ^{31}P NMR (CD_3CN) δ = 22.37 (s)

[0615] ALG-14-5-010A의 제조

[0616] MeCN(15 mL) 중 ALG-14-5-009A(4.6 g, 6.06 mmol, 1 *당량*) 및 NaI(2.73 g, 18.19 mmol, 3 *당량*)의 용액에 클로로메틸 2,2-다이메틸프로파노에이트 (3.65 g, 24.25 mmol, 3.51 mL, 4 *당량*)를 첨가하였다. 혼합물을 85℃에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압하에 농축하여 잔류물을 생성하였다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 40 g SepaFlash® Silica Flash Column, 0 내지 50%의 용리제, EtOAc/PE 구배 @ 40 mL/분)에 의해 정제하여 ALG-14-5-010A(2.7 g, 44.6% 수율)를 연황색 고체로서 수득하였다. LCMS (m/z): 981.1 $[M+Na]^+$.

[0617] ALG-14-5-010C의 제조

[0618] DCM(20 mL) 중 ALG-14-5-010A(2.7 g, 2.82 mmol, 1 *당량*)의 용액에 Et_3SiH(645.45 mg, 2.82 mmol, 5 mL, 1 *당량*)를 첨가한 후, TFA(1.54 g, 13.51 mmol, 1 mL, 4.80 *당량*)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압하에 농축하여 잔류물을 생성하였다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 24 g SepaFlash® Silica Flash Column, 0 내지 50%의 용리제, EtOAc/DCM 구배 @ 30 mL/분)에 의해 정제하여 ALG-14-5-010C(1.6 g, 84.82% 수율)를 연황색 고체로서 수득하였다. LCMS (ESI):, m/z 679.1 $[M+Na]^+$, ; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 7.44 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 7.38 - 7.26 (m, 5H), 5.76 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 5.69 - 5.62 (m, 4H), 5.51 - 5.43 (m, 1H), 5.51 - 5.43 (m, 1H), 4.70 (s, 2H), 4.30 (s, 1H), 4.26 - 4.06 (m, 4H), 3.90 (dd, *J*=4.9, 8.4 Hz, 2H), 3.22 - 3.06 (m, 1H), 1.22 (s, 18H); ^{31}P NMR (162 MHz, CD_3CN) δ = 20.25 (s, 1P).

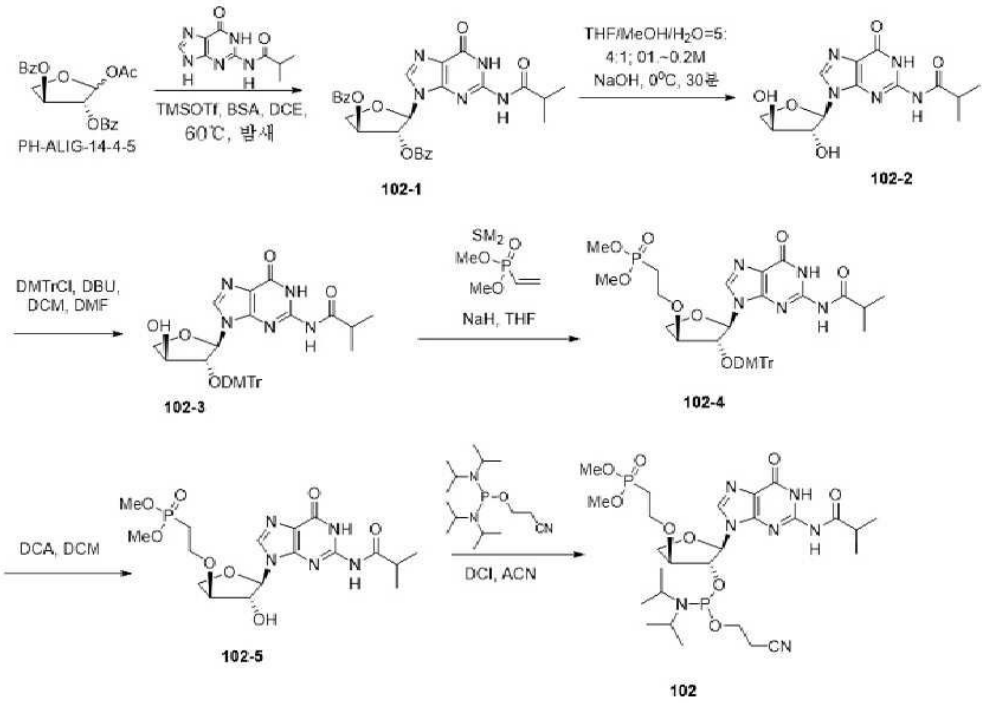
[0619] ALG-14-5-011A의 제조

[0620] 이소프로판올(20 ml) 및 H_2O(2 mL) 중 ALG-14-5-010C(1.4 g, 2.13 mmol, 1 *당량*)의 혼합물에 N_2하에 Pd/C (1.4 g,) 및 HCOOH (51.22 mg, 1.07 mmol, 2 mL)를 첨가하였다. 현탁액을 진공하에 탈기시키고 H_2로 여러 회 퍼징하였다. 혼합물을 H_2(15 PSI) 하에 15℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하였고, 여액을 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 24 g SepaFlash® Silica Flash Column, 0 내지 50%의 용리제, EtOAc/DCM 구배 @ 30 mL/분)에 의해 정제하여 ALG-14-5-011A(848 mg, 74.14% 수율)를 백색 발포체로서 수득하였다. LCMS (ESI): m/z 537.0 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 10.01 (s, 1H), 7.53 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 5.78 - 5.63 (m, 6H), 4.40 (s, 1H), 4.35 - 4.22 (m, 3H), 4.11 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 3.88 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 1.22 (s, 18H); ^{31}P NMR (162 MHz, CD_3CN) δ = 20.17 (s, 1P.)

[0621] ALG-14-5의 제조

[0622] DCM(10 mL) 중 ALG-14-5-011A(848 mg, 1.58 mmol, 1 당량)의 용액에 0℃에서 3-비스(다이아이소프로필아미노)포스포닐옥시프로페인나이트릴(571.73 mg, 1.90 mmol, 602.45 uL, 1.2 당량)을 첨가한 후, 1H-이미다졸-4,5-다이카보나이트릴(186.7 mg, 1.58 mmol, 1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 15℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 수성 $NaHCO_3$(10 mL)을 사용하여 켄칭시키고, DCM(20 mL)로 희석하였다. 유기 층을 포화 수성 $NaHCO_3$(10 mL * 2)로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰으며, 여과하였고, 감압하에 농축시켰다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피 (ISCO®; 12 g SepaFlash® Silica Flash Column, 0 내지 50%의 용리액, 상 A: 0.5%TEA를 갖는 PE; 상 B: 10%EtOH를 갖는 EA, 30 mL/분)에 의해 정제하여 ALG-14-5 (720 mg, 61.21% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다. LCMS (ESI): m/z 737.1 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ = 9.17 (s, 1H), 7.49 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 5.91 - 5.77 (m, 1H), 5.65 - 5.54 (m, 5H), 4.49 - 4.26 (m, 2H), 4.23 - 4.07 (m, 2H), 3.92 - 3.55 (m, 6H), 2.71 - 2.61 (m, 2H), 1.24 - 1.16 (m, 30H); ^{31}P NMR (162 MHz, CD_3CN) δ = 151.59.

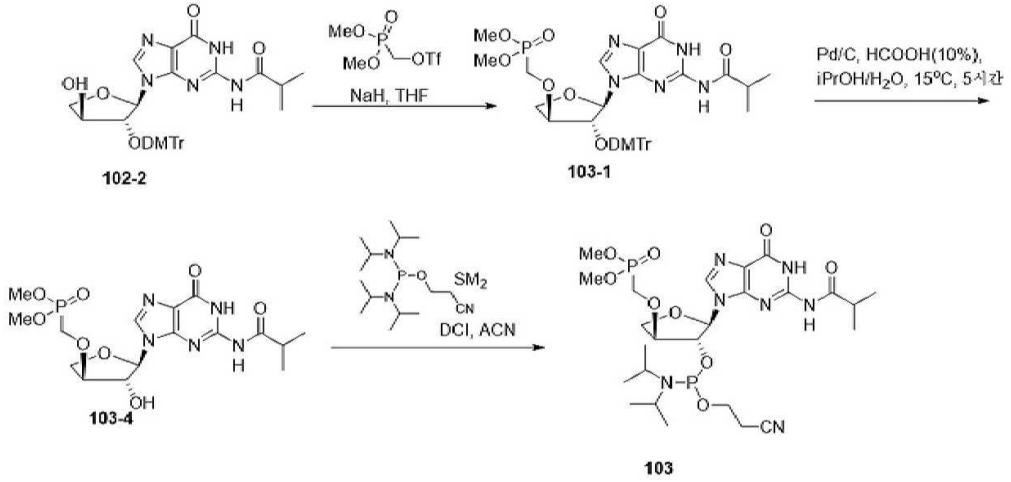
[0623] 실시예 13: 102의 합성



[0624]

[0625] 반응식 -12

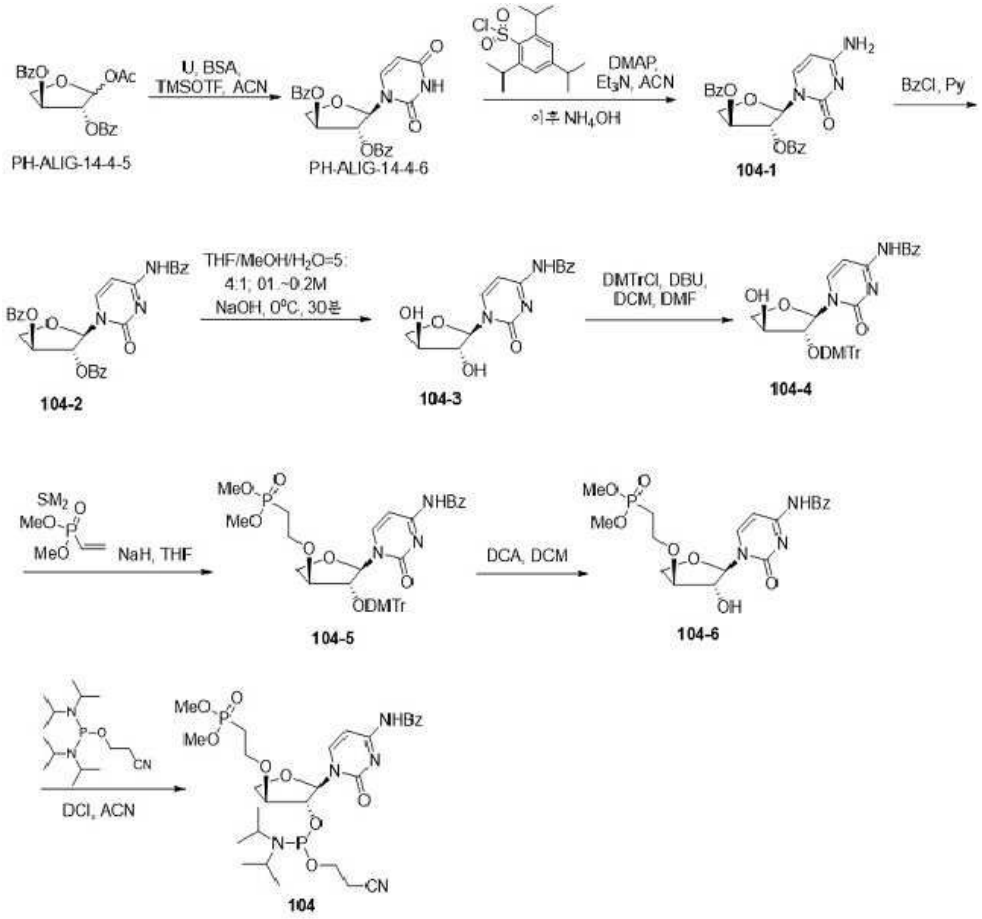
[0626] 실시예 14: 103의 합성



[0627]

[0628] 반응식 -13

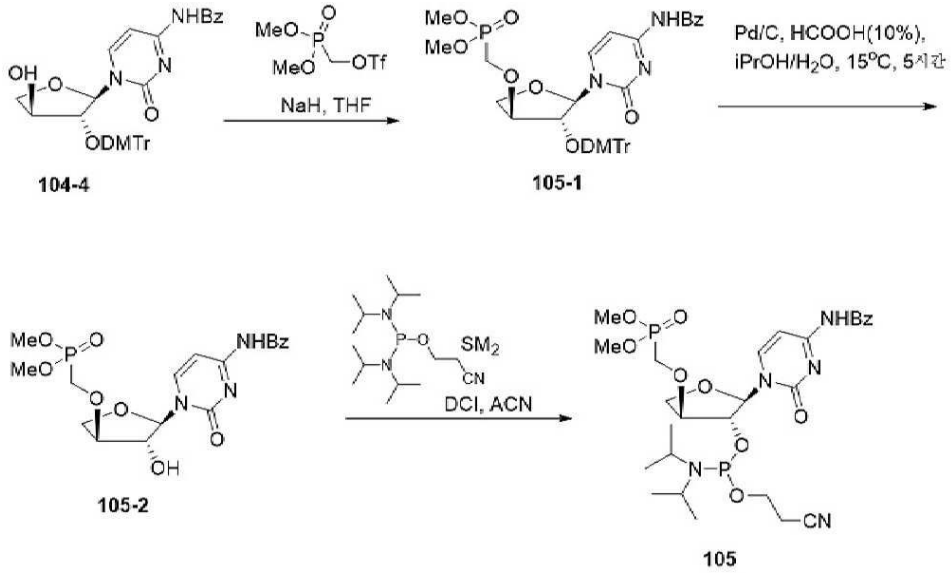
[0629] 실시예 15: 104의 합성



[0630]

[0631] 반응식 -14

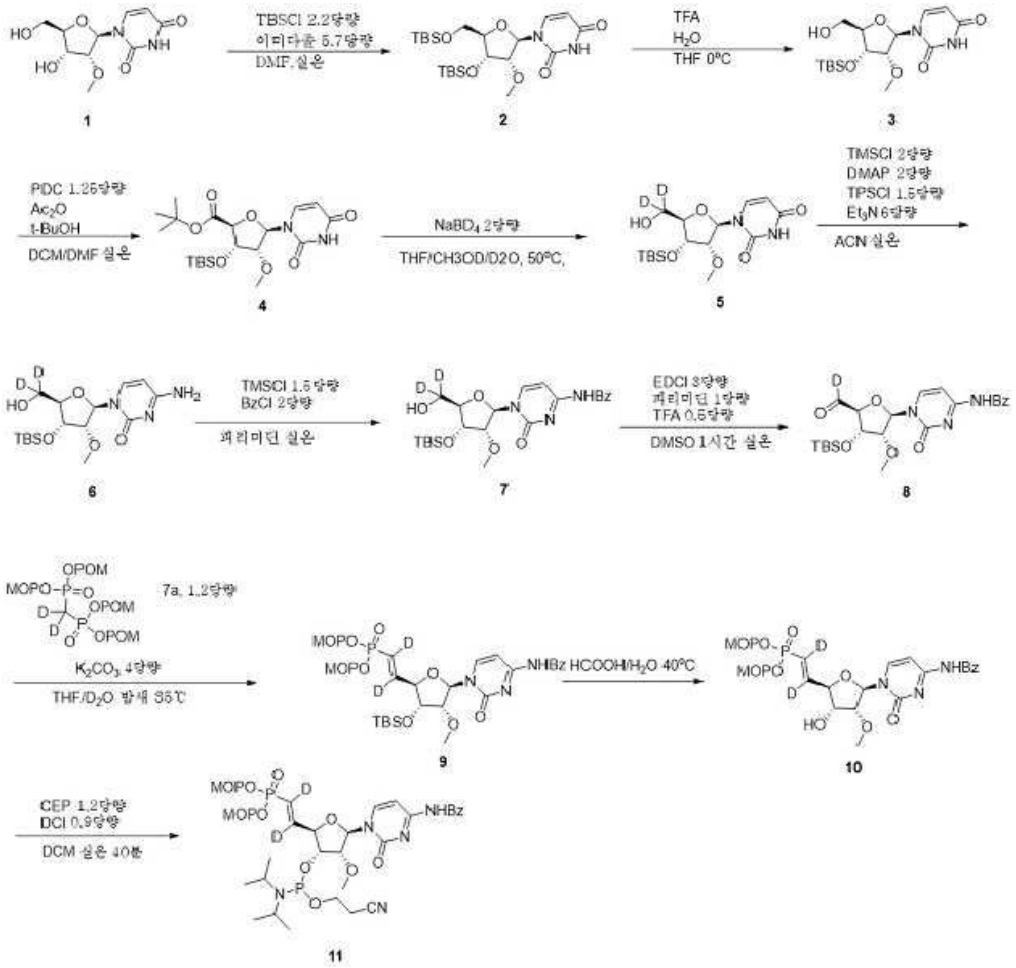
[0632] 실시예 16: 105의 합성



[0633]

[0634] 반응식 -15

[0635] 실시예 17



[0636]

[0637] 반응식 -16

[0638] **2의 제조:** 자기 교반기 및 온도계가 장착된 2 L 3구 둥근 바닥 플라스크에 실온에서 건조 DMF(600.0 mL) 중 1(60.0 g, 228.8 mmol)을 충전하였고, 이미다졸(95.2 g, 1.3 mol)을 혼합물 반응에 첨가한 후, 반응 혼합물을 냉각시켜 5℃로 만들었으며, TBSCl(76.8 g, 499.3 mmol)을 혼합물 반응에 첨가하였고, 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 1을 LCMS에 의해 소모한 후, 반응 혼합물을 포화 소듐 바이카보네이트 용액(1.0 L)에 첨가하였고, 반응을 켄칭한 후, 수성 층을 EA(400.0 mL*2)로 추출하였으며, 조합한 유기 층을 포화 염수로 세척하였고, 무수 소듐 설페이트로 건조시켰으며, 유기 층을 농축시켜 백색 고체로서 미정제 물질 **2**(110.2 g, 212.8 mmol, 93.1% 수율)를 수득하였고, 조 생성물을 정제없이 다음 단계에 직접 사용하였다. ESI-LCMS: m/z= 487.3 $[M+H]^+$.

[0639] **3의 제조:** 자기 교반기 및 온도계가 장착된 3 L 3구 둥근 바닥 플라스크에 실온에서 THF(550.0 mL) 중 2(117.0 g, 225.9 mmol)를 충전하였고, 물(275.0 mL)을 혼합물 반응에 첨가한 후, 반응 혼합물을 냉각시켜 0℃가 되도록 하였으며, 4시간 후 일정한 압력 깔때기에 의해 TFA(275.0 mL)를 첨가하였고, 반응 혼합물을 0℃에서 2시간 동안 교반하였다. 2는 TLC에 의해 소모되었다. 이후 반응 혼합물을 암모늄 하이드록사이드(250.0 mL) 및 물(800.0 mL)의 혼합 용매에 0℃에서 첨가하였고, 반응을 켄칭한 후, 수성 층을 EA(500.0 mL*2)로 추출하였으며, 조합한 유기 층을 포화 염수로 세척하였고 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰으며, 유기 층을 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1 내지 0:1)로 정제하여 화합물 **3**(51.1 g, 59.3% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6): δ =11.35 (s, 1H), 7.919 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.65 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 5.18 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 3.83 (s, 2H), 3.65 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 3.53 (d, *J* = 6Hz, 1H), 3.32 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 0.87 (s, 9H), 0.08 (s, 6H). ESI-LCMS: m/z=373.1 $[M+H]^+$.

[0640] **4의 제조:** 자기 교반기 및 온도계가 장착된 3 L 3구 둥근 바닥 플라스크에 DCM(250.0 mL) 및 DMF(70.0 mL)의 혼합 용매 중 3(50.0 g, 131.5 mmol)을 실온에서 충전하였고, 혼합 용액을 냉각시켜 5℃가 되도록 하였으며, PDC(63.1 g, 164.4 mmol) 및 *t*-BuOH(200.0 mL)를 혼합물 반응물에 첨가하였고, 반응물을 5℃에서 유지하였으며, 0.5시간 후 일정한 압력 깔때기에 의해 Ac_2O(130.0 mL)를 첨가하였고, 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 3을 lc-ms에 의해 소모한 후, 반응 혼합물을 포화 소듐 바이카보네이트(400.0 mL)에 첨가하였으며, 반응을 켄칭한 후, 수성 층을 DCM(500.0 mL*2)로 추출하였으며, 조합한 유기 층을 포화 염수로 세척하였고 무수 소듐 설페이트상에서 건조시켰으며, 유기 층을 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1 내지 2:1)로 정제하여 화합물 **4**(29.8 g, 50.6% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H-NMR (DMSO d_6): δ =11.42 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.78 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 4.44 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.32 (s, 3H), 1.46 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.12 (s, 6H). ESI-LCMS: m/z=443.1 $[M+H]^+$.

[0641] **5의 제조**: 건조 THF(330.0 mL) 중 화합물 4(33.0 g, 74.7 mmol)의 용액에 CH_3OD(66.0 mL) 및 D_2O(33.0 mL)를 실온에서 첨가하였다. 이후 반응 혼합물에 $NaBD_4$(9.4 g, 224.0 mmol)를 50℃에서 시간당 3회 첨가하였다. 혼합물을 50 ℃에서 3시간 동안 교반하였다. LCMS는 4가 완전히 소모되었음을 나타낸다. 물 (300.0 mL)을 첨가하였다. 생성물을 EA(2* 300.0 mL)로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하였고 Na_2SO_4로 건조시켰다. 이후 용액을 감압하에 농축하였고, 미정제 물질을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA=10:1 내지 3:1)로 정제하여 **5**(19.1 g, 68.5% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO d_6): δ =11.35 (s, 1H), 7.92-7.91 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 5.83-5.82 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 5.66-5.65 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 5.14 (s, 1H), 4.30-4.28 (m, 1H), 3.84-3.82 (m, 2H), 3.34 (s, 3H), 0.88 (s, 9H), 0.09 (s, 6H). ESI-LCMS: m/z 375 $[M+H]^+$.

[0642] **6의 제조**: 건조 ACN(190.0 mL) 중 5(19.1 g, 51.1 mmol)의 용액에 Et_3N(20.7 g, 204.6 mmol) 및 TMSCl(11.1 g, 102.1mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 이후 반응 혼합물을 실온에서 40분 동안 교반하였다. LCMS는 5가 소모되었고 중간체가 형성되었음을 나타내었다. 이후 용액에 DMAP(12.5 g, 102.3 mmol), Et_3N(10.3 g, 102.1 mmol) 및 TPSCl(23.2 g, 76.6 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하였다. LCMS는 중간체가 소모되었으며 다른 중간체와 일치함을 나타내었다. 이후 NH_4OH(200.0 mL)를 첨가하였고 실온에서 24시간 동안 교반하여 생성물의 혼합물을 수득하였다. 생성물을 EA(2* 200.0 mL)로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하였고 Na_2SO_4로 건조시킨 후, 용액을 감압하에 농축시켰고, 미정제 물질을 Flash-Prep-HPLC로 다음 조건(IntelFlash-1)으로 정제하였다: 컬럼, C18 실리카겔; 이동상, CH_3CN/H_2O = 1/2로 20분 이내에 CH_3CN/H_2O = 1/0으로 증가시키고, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O= 1/0; 검출기, UV 254 nm에서 수집하였다. 이는 **6**(14.0 g, 73.7% 수율)을 생성하였다. ^{1}H-NMR (DMSO- d_6): δ =7.89-7.88 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 7.20-7.18 (d, *J* = 12 Hz, 2H), 5.85-5.84 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 5.73-5.72 (d, J = 6 Hz, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.24-4.23 (m, 1H), 3.81-3.80 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 3.69-3.68 (m, 1H), 3.36 (s, 3H),0.87 (s, 9H), 0.07 (s, 6H). ESI-LCMS: m/z 374 $[M+H]^+$.

[0643] **7의 제조:** 피리딘(140.0 mL) 중 6(14.0 g, 37.5 mmol)의 용액에 0℃에서 TMSCl(6.3 g, 58.0 mmol)을 첨가하였으며, 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하였다. LCMS는 6이 소모되었고 중간체(a)가 형성되었음을 나타내었다. 이후 0℃에서 BzCl (10.8 g, 76.8 mmol)을 첨가하였으며 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하였다. LCMS는 중간체가 소모되었으며 다른 중간체가 형성되었음을 나타내었다. 이후 혼합물에 NH_4OH(30.0 mL)를 첨가하고, 실온에서 15시간 동안 교반하였다. LCMS는 중간체가 소모되었음을 나타내었다. 물 (300.0 mL)을 첨가하였다. 용액을 EA (2*200.0 mL)로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하였고 Na_2SO_4로 건조시킨 후, 용액을 감압하에 농축시켰고, 미정제 물질을 Flash-Prep-HPLC로 다음 조건(IntelFlash-1)으로 정제하였다: 컬럼, C18 실리카겔; 이동상, CH_3CN/H_2O = 1/1로 20분 이내에 CH_3CN/H_2O = 1/0으로 증가시키고, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O= 1/0; 검출기, UV 254 nm에서 수집하였다. 이는 **7**(10.5 g, 58.6% 수율)을 생성하였다. ^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO d_6): δ =11.29 (s, 1H), 8.53-8.52 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 8.01-8.00 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 7.63-7.61 (m, 1H), 7.52-7.50 (m, 2H), 7.36 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 5.24 (s, 1H), 4.28-4.26 (m, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.81-3.79 (m, 1H),

3.46 (s, 3H),0.87 (s, 9H), 0.08 (s, 6H). ESI-LCMS: m/z 478 $[M+H]^+$.

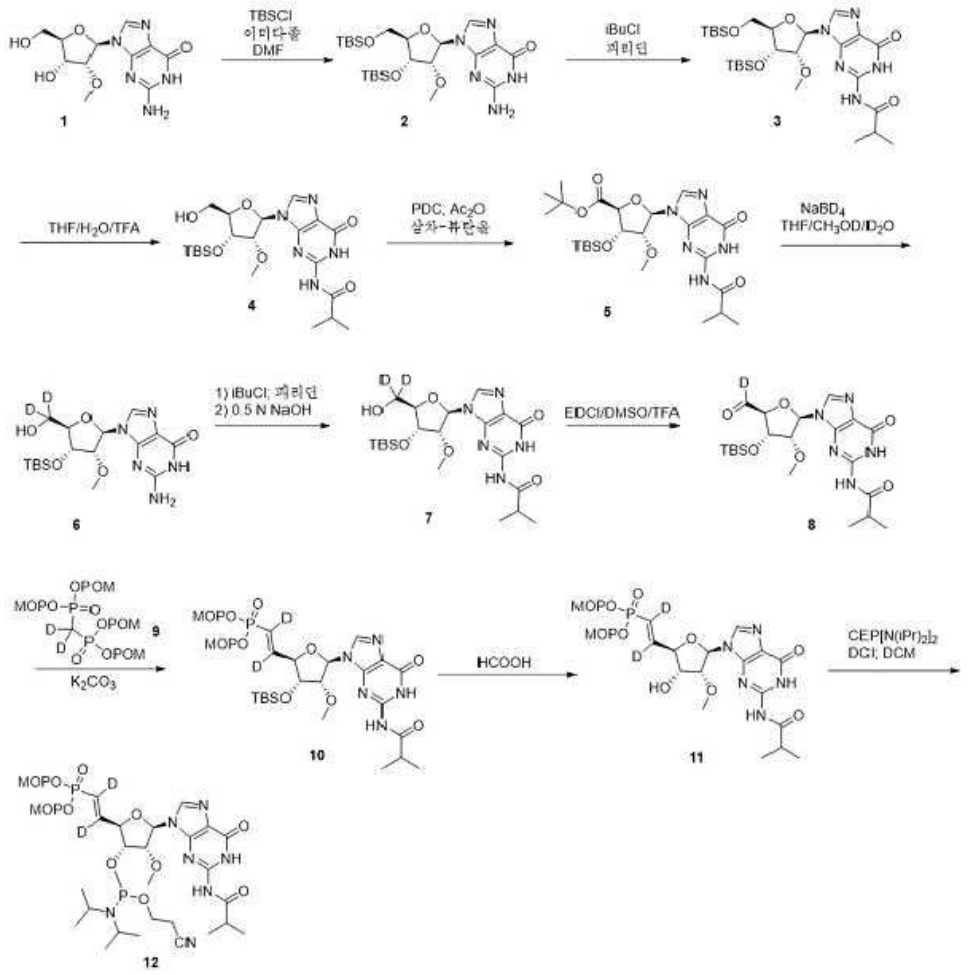
[0644] **8의 제조:** DMSO(105.0 mL) 중 7(10.5 g, 22.0 mmol)의 용액에 EDCI(12.7 g, 66.0 mmol), 건조 피리딘(1.7 g, 22.0 mmol)을 실온에서 첨가하였으며 TFA(1.3 g, 11.0 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 이후 반응 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. LCMS는 7이 소모되었음을 나타내었다. 물 (100.0 mL)을 첨가하였다. 용액을 EA(2*200.0 mL)로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하였고 Na_2SO_4로 건조시킨 후, 용액을 감압 하에 농축시켜 미정제 생성물 **8**을 수득하고, 이를 다음 단계에서 직접 사용하였다. ESI-LCMS: m/z 475 $[M+H]^+$.

[0645] **9의 제조:** 건조 THF(120.0 mL) 및 D_2O(40.0 mL) 중 8의 용액에 K_2CO_3(12.2 g, 88.1 mmol) 및 7a(16.8 g, 26.5 mmol)를 첨가한 후, 반응 혼합물을 N_2 대기하에 35℃에서 15시간 동안 교반하였다. LCMS는 95% **7**이 소모되었음을 나타내었다. 물 (60.0 mL)을 첨가하였다. 용액을 EA (2*150.0 mL)로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하였고 Na_2SO_4로 건조시킨 후, 용액을 감압하에 농축시켰고, 미정제 물질을 Flash-Prep-HPLC로 다음 조건(IntelFlash-1)으로 정제하였다: 컬럼, C18 실리카겔; 이동상, CH_3CN/H_2O = 1/1로 20분 이내에 CH_3CN/H_2O = 1/0으로 증가시키고, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O= 4/1; 검출기, UV 254 nm에서 수집하였다. 이는 **9**(9.3 g, 54.1% 수율)을 생성하였다. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ = 11.33 (s, 1H), 8.17-8.15 (d, *J* = 12, 1H), 8.02-8.00 (d, *J* = 12, 1H), 7.64-7.62 (m, 1H), 7.53-7.50 (m, 2H), 7.44-7.42 (d, *J* = 12, 1H), 4.46-4.44 (d, *J* = 12, 1H), 4.24-4.23 (d, *J* = 6, 1H), 3.93-3.91 (d, *J* = 12, 1H), 1.16 (s, 18H), 0.86 (s, 9H)), 0.08-0.06 (d, *J* = 12, 6H). ESI-LCMS: m/z 782 $[M+H]^+$. ^{31}P-NMR (DMSO-d_6) δ = 16.77, 16.00.

[0646] **10의 제조:** HOAc(140.0 mL) 및 H_2O(140.0 mL)의 혼합 용액 중 9(9.3 g, 11.9 mmol)를 30℃에서 15시간 동안 교반하였다. LCMS는 9가 소모되었음을 나타낸다. 용액을 얼음물에 첨가하였으며 EA (2*300.0 mL)로 추출하였다. 유기층을 pH = 6 내지 7로 켄칭한 후 염수로 세척하였고 Na_2SO_4로 건조시킨 후, 용액을 감압하에 농축시켰고, 미정제 물질을 압력에 의해 Flash-Prep-HPLC로 다음 조건(IntelFlash-1)으로 정제하였다: 컬럼, C18 실리카겔; 이동상, CH_3CN/H_2O = 1/1로 20분 이내에 CH_3CN/H_2O = 1/0으로 증가시키고, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O= 2.5/1; 검출기, UV 254 nm에서 수집하였다. 이는 **10**(5.1 g, 64.6% 수율)을 생성하였다. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ = 9.09 (s, 1H), 7.92-7.85 (m, 3H), 7.60-7.48 (m, 4H), 6.02 (s, 1H), 5.71-5.64 (m, 4H), 4.53-4.51 (m, 1H), 3.94-3.70 (m, 5H), 3.31 (s, 1H), 1.21 (s, 18H). ^{31}P-NMR (DMSO-d_6) δ = 16.45. ESI-LCMS: m/z 668 $[M+H]^+$.

[0647] **11의 제조:** DCM(45.0 mL) 중 **10**(4.6 g, 6.9 mmol)의 현탁액에 CEOP$[N(ipr)_2]_2$ (2.5 g, 8.3 mmol), DCI (730.4 mg, 6.2 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS는 10이 완전히 소모되었음을 나타낸다. 용액을 물(40.0 mL)로 켄칭하였고 염수(2*20.0 mL)로 세척하였으며 Na_2SO_4로 건조시켰다. 이후 용액을 감압하에 농축시키고, 잔류물을 Flash-Prep-HPLC에 의해 하기 조건 (IntelFlash-1)으로 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, CH_3CN/H_2O = 1/1을 20분 이내에 CH_3CN/H_2O = 1/0으로 증가시키고, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O= 4/1; 검출기, UV 254 nm에서 수집하였다. 이는 **11**(4.7 g, 5.4 mmol, 78.3% 수율)을 백색 고체로서 생성하였다. ^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ = 11.34 (s, 1H), 8.18-8.16 (m, 1H), 8.02-8.01 (d, *J* = 6, 2H), 7.65-7.42 (m, 4H), 5.95-5.93(m, 1H), 5.66-5.61 (m, 4H), 4.64-4.57 (m, 1H), 4.32-4.31 (d, *J* = 6, 1H), 4.12-4.10 (m, 1H), 3.81-3.45(m, 7H), 2.81-2.79 (m, 2H), 1.16-1.13 (m, 30H). ^{31}P-NMR ($CDCl_3$-d_6) δ = 150.65, 150.20, 16.64, 15.41. ESI-LCMS: m/z 868 $[M+H]^+$;

[0648] 실시예 18



[0649]

[0650] 반응식-17

[0651] **2의 제조:** **1**(94.5 g, 317.9 mmol)을 N_2 대기하에서 건조 DMF(1000 mL)에 용해시켰다. 용액에 TBSCl(119.3 g, 794.7 mmol) 및 이미다졸(75.8 g, 1.1 mol)을 25℃에서 첨가하였으며 17시간 동안 교반하였다. LCMS는 1이 모두 소모되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 H_2O(3000*2 mL), EA(2000*2 mL) 및 염수(1500 mL)로 세척하였다. Na_2SO_4상에서 건조시키고 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며 이를 다음 단계로 진행한다. 반응 혼합물을 농축시켜 미정제 물질 **2**(200 g, 미정제 물질)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 526 $[M+H]^+$.

[0652] **3의 제조:** **2**(175.1 g, 333.0 mmol)를 피리딘으로 증발시켰으며 진공에서 2회 건조시켰다. 잔류물을 N_2하에 피리딘(1500 mL)에 용해시켰다. 상기 용액에 *i*-BuCl (88.7 g, 832.6 mmol)을 N_2 대기하에 5℃에서 첨가하였으며 3시간 동안 교반하였다. LCMS는 모든 **2**가 소모되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 H_2O(3000*2 mL), EA(2000*2 mL) 및 염수(1500 mL)로 세척하였다. Na_2SO_4상에서 건조시키고 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며 이를 다음 단계로 진행한다. 반응 혼합물을 농축시켜 미정제 물질 **3**(228 g, 미정제 물질)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 596 $[M+H]^+$.

[0653] **4의 제조:** THF(2000 mL) 중 **3**(225 g, 377.6 mmol)의 용액을 H2O(500 mL)에 첨가하였으며 TFA(500 mL)를 5℃에서 첨가하였다. 그 다음 반응 혼합물을 5℃에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS는 모든 **3**가 소모되었음을 나타내었다. Con NH_4OH (수성)를 혼합물에 첨가하여 pH = 7 내지 8이 될 때까지 반응을 켄칭한 후, H_2O (2000*2 mL), EA (2000*2 mL) 및 염수(1500 mL)로 세척하였다. Na_2SO_4상에서 건조시키고 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며 이를 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다. 반응 혼합물을 농축시켜 **4**(155.6 g, 83.9% 수율)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 482 $[M+H]^+$.

[0654] **5의 제조:** 4(100 g, 207.6 mmol)를 N_2하에서 건조 DMF(1000 mL)에 용해시켰다. 용액에 t-BuOH(307.8 g, 4.2 mol), PDC(156.1 g, 0.4 mol) 및 Ac_2O(212.0 g, 2.1 mol)를 N_2 대기하에서 25℃에서 첨가하였으며 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS 및 TLC는 모든 4가 소모되었음을 나타내었다. $NaHCO_3$ (수성)를 혼합물에 첨가하여 pH = 7 내지 8이 될 때까지 반응을 켄칭한 후, H_2O (500*2 mL), EA (500*2 mL) 및 염수(500 mL)로 세척하였다. Na_2SO_4상에서 건조시키고 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며 이를 컬럼 크로마토그래피 및 MPLC로 정제하였다. 반응 혼합물을 농축시켜 5(77.3 g, 61.6% 수율)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 552 $[M-H]^+$.

[0655] **6의 제조:** 5(40.0 g, 72.6 mmol)을 N_2하에서 건조 THF(400 mL)에 용해시켰다. 용액에 MeOD(80 mL) 및 D_2O(40 mL)를 N_2 대기하에서 25℃에서 첨가한 후, $NaBD_4$(9.1 g, 217.4 mmol)를 3회 첨가하였으며 15시간 동안 교반하였다. LCMS 및 TLC는 모든 5가 소모되었음을 나타내었다. 혼합물을 농축시켜 미정제 생성물을 수득하였으며 이를 다음 단계로 진행한다. 반응 혼합물을 농축시켜 미정제 물질 6(30 g, 미정제 물질)를 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 414 $[M+H]^+$

[0656] **7의 제조:** 6(30 g, 미정제)을 피리딘으로 증발시켰으며 진공에서 2회 건조시켰다. 잔류물을 N_2하에 건조 피리딘(300 mL)에 용해시켰다. 이후 iBuCl(15.5 g, 145.3 mmol)을 N_2 대기하에 0℃에서 반응 혼합물에 천천히 첨가하였으며 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS 및 TLC는 모든 6가 소모되었음을 나타내었다. $NaHCO_3$(수성)을 혼합물에 첨가하여 pH = 7.5가 될 때까지 반응을 켄칭한 후, H_2O(1500 mL), EA (1000*2 mL) 및 염수(1500 mL)로 세척하였다. Na_2SO_4상에서 건조시키고 농축시켜 미정제 물질을 R1을 수득하였다. NaOH(8 g, 0.2 mol), MeOH(80 mL) 및 H_2O(20 mL)는 NaOH (수성)를 구성하였다. 잔류물 R1 (40 g, 3.63 mmol)을 피리딘(20 mL)에 용해시켰다. 용액에 2N NaOH(수성)(100 ml)를 용액에 첨가하였으며 반응물을 5℃에서 15분 동안 교반하였다. TLC는 모든 R1이 소모되었음을 나타내었다. 혼합물을 5℃에서 pH = 7 내지 8이 되도록 NH_4Cl을 첨가하였으며 농축시켜 미정제 물질을 수득하였으며 이를 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다. 생성물을 농축시켜 7(15.5 g, 2단계에 걸쳐 33.00% 수율)을 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 484$[M+H]^+$.

[0657] **8의 제조:** DMSO(150 mL) 중 7(15.5 g, 32.1 mmol)의 교반된 용액에 EDCI(18.5 g, 96.3 mmol), 피리딘(2.5 g, 32.1 mmol), TFA(1.8 g, 16.0 mmol)를 실온에서 N_2 대기하에 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응물을 물로 켄칭하였고, EA(300.0 mL)로 추출하였으며, 염수로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰으며, 감압하에 증발시켜 미정제 물질 8(17.3 g, 미정제)을 수득하였고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. ESI-LCMS: m/z =481 $[M+H]^+$.

[0658] **10의 제조:** 건조 THF(204 mL) 및 D_2O(34 mL) 중 8(17.3 g, 미정제), 9(21.4 g, 33.7 mmol) 및 K_2CO_3(13.3 g, 96.3 mmol)의 용액을 40℃에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 켄칭하였고, EA (600.0 mL)로 추출하였으며, 염수로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰으며, 감압하에 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 (PE: EA = 5:1 내지 1:1)로 정제하여 10(9.3 g, 2단계에 걸쳐 36.6 % 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS m/z = 787$[M+H]^+$.

[0659] ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ 11.24 (s, 1H, D_2O로 교환), 8.74 (d, J = 2.7 Hz, 2H), 8.05-8.04 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.65 (t, 1H), 7.57-7.54 (t, 2H), 6.20 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.64-5.58 (m, 4H), 4.77 (t, 1H), 4.70 (t, 1H), 4.57-4.56 (t,1H), 3.35 (s, 3H), 1.09 (d, J = 6.5 Hz, 18H), 0.93 (s, 9H), 0.15 (d, J = 1.8 Hz, 6H); ^{31}P NMR (DMSO-d_6): δ 17.05;

[0660] **11의 제조:** 둥근 바닥 플라스크에 H_2O(93 mL) 및 HCOOH(93 mL)의 혼합물 중 10(9.3 g, 11.5 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 50℃에서 5시간 동안 그리고 35℃에서 15시간 동안 교반하였다. 혼합물을 EA(500.0 mL)로 추출하였고, 물, $NaHCO_3$ 용액 및 염수로 연속적으로 세척하였으며, Na_2SO_4 상에서 건조시켰고, 감압하에 증발시켰다. 잔류물을 다음 조건 (IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 실리카

겔; 이동상, CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/2 증가되어 20분 이내에 CH_3CN/ H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/0이고, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 3/2; 검출기, UV 254 nm. 생성물 **11**(6.3 g, 78% 수율)을 수득하였다. ^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6): δ 12.17 (s, 1H, D_2O로 교환), 11.51 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 6.02-6.03 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 5.63-5.72 (m, 5H), 4.60 (s, 1H), 4.43-4.45 (m, 2H), 3.40 (s, 1H), 3.38 (s, 1H), 2.83-2.88 (m, 1H), 1.15-1.23 (m, 24H); ^{31}P NMR (DMSO-d_6) δ=17.69. ESI-LCMS m/z = 674 $[M+H]^+$.

[0661] **12의 제조:** DCM (55.0 mL) 중 **11**(5.6 g, 8.3 mmol)의 용액에 DCI(835 mg, 7.1 mmol)를 첨가한 후, $CEP[N(ipr)_2]_2$(3.3 g, 10.8 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O(50.0 mL) 및 염수 (50.0 mL)로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰으며, 압력하에 증발시켰다. 잔류물을 다음 조건 (IntelFlash-1)으로 Flash-Prep-HPLC에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, CH_3CN/H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/1 증가되어 20분 이내에 CH_3CN/ H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 1/0이고, 용리된 생성물을 CH_3CN/ H_2O (0.5% NH_4HCO_3) = 9/1; 검출기, UV 254 nm. 생성물을 농축시켜 **12**(6.3 g, 87% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ 12.14 (s, 1H, D_2O로 교환), 11.38 (s, 1H), 8.27-8.28 (d, J = 6 Hz, 1H), 5.92-5.98 (m, 1H), 5.59-5.65 (m, 4H), 4.57-4.68 (m, 3H), 3.61-3.85 (m, 4H), 3.37 (s, 1H), 3.32 (s, 1H), 2.81-2.85 (m, 3H), 1.09-1.20 (m, 36H); ^{31}P NMR (DMSO-d_6): δ 150.60, 149.97, 17.59, 17.16; ESI-LCMS m/z = 874 $[M+H]^+$.

[0662] **실시예 19: ds-siNA 활성**

[0663] 본 실시예는 실시예 1에서 합성된 ds-siNA의 활성을 조사한다.

[0664] *호모 사피엔스* HepG2.2.15 세포를 10% 우태 혈청(FCS)도 함유하도록 보충된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)(ATCC 30-2002)에서 배양하였다. 세포를 가습 인큐베이터에서 5% CO2가 있는 대기에서 37℃에서 배양했다. HBV 표적화 siRNA를 사용한 HepG2.2.15 세포의 형질감염을 위해, 세포를 96 일반 웰 조직 배양 플레이트에 15000개의 세포/웰의 밀도로 시딩하였다. RNAiMAX(Invitrogen/Life Technologies)를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 세포를 형질감염시켰다. 용량-반응 실험은 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625 및 0.07813nM의 올리고 농도로 수행되었다. 각 HBV 표적화 siRNA 처리(*예를 들어*, 표 6에서 ds-siNA ID에 의해 식별 ds-siRNA)에 대해, 4개의 웰을 병렬로 형질감염시켰고, 각 웰로부터 개별 데이터 포인트를 수집하였다. siRNA와 함께 24시간 동안 배양한 후, 배지를 제거하였고, 세포를 용해시켰으며, 세포주 HepG2.2.15에 존재하는 HBV 유전자형 D(또한 B형 간염 바이러스 하위유형 ayw, 3182 염기쌍의 완전한 유전체라고도 함)에 특이적인 QuantiGene2.0 분지형 DNA(bDNA) 프로브 세트로 분석하였다.

[0665] 각 웰에 대해, HBV 표적 mRNA 수준을 GAPDH mRNA 수준으로 정규화하였다. 표 6 내지 표 10에서 나타낸 바와 같이, ds-siRNA를 표적으로 하는 HBV의 활성은 EC50으로 표현되었고, 이는 비약물 대조군으로부터의 정규화된 HBV RNA 수준의 50% 감소이다. 표 6 내지 표 10에서 나타낸 바와 같이, ds-siRNA를 표적으로 하는 HBV의 세포독성은 비약물 대조군으로부터의 GAPDH mRNA의 50% 감소의 CC50에 의해 발현되었다.

[0666] **실시예 20: B형 간염 바이러스 감염을 치료하기 위한 ds-siNA의 사용**

[0667] 본 실시예에서, 실시예 1에서 합성된 ds-siNA를 사용하여 대상체에서 B형 간염 바이러스 감염을 치료한다. 일반적으로, 표 1 내지 표 5로부터의 ds-siNA(ds-siNA ID에 의해 식별됨) 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물은 B형 간염 바이러스를 앓고 있는 대상체에게 투여된다. 표 1 내지 표 5의 ds-siNA는 N-아세틸갈락토사민에 접합된다. ds-siNA는 피하 주사 또는 정맥내 주사로 3주마다 0.3 내지 5 mg/kg의 용량으로 투여한다.

[0668] **실시예 21: siNA 활성 검정**

[0669] 본 실시예는 본원에서 개시되는 siNA의 활성을 시험하기 위한 예시적인 방법을 제공한다.

[0670] *시험관내 검정:*

[0671] HepG2.2.15 세포를 10% 우태 혈청(FCS)도 함유하도록 보충된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)(ATCC 30-2002)에서 배양하였다. 세포를 가습 인큐베이터에서 5% CO_2가 있는 대기에서 37℃에서 배양했다. HBV 표적화

siRNA를 사용한 HepG2.2.15 세포의 형질감염을 위해, 세포를 96 일반 웰 조직 배양 플레이트에 15000개의 세포/웰의 밀도로 시딩하였다. RNAiMAX(Invitrogen/Life Technologies)를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 세포를 형질감염시켰다. 용량-반응 실험은 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625 및 0.07813nM의 올리고 농도로 수행되었다. 각 HBV 표적화 siRNA 처리(*예를 들어*, 표 6 내지 표 10에서 ds-siNA ID에 의해 식별 ds-siRNA)에 대해, 4개의 웰을 병렬로 형질감염시켰고, 각 웰로부터 개별 데이터 포인트를 수집하였다. siRNA와 함께 24시간 동안 배양한 후, 배지를 제거하였고, 세포를 용해시켰으며, 세포주 HepG2.2.15에 존재하는 HBV 유전자형 D(또한 B형 간염 바이러스 하위유형 ayw, 3182 염기쌍의 완전한 유전체라고도 함)에 특이적인 QuantiGene2.0 분지형 DNA(bDNA) 프로브 세트로 분석하였다.

[0672] 각 웰에 대해, HBV 표적 mRNA 수준을 GAPDH mRNA 수준으로 정규화하였다. 표 6 내지 표 10에서 나타낸 바와 같이, ds-siRNA를 표적으로 하는 HBV의 활성은 EC_{50} 으로 표현되었고, 이는 비약물 대조군으로부터의 정규화된 HBV RNA 수준의 50% 감소이다. 표 6 및 표 10에서 나타낸 바와 같이, ds-siRNA를 표적으로 하는 HBV의 세포독성은 비약물 대조군으로부터의 GAPDH mRNA의 50% 감소의 CC_{50}에 의해 발현되었다.

표 6

[0673] **2'-플루오로 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA**

명칭	SS/AS 5'에서 3'	EC_{50}	Emax (%)	CC_{50} (nM)
ds-siNA-001	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 1) mAps**f2P**psmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 2)	A	71	>45
ds-siNA-002	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 3) mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**f4P**mAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 4)	B	59	>45
ds-siNA-003	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 5) mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmA**f2P**mCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 6)	A	68	>45
ds-siNA-004	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 7) mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**f2P**mA**f2P**mCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 8)	B	61	>45
ds-siNA-005	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 9) mAps**fB**psmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 10)	B	71	>45
ds-siNA-006	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 11) mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**fB**mAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 12)	B	70	>45
ds-siNA-007	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 13) mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**fB**mA**fB**mCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 14)	D	-	>45
ds-siNA-008	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 15) mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmC**f2P**mAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 16)	A	67	>45
대조군 1	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU (서열 식별 번호: 41) mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 42)	A	61	>45

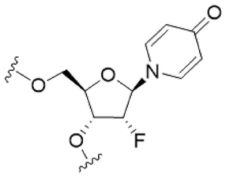
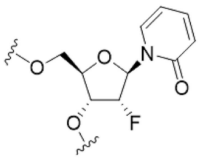
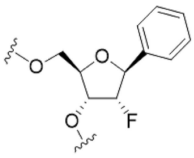
EC_{50}의 경우, A = $EC_{50} \leq 0.1$ nM; B = 0.1 nM < $EC_{50} \leq 1$ nM; C = 1 nM < EC_{50} < 10; D = $EC_{50} \geq 10$ nM.
mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; 5dcd3X = 화학식 17의 뉴클레오타이드; 5dfX = 화학식 16의 뉴클레오타이드; vX= 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; d2vX = 중수소화 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; vmX = 5' 바이닐 포스포네이트, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; ; f4P =  ; f2P =  ; fB =  ; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X는 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T)이다.

표 7

[0674] **뉴클레오타이드 포스페이트 모방체를 포함하는 siNA**

명칭	SS/AS 5'에서 3'	EC_{50}
대조군 2	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 43)	A
	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 44)	
ds-siNA-009	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-**ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 17)	A
	omeco-d3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 18)	
ds-siNA-010	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-**ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 19)	A
	4hUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 20)	
ds-siNA-011	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-**ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 21)	A
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 22)	
ds-siNA-012	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 23)	A
	v-munUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 24)	
ds-siNA-013	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 25)	A
	c2o-4hUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 26)	
ds-siNA-014	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 27)	B
	omeco-munUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 28)	
ds-siNA-015	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-**p-ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 29)	A
	omeco-munUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 30)	
ds-siNA-016	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-**p-ps2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 33)	A
	d2vmApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmA**f2P**mCmAmCpsmGpsmA (서열 식별 번호: 34)	

ds-siNA-023	5'-mCpsmCpsmGmUfGmUfGf(4nh)QfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 63)	A
	3'-mCpsmUpsmGmGfCmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGmCfGmAmApsfGpsd2vd3U-5' (서열 식별 번호: 64)	
ds-siNA-024	5'-mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 65)	A
	3'-mCpsmUpsmGmGfCmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGf(4nh)QfGmAmApsfGpsd2vd3U-5' (서열 식별 번호: 66)	
ds-siNA-025	5'-mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2GalNAc4 (서열 식별 번호: 67)	A
	3'-mCpsmUpsmGmGf(4nh)QmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGmCfGmAmApsfGpsd2vd3U-5' (서열 식별 번호: 68)	
ds-siNA-050*	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 93)	C
	coc-4hUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsm UpsmC (서열 식별 번호: 94)	

EC50의 경우, A = EC50 ≤ 0.1 nM; B = 0.1 nM < EC50 ≤ 1 nM; C = 1 nM < EC50 < 10; D = EC50 ≥ 10 nM.

*ds-siNA-050은 CC50에 대해서도 평가되었으며 ds-siNA-050에 대한 CC50은 >1 nm이다.

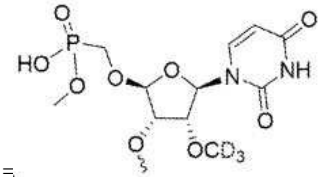
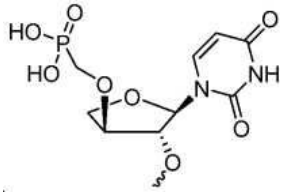
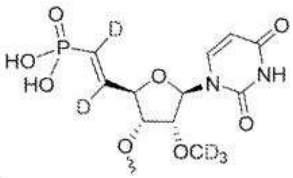
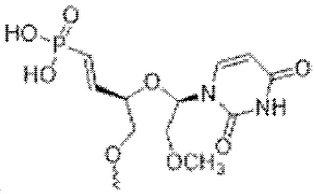
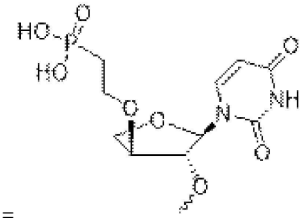
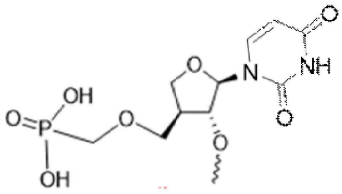
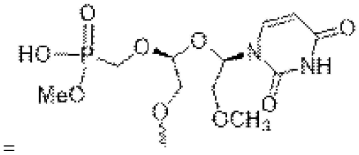
mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; 5dcd3X = 화학식 17의 뉴클레오타이드; 5dfX = 화학식 16의 뉴클레오타이드; vX= 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; d2vX = 중수소화 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; vmX = 5' 바이닐 포스포네이트, 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드;omeco-d3U =  ; 4hU =  ; d2vd3U =  ; v-munU =  ; c2o-4hU =  ; coc-4hU =  ; omeco-munU =  ; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X는 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T)이다.

표 8

[0675] 변형된 미잠금 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA

명칭	SS/AS(5'에서 3')	모드의 위치	EC_{50}
대조군 3	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 45)	6	A
	mUpsfGpsmAmAfGunCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 46)		
대조군 4	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 47)	7	A
	mUpsfGpsmAmAfGmCunGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 48)		
대조군 5	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 49)	-	A
	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 50)		
ds-siNA-017	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 35)	6	B
	mUpsfGpsmAmAfGmun34CmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 36)		
ds-siNA-018	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 37)	7	A
	mUpsfGpsmAmAfGmCmun34GfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 38)		
ds-siNA-019	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 39)	7	A
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmun34GfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 40)		
ds-siNA-034	mCpsmCpsmun34GmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 93)	3	A
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)		
ds-siNA-035	mCpsmCpsmGmun34UfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 95)	4	A
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)		
ds-siNA-036	mCpsmCpsmGmUfGmun34UfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 96)	6	A
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)		
ds-siNA-037	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmun34CmUmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 97)	10	B
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)		
ds-siNA-038	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmun34UmUmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 98)	11	A
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)		
ds-siNA-039	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmun34UmCmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 99)	12	A
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)		
ds-siNA-040	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmun34CmGmCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 100)	13	A
	psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)		

ds-siNA-041	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmC**mun34G**mCmUmUmCmA (서열 식별 번호: 101) psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)	14	A
ds-siNA-042	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmG**mun34C**mUmUmUmCmA (서열 식별 번호: 102) psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)	15	A
ds-siNA-043	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmC**mun34U**mUmUmCmA (서열 식별 번호: 103) psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)	16	A
ds-siNA-044	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmU**mun34U**mCmA (서열 식별 번호: 104) psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)	17	A
ds-siNA-045	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmU**mun34C**mA (서열 식별 번호: 105) psmUpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 94)	18	A

EC_{50}의 경우, A = $EC_{50} \leq 0.1$ nM; B = 0.1 nM < $EC_{50} \leq 1$ nM; C = 1 nM < EC_{50} < 10; D = $EC_{50} \geq 10$ nM.

mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; 5dcd3X = 화학식 17의 뉴클레오타이드; 5dfX = 화학식 16의 뉴클레오타이드; vX= 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; d2vX = 중수소화 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; vmX = 5' 바이닐 포스포네이트, 2'-*O*-메틸

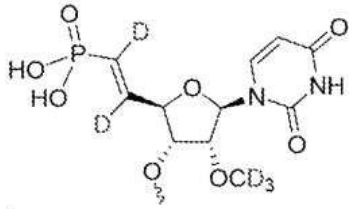
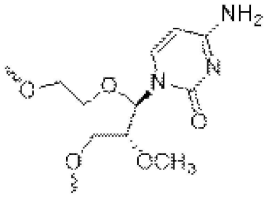
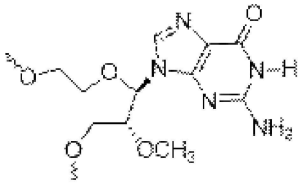
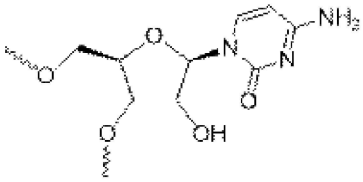
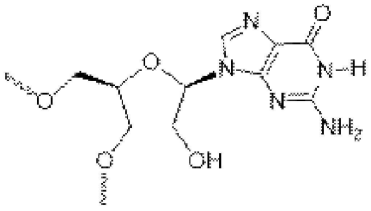
뉴클레오타이드;d2vd3U =  ; mun34C =  ; mun34G =  ; unC =  ; unG =  ; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X는 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T)

표 9

[0676] **메실 포스포라미데이트 뉴클레오사이드간 연결을 포함하는 siNA**

명칭	SS/AS(5'에서 3')	EC_{50}
ds-siNA-020	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-**p-(ps)2-GalNAc4** (서열 식별 번호: 69) 3'-mApsmGpsmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmU**ypf**U**ypm**A-5' (서열 식별 번호: 70)	A

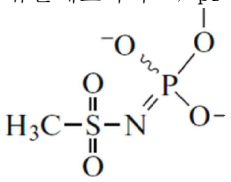
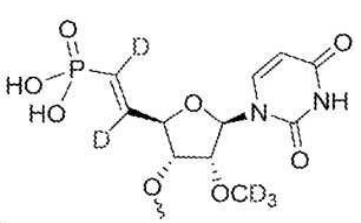
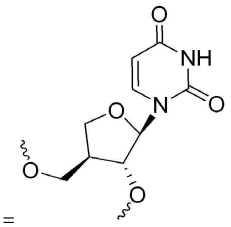
ds-siNA-021	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 71)	C
	3'-mAypmGypmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5' (서열 식별 번호: 72)	
ds-siNA-022	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 73)	C
	3'-mAypmGypmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUypfUypmA-5' (서열 식별 번호: 74)	
대조군 8	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 75)	A
	3'-mApsmGpsmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5' (서열 식별 번호: 76)	
EC_{50}의 경우, A = EC50 ≤ 0.1 nM; B = 0.1 nM < EC_{50} ≤ 1 nM; C = 1 nM < EC_{50} < 10; D = EC_{50} ≥ 10 nM.		
mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X은 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T); yp =  .		

표 10

[0677] **변형된 apU 뉴클레오타이드를 포함하는 siNA**

명칭	SS/AS(5'에서 3')	EC_{50}	CC_{50}
ds-siNA-026	mCpsmCpsmGaUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 77)	A	>1
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 78)		
ds-siNA-027	mCpsmCpsmGmUfGaUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 79)	A	>1
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 80)		
ds-siNA-028	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUaUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 81)	A	>1
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 82)		
ds-siNA-029	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCaUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 83)	A	>1
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 84)		
ds-siNA-030	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUaUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 85)	A	>1
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 86)		
ds-siNA-031	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 87)	A	>1
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGaUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 88)		
ds-siNA-032	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 89)	A	>1
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsaUpsmC (서열 식별 번호: 90)		

ds-siNA-033	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 91)	A	>1
	aUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 92)		
EC_{50}의 경우, A = $EC_{50} \leq 0.1$ nM; B = 0.1 nM < $EC_{50} \leq 1$ nM; C = 1 nM < EC_{50} < 10; D = $EC_{50} \geq 10$ nM.			
mX = 2'-*O*-메틸 뉴클레오타이드; fX = 2'-플루오로 뉴클레오타이드; 5dcd3X = 화학식 17의 뉴클레오타이드; 5dfX = 화학식 16의 뉴클레오타이드; vX= 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; d2vX = 중수소화 5' 바이닐 포스포네이트 뉴클레오타이드; vmX = 5' 바이닐 포스포네이트, 2'-*O*-메틸   뉴클레오타이드;d2vd3U = ; aU = ; ps= 포스포로싸이오에이트 연결; X는 핵염기(예를 들어, A, G, C, U 또는 T)이다.			

[0678] *생체내 검정:*

[0679] AAV/HBV는 복제 가능한 HBV 유전체를 운반하는 재조합 AAV이다. 유전자형 8 AAV의 고도로 간친화성인 특징을 이용하여, HBV 유전체를 마우스 간 세포에 효율적으로 전달할 수 있다. AAV/HBV로 면역 능력이 있는 마우스를 감염시키면 장기간 HBV 바이러스혈증이 발생할 수 있으며, 이는 환자의 만성 HBV 감염과 유사하다. AAV/HBV 모델은 다양한 유형의 항HBV 제제의 생체내 활성을 평가하는 데 사용될 수 있다. 마우스는 연구 -28일차에 AAV-HBV에 감염되었다. 시험 항목 또는 음성 대조군(PBS)을 5 mg/kg에서 0일차에 단일 투여량으로 피하(달리 명시되지 않는 한) 투여하였다. 연속 혈액 수집은 보통 연구 종료 시까지 0, 5, 10 및 15일차 등에 5일마다 수행하였다. 혈청 HBV S 항원(HBsAg)은 ELISA를 통해 검정되었다.

[0680] 표 11은 예시적인 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체 중 일부의 영향을 결정하기 위해 평가된 siNA를 나타낸다. 이러한 평가의 결과는 도 4에서 나타나 있으며, 이는 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-009 또는 ds-siNA-010으로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 제공한다.

표 11

[0681]

명칭	SS/AS 5'에서 3'
대조군 2	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 43)
	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 44)
ds-siNA-009	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 17)
	omeco-d3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 18)
ds-siNA-010	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 19)
	4hUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 20)

[0682] 표 12은 예시적인 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체 중 일부의 영향을 결정하기 위해 평가된 siNA를 나타낸다. 이러한 평가의 결과는 도 5a에서 나타나 있으며, 이는 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-017(GalNAc를 첨가) 또는 ds-siNA-018(GalNAc를 첨가)로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 제공한다.

표 12

[0683]

명칭	SS/AS 5'에서 3'
ds-siNA-0017	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNac4 (서열 식별 번호: 35)
	mUpsfGpsmAmAfGmun34CmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 36)
ds-siNA-0018	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNac4 (서열 식별 번호: 37)
	mUpsfGpsmAmAfGmCmun34GfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 38)
대조군 2	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 43)
	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 44)

[0684] 표 13은 또한 평가된 전통적인 UNA를 포함하는 siAN을 나타낸다. 이러한 siNA는 본원에서 개시되는 신규한 3',4' 세코 변형된 뉴클레오타이드의 대조군으로 간주될 수 있다. 도 5b는 운반체(G01), 대조군 2, 대조군 7 또는 대조군 8로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 제공한다.

표 13

[0685]

명칭	SS/AS
대조군 7	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 51)
	mUpsfGpsmAmAfGunCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 52)
대조군 8	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNac4 (서열 식별 번호: 53)
	mUpsfGpsmAmAfGmCunGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 54)

[0686] 표 14은 예시적인 뉴클레오타이드 포스페이트 모방체 중 일부의 영향을 결정하기 위해 평가된 siNA를 나타낸다. 이러한 평가의 결과는 도 6에서 나타나 있으며, 이는 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-011, ds-siNA-012 또는 ds-siNA-013으로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 제공한다.

표 14

[0687]

명칭	SS/AS 5'에서 3'
대조군 2	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 43)
	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 44)
ds-siNA-011	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 21)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 22)
ds-siNA-012	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 23)
	v-munUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 24)
ds-siNA-013	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 25)
	c2o-4hUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 26)

[0688] 표 15는 apU 뉴클레오타이드의 혼입의 영향을 결정하기 위해 평가된 siNA를 나타낸다. 이러한 평가의 결과는 도 7에서 나타나 있으며, 이는 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-026, ds-siNA-027, ds-siNA-028, ds-siNA-029, ds-siNA-030, ds-siNA-031 또는 ds-siNA-032로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 제공한다.

표 15

[0689]

명칭	SS/AS 5'에서 3'
대조군 2	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 43)
	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 44)
ds-siNA-026	mCpsmCpsmGaUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 77)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 78)
ds-siNA-027	mCpsmCpsmGmUfGaUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 79)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 80)
ds-siNA-028	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUaUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 81)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 82)
ds-siNA-029	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCaUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 83)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 84)
ds-siNA-030	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUaUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 85)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 86)
ds-siNA-031	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 87)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGaUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 88)
ds-siNA-032	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 89)
	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsaUpsmC (서열 식별 번호: 90)

[0690] 또한, ds-siNA-034에서 ds-siNA-045로의 *시험관내* 스크리닝으로부터의 가장 활성인 화합물을 추가적으로 변형시켜 GalNAc를 센스 가닥의 3' 말단에 부착시키고 중수소화 바이닐 포스포네이트를 안티센스 가닥에 혼입시켰다. ds-siNA-034 내지 ds-siNA-045 중 가장 활성인 화합물은 ds-siNA-034(센스 가닥의 위치 3에서 mun34), ds-siNA-043(센스 가닥의 위치 16에서 mun34), ds-siNA-044(센스 가닥의 위치 17에서 mun34) 및 ds-siNA-045(센스 가닥의 위치 18에서 mun34)였다. 이러한 화합물의 GalNAc-접합/중수소화 버전은 ds-siNA-046을 ds-siNA-049에 할당하였으며(표 16에서 나타냄), 도 8은 이는 운반체(G01), 대조군 2, ds-siNA-046, ds-siNA-047, ds-siNA-048 또는 ds-siNA-049으로 처리된 AAV-HBV 마우스의 혈청 HBsAg 변화의 그래프를 제공한다.

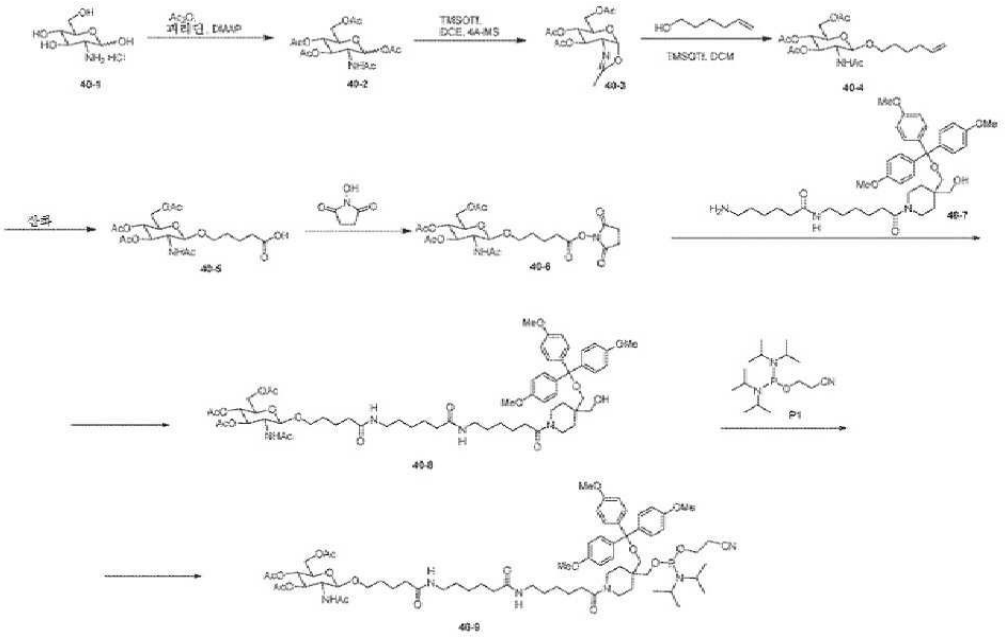
표 16

[0691]

명칭	SS/AS 5'에서 3'
대조군 2	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4 (서열 식별 번호: 43)
	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (서열 식별 번호: 44)
ds-si-NA-046	mCpsmCps**mun34G**mUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(ps)2-GalNAc (서열 식별 번호: 106)
	psd2vd3UpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 107)
ds-si-NA-047	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmC**mun34U**mUmCmA-p-(ps)2-GalNAc (서열 식별 번호: 108)
	psd2vd3UpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 107)
ds-si-NA-048	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmU**mun34U**mCmA-p-(ps)2-GalNAc (서열 식별 번호: 109)
	psd2vd3UpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 107)
ds-si-NA-049	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmU**mun34C**mA-p-(ps)2-GalNAc (서열 식별 번호: 110)
	psd2vd3UpsfGmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGpsmGpsmUmC (서열 식별 번호: 107)

[0692] **실시예 22: 화합물 40-9(GalNAc4 아미다이트)의 제조**

[0693] 화합물 40-9는 표적화 모이어티로서 본원에서 개시되는 임의의 siNA에 접합될 수 있다. 아래에 도시된 이러한 화합물은 다음의 간략한 설명에 따라 제조될 수 있다.



[0694]

[0695] 빌딩 블록 화합물(40-9)은 변형된 포스포로싸이오에이트 올리고뉴클레오타이드의 실시양태를 제조하는데 유용하다. 화합물 40-9를 다음과 같이 제조하였다:

[0696] **화합물 40-2의 제조:** 0℃에서 DCM (300 mL) 중 상업적으로 이용 가능한 글루코사민 염산염 **40-1**(60 g, 278.25 mmol, 1 당량)의 용액에 Ac_2O(323.83 g, 3.17 mol, 297.09 mL, 11.4 당량)를 적가한 후, 피리딘(300 mL) 및 DMAP(3.40 g, 27.83 mmol, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 점차적으로 20℃로 가온하였으며 20℃에서 24시간 동안 교반하였다. LCMS에 의해 모니터링된 바와 같이 완료시, 혼합물을 감압 하에 농축시키고, DCM(900 mL)으로 희석하고, $NaHCO_3$ (포화, 수성 300 mL *3)으로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(300 mL)로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰으며, 여과하였고, 감압하에 농축시켜 화합물 **40-2**(89.5 g, 미정제)를 황색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 6.16 (d, J=3.8 Hz, 1H), 5.62 (d, J=9.0 Hz, 1H), 5.27 - 5.16 (m, 2H), 4.54 - 4.43 (m, 1H), 4.24 (dd, J=4.0, 12.5 Hz, 1H), 4.10 - 3.94 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.04 (d, J=4.0 Hz, 6H), 1.93 (s, 3H; LCMS (ESI): $C_{16}H_{23}NaNO_{10}$에 대해 계산된 m/z, 412.34 $[M+Na]^+$, 확인됨 412.0).

[0697] **화합물 40-3의 제조:** 25℃에서 DCE(320 mL) 중 화합물 **40-2**(40 g, 102.73 mmol, 1 당량)의 용액에 TMSOTf(23.98 g, 107.87 mmol, 19.49 mL, 1.05 당량)를 적가하였으며 혼합물을 60℃에서 4시간 동안 교반하였다. LCMS에 의해 모니터링된 바와 같이 완료 시, 혼합물을 20℃에서 TEA(60 mL)를 첨가하여 켄칭하였고, 15분 동안 교반하였으며, DCM(500 mL)으로 희석하였고, $NaHCO_3$(포화, 수성 300 mL * 2)으로 세척하였다. 유기층을 염수 (300 mL)로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 여과하였고, 감압 하에 농축시켜 화합물 **40-3**(32.5 g, 미정제)을 황색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 5.96 (d, J=7.3 Hz, 1H), 5.25 (t, J=2.4 Hz, 1H), 4.95 - 4.88 (m, 1H), 4.19 - 4.08 (m, 3H), 3.59 (m, 1H), 2.13 - 2.05 (m, 12H).

[0698] **화합물 40-4의 제조:** DCM (250 mL) 중 화합물 **40-3**(32.5 g, 98.69 mmol, 1 당량)의 혼합물에 헥-5-센-1-올(11.86 g, 118.43 mmol, 13.96 mL, 1.2 당량) 및 4A MS(32.5 g)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 0.5시간 동안 교반한 후, TMSOTf(13.16 g, 59.22 mmol, 10.70 mL, 0.6 당량)를 적가하였다. 혼합물을 30℃에서 16시간 동안 교반하였다. LCMS에 의해 모니터링된 바와 같이 완료 시, 반응 혼합물을 여과하였고, 여액을 DCM (300 mL)으로 희석하였으며, $NaHCO_3$(포화, 수성 150 mL * 2)으로 세척하였다. 유기층을 염수 (150 mL)로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 여과하였고, 감압하여 농축하였다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 220 g SepaFlash® Silica Flash Column, 100 mL/분에서 0 내지 70% PE/EA 구배의 용리액)로 정제하여 화합물 **40-4**(12.3 g, 28.64 mmol, 29.02% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 5.78 (m, 1H), 5.45 (d, J=8.8 Hz, 1H), 5.31 (dd, J=9.4, 10.7 Hz, 1H), 5.06 (t, J=9.5 Hz, 1H), 5.02 - 4.92 (m, 2H), 4.68 (d, J=8.3 Hz, 1H), 4.30 - 4.23 (m, 1H), 4.16 - 4.10 (m, 1H), 3.91 - 3.76 (m, 2H), 3.73 - 3.66 (m, 1H), 3.48 (td, J=6.7, 9.5 Hz, 1H), 2.09 - 2.01 (m, 11H), 1.94 (s, 3H), 1.60 - 1.36 (m, 4H); LCMS (ESI): $C_{20}H_{32}NO_9$에 대해 계산된 m/z , 430.47 $[M+H]^+$, 확인됨 430.1.

[0699] **화합물 40-5의 제조:** DCM(60 mL) 및 MeCN(60 mL)의 혼합 용매 중 화합물 **40-4**(12.3 g, 28.64 mmol, 1 당량)의 용액에 $NaIO_4$(2.5 M, 57.28 mL, 5 당량)를 첨가하였으며 혼합물을 20℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. $RuCl_3$(123.00 mg, 592.97 umol, 0.02 당량)를 첨가하였으며, 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 의해 모니터링된 바와 같이 완료 시, 포화 수성 $NaHCO_3$를 혼합물에 첨가하여 pH > 7을 조정하였다. 혼합물을 DCM (300 mL)으로 희석하고 추출하였다. 수성 층을 시트르산에 의해 pH < 7로 조정하고, 수성 층을 DCM (300 mL * 3)으로 추출하였다. 조합한 유기층을 염수 (300 mL)로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 여과하였고, 감압하에 농축시켜 화합물 **40-5**(8.9 g, 69.31% 수율)를 갈색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 6.14 (d, J=8.8 Hz, 1H), 5.34 - 5.20 (m, 1H), 5.08 - 5.01 (m, 1H), 4.67 (d, J=8.3 Hz, 1H), 4.24 (dd, J=4.8, 12.3 Hz, 1H), 4.17 - 4.05 (m, 1H), 3.90 - 3.83 (m, 2H), 3.75 - 3.62 (m, 2H), 3.50 (d, J=5.9, 9.9 Hz, 1H), 2.44 - 2.27 (m, 2H), 2.09 - 1.93 (m, 12H), 1.75 -1.53 (m, 4H); LCMS (ESI): $C_{19}H_{30}NO_{11}$에 대해 계산된 m/z, 448.44 $[M+H]^+$, 확인됨 448.1.

[0700] 화합물 **40-6**의 제조: DCM(100 mL) 중 화합물 40-5(10 g, 22.35 mmol, 1 당량) 및 1-하이드록시피롤리딘-2,5-다이온(2.83 g, 24.58 mmol, 1.1 당량)의 용액에 EDCI·HCl(5.57 g, 29.05 mmol, 1.3 당량)을 첨가하였으며, 혼

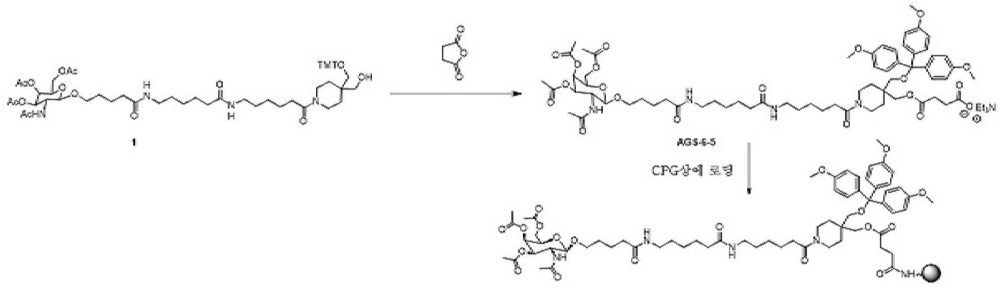
합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 의해 모니터링된 바와 같이 완료 시, 반응 혼합물을 DCM(200 mL)으로 희석하였으며, H_2O (100 mL)로 세척하였다. 유기층을 $NaHCO_3$(포화 수성)(100 mL *2) 및 염수(100 mL)로 세척하였고, Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 여과하였고, 감압하에 농축시켜 화합물 **40-6**(10.1 g, 82.66%)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 5.85 (d, J=8.8 Hz, 1H), 5.31 - 5.26 (m, 1H), 5.06 (t, J=9.7 Hz, 1H), 4.69 (d, J=8.3 Hz, 1H), 4.25 (dd, J=4.7, 12.2 Hz, 1H), 4.12 (dd, J=2.3, 12.2 Hz, 1H), 3.94 - 3.79 (m, 2H), 3.75 - 3.65 (m, 1H), 3.63 - 3.53 (m, 1H), 2.87 (br d, J=4.3 Hz, 4H), 2.76 - 2.56 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.02 (d, J=1.8 Hz, 6H), 1.92 (s, 3H), 1.86 - 1.66 (m, 4H);LCMS (ESI): $C_{23}H_{33}N_2O_{13}$에 대해 계산된 m/z, 545.51 $[M+H]^+$, 확인됨 545.1.

[0701] 화합물 **40-8**의 제조: DCM (100 mL) 중 화합물 **40-7**(WO 2018013999 A1에서 설명되는 일반적인 절차에 따라 제조되는 **40-7**)(9.8 g, 13.92 mmol, 1 당량)의 용액에 DIEA(3.60 g, 27.84 mmol, 4.85 mL, 2 당량)를 첨가한 후, (2,5-다이옥소피롤리딘-1-일) 5-[3-아세트아미도-4,5-다이아세톡시-6- (아세톡시메틸)테트라하이드로피란-2-일]옥시펜타노에이트(화합물 **40-6**)(9.86 g, 18.10 mmol, 1.3 당량)를 첨가하였으며, 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 의해 모니터링된 바와 같이 완료 시, 반응 혼합물을 물(100 mL)로 희석한 후, DCM(100 mL*2)으로 추출하였다. 조합한 유기층을 염수(100 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰으며, 여과하였고, 여액을 감압하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 120 g SepaFlash® Silica Flash Column, 0 내지 6%의 용리제, 80 mL/분에서 MeOH/DCM 구배)에 의해 정제하여 화합물 40-8(13.1 g, 80.95% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 8.06 (d, J=9.3 Hz, 1H), 7.81 (q, J=5.4 Hz, 2H), 7.21 (d, J=8.8 Hz, 6H), 6.84 (d, J=9.0 Hz, 6H), 5.04 (t, J=10.0 Hz, 1H), 4.78 (t, J=9.7 Hz, 1H), 4.55 (d, J=8.5 Hz, 1H), 4.17 (dd, J=4.5, 12.3 Hz, 1H), 3.97 (d, J=10.0 Hz, 1H), 3.77 (dd, J=2.6, 9.9 Hz, 1H), 3.72 - 3.64 (m, 11H), 3.46 - 3.25 (m, 5H), 3.05 - 2.84 (m, 8H), 2.18 (t, J=7.2 Hz, 2H), 2.05 - 1.95 (m, 7H), 1.93 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.74 (s, 3H), 1.47 - 1.13 (m, 20H); LCMS (ESI): RT = 2.017 min, $C_{60}H_{84}NaN_4O_{17}$에 대해 계산된 m/z, 1156.32$[M+Na]^+$, 1155.5.

[0702] **화합물 40-9의 제조:** DCM(50 mL) 중 화합물 40-8(5 g, 4.41 mmol, 1 당량) 및 4A MS(5 g)의 혼합물에 3- 비스(다이아이소프로필아미노)포스포닐옥시프로페인나이트릴(1.73 g, 5.74 mmol, 1.82 mL, 1.3 당량)을 -10℃에서 첨가한 후, 1H-이미다졸-4,5-다이카보나이트릴 (573.12 mg, 4.85 mmol, 1.1 당량)을 첨가하였고, 혼합물을 0℃에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 의해 모니터링된 바와 같이 완료 시, 반응 혼합물을 DCM(100 mL)으로 희석하였고, $NaHCO_3$(포화, 수성, 50 mL*2)으로 세척하였으며, Na_2SO_4상에서 건조시켰고, 감압하에 농축시켜 연황색 발포체를 수득하였다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피 (ISCO®; 40 g SepaFlash® Silica Flash Column,, DCM 중 0% 내지 10% *i*-PrOH 함유 2% TEA)에 의해 정제하여 화합물 40-9(3.35 g, 56.60% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ = 7.35 - 7.25 (m, 6H), 6.88 - 6.82 (m, 6H), 6.79 (d, J=9.3 Hz, 1H), 6.63 - 6.46 (m, 2H), 5.17 - 5.08 (m, 1H), 4.93 (t, J=9.7 Hz, 1H), 4.59 (d, J=8.6 Hz, 1H), 4.22 (dd, J=4.9, 12.2 Hz, 1H), 4.04 (dd, J=2.4, 12.2 Hz, 1H), 3.85 - 3.32 (m, 22H), 3.15 - 3.00 (m, 8H), 2.59 (t, J=5.8 Hz, 2H), 2.23 (br t, J=6.6 Hz, 3H), 2.12 - 2.04 (m, 4H), 2.00 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.66 - 1.45 (m, 12H), 1.42 - 1.21 (m, 6H), 1.19 - 1.07 (m, 12H); LCMS (ESI) $C_{69}H_{101}NaN_6O_{18}P$에 대해 계산된 m/z, 1355.68 $[M+Na]^+$, 확인됨 1355.7; ^{31}P NMR (CD_3CN) δ = 147.00.

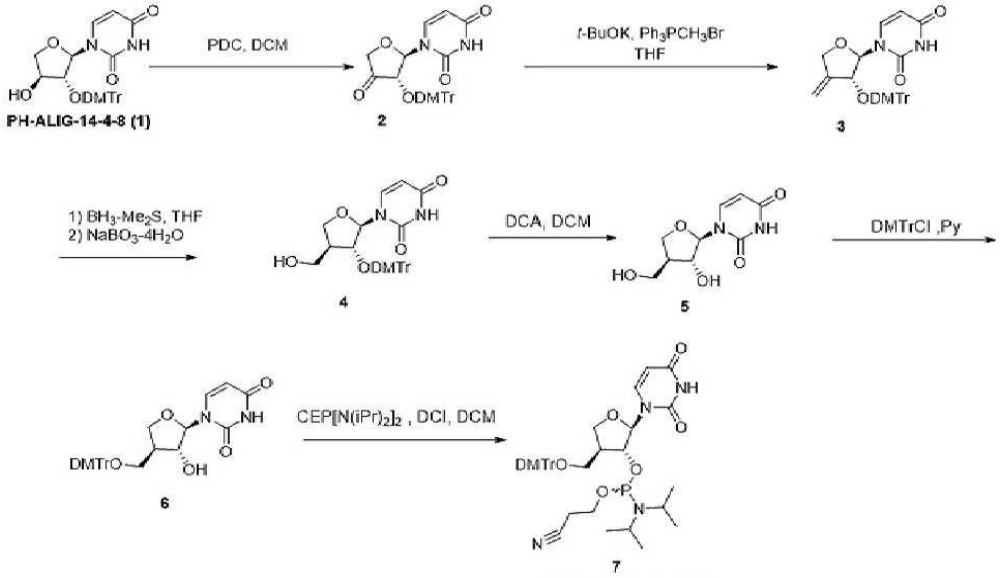
[0703] **실시예 23: GalNAc4 CPG의 제조**

[0704]



[0705] DCM (160 mL) 중 **40-8**(21 g, 18.53 mmol, 1 *당량*) 및 석신산 무수물(9.27 g, 92.65 mmol, 5 *당량*)의 용액에 TEA(18.75 g, 185.30 mmol, 25.79 mL, 10 *당량*) 및 DMAP(2.26 g, 18.53 mmol, 1 *당량*)를 15℃에서 첨가하였다. 혼합물을 15℃에서 16시간 동안 교반하였다. TLC(DCM: MeOH=10:1)는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 물 (200 mL)로 희석한 후, DCM(300 mL*2)으로 추출하였다. 조합한 유기층을 염수(300 mL*3)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰으며 감압하여 농축하였다. 잔류물을 플래시 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 220 g SepaFlash® Silica Flash Column, 0 내지 10% MeOH/DCM/TEA DCM의 용리액을 0.5 @ 100 mL/분 첨가)로 정제하여 **AGS-6-5**(12.8 g, 56% 수율)를 수득하였다 LCMS: (ESI): m/z 1233.6 $[M+H]^+$. 추가 석시네이트 AGS-6-5를 일반적인 절차에 따라 LCAA(CNA) 500 Å CPG상에 로딩하여 GalNAc 4 CPG를 수득하였다.

[0706] **실시예 24: 단량체의 합성**



실시예 24 단량체

[0707]

[0708] <u>(2)의 제조:</u> 1000 mL 둥근 바닥 플라스크에 PDC(8.48 g, 22.53 mmol, 1.2 당량) 및 4A-MS(18 g) 및 DCM(300 mL) 및 **PH-ALG-14-4-8**(실시예 5로부터 유래)(9.7 g, 18.8 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 에틸 아세테이트(30 mL)로 희석하였다. 생성된 혼합물을 여과하였으며 필터 케이크를 에틸 아세테이트(4x30 mL)로 세척하였다. 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 이는 **2**(9 g, 미정제)를 황색 고체로서 생성하였다. LC-MS: m/z 513.2 $[M-H]^-$

[0709] <u>(3)의 제조:</u> 1000 mL의 3구 둥근 바닥 플라스크에 메틸 트라이페닐-포스포늄 브로마이드(15.62 g, 43.73 mmol) 및 THF(180 mL) 및 *t*-BuOK(43.7 mL, THF 중 2M)를 0℃에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 교반된 혼합물에, THF 중 3'-케톤 **2**(9 g, 17.49 mmol)를 아르곤 대기하에 0℃에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온에서 물 (1 mL)을 첨가하여 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 여과하였으며 필터 케이크를 에틸 아세테이트(4x20 mL)로 세척하였다. 여액을 물 (3x20 mL)로 세척하였으며, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 다음 조건으로 역 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 이동상, 물 중

ACN, 30분 내에 45% 내지 70% 구배; 검출기, UV 254 3(5.6 g, 2단계로 56% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS: m/z 511.15 $[M-H]^-$; ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.26 (s, 1H), 7.38 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.33 - 7.18 (m, 8H), 6.90 - 6.78 (m, 4H), 5.71 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 5.42 (dd, J = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 15.1 Hz, 3H), 3.72 (d, J = 3.8 Hz, 6H).

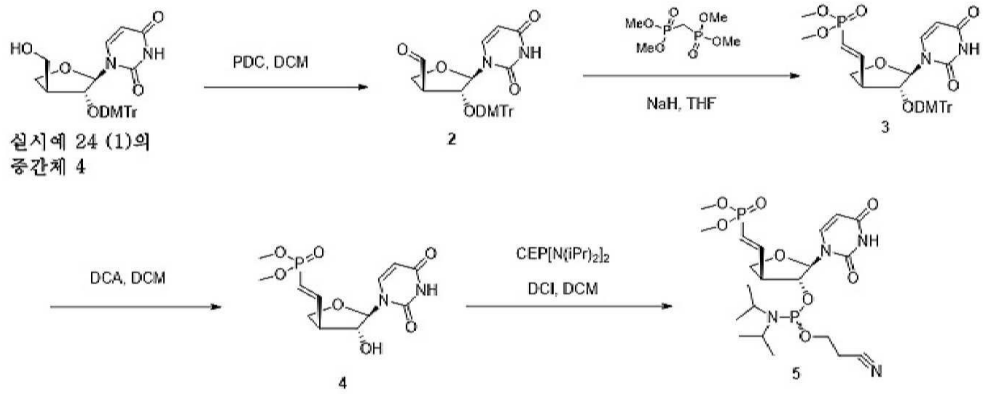
[0710] (4)의 제조: 500 mL 둥근 바닥 플라스크에 중간체 3(5.5 g, 10.73 mmol) 및 THF(140 mL) 및 BH_3-Me_2S(24.14 mL, 48.28 mmol)를 0℃에서 첨가하였다.생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 0℃에서 5일 동안 교반하였다. 교반된 혼합물에, MeOH(56 mL)를 아르곤 대기하에 0℃에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 0℃에서 20분 동안 교반하였다. 교반된 혼합물에, H_2O(84 mL)를 아르곤 대기하에 0℃에서 적가하였다. 추가의 $NaBO_3 \cdot 4H_2O$(29.7 g, 193.14 mmol)를 아르곤 대기하에 0℃에서 여러 배치로 첨가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 1일 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 에틸 아세테이트(200 mL)로 희석하였다. 수득된 혼합물을 EtOAc(3 x 200 mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(2x100 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 다음 조건으로 역 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 이동상, 물 중 ACN, 30분 내에 35% 내지 70% 구배; 검출기, UV 254 nm 4(1.4 g, 24% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS: m/z 529.15 $[M-H]^-$; ^{1}H-NMR: (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.19 (s, 1H), 7.41 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.35 - 7.16 (m, 8H), 6.92 - 6.77 (m, 4H), 5.61 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 5.41 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.79 (s, 1H), 4.29 (t, J = 3.7 Hz, 1H), 4.02 (dd, J = 9.0, 7.4 Hz, 1H), 3.84 (m, 1H), 3.71 (d, J = 5.6 Hz, 6H), 3.17 (m, 2H), 2.85 - 2.67 (m, 1H), 2.45 (m, 1H).

[0711] (5)의 제조: 2,2-다이클로로아세트산(20mL, DCM 중 3%) 중 화합물 4의 용액(980 mg, 1.85 mmol)을 아르곤 대기하에 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 피리딘(2mL)으로 희석하였다. 생성된 혼합물을 감압하에 농축시켰으며, 정제 없이 사용된 미정제 물질 5를 생성하였다.

[0712] (6)의 제조: 피리딘 (20 mL) 중 화합물 5 및 DMTrCl(1.47 g, 4.34 mmol)의 용액을 아르곤 대기하에 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온에서 물로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc(3 x20mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(2x30 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 다음 조건으로 역 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 이동상, 물 중 ACN, 30분 내에 10% 내지 90% 구배; 검출기, UV 254 nm 6(780 mg)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0713] (7)의 제조: DCM (8 mL) 중 1H-이미다졸-4,5-다이카보나이트릴(257.53 mg, 2.18 mmol) 및 CEP[N(iPr)$_2$]$_2$(606.7 mg, 2.01 mmol)의 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 10분 동안 교반한 후, 실온에서 화합물 6 (890 mg, 1.68 mmol)을 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 $NaHCO_3$(수성)으로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 CH_2Cl_2(3 x 10mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(2x5 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였고, 0.5%TEA (1:1)를 사용하여 PE/EA로 용리하여 7(실시예 24 단량체)(950 mg, 75.56%)을 백색 고체로서 수득하였다. ESI-LCMS: m/z 731 $[M+H]^+$; ^{1}HNMR: (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.34 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.63 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.40 - 7.26 (m, 4H), 7.29 - 7.15 (m, 5H), 6.92 - 6.82 (m, 4H), 5.70 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.53 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.42 (s, 1H), 4.26 (q, J = 8.2 Hz, 1H), 4.10 - 3.92 (m, 1H), 3.72 (d, J = 1.6 Hz, 6H), 3.69 - 3.56 (m, 1H), 3.54 - 3.35 (m,3H), 3.20 - 3.02 (m,2H), 2.67 (q, J = 7.3, 6.0 Hz, 2H), 1.04 (dd, J = 6.7, 3.8 Hz, 6H), 0.92 (dd, J = 18.1, 6.7 Hz, 6H); ^{31}P NMR: (DMSO-d_6) δ 149.57, 149.07

[0714] **실시예 25: 단량체의 합성**



실시예 25 단량체

[0715]

[0716] (2)의 제조: 100mL 둥근 바닥 플라스크에 화합물 1(중간체 4, 실시예 24) (1 g, 1.83 mmol), 분자 체(1.7g) 및 PDC(0.83 g, 2.2 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 위의 혼합물에 DCM(30.00 mL)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 침전된 고체를 여과에 의해 수집하였으며 EtOAc(3x20 mL)로 세척하였다. 생성된 혼합물을 감압 하에서 농축하였다. 이는 화합물 2(1.2 g, 124.10%)를 갈색 고체로서 생성하였다. 미정제 생성물 2를 추가 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0717] (3)의 제조: 18mL THF 중 다이메틸(다이메톡시포스포릴)메틸포스포네이트(0.79g, 3.4 mmol)의 용액에 -50℃에서 소듐 하이드라이드(60%, 0.27g)를 첨가하였다. 혼합물을 30분 동안 교반하였다.18 mL THF 중 화합물 2(1.2 g, 2.27 mmol)를 첨가하였고, 혼합물을 실온으로 가온시켰으며, 1시간 동안 교반하였다. 반응을 포화 NH_4Cl(수성)로 실온에서 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc (3 x 30mL)로 추출하였다. 조합한 유기 층을 염수(3x10 mL)로 세척하였고, 무수 Na_2SO_4상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 다음 조건으로 역 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 MeCN, 30분 내에 5% 내지 95% 구배; 검출기, UV 254 nm. 이는 3(680 mg, 47.20%)을 백색 고체로서 생성하였다. ESI-LCMS: m/z 633 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, 아세토나이트릴-d_3) δ 8.80 (s, 1H), 7.45 - 7.30 (m, 2H), 7.26 - 7.07 (m, 7H), 6.81 - 6.67 (m, 4H), 6.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.45 (ddd, *J* = 21.7, 17.2, 8.5 Hz, 1H), 5.70 (dd, *J* = 20.1, 17.3 Hz, 1H), 5.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.10 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 4.65 (dd, *J* = 4.6, 3.1 Hz, 1H), 4.05 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.65 (d, *J* = 5.4 Hz, 6H), 3.51 (dd, *J* = 11.0, 6.1 Hz, 6H), 3.40 - 3.26 (m, 1H).

[0718] (4)의 제조: DCM (20 mL) 중 화합물 3(680 mg, 1.07 mmol)의 교반 용액에 다이클로로아세트산(0.6 mL)을 공기 대기하에 0℃에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 공기 대기하에 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 반응을 포화 $NaHCO_3$(수성)으로 0℃에서 켄칭하였다. 혼합물을 물 (2x20 mL)로 추출하였다. 생성된 혼합물을 감압하에서 25 mL까지 농축하였다. 잔류물을 다음 조건으로 역 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 중 MeCN, 115분 내에 5% 내지 95% 구배; 검출기, UV 254 nm. 이는 화합물 4(299 mg, 84 %)를 백색 고체로서 생성하였다. ESI-LCMS: m/z 333 $[M-H]^-$; ^{1}H NMR (400 MHz, 산화 중수소) δ 7.60 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.64 (ddd, *J* = 22.6, 17.4, 7.2 Hz, 1H), 5.98 - 5.87 (m, 1H), 5.77 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.66 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 4.45 (dd, *J* = 6.8, 4.7 Hz, 1H), 4.27 (dd, *J* = 9.1, 7.8 Hz, 1H), 4.15 (dd, *J* = 9.1, 8.0 Hz, 1H), 3.63 (d, *J* = 11.2 Hz, 6H), 3.22 (qdd, *J* = 7.0, 2.6, 1.3 Hz, 1H).

[0719] (5)의 제조: DCM(12 mL) 중 $CEP[N(iPr)_2]_2$(272.16 mg, 0.9 mmol)의 용액을 아르곤 대기하에 분자 체 처리한 후, 1H-이미다졸-4,5-다이카보나이트릴(106.6 mg, 0.9 mmol)을 첨가하였다. 생성된 용액에, 10 mL DCM 중 화합물 4(200 mg, 0.6 mmol)를 실온에서 천천히 적가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 대기하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 DCM(20mL) 중 0.5% TEA로 희석하였다. 반응물을 실온에서 물로 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 CH_2Cl_2(3 x 15mL) 중 0.5%TEA로 추출하였다. 조합한 유기층을 염수(2x10 mL)로 세척하였고, 무수 $MgSO_4$상에서 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 Prep-TLC(CH2C12 중 0.5% TEA / MeOH 12:1)에 의해 정제하여 최종 단량체 5(실시예 25)(170 mg, 50.60%)를 회백색 반고체로서 수득하였다.

ESI-LCMS: m/z 533 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, 아세토나이트릴-d_3) δ 8.95 (s, 1H), 7.38 (dd, J = 8.1, 6.1 Hz, 1H), 6.61 (dddd, J = 21.5, 17.1, 11.1, 8.0 Hz, 1H), 5.92 - 5.64 (m, 2H), 5.56 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.64 - 4.44 (m, 1H), 4.11 (td, J = 8.5, 4.5 Hz, 1H), 4.02 (td, J = 8.9, 6.4 Hz, 1H), 3.82 - 3.36 (m, 10H), 3.24 (tq, J = 16.6, 8.0 Hz, 1H), 2.59 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 2.54 - 2.45 (m, 1H), 1.09 - 0.97 (m, 12H); ^{31}P NMR: δ 149.67, 149.32, 19.25, 19.13.

[0720] **추가 표**

표 17

[0721]

서열 식별 번호:	설명	서열+
55	B형 간염 바이러스(Genbank 수탁번호 제U95551.1호)	aattccacaacctttcaccaaactctgcaagatcccagagtgagaggcctgtatttccctgctggtg gctccagttcaggagcagtaaaccctgttccgactactgcctctcccttatcgtcaatcttctcgag gattggggaccctgcgctgaacatggagaacatcacatcaggattcctaggacccccttctcgtgtta caggcggggtttttcttgttgacaagaatcctcacaataccgcagagtctagactcgtggtggactt ctctcaattttctagggggaactaccgtgtgtcttggccaaaattcgcagtccccaacctccaatca ctcaccaacctcctgtcctccaacttgtcctggttatcgctggatgtgtctgcggcgttttatcatc ttcctcttcatcctgctgctatgcctcatcttcttgttggttcttctggactatcaaggtatgttgc ccgtttgtcctctaattccaggatcctcaaccaccagcacgggaccatgccgaacctgcatgactac tgctcaaggaacctctatgtatccctcctgttgctgtaccaaaccttcggacggaaattgcacctgt attcccatcccatcatcctgggctttcggaaaattcctatgggagtgggcctcagcccgtttctcct ggctcagtttactagtgccatttgttcagtggttcgtagggctttcccccactgtttggctttcagt tatatggatgatgtggtattgggggccaagtctgtacagcatcttgagtccctttttaccgctgtta ccaattttcttttgtctttgggtatacatttaaaccctaacaaaacaaagagatggggttactctct gaattttatgggttatgtcattggaagttatgggtccttgccacaagaacacatcatacaaaaaatc aaagaatgttttagaaaacttcctattaacaggcctattgattggaaagtatgtcaacgaattgtgg gtcttttgggttttgctgccccatttacacaatgtggttatcctgcgttaatgcccttgtatgcatg tattcaatctaagcaggctttcactttctcgccaacttacaaggcctttctgtgtaaacaatacctg aacctttaccccgttgcccggcaacggccaggtctgtgccaagtgtttgctgacgcaacccccactg gctggggcttggtcatgggccatcagcgcgtgcgtggaacctttcggctcctctgccgatccatac tgcggaactcctagccgcttgttttgctcgcagcaggtctggagcaaacattatcgggactgataac tctgttgtcctctcccgcaaatatacatcgtatccatggctgctaggctgtgctgccaactggatcc tgcgcgggacgtcctttgtttacgtcccgtcggcgctgaatcctgcggacgacccttctcggggtcg cttgggactctctcgtccccttctccgtctgccgttccgaccgaccacggggcgcacctctctttac gcggactccccgtctgtgccttctcatctgccggaccgtgtgcacttcgcttcacctctgcacgtcg catggagaccaccgtgaacgcccaccgaatgttgcccaaggtcttacataagaggactcttggactc tctgcaatgtcaacgaccgaccttgaggcatacttcaaagactgtttgtttaaagactgggaggagt tgggggaggagattagattaaaggtctttgtactaggaggctgtaggcataaattggtctgcgcacc agcaccatgcaacttttcacctctgcctaatcatctcttgttcatgtcctactgttcaagcctcca agctgtgccttgggtggctttggggcatggacatcgacccttataaagaatttggagctactgtgga gttactctcgtttttgccttctgacttctttccttcagtacgagatcttctagataccgcctcagct ctgtatcgggaagccttagagtctcctgagcattgttcacctcaccatactgcactcaggcaagcaa ttctttgctgggggggaactaatgactctagctacctgggtgggtgttaatttggaagatccagcatc tagagacctagtagtcagttatgtcaacactaatatgggcctaaagttcaggcaactcttgtggttt cacatttcttgtctcacttttggaagagaaaccgttatagagtatttggtgtctttcggagtgtgga ttcgcactcctccagcttatagaccaccaaatgccccctatcctatcaacacttccggaaactactgt tgttagacgacgaggcaggtcccctagaagaagaactccctcgcctcgcagacgaaggtctcaatcg ccgcgtcgcagaagatctcaatctcgggaacctcaatgttagtattccttggactcataaggtgggg aactttactggtctttattcttctactgtacctgtctttaatcctcattggaaaacaccatcttttc ctaatatacatttacaccaagacattatcaaaaaatgtgaacagtttgtaggcccacttacagttaa tgagaaaagaagattgcaattgattatgcctgctaggttttatccaaaggttaccaaatatttacca ttggataagggtattaaaccttattatccagaacatctagttaatcattacttccaaactagacact atttacacactctatggaaggcgggtatattatataagagagaaacaacacatagcgcctcattttg tgggtcaccatattcttgggaacaagatctacagcatggggcagaatctttccaccagcaatcctct gggattctttcccgaccaccagttggatccagccttcagagcaaacacagcaaatccagattgggac ttcaatcccaacaaggacacctggccagacgccaacaaggtaggagctggagcattcgggctgggtt tcaccccaccgcacggaggccttttggggtggagccctcaggctcagggcatactacaaactttgcc agcaaatccgcctcctgcctccaccaatcgccagacaggaaggcagcctaccccgctgtctccacct ttgagaaacactcatcctcaggccatgcagtgg

56	MCJ mRNA(GenBank 수탁 번호 제NM_013238.3 호)	agtcactgccgcggcgccttgagtctccgggccgccttgccatggctgcccgtggtgtcatcgctcc agttggcgagagtttgcgctacgctgagtacttgcagccctcggccaaacggccagacgccgacgtc gaccagcagagactggtaagaagtttgatagctgtaggactgggtgttgcagctcttgcatttgcag gtcgctacgcatttcggatctggaaacctctagaacaagttatcacagaaactgcaaagaagatttc aactcctagcttttcatcctactataaaggaggatttgaacagaaaatgagtaggcgagaagctggt cttattttaggtgtaagcccatctgctggcaaggctaagattagaacagctcataggagagtcatga ttttgaatcacccagataaaggtggatctccttacgtagcagccaaaataaatgaagcaaaagactt gctagaaacaaccaccaaacattgatgcttaaggaccacactgaaggaaaaaaaaagaggggacttc gaaaaaaaaaaaagccctgcaaaatattctaaaacatggtcttcttaattttctatatggattgacc acagtcttatcttccaccattaagctgtataacaataaaatgttaatagtcttgctttttattatct tttaaagatctccttaaattctataactgatctttttcttattttgtttgtgacattcatacattt ttaagattttgttatgttctgaattcccccctacacacacacacacacacacacacacacacacgt gcaaaaaatatgatcaagaatgcaattgggatttgtgagcaatgagtagacctcttattgtttatat ttgtaccctcattgtcaattttttttagggaatttgggactctgcctatataaggtgttttaaatg tcttgagaacaagcactggctgatacctcttggagatatgatctgaaatgtaatggaatttattaaa tggtgtttagtaaagtaggggttaaggacttgttaaagaaccccactatctctgagaccctatagcc aaagcatgaggacttggagagctactaaaatgattcaggtttacaaaatgagccctgtgaggaaagg
		ttgagagaagtctgaggagtttgtatttaattatagtcttccagtactgtatattcattcattactc attctacaaatatttattgaccccttttgatgtgcaaggcactatcgtgcgtcccctgagagttgca agtatgaagcagtcatggatcatgaaccaaaggaacttatatgtagaggaaggataaatcacaaata gtgaatactgttagatacagatgatatattttaaaagttcaaaggaagaaaagaatgtgttaaacac tgcatgagaggaggaataagtggcatagagctaggctttagaaaagaaaaatattccgataccatat gattggtgaggtaagtgttattctgagatgagaattagcagaaatagatatatcaatcggagtgatt agagtgcagggtttctggaaagcaaggtttggacagagtggtcatcaaaggccagccctgtgactta cactgcattaaattaatttcttagaacatagtccctgatcattatcactttactattccaaaggtga gagaacagattcagatagagtgccagcattgtttcccagtattcctttacaaatcttgggttcattc caggtaaactgaactactgcattgtttctatcttaaaatactttttagatatcctagatgcatcttt caacttctaacattctgtagtttaggagttctcaaccttggcattattgacatgttaggccaaataa tttttttgtgggaggtctcttgtgcgttttagatgattagcaataatccctgacctgttatctact aaagactagtcgtttctcatcagttgtgacaacaaaaatggttccagatattgccaaatgccctta gaggacagtaatcgcccccagttgagaaccatttcagtaaaactttaattactatttttctttttgg tttataaaataatgatcctgaattaaattgatggaaccttgaagtcgataaaatatatttcttgctt taaagtccccatacgtgtcctactaattttctcatgctttagtgttttcacttttctcctgttatcc ttgtacctaagaatgccatcccaatccccagatgtccacctgcccaaagtctaggcatagctgaagg
		ccaagctaaaatgtatccctctttttctggtacatgcagcaaaagtaatatgaattatcagctttct gagagcaggcattgtatctgtcttgtttggtgttacattggcacccaataaatatttgttgagtgaa tgaataaattcccatagcactttattcttcacatggtacataactataggggctatagcttggtacc ttgtgaagcaactcttggtgtaacataccttatttctcatactaaaatgcaagaacctttagagcaa ggatcttgccattcatctttgtaacctctttactctggagcacttgcatttagcaggcatcataaag ttttacgtaccaagaaaatgttgctgttttctgaatactatgcatcaaaaaatgttaccactaattt ttaaagctctgctaaggaatattggggcaccctcagatgcaccttttaattgatgtcatattttcct aatccatactttattcatgagaatttgagtcaccccagcattagcttggaatttccttatttcccat ttgctttgcaggtgccttggagtcagatctggttttgaatactatcttcctgttatgtgatcttggg cagttacttaattttctagtcaataacccgtatctataaaatagagaaaataatcctacacaccggg gcctgttgtggggcggggagagggggggagggatcgcatttggagatatactaatgtaaatgacaagt taattggtgcagcacaccaacatggctcatgtctacatatgtaacaaacctgcacgttgtgcacatg tgccctagaacttaaagtataataaaaagaaattttaaaaaatcctgtcaaataaggttatagtaga gaataaggatgtgtaaagcatttagtcacgtaaatgcttaaaaaaatgtaatttttacttctttcac tgcctcatttaattagttttatctttaataataccttggattcagggtaaagtttcagttatgtccc agtaatcatttattttaccctcgaatctgcaatttggatagaacatggtggggacagctcgtctcta ttccttgcagcattaacaggctggaggcaccacttctctggccagcaagttgggcctggttgttggc

		tgagagcctcagttcctttctgcacaggttcctctttacataggcttctcaacagggctactagagc atcgtcaccatagcagctgtcttataacagagagtggtcggtctgagagacaaaaaatggaagctgc caaattgttctgggtctggaaactgtcagggcatcacttgtgccatattcagttggcctaagaatta cagagcctgcctcgattcaaagggagaggatagagaggactgaaggaatcagtgctcatctttaata tgcagcaggacaggtttgggatttttttcccccttgagtctgtgaaggcattacttaagaacaaag tcaggcatgtataattgaactacagttacttgaaatataagcccagaaagtttcagataataaatac aactatttttctgctgttacccttgtacctaaagatgccatcctaatccccagatctccacaactat acctacatagtagaaggttaaaatgtatccctctttttctggtgcatccagcaaaagtaatatcatg aattatgagctctctgagagcaaggatcatatcagtcttgtttattgttgcagtgaacaagtacagt tgcagatattcaggagtaattatctaaatggcagtaggcttataaaactgaattttcaccagccaca ccctccccccaactccttatctgtaaaaagcttatttgagtggttacctgtcttcagtaaagattgc gcttgcatatttgctgtcattgcatattctgcttaattaagctctgttgatattgcagtttctgtgc atacttacatcttagatgcaatctgagggcctaggaaggccttttaaaaataaaacaattccgattg cagagaaagtgtaagtcaaggacagttaattcaaggggaacatagaaagctatttagattttagttg atggtgccagtcttcagcgtaaagtcaaaagtggagggaagtttagtaaggaaaaaatgttgggctt ggaatacattgtttagtcttcaaagcactttactttttatgaaatatattttagacattcagcaaat attgaatacttactatatcaggcagtaaagatataaattcattcttaaaatgtgcaacatgttcaaa ctgaaaaaaatacattcttaaacaggaaacttttccttcatacttttttaattaacaagacatataa gagttgcattaatgggcgtgcttatgattgatcacccagcagcatcattagaaataatatattttat tcatgtgcagaaatcttttggttgtcctggggaaccttgaacacagaaaagagcttttattgataag gtaattgaacacacttgacaattagcttaatatggtttaataccatttgtgggagaagatgaatcag ccaggctctttacgtcaagaatatgaagtttctcttgagtcaaccaacttaagatgagctacggaga ctgcagtgaaaagttaaatatccaagtacaccagccaatttcacacagtggaaccatgctgtcctcg ggcaccctgcacctcgcccaacagtcatcaactagatggaggctcctggctgcaaggaggatttgat gggaatgagtaaatgtgtcagcatagtccgtcccttctaatggaaaagcaacccaaagagcaaatcc tattaatggctggatcagtatcatctacttgtcaaaaacattccatgaattatgagtcaaaatttta tttatggtggcattacacacattaagagatgaggacttctgttagcataatttattagctggaaaag ttgagaaggttctctggactcatttttataggtggaacctaagtgatctggataattgcccaccagc aaaattgctgggcatggtggacaaagaaaatgttccttctaatgatttttttatgagctgagtagcta ttgttcccagctgagtgctcttttcctctttttattgttgctgagcaaaagaatttataaaaagctc tttcttttgtattaaaaaccctgctcaattgaaatgcaagttcattaagtaatcttcatttctcttc ctgccataataaccctttccctctctgttcgattcaacagtatctagcagcactgctccaaatttta agtctgaacagactatattacatagatgtagagaaatactcaatcttcagcattaagagggagctta atttcacacgggtggaatatgatcactcaggctagatgttggccataaatttcaaattagtatctca acttagcagggggatcaacagtggcaaacttcaattatgacaggataaaaatcacatagagatatt ggttcaatatggacatctaaactataatgctaaaagccaataattagaataagttcattttaagaaa agcattaataatattagctaacgtttagtacctgtgccaaacattctacctatgttaccttgatttt catagccagcctaagaggtactattatgtatccccattttacaggttaagaaacaggctcagaggag tttaggatcttttccaagattacatagccagtaagtggtggcactaggaaccaaattcagactctga atcgcatgctgtttatattatattgcactcattctaaatatgtgggaatcagaatgaaggggcttgt atgacttttggctcatttttttgatgcatgtgacctgggattataaatgtgaaattaggtttacgaaa ggatccagtgtcattgtgcatcatgggcaaggagtacctaatctctttaattcttccctggaagctt acgatgtccatccaagtgcacatagcaaaagttctgttgtaaagtttagcagagtgactttctttga ctcagagtgatgacggaggaagctttgataagattttatctgaaatgttcatggacaagagctttca aggagaacatccagagcaaggttctgaagacagctcatgaaggtgaagcagcagacctggcacaaga aatgaagagagagctcagtgtattaaagatgaaaacaagaaaaccgaatatattgaaaggagcagag aggcaatgaaaacaagacaactgaaatgaggtaacttgcagcaattgaaagggaatttcagtacttt tatagaattcttaaaaattgtttcctgctgtttattttcaattttgaacagggttatttgtccatgc catactttttttgccaaattccaaaattgtgtatagttctatagttgtctggtggagtcaatggaac tttagttaccagtctaagaatgtgtctttgagattgtccagttaattctctatttccagtagctgta ataaatggtgaaaaggtttctgactcctggagaaagtttctaactccttatgactaatattcataac agacttgtgagttccttgaacatggatacacctatatgcaagagtgtattccaaagctaactcagtg atctttccatttatctattcttggattagtggtgcctttgctctttccttctgtaaatgtgaatagt taagagttgactgcagaagtgtttacactttggcttccatgcctctggaatgtttgtgctttggtgg tgagatgtgagactatatttgtatagtctgcatctctcaggctgccccagaatgttgtacagtgcag tgctgaagaaagcagcaggtacacacagaaatgcagcctttcctggttaaccctgcttggatctgag ttacactttgtttcctgacttcttgggacttaggtaatcagtttgccttctactctatctcattttg tactcgcttacatactacattcttgtttgggctttcgtttcttcttgtaagcagagatttttttaaaa tccaatatgtgaaaatacggatgcactacaattaaataaataaaatgctgttgtgtttgttttgctt taaaattgtaaaggataaacaataagatagttttatctatgtggttttcccgatgcagttaaaataa aacctaatctgctaaaattgaa

57	TAZ(GenBank 수탁 번호 제NM_000116.5호)	gctttccggcggttgcaccgggccggggtgccagcgcccgccttcccgtttcctcccgttccgcagc gcgcccacggcctgtgaccccggcgaccgctccccagtgacgagagagcggggccgggcgctgctcc ggcctgacctgcgaagggacctcggtccagtcccctgttgcgccgcgcccccgtccgtccgtgcgcg ggccagtcaggggccagtgtctcgagcggtcgaggtcgcagacctagaggcgccccacaggccggcc cggggcgctgggagcgccggccgcgggccgggtggggatgcctctgcacgtgaagtggccgttcccc gcggtgccgccgctcacctggaccctggccagcagcgtcgtcatgggcttggtgggcacctacagct gcttctggaccaagtacatgaaccacctgaccgtgcacaacagggaggtgctgtacgagctcatcga gaagcgaggcccggccacgcccctcatcaccgtgtccaatcaccagtcctgcatggacgaccctcat ctctgggggatcctgaaactccgccacatctggaacctgaagttgatgcgttggacccctgcagctg cagacatctgcttcaccaaggagctacactcccacttcttcagcttgggcaagtgtgtgcctgtgtg ccgaggagcagaatttttccaagcagagaatgaggggaaaggtgttctagacacaggcaggcacatg ccaggtgctggaaaaagaagagagaaaggagatggcgtctaccagaaggggatggacttcattttgg agaagctcaaccatggggactgggtgcatatcttcccagaagggaaagtgaacatgagttccgaatt cctgcgtttcaagtggggaatcgggcgcctgattgctgagtgtcatctcaaccccatcatcctgccc ctgtggcatgtcggaatgaatgacgtccttcctaacagtccgccctacttcccccgctttggacaga aaatcactgtgctgatcgggaagcccttcagtgccctgcctgtactcgagcggctccgggcggagaa caagtcggctgtggagatgcggaaagccctgacggacttcattcaagaggaattccagcatctgaag actcaggcagagcagctccacaaccacctccagcctgggagataggccttgcttgctgccttctgga ttcttggcccgcacagagctggggctgagggatggactgatgcttttagctcaaacgtggcttttag acagatttgttcatagaccctctcaagtgccctctccgagctggtaggcattccagctcctccgtgc ttcctcagttacacaaaggacctcagctgcttctcccacttggccaagcagggaggaagaagcttag gcagggctctctttccttcttgccttcagatgttctctcccaggggctggcttcaggagggagcata gaaggcaggtgagcaaccagttggctaggggagcagggggcccaccagagctgtggagaggggaccc taagactcctcggcctggctcctacccaccgcccttgccgaaccaggagctgctcactacctcctca gggatggccgttggccacgtcttccttctgcctgagcttcccccccaccacaggccctttcctcagg caaggtctggcctcaggtgggccgcaggcgggaaaagcagcccttggccagaagtcaagcccagcca cgtggagcctagagtgagggcctgaggtctggctgcttgcccccatgctggcgccaacaacttctcc atcctttctgcctctcaacatcacttgaatcctagggcctgggttttcatgtttttgaaacagaacc ataaagcatatgtgttggcttgttgtaaaa

58	ANGPTL3(GenBank 수탁 번호 제NM_014495.4호)	agaagaaaacagttccacgttgcttgaaattgaaaatcaagataaaaatgttcacaattaagctcct tctttttattgttcctctagttatttcctccagaattgatcaagacaattcatcatttgattctcta tctccagagccaaaatcaagatttgctatgttagacgatgtaaaaattttagccaatggcctccttc agttgggacatggtcttaaagactttgtccataagacgaagggccaaattaatgacatatttcaaaa actcaacatatttgatcagtctttttatgatctatcgctgcaaaccagtgaaatcaaagaagaagaa aaggaactgagaagaactacatataaactacaagtcaaaaatgaagaggtaaagaatatgtcacttg aactcaactcaaaacttgaaagcctcctagaagaaaaaattctacttcaacaaaaagtgaaatattt agaagagcaactaactaacttaattcaaaatcaacctgaaactccagaacacccagaagtaacttca cttaaaacttttgtagaaaaacaagataatagcatcaaagaccttctccagaccgtggaagaccaat ataaacaattaaaccaacagcatagtcaaataaaagaaatagaaaatcagctcagaaggactagtat tcaagaacccacagaaatttctctatcttccaagccaagagcaccaagaactactccctttcttcag ttgaatgaaataagaaatgtaaaacatgatggcattcctgctgaatgtaccaccatttataacagag gtgaacatacaagtggcatgtatgccatcagacccagcaactctcaagttttcatgtctactgtga tgttatatcaggtagtccatggacattaattcaacatcgaatagatggatcacaaaacttcaatgaa acgtgggagaactacaaatatggttttgggaggcttgatggagaattttggttgggcctagagaaga tatactccatagtgaagcaatctaattatgttttacgaattgagttggaagactggaaagacaacaa acattatattgaatattctttttacttgggaaatcacgaaaccaactatacgctacatctagttgcg attactggcaatgtccccaatgcaatcccggaaaacaaagatttggtgttttctacttgggatcaca aagcaaaaggacacttcaactgtccagagggttattcaggaggctggtggtggcatgatgagtgtgg agaaaacaacctaaatggtaaatataacaaaccaagagcaaaatctaagccagagaggagaagagga ttatcttggaagtctcaaaatggaaggttatactctataaaatcaaccaaaatgttgatccatccaa cagattcagaaagctttgaatgaactgaggcaaatttaaaaggcaataatttaaacattaacctcat tccaagttaatgtggtctaataatctggtattaaatccttaagagaaagcttgagaaatagattttt tttatcttaaagtcactgtctatttaagattaaacatacaatcacataaccttaaagaataccgttt acatttctcaatcaaaattcttataatactatttgttttaaattttgtgatgtgggaatcaatttta gatggtcacaatctagattataatcaataggtgaacttattaaataacttttctaaataaaaaattt agagacttttattttaaaaggcatcatatgagctaatatcacaactttcccagtttaaaaaactagt actcttgttaaaactctaaacttgactaaatacagaggactggtaattgtacagttcttaaatgttg tagtattaatttcaaaactaaaaatcgtcagcacagagtatgtgtaaaaatctgtaatacaaatttt taaactgatgcttcattttgctacaaaataatttggagtaaatgtttgatatgatttatttatgaaa cctaatgaagcagaattaaatactgtattaaaataagttcgctgtctttaaacaaatggagatgact actaagtcacattgactttaacatgaggtatcactataccttatttgttaaaatatatactgtatac attttatatattttaacacttaatactatgaaaacaaataattgtaaaggaatcttgtcagattaca gtaagaatgaacatatttgtggcatcgagttaaagtttatatttcccctaaatatgctgtgattcta atacattcgtgtaggttttcaagtagaaataaacctcgtaacaagttactgaacgtttaaacagcct gacaagcatgtatatatgtttaaaattcaataaacaaagacccagtccctaaattatagaaatttaa attattcttgcatgtttatcgacatcacaacagatccctaaatccctaaatccctaaagattagata caaatttttaccacagtatcacttgtcagaatttatttttaaatatgatttttttaaaactgccagt aagaaattttaaattaaacccatttgttaaaggatatagtgcccaagttatatggtgacctaccttt gtcaatacttagcattatgtatttcaaattatccaatatacatgtcatatatatttttatatgtcac atatataaaagatatgtatgatctatgtgaatcctaagtaaatattttgttccagaaaagtacaaaa taataaaggtaaaaataatctataattttcaggaccacagactaagctgtcgaaattaacgctgatt tttttagggccagaataccaaaatggctcctctcttcccccaaaattggacaatttcaaatgcaaaa taattcattatttaatatatgagttgcttcctctatttggtttcc

59	DGAT2(GenBank 수탁 번호 제NM_001253891.1호)	tgccccgttgtgaggtgataaagtgttgcgctccgggacgccagcgccgcggctgccgcctctgctg gggtctaggctgtttctctcgcgccaccactggccgccggccgcagctccaggtgtcctagccgccc agcctcgacgccgtcccgggacccctgtgctctgcgcgaagccctggccccgggggccggggcatgg gccaggggcgcggggtgaagcggcttcccgcggggccgtgactgggcgggcttcagccatgaagacc ctcatagccgcctactccggggtcctgcgcggcgagcgtcaggccgaggctgaccggagccagcgct ctcacggaggacctgcgctgtcgcgcgaggggtctgggagatggggagtggcctgcagtgccatcct catgtacatattctgcactgattgctggctcatcgctgtgctctacttcacttggctggtgtttgac tggaacacacccaagaaaggtggcaggaggtcacagtgggtccgaaactgggctgtgtggcgctact ttcgagactactttcccatccagctggtgaagacacacaacctgctgaccaccaggaactatatctt tggataccacccccatggtatcatgggcctgggtgccttctgcaacttcagcacagaggccacagaa gtgagcaagaagttcccaggcatacggccttacctggctacactggcaggcaacttccgaatgcctg tgttgagggagtacctgatgtctggaggtatctgccctgtcagccgggacaccatagactatttgct ttcaaagaatgggagtggcaatgctatcatcatcgtggtcgggggtgcggctgagtctctgagctcc atgcctggcaagaatgcagtcaccctgcggaaccgcaagggctttgtgaaactggccctgcgtcatg gagctgacctggttcccatctactcctttggagagaatgaagtgtacaagcaggtgatcttcgagga gggctcctggggccgatgggtccagaagaagttccagaaatacattggtttcgccccatgcatcttc catggtcgaggcctcttctcctccgacacctgggggctggtgccctactccaagcccatcaccactg ttgtgggagagcccatcaccatccccaagctggagcacccaacccagcaagacatcgacctgtacca caccatgtacatggaggccctggtgaagctcttcgacaagcacaagaccaagttcggcctcccggag actgaggtcctggaggtgaactgagccagccttcggggccaattccctggaggaaccagctgcaaat cactttttgctctgtaaatttggaagtgtcatgggtgtctgtgggttatttaaaagaaattataac aattttgctaaaccattacaatgttaggtctttttaagaaggaaaaagtcagtatttcaagttctt tcacttccagcttgccctgttctaggtggtggctaaatctgggcctaatctgggtggctcagctaac ctctcttcttcccttcctgaagtgacaaaggaaactcagtcttcttggggaagaaggattgccatta gtgacttggaccagttagatgattcacttttgcccctagggatgagaggcgaaagccacttctcat acaagcccctttattgccactaccccacgctcgtctagtcctgaaactgcaggaccagtttctctgc caaggggaggagttggagagcacagttgccccgttgtgtgagggcagtagtaggcatctggaatgct ccagtttgatctcccttctgccacccctacctcacccctagtcactcatatcggagcctggactggc ctccaggatgaggatgggggtggcaatgacaccctgcaggggaaaggactgcccccccatgcaccatt gcagggaggatgccgccaccatgagctaggtggagtaactggtttttcttgggtggctgatgacatg gatgcagcacagactcagccttggcctggagcacatgcttactggtggcctcagtttaccttcccca gatcctagattctggatgtgaggaagagatccctcttcagaaggggcctggccttctgagcagcaga ttagttccaaagcaggtggcccccgaacccaagcctcacttttctgtgccttcctgagggggttggg ccggggaggaaacccaaccctctcctgtgtgttctgttatctcttgatgagatcattgcaccatgtc agacttttgtatatgccttgaaaataaatgaaagtgagaatcctctaaaaaaaaaaaa

60	HBV Genbank 수탁 번호 제KC315400.1호	ctccaccactttccaccaaactcttcaagatcccagagtcagggccctgtactttcctgctggtggc tcaagttccggaacagtaaaccctgctccgactactgcctctcccatatcgtcaatcttctcgagga ctggggaccctgtaccgaatatggagagcaccacatcaggattcctaggacccctgctcgtgttaca ggcggggtttttcttgttgacaagaatcctcacaataccacagagtctagactcgtggtggacttct ctcaattttctagggggagcacccacgtgtcctggccaaaatttgcagtccccaacctccaatcact caccaacctcttgtcctccaatttgtcctggttatcgctggatgtgtctgcggcgttttatcatctt cctcttcatcctgctgctatgcctcatcttcttgttggttcttctggactaccaaggtatgttgccc gtttgtcctctacttccaggaacatcaactaccagcaccggaccatgcaaaacctgcacaactactg ctcaagggacctctatgtttccctcatgttgctgtacaaaacctacggacggaaactgcacctgtat tcccatcccatcatcttgggctttcgcaaaatacctatgggagtgggcctcagtccgtttctcttgg ctcagtttactagtgccatttgttcagtggttcgtagggctttcccccactgtctggctttcagtta tatggatgatgtggttttgggggccaagtctgtacaacatcttgagtccctttataccgctgttacc aattttcttttatctttgggtatacatttaaaccctcacaaaacaaaaagatggggatattccctta acttcatgggatatgtaattgggagttggggcactttgcctcaggaacatattgtacaaaaaatcaa gcaatgttttaggaaacttcctgtaaacaggcctattgattggaaagtatgtcaacraattgtgggt cttttggggtttgccgcccctttcacgcaatgtggatatcctgctttaatgcctttatatgcatgta tacaagctaagcaggcttttactttctcgccaacttacaaggcctttctgtgtaaacaatatctgaa cctttaccccgttgctcggcaacggtcaggtctttgccaagtgtttgctgacgcaacccccacctggt tggggcttggccataggccatcagcgcatgcgtggaacctttgtggctcctctgccgatccatactg cggaactcctagcagcttgttttgctcgcagccggtctggagcaaaacttatcggcaccgacaactc tgttgtcctctctcggaaatacacctcctttccatggctgctaggatgtgctgccaactggatcctg cgcgggacgtcctttgtctacgtcccgtcggcgctgaatcccgcggacgacccatctcggggccgtt tgggactctaccgtccccttctgcgtctgccgttccgcccgaccacggggcgcacctctctttacgc ggtctccccgtctgtgccttctcatctgccggaccgtgtgcacttcgcttcacctctgcacgtcgca tggagaccaccgtgaacgcccacgggaacctgcccaaggtcttgcataagaggactcttggactttc agcaatgtcaacgaccgaccttgaggcatacttcaaagactgtgtgtttactgagtgggaggagttg ggggaggaggttaggttaaaggtctttgtactaggaggctgtaggcataaattggtgtgttcaccag caccatgcaacttttcacctctgcctaatcatctcatgttcatgtcctactgttcaagcctccaag ctgtgccttgggtggctttggggcatggacattgacccgtataaagaatttggagcttctgtggagt tactctctttttgccttctgacttctttccttctattcgagatctcctcgacaccgcctctgctct gtatcgggaggccttagagtctccggaacattgttcacctcaccatacggcactcaggcaagcaatt ctgtgttggggtgagttaatgaatctagccacctgggtgggaagtaatttggaagatccagcatcca gggaattagtagtcagctatgtcaacgttaatatgggcctaaaaatcagacaactattgtggtttca catttcctgtcttacttttgggagagaaactgttcttgaatatttggtgtcttttggagtgtggatt cgcactcctcctgcatatagaccacaaaatgcccctatcttatcaacacttccggaaactactgttg ttagacgaagaggcaggtcccctagaagaagaactccctcgcctcgcagacgaaggtctcaatcgcc gcgtcgcagaagatctcaatctcgggaatctcaatgttagtattccttggacacataaggtgggaaa ctttacggggctttattcttctacggtaccttgctttaatcctaaatggcaaactccttcttttcct gacattcatttgcaggaggacattgttgatagatgtaagcaatttgtggggccccttacagtaaatg aaaacaggagacttaaattaattatgcctgctaggttttatcccaatgttactaaatatttgccctt agataaagggatcaaaccgtattatccagagtatgtagttaatcattacttccagacgcgacattat ttacacactctttggaaggcggggatcttatataaaagagagtccacacgtagcgcctcattttgcg ggtcaccatattcttgggaacaagatctacagcatgggaggttggtcttccaaacctcgaaaaggca tggggacaaatctttctgtccccaatcccctgggattcttccccgatcatcagttggaccctgcatt caaagccaactcagaaaatccagattgggacctcaacccacacaaggacaactggccggacgccaac aaggtgggagtgggagcattcgggccagggttcacccctcctcatgggggactgttggggtggagcc ctcaggctcagggcatattcacaacagtgccagcagctcctcctcctgcctccaccaatcggcagtc aggaaggcagcctactcccttctctccacctctaagagacactcatcctcaggccatgcagtggaa
61	ASO 1	GalNAc4-ps-GalNAc4-ps-GalNAc4-po-mA-po-lnGpslnApslnTpslnApslnApsAps Aps(5OH)CpsGps(5m)Cps(5m)CpsGps(5m)CpslnApslnGpslnApscp(5m)C
62	ASO 2	mA-po-lnGpslnApslnTpslnApslnApsApsAps(5OH)CpsGps(5m)Cps(5m)CpsGps(5 m)CpslnApslnGpslnApscp(5m)C
74	SARS-CoV-2 유전체 (Genbank 수탁 번호 제NC_045512.2호)	attaaaggtttataccttcccaggtaacaaaccaaccaactttcgatctcttgtagatctgttctct aaacgaactttaaaatctgtgtggctgtcactcggctgcatgcttagtgcactcacgcagtataatt aataactaattactgtcgttgacaggacacgagtaactcgtctatcttctgcaggctgcttacggtt tcgtccgtgttgcagccgatcatcagcacatctaggtttcgtccgggtgtgaccgaaaggtaagatg gagagccttgtccctggtttcaacgagaaaacacacgtccaactcagtttgcctgttttacaggttc gcgacgtgctcgtacgtggctttggagactccgtggaggaggtcttatcagaggcacgtcaacatct taaagatggcacttgtggcttagtagaagttgaaaaaggcgttttgcctcaacttgaacagccctat gtgttcatcaaacgttcggatgctcgaactgcacctcatggtcatgttatggttgagctggtagcag aactcgaaggcattcagtacggtcgtagtggtgagacacttggtgtccttgtccctcatgtgggcga aataccagtggcttaccgcaaggttcttcttcgtaagaacggtaataaaggagctggtggccatagt tacggcgccgatctaaagtcatttgacttaggcgacgagcttggcactgatccttatgaagattttc aagaaaactggaacactaaacatagcagtggtgttacccgtgaactcatgcgtgagcttaacggagg ggcatacactcgctatgtcgataacaacttctgtggccctgatggctaccctcttgagtgcattaaa gaccttctagcacgtgctggtaaagcttcatgcactttgtccgaacaactggactttattgacacta agaggggtgtatactgctgccgtgaacatgagcatgaaattgcttggtacacggaacgttctgaaaa gagctatgaattgcagacacctttttgaaattaaattggcaaagaaatttgacaccttcaatggggaa tgtccaaattttgtatttcccttaaattccataatcaagactattcaaccaagggttgaaaagaaaa

		agcttgatggctttatgggtagaattcgatctgtctatccagttgcgtcaccaaatgaatgcaacca aatgtgcctttcaactctcatgaagtgtgatcattgtggtgaaacttcatggcagacgggcgatttt gttaaagccacttgcgaattttgtggcactgagaatttgactaaagaaggtgccactacttgtggtt acttaccccaaaatgctgttgttaaaatttattgtccagcatgtcacaattcagaagtaggacctga gcatagtcttgccgaataccataatgaatctggcttgaaaaccattcttcgtaagggtggtcgcact attgccttttggaggctgtgtgttctcttatgttggttgccataacaagtgtgcctattgggttccac gtgctagcgctaacataggttgtaaccatacaggtgttgttggagaaggttccgaaggtcttaatga caaccttcttgaaatactccaaaaagagaaagtcaacatcaatattgttggtgactttaaacttaat gaagagatcgccattattttggcatctttttctgcttccacaagtgcttttgtggaaactgtgaaag gtttggattataaagcattcaaacaaattgttgaatcctgtggtaattttaaagttacaaaaggaaa agctaaaaaaggtgcctggaatattggtgaacagaaatcaatactgagtcctctttatgcatttgca tcagaggctgctcgtgttgtacgatcaattttctcccgcactcttgaaactgctcaaaattctgtgc gtgttttacagaaggccgctataacaatactagatggaatttcacagtattcactgagactcattga tgctatgatgttcacatctgatttggctactaacaatctagttgtaatggcctacattacaggtggt gttgttcagttgacttcgcagtggctaactaacatctttggcactgtttatgaaaaactcaaacccg tccttgattggcttgaagagaagtttaaggaaggtgtagagtttcttagagacggttgggaaattgt taaatttatctcaacctgtgcttgtgaaattgtcggtggacaaattgtcacctgtgcaaaggaaatt
		aaggagagtgttcagacattctttaagcttgtaaataaatttttggctttgtgtgctgactctatca ttattggtggagctaaacttaaagccttgaatttaggtgaaacatttgtcacgcactcaaagggatt gtacagaaagtgtgttaaatccagagaagaaactggcctactcatgcctctaaaagccccaaaagaa attatcttcttagagggagaaacacttcccacagaagtgttaacagaggaagttgtcttgaaaactg gtgatttacaaccattagaacaacctactagtgaagctgttgaagctccattggttggtacaccagt ttgtattaacgggcttatgttgctcgaaatcaaagacacagaaaagtactgtgcccttgcacctaat atgatggtaacaaacaataccttcacactcaaaggcggtgcaccaacaaaggttacttttggtgatg acactgtgatagaagtgcaaggttacaagagtgtgaatatcacttttgaacttgatgaaaggattga taaagtacttaatgagaagtgctctgcctatacagttgaactcggtacagaagtaaatgagttcgcc tgtgttgtggcagatgctgtcataaaaactttgcaaccagtatctgaattacttacaccactgggca ttgatttagatgagtggagtatggctacatactacttatttgatgagtctggtgagtttaaattggc ttcacatatgtattgttctttctaccctccagatgaggatgaagaagaaggtgattgtgaagaagaa gagtttgagccatcaactcaatatgagtatggtactgaagatgattaccaaggtaaacctttggaat ttggtgccacttctgctgctcttcaacctgaagaagagcaagaagaagattggttagatgatgatag tcaacaaactgttggtcaacaagacggcagtgaggacaatcagacaactactattcaaacaattgtt gaggttcaacctcaattagagatggaacttacaccagttgttcagactattgaagtgaatagtttta gtggttatttaaaacttactgacaatgtatacattaaaaatgcagacattgtggaagaagctaaaaa
		ggtaaaaccaacagtggttgttaatgcagccaatgtttaccttaaacatggaggaggtgttgcagga gccttaaataaggctactaacaatgccatgcaagttgaatctgatgattacatagctactaatggac cacttaaagtgggtggtagttgtgttttaagcggacacaatcttgctaaacactgtcttcatgttgt cggcccaaatgttaacaaaggtgaagacattcaacttcttaagagtgcttatgaaaattttaatcag cacgaagttctacttgcaccattattatcagctggtatttttggtgctgaccctatacattctttaa gagtttgtgtagatactgttcgcacaaatgtctacttagctgtctttgataaaaatctctatgacaa acttgtttcaagctttttggaaatgaagagtgaaaagcaagttgaacaaaagatcgctgagattcct aaagaggaagttaagccatttataactgaaagtaaaccttcagttgaacagagaaaacaagatgata agaaaatcaaagcttgtgttgaagaagttacaacaactctggaagaaactaagttcctcacagaaaa cttgttactttatattgacattaatggcaatcttcatccagattctgccactcttgttagtgacatt gacatcactttcttaaagaaagatgctccatatatagtgggtgatgttgttcaagagggtgttttaa ctgctgtggttatacctactaaaaaggctggtggcactactgaaatgctagcgaaagctttgagaaa agtgccaacagacaattatataaccacttacccgggtcagggtttaaatggttacactgtagaggag gcaaagacagtgcttaaaaagtgtaaaagtgccttttacattctaccatctattatctctaatgaga agcaagaaattcttggaactgtttcttggaatttgcgagaaatgcttgcacatgcagaagaaacacg caaattaatgcctgtctgtgtggaaactaaagccatagtttcaactatacagcgtaaatataagggt attaaaatacaagagggtgtggttgattatggtgctagattttacttttacaccagtaaaacaactg
		tagcgtcacttatcaacacacttaacgatctaaatgaaactcttgttacaatgccacttggctatgt aacacatggcttaaatttggaagaagctgctcggtatatgagatctctcaaagtgccagctacagtt tctgtttcttcacctgatgctgttacagcgtataatggttatcttacttcttcttctaaaacacctg aagaacattttattgaaaccatctcacttgctggttcctataaagattggtcctattctggacaatc tacacaactaggtatagaatttcttaagagaggtgataaaagtgtatattacactagtaatcctacc acattccacctagatggtgaagttatcacctttgacaatcttaagacacttctttctttgagagaag tgaggactattaaggtgtttacaacagtagacaacattaacctccacacgcaagttgtggacatgtc aatgacatatggacaacagtttggtccaacttatttggatggagctgatgttactaaaataaaacct cataattcacatgaaggtaaaacattttatgttttacctaatgatgacactctacgtgttgaggctt ttgagtactaccacacaactgatcctagttttctgggtaggtacatgtcagcattaaatcacactaa aaagtggaaatacccacaagttaatggtttaacttctattaaatgggcagataacaactgttatctt gccactgcattgttaacactccaacaaatagagttgaagtttaatccacctgctctacaagatgctt attacagagcaagggctggtgaagctgctaacttttgtgcacttatcttagcctactgtaataagac agtaggtgagttaggtgatgttagagaaacaatgagttacttgtttcaacatgccaatttagattct tgcaaaagagtcttgaacgtggtgtgtaaaacttgtggacaacagcagacaacccttaagggtgtag aagctgttatgtacatgggcacactttcttatgaacaatttaagaaaggtgttcagataccttgtac gtgtggtaaacaagctacaaaatatctagtacaacaggagtcacctttttgttatgatgtcagcacca

		cctgctcagtatgaacttaagcatggtacatttacttgtgctagtgagtacactggtaattaccagt gtggtcactataaacatataacttctaaagaaactttgtattgcatagacggtgctttacttacaaa gtcctcagaatacaaaggtcctattacggatgttttctacaaagaaaacagttacacaacaaccata aaaccagttacttataaattggatggtgttgtttgtacagaaattgaccctaagttggacaattatt ataagaaagacaattcttatttcacagagcaaccaattgatcttgtaccaaaccaaccatatccaaa cgcaagcttcgataattttaagtttgtatgtgataatatcaaatttgctgatgatttaaaccagtta actggttataagaaacctgcttcaagagagcttaaagttacatttttccctgacttaaatggtgatg tggtggctattgattataaacactacacaccctcttttaagaaaggagctaaattgttacataaacc tattgtttggcatgttaacaatgcaactaataaagccacgtataaaccaaatacctggtgtatacgt tgtctttggagcacaaaaccagttgaaacatcaaattcgtttgatgtactgaagtcagaggacgcgc agggaatggataatcttgcctgcgaagatctaaaaccagtctctgaagaagtagtggaaaatcctac catacagaaagacgttcttgagtgtaatgtgaaaactaccgaagttgtaggagacattatacttaaa ccagcaaataatagtttaaaaattacagaagaggttggccacacagatctaatggctgcttatgtag acaattctagtcttactattaagaaacctaatgaattatctagagtattaggtttgaaaacccttgc tactcatggtttagctgctgttaatagtgtcccttgggatactatagctaattatgctaagcctttt cttaacaaagttgttagtacaactactaacatagttacacggtgtttaaaccgtgtttgtactaatt atatgccttatttctttactttattgctacaattgtgtacttttactagaagtacaaattctagaat
		taaagcatctatgccgactactatagcaaagaatactgttaagagtgtcggtaaattttgtctagag gcttcatttaattatttgaagtcacctaatttttctaaactgataaatattataatttggtttttac tattaagtgtttgcctaggttctttaatctactcaaccgctgctttaggtgttttaatgtctaattt aggcatgccttcttactgtactggttacagagaaggctatttgaactctactaatgtcactattgca acctactgtactggttctataccttgtagtgtttgtcttagtggtttagattctttagacacctatc cttctttagaaactatacaaattaccatttcatcttttaaatgggatttaactgcttttggcttagt tgcagagtggtttttggcatatattcttttcactaggtttttctatgtacttggattggctgcaatc atgcaattgtttttcagctattttgcagtacattttattagtaattcttggcttatgtggttaataa ttaatcttgtacaaatggccccgatttcagctatggttagaatgtacatcttctttgcatcatttta ttatgtatggaaaagttatgtgcatgttgtagacggttgtaattcatcaacttgtatgatgtgttac aaacgtaatagagcaacaagagtcgaatgtacaactattgttaatggtgttagaaggtccttttatg tctatgctaatggaggtaaaggcttttgcaaactacacaattggaattgtgttaattgtgatacatt ctgtgctggtagtacatttattagtgatgaagttgcgagagacttgtcactacagtttaaaagacca ataaatcctactgaccagtcttcttacatcgttgatagtgttacagtgaagaatggttccatccatc tttactttgataaagctggtcaaaagacttatgaaagacattctctctctcattttgttaacttaga caacctgagagctaataacactaaaggttcattgcctattaatgttatagttttgatggtaaatca aaatgtgaagaatcatctgcaaaatcagcgtctgtttactacagtcagcttatgtgtcaacctatac
		tgttactagatcaggcattagtgtctgatgttggtgatagtgcggaagttgcagttaaaatgtttga tgcttacgttaatacgttttcatcaacttttaacgtaccaatggaaaaactcaaaacactagttgca actgcagaagctgaacttgcaaagaatgtgtccttagacaatgtcttatctacttttatttcagcag ctcggcaagggtttgttgattcagatgtagaaactaaagatgttgttgaatgtcttaaattgtcaca tcaatctgacatagaagttactggcgatagttgtaataactatatgctcacctataacaaagttgaa aacatgacaccccgtgaccttggtgcttgtattgactgtagtgcgcgtcatattaatgcgcaggtag caaaaagtcacaacattgctttgatatggaacgttaaagatttcatgtcattgtctgaacaactacg aaaacaaatacgtagtgctgctaaaaagaataacttacctttaagttgacatgtgcaactactaga caagttgttaatgttgtaacaacaaagatagcacttaagggtggtaaaattgttaataattggttga agcagttaattaaagttacacttgtgttcctttttgttgctgctattttctatttaataacacctgt tcatgtcatgtctaaacatactgacttttcaagtgaaatcataggatacaaggctattgatggtggt gtcactcgtgacatagcatctacagatacttgttttgctaacaaacatgctgattttgacacatggt ttagccagcgtggtggtagttatactaatgacaaagcttgcccattgattgctgcagtcataacaag agaagtgggttttgtcgtgcctggtttgcctggcacgatattacgcacaactaatggtgacttttg catttcttacctagagtttttagtgcagttggtaacatctgttacacaccatcaaaacttatagagt acactgactttgcaacatcagcttgtgttttggctgctgaatgtacaatttttaaagatgcttctgg taagccagtaccatattgttatgataccaatgtactagaaggttctgttgcttatgaaagtttacgc
		cctgacacacgttatgtgctcatggatggctctattattcaatttcctaacacctaccttgaaggtt ctgttagagtggtaacaacttttgattctgagtactgtaggcacggcacttgtgaaagatcagaagc tggtgtttgtgtatctactagtggtagatgggtacttaacaatgattattacagatctttaccagga gttttctgtggtgtagatgctgtaaatttacttactaatatgtttacaccactaattcaacctattg gtgctttggacatatcagcatctatagtagctggtggtattgtagctatcgtagtaacatgccttgc ctactattttatgaggtttagaagagcttttggtgaatacagtcatgtagttgcctttaatacttta ctattccttatgtcattcactgtactctgtttaacaccagtttactcattcttacctggtgtttatt ctgttatttacttgtacttgacattttatcttactaatgatgtttctttttagcacatattcagtg gatggttatgttcacacctttagtacctttctggataacaattgcttatatcatttgtatttccaca aagcatttctattggttctttagtaattacctaaagagacgtgtagtctttaatggtgtttccttta gtacttttgaagaagctgcgctgtgcaccttttgttaaataaagaaatgtatctaaagttgcgtag tgatgtgctattacctcttacgcaatataatagatacttagctctttataataagtacaagtatttt agtggagcaatggatacaactagctacagagaagctgcttgttgtcatctcgcaaaggctctcaatg acttcagtaactcaggttctgatgttctttaccaaccaccacaaacctctatcacctcagctgtttt gcagagtggttttagaaaaatggcattcccatctggtaaagttgagggttgtatggtacaagtaact tgtggtacaactacacttaacggtctttggcttgatgacgtagtttactgtccaagacatgtgatct gcacctctgaagacatgcttaaccctaattatgaagatttactcattcgtaagtctaatcataattt

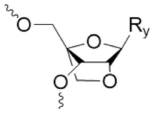
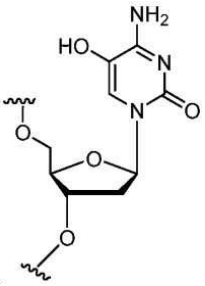
		cttggtacaggctggtaatgttcaactcagggttattggacattctatgcaaaattgtgtacttaag cttaaggttgatacagccaatcctaagacacctaagtataagtttgttcgcattcaaccaggacaga ctttttcagtgttagcttgttacaatggttcaccatctggtgtttaccaatgtgctatgaggcccaa tttcactattaagggttcattccttaatggttcatgtggtagtgttggttttaacatagattatgac tgtgtctctttttgttacatgcaccatatggaattaccaactggagttcatgctggcacagacttag aaggtaacttttatggacctttgttgacaggcaaacagcacaagcagctggtacggacacaactat tacagttaatgttttagcttggttgtacgctgctgttataaatggagacaggtggtttctcaatcga tttaccacaactcttaatgactttaaccttgtggctatgaagtacaattatgaacctctaacacaag accatgttgacatactaggacctctttctgctcaaactggaattgccgttttagatatgtgtgcttc attaaaagaattactgcaaaatggtatgaatggacgtaccatattgggtagtgctttattagaagat gaatttacacctttgatgttgttagacaatgctcaggtgttactttccaaagtgcagtgaaaagaa caatcaagggtacacaccactggttgttactcacaattttgacttcacttttagttttagtccagag tactcaatggtctttgttctttttttgtatgaaaatgccttttacctttgctatgggtattatt gctatgtctgcttttgcaatgatgtttgtcaaacataagcatgcatttctctgtttgtttttgttac cttctcttgccactgtagcttattttaatatggtctatatgcctgctagttgggtgatgcgtattat gacatggttggatatggttgatactagtttgtctggttttaagctaaaagactgtgttatgtatgca tcagctgtagtgttactaatccttatgacagcaagaactgtgtatgatgatggtgctaggagagtgt
		ggacacttatgaatgtcttgacactcgtttataaagtttattatggtaatgctttagatcaagccat ttccatgtgggctcttataatctctgttacttctaactactcaggtgtagttacaactgtcatgttt ttggccagaggtattgtttttatgtgtgttgagtattgccctattttcttcataactggtaatacac ttcagtgtataatgctagtttattgtttcttaggctatttttgtacttgttactttggcctcttttg tttactcaaccgctactttagactgactcttggtgtttatgattacttagtttctacacaggagttt agatatatgaattcacagggactactcccacccaagaatagcatagatgccttcaaactcaacatta aattgttgggtgttggtggcaaaccttgtatcaaagtagccactgtacagtctaaaatgtcagatgt aaagtgcacatcagtagtcttactctcagttttgcaacaactcagagtagaatcatcatctaaattg tgggctcaatgtgtccagttacacaatgacattctcttagctaaagatactactgaagcctttgaaa aaatggtttcactactttctgttttgctttccatgcagggtgctgtagacataaacaagctttgtga agaaatgctggacaacagggcaaccttacaagctatagcctcagagtttagttcccttccatcatat gcagcttttgctactgctcaagaagcttatgagcaggctgttgctaatggtgattctgaagttgttc ttaaaaagttgaagaagtctttgaatgtggctaaatctgaatttgaccgtgatgcagccatgcaacg taagttggaaaagatggctgatcaagctatgacccaaatgtataaacaggctagatctgaggacaag agggcaaaagttactagtgctatgcagacaatgcttttcactatgcttagaaagttggataatgatg cactcaacaacattatcaacaatgcaagagatggttgtgttcccttgaacataatacctcttacaac agcagccaaactaatggttgtcataccagactataacacatataaaaatacgtgtgatggtacaaca
		tttacttatgcatcagcattgtgggaaatccaacaggttgtagatgcagatagtaaaattgttcaac ttagtgaaattagtatggacaattcacctaatttagcatggcctcttattgtaacagctttaagggc caattctgctgtcaaattacagaataatgagcttagtcctgttgcactacgacagatgtcttgtgct gccggtactacacaaactgcttgcactgatgacaatgcgttagcttactacaacacaacaaagggag gtaggtttgtacttgcactgttatccgatttacaggatttgaaatgggctagattccctaagagtga tggaactggtactatctatacagaactggaaccaccttgtaggtttgttacagacacacctaaaggt cctaaagtgaagtatttatactttattaaaggattaaacaacctaaatagaggtatggtacttggta gtttagctgccacagtacgtctacaagctggtaatgcaacagaagtgcctgccaattcaactgtatt atctttctgtgcttttgctgtagatgctgctaaagcttacaaagattatctagctagtgggggacaa ccaatcactaattgtgttaagatgttgtgtacacacactggtactggtcaggcaataacagttacac cggaagccaatatggatcaagaatcctttggtggtgcatcgtgttgtctgtactgccgttgccacat agatcatccaaatcctaaaggattttgtgacttaaaaggtaagtatgtacaaatacctacaacttgt gctaatgaccctgtgggttttacacttaaaaacacagtctgtaccgtctgcggtatgtggaaaggtt atggctgtagttgtgatcaactccgcgaacccatgcttcagtcagctgatgcacaatcgtttttaaa cgggtttgcggtgtaagtgcagcccgtcttacaccgtgcggcacaggcactagtactgatgtcgtat acagggcttttgacatctacaatgataaagtagctggttttgctaaattcctaaaaactaattgttg tcgcttccaagaaaaggacgaagatgacaatttaattgattcttactttgtagttaagagacacact
		ttctctaactaccaacatgaagaaacaatttataatttacttaaggattgtccagctgttgctaaac atgacttctttaagtttagaatagacggtgacatggtaccacatatatcacgtcaacgtcttactaa atacacaatggcagacctcgtctatgctttaaggcattttgatgaaggtaattgtgacacattaaaa gaaatacttgtcacatacaattgttgtgatgatgattatttcaataaaaaggactggtatgattttg tagaaaacccagatatattacgcgtatacgccaacttaggtgaacgtgtacgccaagctttgttaaa aacagtacaattctgtgatgccatgcgaaatgctggtattgttggtgtactgacattagataatcaa gatctcaatggtaactggtatgatttcggtgatttcatacaaaccacgccaggtagtggagttcctg ttgtagattcttattattcattgttaatgcctatattaaccttgaccagggctttaactgcagagtc acatgttgacactgacttaacaaagccttacattaagtgggatttgttaaaatatgacttcacggaa gagaggttaaaactctttgaccgttattttaaatattgggatcagacataccacccaaattgtgtta actgtttggatgacagatgcattctgcattgtgcaaactttaatgttttattctctacagtgttccc acctacaagttttggaccactagtgagaaaaatatttgttgatggtgttccatttgtagtttcaact ggataccacttcagagagctaggtgttgtacataatcaggatgtaaacttacatagctctagactta gttttaaggaattacttgtgtatgctgctgaccctgctatgcacgctgcttctggtaatctattact agataaacgcactacgtgcttttcagtagctgcacttactaacaatgttgcttttcaaactgtcaaa cccggtaattttaacaaagacttctatgactttgctgtgtctaagggtttctttaaggaaggaagtt ctgttgaattaaaacacttcttctttgctcaggatggtaatgctgctatcagcgattatgactacta

		tcgttataatctaccaacaatgtgtgatatcagacaactactatttgtagttgaagttgttgataag tactttgattgttacgatggtggctgtattaatgctaaccaagtcatcgtcaacaacctagacaaat cagctggttttccatttaataaatggggtaaggctagactttattatgattcaatgagttatgagga tcaagatgcacttttcgcatatacaaaacgtaatgtcatccctactataactcaaatgaatcttaag tatgccattagtgcaaagaatagagctcgcaccgtagctggtgtctctatctgtagtactatgacca atagacagtttcatcaaaaattattgaaatcaatagccgccactagaggagctactgtagtaattgg aacaagcaaattctatggtggttggcacaacatgttaaaaactgtttatagtgatgtagaaaaccct caccttatgggttgggattatcctaaatgtgatagagccatgcctaacatgcttagaattatggcct cacttgttcttgctcgcaaacatacaacgtgttgtagcttgtcacaccgtttctatagattagctaa tgagtgtgctcaagtattgagtgaaatggtcatgtgtggcggttcactatatgttaaaccaggtgga acctcatcaggagatgccacaactgcttatgctaatagtgtttttaacatttgtcaagctgtcacgg ccaatgttaatgcacttttatctactgatggtaacaaaattgccgataagtatgtccgcaatttaca acacagactttatgagtgtctctatagaaatagagatgttgacacagactttgtgaatgagttttac gcatatttgcgtaaacatttctcaatgatgatactctctgacgatgctgttgtgtgtttcaatagca cttatgcatctcaaggtctagtggctagcataaagaactttaagtcagttctttattatcaaaacaa tgtttttatgtctgaagcaaaatgttggactgagactgaccttactaaaggacctcatgaattttgc tctcaacatacaatgctagttaaacagggtgatgattatgtgtaccttccttacccagatccatcaa
		gaatcctaggggccggctgttttgtagatgatatcgtaaaaacagatggtacacttatgattgaacg gttcgtgtctttagctatagatgcttacccacttactaaacatcctaatcaggagtatgctgatgtc tttcatttgtacttacaatacataagaaagctacatgatgagttaacaggacacatgttagacatgt attctgttatgcttactaatgataacacttcaaggtattgggaacctgagttttatgaggctatgta cacaccgcatacagtcttacaggctgttggggcttgtgttctttgcaattcacagacttcattaaga tgtggtgcttgcatacgtagaccattcttatgttgtaaatgctgttacgaccatgtcatatcaacat cacataaattagtcttgtctgttaatccgtatgtttgcaatgctccaggttgtgatgtcacagatgt gactcaactttacttaggaggtatgagctattattgtaaatcacataaaccacccattagttttcca ttgtgtgctaatggacaagtttttggtttatataaaaatacatgtgttggtagcgataatgttactg actttaatgcaattgcaacatgtgactggacaaatgctggtgattacattttagctaacacctgtac tgaaagactcaagctttttgcagcagaaacgctcaaagctactgaggagacatttaaactgtcttat ggtattgctactgtacgtgaagtgctgtctgacagagaattacatctttcatgggaagttggtaaac ctagaccaccacttaaccgaaattatgtctttactggttatcgtgtaactaaaaacagtaaagtaca aataggagagtacacctttgaaaaaggtgactatggtgatgctgttgtttaccgaggtacaacaact tacaaattaaatgttggtgattattttgtgctgacatcacatacagtaatgccattaagtgcaccta cactagtgccacaagagcactatgttagaattactggcttatacccaacactcaatatctcagatga gttttctagcaatgttgcaaattatcaaaaggttggtatgcaaaagtattctacactccagggacca
		cctggtactggtaagagtcattttgctattggcctagctctctactacccttctgctcgcatagtgt atacagcttgctctcatgccgctgttgatgcactatgtgagaaggcattaaaatatttgcctataga taaatgtagtagaattatacctgcacgtgctcgtgtagagtgttttgataaattcaaagtgaattca acattagaacagtatgtcttttgtactgtaaatgcattgcctgagacgacagcagatatagttgtct ttgatgaaatttcaatggccacaaattatgatttgagtgttgtcaatgccagattacgtgctaagca ctatgtgtacattggcgaccctgctcaattacctgcaccacgcacattgctaactaagggcacacta gaaccagaatatttcaattcagtgtgtagacttatgaaaactataggtccagacatgttcctcggaa cttgtcggcgttgtcctgctgaaattgttgacactgtgagtgctttggtttatgataataagcttaa agcacataaagacaaatcagctcaatgctttaaaatgttttataagggtgttatcacgcatgatgtt tcatctgcaattaacaggccacaaataggcgtggtaagagaattccttacacgtaaccctgcttgga gaaaagctgtctttatttcaccttataattcacagaatgctgtagcctcaaagattttgggactacc aactcaaactgttgattcatcacagggctcagaatatgactatgtcatattcactcaaaccactgaa acagctcactcttgtaatgtaaacagatttaatgttgctattaccagagcaaaagtaggcatacttt gcataatgtctgatagagacctttatgacaagttgcaatttacaagtcttgaaattccacgtaggaa tgtggcaactttacaagctgaaaatgtaacaggactctttaaagattgtagtaaggtaatcactggg ttacatcctacacaggcacctacacacctcagtgttgacactaaattcaaaactgaaggtttatgtg ttgacatacctggcatacctaaggacatgacctatagaagactcatctctatgatgggttttaaaat
		gaattatcaagttaatggttaccctaacatgtttatcacccgcgaagaagctataagacatgtacgt gcatggattggcttcgatgtcgaggggtgtcatgctactagagaagctgttggtaccaatttacctt tacagctaggtttttctacaggtgttaacctagttgctgtacctacaggttatgttgatacacctaa taatacagatttttccagagttagtgctaaaccaccgcctggagatcaatttaaacacctcatacca cttatgtacaaaggacttccttggaatgtagtgcgtataaagattgtacaaatgttaagtgacacac ttaaaaatctctctgacagagtcgtatttgtcttatgggcacatggctttgagttgacatctatgaa gtattttgtgaaaataggacctgagcgcacctgttgtctatgtgatagacgtgccacatgcttttcc actgcttcagacacttatgcctgttggcatcattctattggatttgattacgtctataatccgttta tgattgatgttcaacaatggggttttacaggtaacctacaaagcaaccatgatctgtattgtcaagt ccatggtaatgcacatgtagctagttgtgatgcaatcatgactaggtgtctagctgtccacgagtgc tttgttaagcgtgttgactggactattgaatatcctataattggtgatgaactgaagattaatgcgg cttgtagaaaggttcaacacatggttgttaaagctgcattattagcagacaaattcccagttcttca cgacattggtaaccctaaagctattaagtgtgtacctcaagctgatgtagaatggaagttctatgat gcacagccttgtagtgacaaagcttataaaatagaagaattattctattcttatgccacacattctg acaaattcacagatggtgtatgcctattttggaattgcaatgtcgatagatatcctgctaattccat tgtttgtagatttgacactagagtgctatctaaccttaacttgcctggttgtgatggtggcagtttg tatgtaaataaacatgcattccacacaccagcttttgataaaagtgcttttgttaatttaaaacaat

		taccatttttctattactctgacagtccatgtgagtctcatggaaaacaagtagtgtcagatataga ttatgtaccactaaagtctgctacgtgtataacacgttgcaatttaggtggtgctgtctgtagacat catgctaatgagtacagattgtatctcgatgcttataacatgatgatctcagctggctttagcttgt gggtttacaaacaatttgatacttataacctctggaacacttttacaagacttcagagtttagaaaa tgtggcttttaatgttgtaaataagggacactttgatggacaacagggtgaagtaccagtttctatc attaataacactgtttacacaaaagttgatggtgttgatgtagaattgtttgaaaataaaacaacat tacctgttaatgtagcatttgagctttgggctaagcgcaacattaaaccagtaccagaggtgaaaat actcaataatttgggtgtggacattgctgctaatactgtgatctgggactacaaaagagatgctcca gcacatatatctactattggtgtttgttctatgactgacatagccaagaaaccaactgaaacgattt gtgcaccactcactgtctttttgatggtagagttgatggtcaagtagacttatttagaaatgcccg taatggtgttcttattacagaaggtagtgttaaaggtttacaaccatctgtaggtcccaaacaagct agtcttaatggagtcacattaattggagaagccgtaaaaacacagttcaattattataagaaagttg atggtgttgtccaacaattacctgaaacttactttactcagagtagaaatttacaagaatttaaacc caggagtcaaatggaaattgatttcttagaattagctatggatgaattcattgaacggtataaatta gaaggctatgccttcgaacatatcgtttatggagattttagtcatagtcagttaggtggtttacatc tactgattggactagctaaacgttttaaggaatcacctttgaattagaagattttattcctatgga cagtacagttaaaaactatttcataacagatgcgcaaacaggttcatctaagtgtgtgtgttctgtt
		attgatttattacttgatgattttgttgaaataataaaatcccaagatttatctgtagtttctaagg ttgtcaaagtgactattgactatacagaaatttcatttatgctttggtgtaaagatggccatgtaga aacattttacccaaaattacaatctagtcaagcgtggcaaccgggtgttgctatgcctaatctttac aaaatgcaaagaatgctattagaaaagtgtgaccttcaaaattatggtgatagtgcaacattaccta aaggcataatgatgaatgtcgcaaaatatactcaactgtgtcaatatttaaacacattaacattagc tgtaccctataatatgagagttatacattttggtgctggttctgataaaggagttgcaccaggtaca gctgttttaagacagtggttgcctacgggtacgctgcttgtcgattcagatcttaatgactttgtct ctgatgcagattcaactttgattggtgattgtgcaactgtacatacagctaataaatgggatctcat tattagtgatatgtacgaccctaagactaaaaatgttacaaaagaaaatgactctaaagagggtttt ttcacttacatttgtgggtttatacaacaaaagctagctcttggaggttccgtggctataaagataa cagaacattcttggaatgctgatctttataagctcatgggacacttcgcatggtggacagcctttgt tactaatgtgaatgcgtcatcatctgaagcatttttaattggatgtaattatcttggcaaaccacgc gaacaaatagatggttatgtcatgcatgcaaattacatattttggaggaatacaaatccaattcagt tgtcttcctattctttatttgacatgagtaaatttccccttaaattaaggggtactgctgttatgtc tttaaaagaaggtcaaatcaatgatatgattttatctcttcttagtaaaggtagacttataattaga gaaaacaacagagttgttatttctagtgatgttcttgttaacaactaaacgaacaatgtttgttttt cttgttttattgccactagtctctagtcagtgtgttaatcttacaaccagaactcaattacccccctg
		catacactaattctttcacacgtggtgtttattaccctgacaaagttttcagatcctcagttttaca ttcaactcaggacttgttcttacctttcttttccaatgttacttggttccatgctatacatgtctct gggaccaatggtactaagaggtttgataaccctgtcctaccatttaatgatggtgtttattttgctt ccactgagaagtctaacataataagaggctggatttttggtactactttagattcgaagacccagtc cctacttattgttaataacgctactaatgttgttattaaagtctgtgaatttcaattttgtaatgat ccatttttgggtgtttattaccacaaaaacaacaaaagttggatggaaagtgagttcagagtttatt ctagtgcgaataattgcacttttgaatatgtctctcagccttttcttatggaccttgaaggaaaaca gggtaatttcaaaaatcttagggaatttgtgtttaagaatattgatggttattttaaaatatattct aagcacacgcctattaatttagtgcgtgatctccctcagggtttttcggctttagaaccattggtag atttgccaataggtattaacatcactaggtttcaaactttacttgctttacatagaagttatttgac tcctggtgattcttcttcaggttggacagctggtgctgcagcttattatgtgggttatcttcaacct aggacttttctattaaaatataatgaaaatggaaccattacagatgctgtagactgtgcacttgacc ctctctcagaaacaaagtgtacgttgaaatccttcactgtagaaaaaggaatctatcaaacttctaa ctttagagtccaaccaacagaatctattgttagatttcctaatattacaaacttgtgccctttggt gaagtttttaacgccaccagatttgcatctgtttatgcttggaacaggaagagaatcagcaactgtg ttgctgattattctgtcctatataattccgcatcattttccacttttaagtgttatggagtgtctcc tactaaattaaatgatctctgctttactaatgtctatgcagattcatttgtaattagaggtgatgaa
		gtcagacaaatcgctccagggcaaactggaaagattgctgattataattataaattaccagatgatt ttacaggctgcgttatagcttggaattctaacaatcttgattctaaggttggtggtaattataatta cctgtatagattgtttaggaagtctaatctcaaacctttgagagagatatttcaactgaaatctat caggccggtagcacaccttgtaatggtgttgaaggttttaattgttactttcctttacaatcatatg gtttccaacccactaatggtgttggttaccaaccatacagagtagtagtactttcttttgaacttct acatgcaccagcaactgtttgtggacctaaaaagtctactaatttggttaaaaacaaatgtgtcaat ttcaacttcaatggtttaacaggcacaggtgttcttactgagtctaacaaaaagtttctgcctttcc aacaatttggcagagacattgctgacactactgatgctgtccgtgatccacagacacttgagattct tgacattacaccatgttcttttggtggtgtcagtgttataacaccaggaacaaatacttctaaccag gttgctgttctttatcaggatgttaactgcacagaagtccctgttgctattcatgcagatcaactta ctcctacttggcgtgtttattctacaggttctaatgtttttcaaacacgtgcaggctgtttaatagg ggctgaacatgtcaacaactcatatgagtgtgacatacccattggtgcaggtatatgcgctagttat cagactcagactaattctcctcggcgggcacgtagtgtagctagtcaatccatcattgcctacacta tgtcacttggtgcagaaaattcagttgcttactctaataactctattgccatacccacaaattttac tattagtgttaccacagaaattctaccagtgtctatgaccaagacatcagtagattgtacaatgtac atttgtggtgattcaactgaatgcagcaatcttttgttgcaatatggcagtttttgtacacaattaa accgtgctttaactggaatagctgttgaacaagacaaaaacacccaagaagtttttgcacaagtcaa

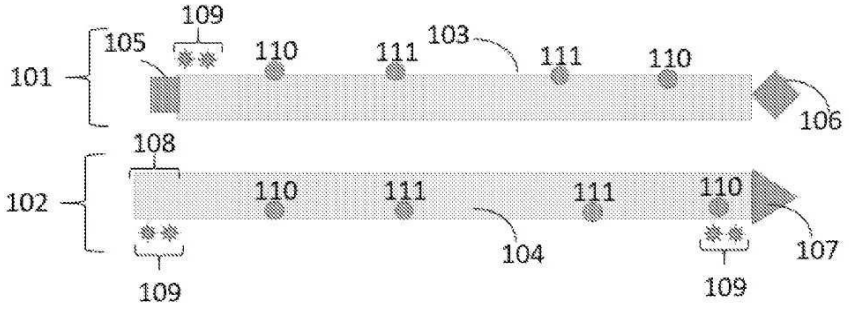
		acaaatttacaaaacaccaccaattaaagattttggtggttttaatttttcacaaatattaccagat ccatcaaaaccaagcaagaggtcatttattgaagatctacttttcaacaaagtgacacttgcagatg ctggcttcatcaaacaatatggtgattgccttggtgatattgctgctagagacctcatttgtgcaca aaagtttaacggccttactgttttgccacctttgctcacagatgaaatgattgctcaatacacttct gcactgttagcgggtacaatcacttctggttggacctttggtgcaggtgctgcattacaaataccat ttgctatgcaaatggcttataggtttaatggtattggagttacacagaatgttctctatgagaacca aaaattgattgccaaccaatttaatagtgctattggcaaaattcaagactcactttcttccacagca agtgcacttggaaaacttcaagatgtggtcaaccaaaatgcacaagctttaaacacgcttgttaaac aacttagctccaattttggtgcaatttcaagtgttttaaatgatatcctttcacgtcttgacaaagt tgaggctgaagtgcaaattgataggttgatcacaggcagacttcaaagtttgcagacatatgtgact caacaattaattagagctgcagaaatcagagcttctgctaatcttgctgctactaaaatgtcagagt gtgtacttggacaatcaaaaagagttgatttttgtggaaagggctatcatcttatgtccttccctca gtcagcacctcatggtgtagtcttcttgcatgtgacttatgtccctgcacaagaaaagaacttcaca actgctcctgccatttgtcatgatggaaaagcacactttcctcgtgaaggtgtctttgtttcaaatg gcacacactggtttgtaacacaaaggaatttttatgaaccacaaatcattactacagacaacacatt tgtgtctggtaactgtgatgttgtaataggaattgtcaacaacacagtttatgatcctttgcaacct gaattagactcattcaaggaggagttagataaatattttaagaatcatacatcaccagatgttgatt
		taggtgacatctctggcattaatgcttcagttgtaaacattcaaaaagaaattgaccgcctcaatga ggttgccaagaatttaaatgaatctctcatcgatctccaagaacttggaaagtatgagcagtatata aaatggccatggtacatttggctaggttttatagctggcttgattgccatagtaatggtgacaatta tgctttgctgtatgaccagttgctgtagttgtctcaagggctgttgttcttgtggatcctgctgcaa atttgatgaagacgactctgagccagtgctcaaaggagtcaaattacattacacataaacgaactta tggatttgtttatgagaatcttcacaattggaactgtaactttgaagcaaggtgaaatcaaggatgc tactccttcagattttgttcgcgctactgcaacgataccgatacaagcctcactccctttcggatgg cttattgttggcgttgcacttcttgctgtttttcagagcgcttccaaaatcataaccctcaaaaaga gatggcaactagcactctccaagggtgttcactttgtttgcaacttgctgttgttgtttgtaacagt ttactcacacctttgctcgttgctgctggccttgaagcccctttctctatctttatgctttagtc tacttcttgcagagtataaactttgtaagaataataatgaggctttggctttgctggaaatgccgtt ccaaaaacccattactttatgatgccaactattttctttgctggcatactaattgttacgactattg tataccttacaatagtgtaacttcttcaattgtcattacttcaggtgatggcacaacaagtcctatt tctgaacatgactaccagattggtggttatactgaaaaatgggaatctggagtaaaagactgtgttg tattacacagttacttcacttcagactattaccagctgtactcaactcaattgagtacagacactgg tgttgaacatgttaccttcttcatctacaataaaattgttgatgagcctgaagaacatgtccaaatt cacacaatcgacggttcatccggagttgttaatccagtaatggaaccaatttatgatgaaccgacga

		cgactactagcgtgcctttgtaagcacaagctgatgagtacgaacttatgtactcattcgtttcgga agagacaggtacgttaatagttaatagcgtacttctttttcttgctttcgtggtattcttgctagtt acactagccatccttactgcgcttcgattgtgtgcgtactgctgcaatattgttaacgtgagtcttg taaaaccttctttttacgtttactctcgtgttaaaaatctgaattcttctagagttcctgatcttct ggtctaaacgaactaaatattatattagtttttctgtttggaactttaattttagccatggcagatt ccaacggtactattaccgttgaagagcttaaaaagctccttgaacaatggaacctagtaataggttt cctattccttacatggatttgtcttctacaatttgcctatgccaacaggaataggtttttgtatata attaagttaattttcctctggctgttatggccagtaactttagcttgttttgtgcttgctgctgttt acagaataaattggatcaccggtggaattgctatcgcaatggcttgtcttgtaggcttgatgtggct cagctacttcattgcttctttcagactgtttgcgcgtacgcgttccatgtggtcattcaatccagaa actaacattcttctcaacgtgccactccatggcactattctgaccagaccgcttctagaaagtgaac tcgtaatcggagctgtgatccttcgtggacatcttcgtattgctggacaccatctaggacgctgtga catcaaggacctgcctaaagaaatcactgttgctacatcacgaacgctttcttattacaaattggga gcttcgcagcgtgtagcaggtgactcaggttttgctgcatacagtcgctacaggattggcaactata aattaaacacagaccattccagtagcagtgacaatattgctttgcttgtacagtaagtgacaacaga tgtttcatctcgttgactttcaggttactatagcagagatattactaattattatgaggacttttaa agtttccatttggaatcttgattacatcataaacctcataattaaaaatttatctaagtcactaact gagaataaatattctcaattagatgaagagcaaccaatggagattgattaaacgaacatgaaaatta ttcttttcttggcactgataacactcgctacttgtgagctttatcactaccaagagtgtgttagagg tacaacagtacttttaaaagaaccttgctcttctggaacatacgagggcaattcaccatttcatcct ctagctgataacaaatttgcactgacttgctttagcactcaatttgcttttgcttgtcctgacggcg taaaacacgtctatcagttacgtgccagatcagtttcacctaaactgttcatcagacaagaggaagt tcaagaactttactctccaatttttcttattgttgcggcaatagtgtttataacactttgcttcaca ctcaaaagaaagacagaatgattgaactttcattaattgacttctatttgtgctttttagcctttct gctattccttgttttaattatgcttattatcttttggttctcacttgaactgcaagatcataatgaa acttgtcacgcctaaacgaacatgaaatttcttgttttcttaggaatcatcacaactgtagctgcat ttcaccaagaatgtagtttacagtcatgtactcaacatcaaccatatgtagttgatgacccgtgtcc tattcacttctattctaaatggtatattagagtaggagctagaaaatcagcacctttaattgaattg tgcgtggatgaggctggttctaaatcacccattcagtacatcgatatcggtaattatacagtttcct gtttacctttacaattaattgccaggaacctaaattgggtagtcttgtagtgcgttgttcgttcta tgaagactttttagagtatcatgacgttcgtgttgttttagatttcatctaaacgaacaaactaaaa tgtctgataatggaccccaaaatcagcgaaatgcaccccgcattacgtttggtggaccctcagattc aactggcagtaaccagaatggagaacgcagtggggcgcgatcaaaacaacgtcggccccaaggttta cccaataatactgcgtcttggttcaccgctctcactcaacatggcaaggaagaccttaaattccctc gaggacaaggcgttccaattaacaccaatagcagtccagatgaccaaattggctactaccgaagagc taccagacgaattcgtggtggtgacggtaaaatgaaagatctcagtccaagatggtatttctactac ctaggaactgggccagaagctggacttccctatggtgctaacaaagacggcatcatatgggttgcaa ctgagggagccttgaatacaccaaaagatcacattggcacccgcaatcctgctaacaatgctgcaat cgtgctacaacttcctcaaggaacaacattgccaaaaggcttctacgcagaagggagcagaggcggc agtcaagcctcttctcgttcctcatcacgtagtcgcaacagttcaagaaattcaactccaggcagca gtaggggaacttctcctgctagaatggctggcaatggcggtgatgctgctcttgctttgctgctgct tgacagattgaaccagcttgagagcaaaatgtctggtaaaggccaacaacaacaaggccaaactgtc actaagaaatctgctgctgaggcttctaagaagcctcggcaaaaacgtactgccactaaagcataca atgtaacacaagctttcggcagacgtggtccagaacaaacccaaggaaattttggggaccaggaact aatcagacaaggaactgattacaaacattggccgcaaattgcacaatttgccccccagcgcttcagcg ttcttcggaatgtcgcgcattggcatggaagtcacaccttcgggaacgtggttgacctacacaggtg ccatcaaattggatgacaaagatccaaatttcaaagatcaagtcattttgctgaataagcatattga cgcatacaaaacattcccaccaacagagcctaaaaaggacaaaaagaagaaggctgatgaaactcaa gccttaccgcagagacagaagaaacagcaaactgtgactcttcttcctgctgcagatttggatgatt tctccaaacaattgcaacaatccatgagcagtgctgactcaactcaggcctaaactcatgcagacca cacaaggcagatgggctatataaacgttttcgcttttccgtttacgatatatagtctactcttgtgc agaatgaattctcgtaactacatagcacaagtagatgtagttaactttaatctcacatagcaatctt taatcagtgtgtaacattagggaggacttgaaagagccaccacattttcaccgaggccacgcggagt acgatcgagtgtacagtgaacaatgctagggagagctgcctatatggaagagccctaatgtgtaaaa ttaattttagtagtgctatccccatgtgattttaatagcttcttaggagaatgacaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

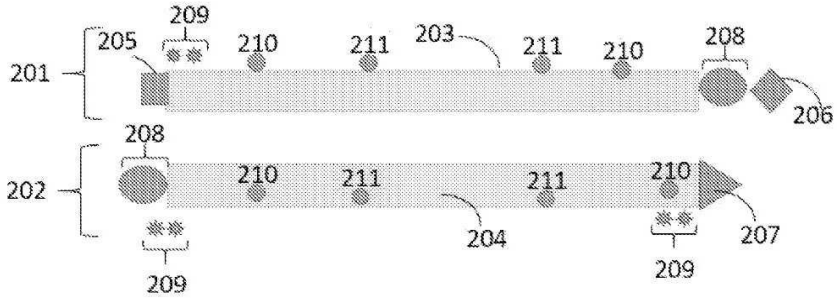
+ln = 잠금 핵산(LNA) =  , 식 중 R_y는 핵염기; lnA = 잠금 핵산(LNA) A; ln(5m)C = ln(5m)C =잠금 핵산(LNA)-5 메틸 C; lnG= 잠금 핵산(LNA) G; lnT= 잠금 핵산(LNA) T; (5m)C=5 메틸 C; scp = = 스피로사이클로프로필; scp(5m)C = 사이클로프로필-5 메틸 C; (5OH)C =  ; po = 포스포로다이에스터 연결; ps = 포스포로싸이오에이트 연결

도면

도면1

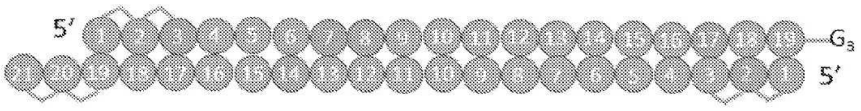


도면2



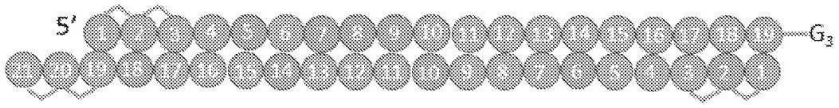
도면3a

도면3b

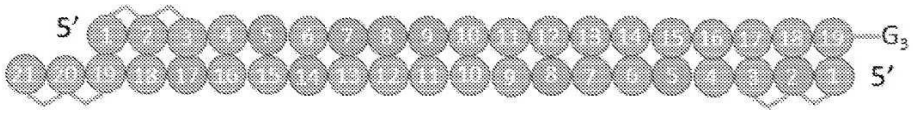


도면3c

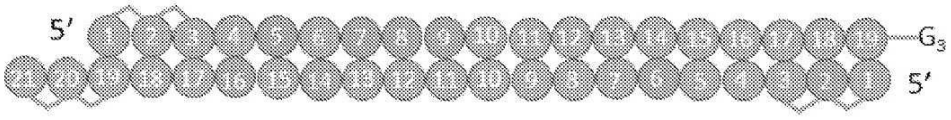
도면3d



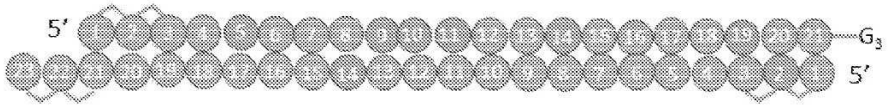
도면3e



도면3f

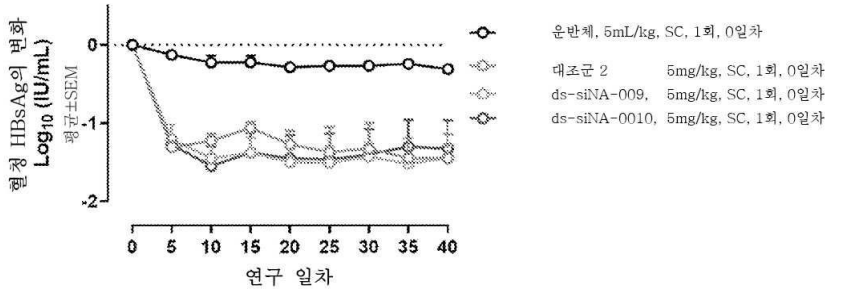


도면3g

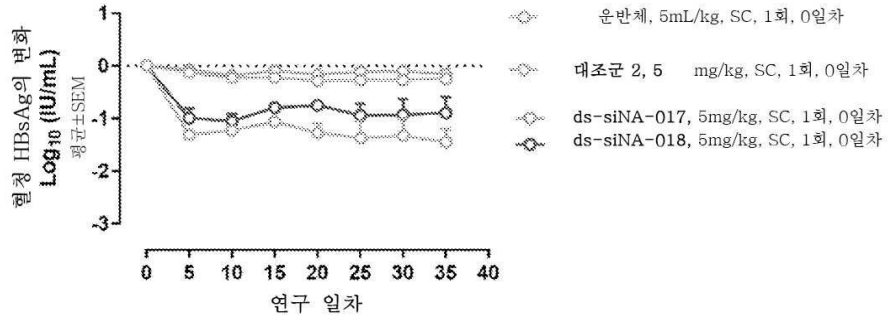


도면3h

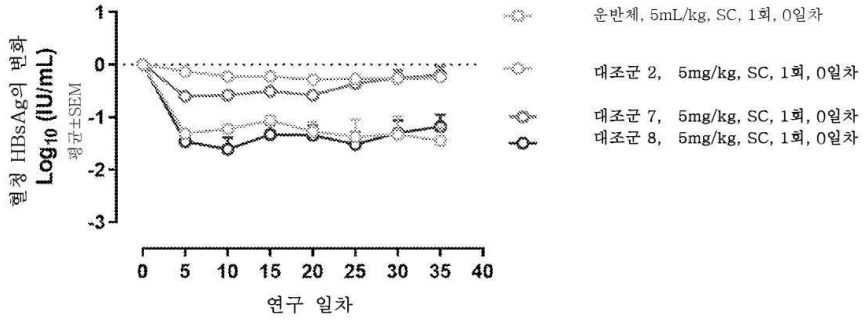
도면4



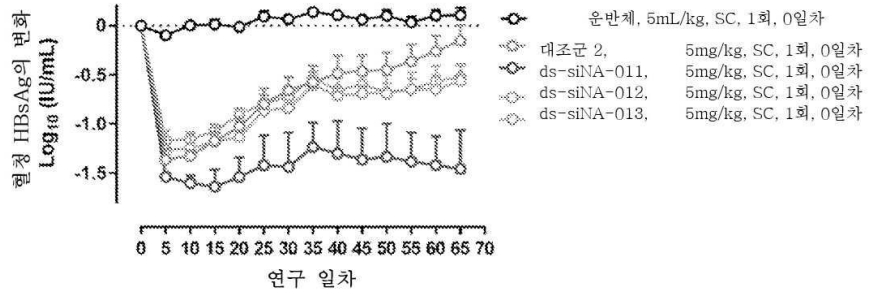
도면5a



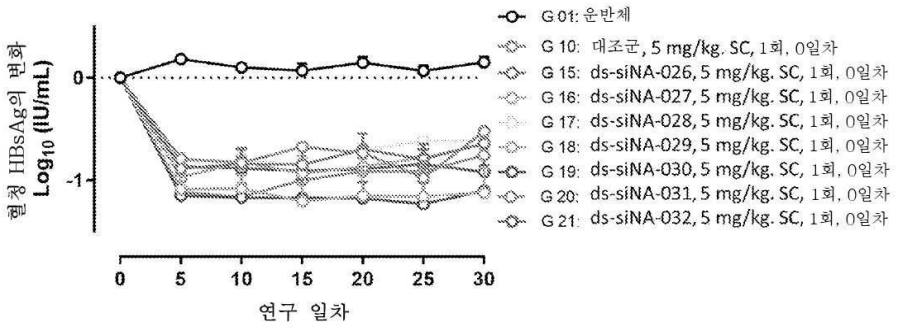
도면5b



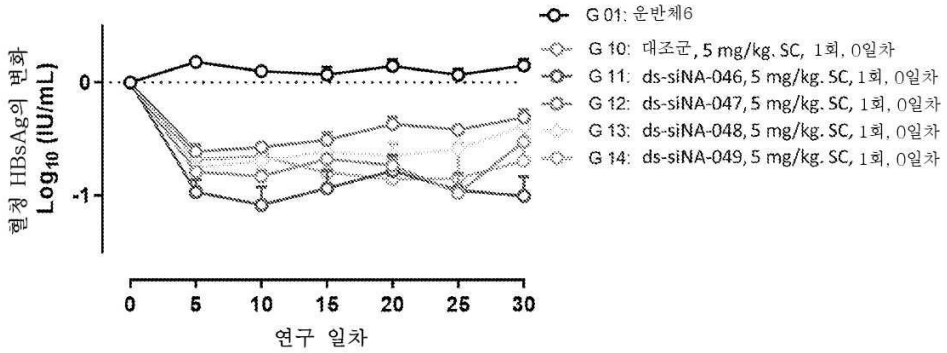
도면6



도면7


혈청 HBsAg의 변화
Log10 (IU/mL)
0
-1
0
5
10
15
20
25
30
연구 일차
G 01: 운반체
G 10: 대조군, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 15: ds-siNA-026, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 16: ds-siNA-027, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 17: ds-siNA-028, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 18: ds-siNA-029, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 19: ds-siNA-030, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 20: ds-siNA-031, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 21: ds-siNA-032, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차

도면8


혈청 HBsAg의 변화
Log10 (IU/mL)
0
-1
0
5
10
15
20
25
30
연구 일차
G 01: 운반체6
G 10: 대조군, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 11: ds-siNA-046, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 12: ds-siNA-047, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 13: ds-siNA-048, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차
G 14: ds-siNA-049, 5 mg/kg. SC, 1회, 0일차

서 열 목 록 (첨부)

아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.