(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118451183 A
(43)申请公布日 2024.08.06

(21)申请号 202280065211.6
(22)申请日 2022.08.26
(30)优先权数据
63/237,898 2021.08.27 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.03.26
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/075493 2022.08.26
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/028575 EN 2023.03.02
(71)申请人 IONIS制药公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 P·杰法尔-内贾德 F·里戈
(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所 11517
专利代理师 赵昊 张璐
(51)Int.Cl.
C12N 15/113(2006.01)
A61K 31/7125(2006.01)

权利要求书5页 说明书49页
序列表（电子公布）

(54)发明名称

用于调节SCN1A表达的化合物和方法

(57)摘要

本发明提供了用于调节细胞或受试者中的SCN1A RNA和/或蛋白的表达的寡聚化合物、方法和药物组合物。此类化合物、方法和药物组合物可用于改善发育性或癫痫性脑病疾病，如例如Dravet综合征的至少一种症状。此类症状包括癫痫发作、癫痫病突然意外死亡、癫痫持续状态、行为功能障碍、运动和平衡功能障碍、骨科病状、运动功能障碍、认知障碍、语言和言语延迟、视觉运动整合功能障碍、视觉感知功能障碍、执行功能障碍和自主神经功能障碍。

CN 118451183 A

1.一种寡聚化合物,其包含根据以下化学符号的经修饰的寡核苷酸:

$A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:23);

$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:24);

$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:25);

$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{no}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:26);

$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{no}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:27);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:28);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:29);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:30);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{no}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:31);

$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:32);

$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:33);

$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:34);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:35);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{no}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:36);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:37);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:38);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:39);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{no}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:40);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{no}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:41);

$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{ns}T_{no}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:42);

$A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:43);或

$A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:44);

其中:

A=腺嘌呤核碱基,

^{m}C=5-甲基胞嘧啶核碱基,

G=鸟嘌呤核碱基,

T=胸腺嘧啶核碱基,

n=2'-NMA糖部分,

s=硫代磷酸酯核苷间键,并且

o=磷酸二酯核苷间键。

2.根据权利要求1所述的寡聚化合物,其由所述经修饰的寡核苷酸组成。

3.根据权利要求1或权利要求2所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸为游离酸。

4.根据权利要求1或权利要求2所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸为盐。

5.根据权利要求4所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸为钠盐或钾盐。

6.一种寡聚化合物,其包含经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸由17至30个连接的核苷组成,并且具有SEQ ID NO:19至22或63至86的核碱基序列中的任一者的、包含至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至

少23、至少24或至少25个连续核碱基的核碱基序列,其中所述经修饰的寡核苷酸包含至少一个选自经修饰的糖部分和经修饰的核苷间键的修饰。

7.根据权利要求6所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸由18-25个连接的核苷组成。

8.根据权利要求6至7中任一项所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸由18、23或25个连接的核苷组成。

9.根据权利要求6至8中任一项所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸的核碱基序列包括SEQ ID NO:19至22或63至86中的任一者的核碱基序列。

10.根据权利要求6至8中任一项所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸的核碱基序列由SEQ ID No:19至22或63至86中的任一者的核碱基序列组成。

11.根据权利要求6至10中任一项所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸包含至少一个经修饰的糖部分。

12.根据权利要求11所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸包含至少一个非双环经修饰的糖部分。

13.根据权利要求12所述的寡聚化合物,其中所述非双环经修饰的糖部分为2'-MOE糖部分或2'-NMA糖部分。

14.根据权利要求11至13中任一项所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸的每个核苷包含经修饰的糖部分。

15.根据权利要求11至14中任一项所述的寡聚化合物,其中每个经修饰的糖部分为2'-NMA糖部分。

16.根据权利要求6至15中任一项所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷间键。

17.根据权利要求16所述的寡聚化合物,其中所述至少一个经修饰的核苷间键为硫代磷酸酯核苷间键。

18.根据权利要求16或权利要求17所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸包含至少一个磷酸二酯核苷间键。

19.根据权利要求16至18中任一项所述的寡聚化合物,其中每个核苷间键独立地选自磷酸二酯核苷间键和硫代磷酸酯核苷间键。

20.根据权利要求16、17或19中任一项所述的寡聚化合物,其中每个核苷间键为硫代磷酸酯核苷间键。

21.根据权利要求6至20中任一项所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸包含至少一个经修饰的核碱基。

22.根据权利要求21所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的核碱基为5-甲基胞嘧啶。

23.一种寡聚化合物,其包含根据以下化学符号的经修饰的寡核苷酸:

$G_{ns}G_{ns}T_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:45);

$G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:46);

$A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:47);

$T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{no}G_{no}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:

48)；

$^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{no}T_{no}G_{ns}G_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO: 49)；

$^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{no}G_{no}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO: 50)；

$A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO: 51)；

$T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO: 52)；

$^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{no}T_{no}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO: 53)；

$^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO: 54)；

$A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO: 55)；

$T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO: 56)；

$^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO: 57)；

$^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO: 58)；

$A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO: 59)；

$T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO: 60)；

$^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO: 61)；或

$^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO: 62)，

其中：

A＝腺嘌呤核碱基，

^{m}C＝5-甲基胞嘧啶核碱基，

G＝鸟嘌呤核碱基，

T＝胸腺嘧啶核碱基，

n＝2'-NMA糖部分，

s＝硫代磷酸酯核苷间键，并且

o＝磷酸二酯核苷间键。

24.根据权利要求23所述的寡聚化合物，其由所述经修饰的寡核苷酸组成。

25.根据权利要求23或权利要求24所述的寡聚化合物，其中所述经修饰的寡核苷酸为

游离酸。

26.根据权利要求23或权利要求24所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸为盐。

27.根据权利要求26所述的寡聚化合物,其中所述经修饰的寡核苷酸为钠盐或钾盐。

28.根据权利要求1至27中任一项所述的寡聚化合物的群,其中所述经修饰的寡核苷酸的硫代磷酸酯核苷间键中的全部均是立构无规的。

29.一种药物组合物,其包含根据权利要求1至27中任一项所述的寡聚化合物或根据权利要求28所述的寡聚化合物的群,以及药学上可接受的稀释剂。

30.根据权利要求29所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的稀释剂为人工脑脊液(aCSF)或PBS。

31.根据权利要求29或权利要求30所述的药物组合物,其中所述药物组合物基本上由所述寡聚化合物和aCSF或PBS组成。

32.根据权利要求29至31中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物基本上由所述寡聚化合物的群和aCSF或PBS组成。

33.一种方法,其包括向受试者施用根据权利要求1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据权利要求28所述的寡聚化合物的群或根据权利要求29至32中任一项所述的药物组合物。

34.一种治疗与SCN1A相关的疾病的方法,所述方法包括向患有与SCN1A相关的疾病的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据权利要求28所述的寡聚化合物的群或根据权利要求29至32中任一项所述的药物组合物,从而治疗与SCN1A相关的所述疾病。

35.根据权利要求34所述的方法,其中与SCN1A相关的所述疾病为发育性或癫痫性脑病疾病。

36.根据权利要求35所述的方法,其中所述发育性或癫痫性脑病疾病为Dravet综合征。

37.根据权利要求35或权利要求36所述的方法,其中所述发育性或癫痫性脑病疾病为遗传性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)、热性惊厥、特发性/一般性全面性癫痫(IGE/GGE)、颞叶癫痫、肌阵挛站立不能性癫痫(MAE)、伦诺克斯-加斯托综合征或婴儿游走性部分性癫痫(MMPSI)中的任一者。

38.根据权利要求33至37中任一项所述的方法,其中施用所述寡聚化合物、所述寡聚化合物的群或所述药物组合物降低癫痫发作的频率、减少癫痫发作的持续时间、减少癫痫持续状态、改善行为功能、改善运动和平衡、改善骨科病状、改善运动功能、减少认知障碍、改善语言和言语、改善视觉运动整合功能、即兴视觉感知功能、改善执行功能或减少自主神经功能障碍。

39.根据权利要求38所述的方法,其中所述癫痫发作是频繁的或持续时间延长的。

40.根据权利要求38或权利要求39所述的方法,其中所述癫痫发作是惊厥性、肌阵挛性、失神性、局灶性、迟钝状态或强直性中的任一种。

41.根据权利要求33至40中任一项所述的方法,其中所述癫痫发作的频率降低。

42.根据权利要求33至41中任一项所述的方法,其中所述癫痫发作的持续时间减少。

43.根据权利要求33至42中任一项所述的方法,其中所述受试者为人。

44.一种增加细胞中的SCN1A的表达的方法,所述方法包括使所述细胞与根据权利要求1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据权利要求28所述的寡聚化合物的群或根据权利要求29至32中任一项所述的药物组合物接触。

45.一种调节细胞中的SCN1A RNA的剪接的方法,所述方法包括使所述细胞与根据权利要求1至27中任一项所述的寡聚化合物接触。

46.根据权利要求45所述的方法,其中包含NIE的SCN1A RNA的量减少。

47.根据权利要求45或权利要求46所述的方法,其中包含NIE-1的SCN1A RNA的量减少。

48.根据权利要求45至47中任一项所述的方法,其中排除NIE的SCN1A RNA的量增加。

49.根据权利要求45至48中任一项所述的方法,其中排除NIE-1的SCN1A RNA的量增加。

50.根据权利要求45至49中任一项所述的方法,其中所述细胞为大脑皮层、海马体、脑干或丘脑细胞。

51.根据权利要求45至50中任一项所述的方法,其中所述细胞为人细胞。

52.根据权利要求1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据权利要求28所述的寡聚化合物的群或根据权利要求29至32中任一项所述的药物组合物用于治疗与SCN1A相关的疾病的用途。

53.根据权利要求1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据权利要求28所述的寡聚化合物的群或根据权利要求29至32中任一项所述的药物组合物在制造用于治疗与SCN1A相关的疾病的药物中的用途。

54.根据权利要求42或权利要求53所述的用途,其中与SCN1A相关的所述疾病为发育性或癫痫性脑病疾病。

55.根据权利要求54所述的用途,其中所述发育性或癫痫性脑病疾病为Dravet综合征。

56.根据权利要求54或55所述的用途,其中所述发育性或癫痫性脑病疾病为遗传性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)、热性惊厥、特发性/一般性全面性癫痫(IGE/GGE)、颞叶癫痫、肌阵挛站立不能性癫痫(MAE)、伦诺克斯-加斯托综合征或婴儿游走性部分性癫痫(MMPSI)中的任一者。

用于调节SCN1A表达的化合物和方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请与电子格式的序列表一起提交。序列表以名为BIOL0440WOSEQ.xml的文件形式提供,创建于2022年8月22日,大小为789KB。序列表的电子格式的信息通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 本发明提供了用于调节细胞或受试者中的SCN1A RNA和/或蛋白的表达的寡聚化合物、方法和药物组合物。此类化合物、方法和药物组合物可用于改善发育性或癫痫性脑病疾病,如例如Dravet综合征的至少一种症状。此类症状包括癫痫发作、癫痫病突然意外死亡、癫痫持续状态、行为功能障碍、运动和平衡功能障碍、骨科病状、运动功能障碍、认知障碍、语言和言语延迟、视觉运动整合功能障碍、视觉感知功能障碍、执行功能障碍和自主神经功能障碍。

背景技术

[0004] 人类基因SCN1A编码人类SCN1A蛋白,即电压门控钠通道NaV1.1的α-1亚基。SCN1A的突变会导致发育性和癫痫性脑病(DEE),包括:Dravet综合征(以前称为婴儿严重肌阵挛性癫痫(SMEI)),这是最严重的儿童癫痫形式之一;其他癫痫性病症,包括例如遗传性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)和其他热性惊厥、特发性/一般性全面性癫痫(IGE/GGE)、颞叶癫痫、肌阵挛站立不能性癫痫(MAE)、伦诺克斯-加斯托综合征和婴儿游走性部分性癫痫(MMPSI);以及伴或不伴癫痫家族性偏瘫型偏头痛(Harkin,L.A.,等人,2007,Brain 130,843-852;Escayg,A.,等人,2010,Epilepsia 51,1650-1658;Miller I.O,等人,2007年11月29日[2019年4月18日更新].见:Adam MP、Ardinger HH、Pagon RA,等人,编辑.GeneReviews®[Internet].Seattle(WA):University of Washington,Seattle;1993-2020.可获取自:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1318/)。

[0005] DEE与SCN1A单倍剂量不足相关(Parihar,R.,等人,2013,J.Human Genetics,58,573-580)。与DEE(包括Dravet综合征)相关的症状包括癫痫发作持续时间延长(通常持续超过10分钟)、频繁癫痫发作(例如惊厥性、肌阵挛性、失神性、局灶性、迟钝状态和强直性癫痫发作)、癫痫病突然意外死亡、癫痫持续状态、行为功能障碍(例如,攻击性、激越、强迫性、保守性、囤积行为或睡眠障碍)、运动和平衡功能障碍、骨科病状、运动系统功能障碍(例如,共济失调、震颤、构音障碍、锥体束征和锥体外束征)、认知障碍、语言和言语延迟、视觉运动整合功能障碍、视觉感知功能障碍、执行功能障碍和自主神经功能障碍。Dravet综合征患者会经历额外的神经发育延迟,导致严重的神经功能障碍(Guzzetta,F.,2011,Epilepsia 52:S2,35-38;Anwar等人,2019,Cureus 11,e5006)。

[0006] SCN1A的选择性剪接产生多个SCN1A转录变体(Parihar,R.,等人,2013)。某些转录变体包含无义介导的衰变诱导外显子(NIE)(Steward,C.A.,等人,2019,npj Genom.Med.4,31;Carvill等人,2018,American J.Human Genetics,103,1022-1029)。长度为64个核碱基

并且位于SCN1A内含子20中的一个此种NIE(NIE-1)会导致SCN1A转录本降解(Carvill等人,2018)。

[0007] 目前仍然需要用以治疗Dravet综合征、GEFS+和其他DEE的疗法。因此,本文的一个目的是提供用于治疗此类疾病的寡聚化合物、方法和药物组合物。

发明内容

[0008] 本文提供了用于调节细胞或受试者中的SCN1A RNA和/或蛋白的表达的化合物、方法和药物组合物。在某些实施例中,SCN1A RNA和/或SCN1A蛋白的量增加。在某些实施例中,化合物、方法或药物组合物调节SCN1A RNA的剪接。在某些实施例中,全长SCN1A RNA和/或全长SCN1A蛋白的量增加。在某些实施例中,包含NIE的SCN1ARNA的量减少。在某些实施例中,排除NIE的SCN1A RNA的量增加。在某些实施例中,NIE为NIE-1。在某些实施例中,化合物、方法和药物组合物可用于治疗与SCN1A相关的疾病或病症。在某些实施例中,与SCN1A相关的疾病或病症为SCN1A单倍剂量不足。在某些实施例中,与SCN1A相关的疾病或病症为发育性或癫痫性脑病疾病(DEE)。在某些实施例中,发育性或癫痫性脑病疾病为遗传性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)、热性惊厥、特发性/一般性全面性癫痫(IGE/GGE)、颞叶癫痫、肌阵挛站立不能性癫痫(MAE)、伦诺克斯-加斯托综合征或婴儿游走性部分性癫痫(MMPSI)中的任一者。在某些实施例中,发育性或癫痫性脑病疾病为Dravet综合征。在某些实施例中,通过用能够从SCN1A RNA中排除NIE的化合物增加受试者或其细胞中全长SCN1A RNA和/或全长SCN1A蛋白的量来治疗DEE。在某些实施例中,从SCN1A RNA中排除NIE减少或防止SCN1A转录本经由NMD途径的降解。在某些实施例中,从SCN1A RNA中排除NIE增加全长SCN1A RNA和/或全长SCN1A蛋白,其中去除NIE防止了SCN1A转录本经由NMD途径的降解。在某些实施例中,可用于调节SCN1A RNA的剪接的化合物为寡聚化合物。在某些实施例中,寡聚化合物包含经修饰的寡核苷酸或由经修饰的寡核苷酸组成。

[0009] 还提供了可用于改善与SCN1A相关的疾病或病症的至少一种症状或标志的方法。在一些实施例中,与SCN1A相关的疾病或病症为DEE。在某些实施例中,DEE为Dravet综合征。在某些实施例中,DEE的症状或标志包括癫痫发作持续时间延长(通常持续超过10分钟)、频繁癫痫发作(例如惊厥性、肌阵挛性、失神性、局灶性、迟钝状态和强直性癫痫发作)、癫痫病突然意外死亡、癫痫持续状态、行为功能障碍(例如,攻击性、激越、强迫性、保守性、囤积行为或睡眠障碍)、运动和平衡功能障碍、骨科病状、运动系统功能障碍(例如,共济失调、震颤、构音障碍、锥体束征和锥体外束征)、认知障碍、语言和言语延迟、视觉运动整合功能障碍、视觉感知功能障碍、执行功能障碍和自主神经功能障碍

具体实施方式

[0010] 应当理解,前面的一般描述和以下详细描述仅是示范性和说明性的,而不是限制性的。在本文中,除非另外特别说明,否则单数的使用包括复数。如本文所用,除非另外说明,否则“或”的使用意指“和/或”。此外,术语“包含(including)”以及如“包含(includes)”和“包含(included)”等其他形式的使用不是限制性的。此外,除非另外特别说明,否则如“元件”或“组件”等术语涵盖包括一个单元的元件和组件以及包括多于一个亚单元的元件和组件两者。

[0011] 本文中使用的章节标题仅出于组织目的,而不应被解释为对所描述的主题进行限制。本申请中引用的所有文件或文件的部分,包括但不限于专利、专利申请、文章、书籍和论文以及GenBank和NCBI参考序列记录,特此明确通过引用将本文所讨论的文件部分及其整体并入本文。

[0012] 定义

[0013] 除非提供具体定义,否则与本文所描述的分析化学、合成有机化学以及医药和药物化学相关所使用的命名法以及其中的程序和技术是本领域中众所周知且常使用的那些。在允许的情况下,本公开中在全文中提及的所有专利、申请、公开的申请和其他出版物以及其他数据均通过引用整体并入本文。

[0014] 除非另有说明,否则以下术语具有以下含义:

[0015] 如本文所用,“2'-脱氧核苷”意指包含2'-H(H)脱氧呋喃糖基糖部分的核苷。在某些实施例中,2'-脱氧核苷为2'-β-D-脱氧核苷并且包含2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,其具有如在天然存在的脱氧核糖核酸(DNA)中发现的β-D核糖基构型。在某些实施例中,2'-脱氧核苷可包含经修饰的核碱基或可包含RNA核碱基(尿嘧啶)。

[0016] 如本文所用,“2'-MOE”意指代替呋喃糖基糖部分的2'-OH基团的2'-O$(CH_2)_2OCH_3$基团。“2'-MOE糖部分”或“2'-O-甲氧基乙基糖部分”意指具有代替呋喃糖基糖部分的2'-OH基团的2'-$OCH_2CH_2OCH_3$基团的糖部分。除非另有说明,2'-MOE糖部分呈β-D-核糖基构型。“MOE”意指O-甲氧基乙基。

[0017] 如本文所用,“2'-MOE核苷”意指包含2'-MOE糖部分的核苷。

[0018] 如本文所用,“2'-NMA”意指代替呋喃糖基糖部分的2'-OH基团的-O-CH_2-C(=O)-NH-CH_3基团。“2'-NMA糖部分”意指具有代替呋喃糖基糖部分的2'-OH基团的2'-O-CH_2-C(=O)-NH-CH_3基团的糖部分。除非另有说明,2'-NMA糖部分呈β-D构型。“NMA”意指O-N-甲基乙酰胺。

[0019] 如本文所用,“2'-NMA核苷”意指包含2'-NMA糖部分的核苷。

[0020] 如本文所用,“2'-取代的核苷”意指包含2'-取代的呋喃糖基糖部分的核苷。如本文所用,关于糖部分的“2'-取代的”意指包含至少一个除H或OH之外的2'-取代基的糖部分。

[0021] 如本文所用,“5-甲基胞嘧啶”意指用附接至5位置的甲基基团修饰的胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶是经修饰的核碱基。

[0022] 如本文所用,“施用”意指向受试者提供药剂。

[0023] 如本文所用,关于治疗的“改善”意指至少一种症状或标志相对于不存在治疗的情况下的相同症状或标志的改善。在某些实施例中,改善为症状或标志的严重性或频率的降低或者症状或标志的严重性或频率的延迟发作或进展减缓。在某些实施例中,症状或标志为癫痫发作持续时间延长(通常持续超过10分钟)、频繁癫痫发作(例如惊厥性、肌阵挛性、失神性、局灶性、迟钝状态和强直性癫痫发作)、癫痫病突然意外死亡、癫痫持续状态、行为功能障碍(例如,攻击性、激越、强迫性、保守性、囤积行为或睡眠障碍)和发育迟缓、运动和平衡功能障碍、骨科病状、运动系统和认知功能障碍(例如,共济失调、震颤、构音障碍、锥体束征和锥体外束征)、认知障碍、语言和言语延迟问题、视觉运动整合功能障碍、视觉感知功能障碍、执行功能障碍、生长和营养问题、睡眠困难、慢性感染、感觉统合失调或自主神经功能障碍。

[0024] 如本文所用,“脑脊液”或“CSF”意指填充脑和脊髓周围空间的流体。“人工脑脊液”或“aCSF”意指具有脑脊液的某些性质(例如渗透压、pH和/或电解质)并且与CSF生物相容的制备或制造的流体。

[0025] 如本文所用,“缀合基团”意指直接附接至寡核苷酸的原子团。缀合基团包括缀合物部分和将缀合物部分附接至寡核苷酸的缀合物接头。

[0026] 如本文所用,“缀合物接头”意指单键或包含至少一个将缀合物部分连接至寡核苷酸的键的原子团。

[0027] 如本文所用,“缀合物部分”意指与缺乏缀合物部分的相同分子相比,改变分子的一种或多种性质的原子团,包括但不限于药效学、药代动力学、稳定性、结合、吸收、组织分布、细胞分布、细胞摄取、电荷和清除。

[0028] 如本文所用,“核苷间键”为寡核苷酸中相邻核苷之间的共价键。如本文所用,“经修饰的核苷间键”意指除了磷酸二酯核苷间键之外的任何核苷间键。

[0029] 如本文所用,“连接的核苷”为以连续序列连接的核苷(即,在连接的那些核苷之间不存在额外的核苷)。

[0030] 如本文所用,“接头核苷”意指将寡核苷酸直接或间接连接至缀合物部分的核苷。接头核苷位于寡聚化合物的缀合物接头内。接头核苷不被认为是寡聚化合物的寡核苷酸部分的一部分,即使它们与寡核苷酸连续。

[0031] 如本文所用,“基序”意指寡核苷酸中未经修饰和/或经修饰的糖部分、核碱基和/或核苷间键的模式。

[0032] 如本文所用,“无义介导的衰变诱导外显子(NIE)”为外显子或假外显子,其当包含在mRNA转录本中时可以激活无义介导的衰变(NMD)途径。“NIE-1”为长度为64个核碱基的NIE,位于SCN1A基因的内含子20中(chr2:166863579-166864271,hg19;Carvill等人,2018),当存在于转录本中时会导致SCN1A转录本的降解。在某些实施例中,人NIE-1具有SEQ ID NO:16的核碱基序列。在某些实施例中,小鼠NIE-1具有SEQ ID NO:17的核碱基序列。

[0033] 如本文所用,“经修饰的核苷”意指包含经修饰的核碱基和/或经修饰的糖部分的核苷。

[0034] 如本文所用,“核碱基”意指未经修饰的核碱基或经修饰的核碱基。核碱基为杂环部分。如本文所用,“未经修饰的核碱基”为腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)、尿嘧啶(U)或鸟嘌呤(G)。如本文所用,“经修饰的核碱基”为除未经修饰的A、T、C、U或G之外的能够与至少一种其他核碱基配对的原子团。“5-甲基胞嘧啶”为经修饰的核碱基。通用碱基为经修饰的核碱基,其可以与五个未经修饰的核碱基中的任何一个配对。

[0035] 如本文所用,“核碱基序列”意指独立于任何糖或核苷间键修饰的在核酸或寡核苷酸中的连续核碱基的顺序。

[0036] 如本文所用,“核苷”意指包含核碱基和糖部分的化合物或化合物的片段。核碱基和糖部分各自独立地未经修饰或经修饰。

[0037] 如本文所用,“寡聚化合物”意指寡核苷酸和任选的一个或多个额外特征,如缀合基团或末端基团。寡聚化合物可以与与第一寡聚化合物互补的第二寡聚化合物配对,或者可以不配对。“单链寡聚化合物”是不配对的寡聚化合物。

[0038] 术语“寡聚双链体”意指由具有互补核碱基序列的两个寡聚化合物形成的双链体。

[0039] 如本文所用,“寡核苷酸”意指经由核苷间键连接的连接的核苷的链,其中每个核苷和核苷间键可以是经修饰的或未经修饰的。除非另有说明,寡核苷酸由8-50个连接的核苷组成。如本文所用,“经修饰的寡核苷酸”意指其中至少一个核苷或核苷间键经修饰的寡核苷酸。如本文所用,“未经修饰的寡核苷酸”意指不包含任何核苷修饰或核苷间修饰的寡核苷酸。

[0040] 如本文所用,“药学上可接受的载体或稀释剂”意指适合用于向动物施用的任何物质。某些此类载体使得药物组合物能够配制为例如片剂、丸剂、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、混悬剂和锭剂以由受试者口服摄取。在某些实施例中,药学上可接受的稀释剂为无菌水、无菌盐水、无菌缓冲溶液或无菌人工脑脊液。

[0041] 如本文所用,“药学上可接受的盐”意指化合物的生理学和药学上可接受的盐。药学上可接受的盐保留了母体化合物所需的生物活性并且不赋予其不期望的毒理学作用。

[0042] 如本文所用,“药物组合物”意指适合用于向受试者施用的物质的混合物。例如,药物组合物可包含寡聚化合物和无菌水溶液。在某些实施例中,药物组合物在某些细胞系中的游离摄取测定中显示出活性。

[0043] 如本文所用,在具有相同分子式的分子的群的上下文中,“立构无规”或“立构无规手性中心”意指对于特定的绝对立体化学构型,在合成期间不受控制或在合成之后富集的手性中心。当手性中心的立体化学构型是不旨在控制立体化学构型的合成方法的结果时,该立体化学构型是无规的。例如,在包含立构无规手性中心的分子的群中,具有立构无规手性中心的(S)构型的分子的数量可以但不一定与具有立构无规手性中心(“外消旋”)的(R)构型的分子的数量相同。在某些实施例中,立构无规手性中心不是外消旋的,因为例如,由于邻近糖部分的富集立体化学附近的非手性试剂的作用,合成后一种绝对构型占主导地位。在某些实施例中,立构无规手性中心为立构无规硫代磷酸酯核苷间键。

[0044] 如本文所用,“受试者”意指人或非人动物。

[0045] 如本文所用,“糖部分”意指未经修饰的糖部分或经修饰的糖部分。如本文所用,“未经修饰的糖部分”意指如在RNA中发现的2'-OH(H)核糖基部分(“未经修饰的RNA糖部分”),或如在DNA中发现的2'-H(H)脱氧核糖基糖部分(“未经修饰的DNA糖部分”)。未经修饰的糖部分具有在1'、3'和4'位置中的每一者处的一个氢,在3'位置处的一个氧以及在5'位置处的两个氢。如本文所用,“经修饰的糖部分”或“经修饰的糖”意指经修饰的呋喃糖基糖部分或糖替代物。

[0046] 如本文所用,“糖替代物”意指可以将核碱基连接至另一基团(如寡核苷酸中的核苷间键、缀合基团或末端基团)但不是呋喃糖基糖部分或双环糖部分的经修饰的糖部分。包含糖替代物的经修饰的核苷可掺入寡核苷酸内的一个或多个位置中,并且此类寡核苷酸能够与互补寡聚化合物或靶核酸杂交。糖替代物的实例包括GNA(乙二醇核酸)、FHNA(氟己糖醇核酸)、吗啉代和本文描述的和本领域已知的其他结构。

[0047] 如本文所用,“症状或标志”意指指示疾病或病症的存在或程度的任何身体特征或测试结果。在某些实施例中,症状对于受试者或对于检查或测试所述受试者的医学专业人员来说是明显的。在某些实施例中,标志在侵入性诊断测试(包括但不限于死后测试)时是明显的。在某些实施例中,标志在脑部MRI扫描上是明显的。

[0048] 如本文所用,“靶核酸”和“靶RNA”意指寡聚化合物经设计用以影响的核酸。除非另

有说明,靶RNA意指RNA转录本并且包括前mRNA和mRNA。

[0049] 如本文所用,“靶区域”意指寡聚化合物经设计用以与其杂交的靶核酸的一部分。

[0050] 如本文所用,“末端基团”意指共价连接至寡核苷酸的末端的化学基团或原子团。

[0051] 如本文所用,“反义活性”意指可归因于反义化合物与其靶核酸的杂交的任何可检测和/或可测量的变化。在某些实施例中,反义活性是与不存在反义化合物的情况下的靶核酸水平或靶蛋白水平相比,靶核酸或由此类靶核酸编码的蛋白的量或表达的降低。在某些实施例中,反义活性是靶前mRNA的剪接的调节。

[0052] 如本文所用,“反义剂”意指反义化合物和任选的一个或多个额外特征,如有义化合物。

[0053] 如本文所用,“反义化合物”意指反义寡核苷酸和任选的一个或多个额外特征,如缀合基团。

[0054] 如本文所用,“有义化合物”意指有义寡核苷酸和任选的一个或多个额外特征,如缀合基团。

[0055] 如本文所用,“反义寡核苷酸”意指能够与靶核酸杂交并且能够具有至少一种反义活性的寡核苷酸,包括反义化合物的寡核苷酸部分。反义寡核苷酸包括但不限于反义RNAi寡核苷酸和反义RNA酶H寡核苷酸。

[0056] 如本文所用,“有义寡核苷酸”意指能够与反义寡核苷酸杂交的寡核苷酸,包括有义化合物的寡核苷酸部分。

[0057] 如本文所用,“杂交”意指寡核苷酸和/或核酸的退火。虽然不限于特定机制,但最常见的杂交机制涉及互补核碱基之间的氢键,其可以是沃森-克里克(Watson-Crick)、霍氏(Hoogsteen)或反向霍氏氢键。在某些实施例中,互补核酸分子包括但不限于反义化合物和核酸靶标。在某些实施例中,互补核酸分子包括但不限于寡核苷酸和核酸靶标。

[0058] 如本文所用,“治疗”意指通过施用本文所述的寡聚化合物来改善受试者的疾病或病状。在某些实施例中,相对于不进行治疗的情况下的同一症状,治疗受试者改善了症状。在某些实施例中,治疗降低症状的严重性或频率,或延迟症状的发作,减缓症状的进展,或减缓症状的严重性或频率。

[0059] 如本文所用,“治疗有效量”意指向受试者提供治疗益处的药剂或组合物的量。例如,治疗有效量改善疾病的症状。

[0060] 某些实施例

[0061] 实施例1.一种寡聚化合物,其包含根据以下化学符号的经修饰的寡核苷酸:

[0062] $A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:23);

[0063] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:24);

[0064] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:25);

[0065] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{no}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:26);

[0066] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{no}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:27);

[0067] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:28);

[0068] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:29);

[0069] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:30);

[0070] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{no}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:31);

[0071] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:32)；

[0072] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:33)；

[0073] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:34)；

[0074] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:35)；

[0075] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{no}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:36)；

[0076] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:37)；

[0077] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:38)；

[0078] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:39)；

[0079] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{no}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:40)；

[0080] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{no}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:41)；

[0081] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{ns}T_{no}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:42)；

[0082] $A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:43)；或

[0083] $A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:44)；

[0084] 其中：

[0085] A＝腺嘌呤核碱基，

[0086] ^{m}C＝5-甲基胞嘧啶核碱基，

[0087] G＝鸟嘌呤核碱基，

[0088] T＝胸腺嘧啶核碱基，

[0089] n＝2'-NMA糖部分，

[0090] s＝硫代磷酸酯核苷间键，并且

[0091] o＝磷酸二酯核苷间键。

[0092] 实施例2.根据实施例1所述的寡聚化合物，其由经修饰的寡核苷酸组成。

[0093] 实施例3.根据实施例1或实施例2所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸为游离酸。

[0094] 实施例4.根据实施例1或实施例2所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸为盐。

[0095] 实施例5.根据实施例4所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸为钠盐或钾盐。

[0096] 实施例6.一种寡聚化合物，其包含经修饰的寡核苷酸，该经修饰的寡核苷酸由17至30个连接的核苷组成，并且具有SEQ ID NO:19至22或63至86的核碱基序列中的任一者的、包含至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24或至少25个连续核碱基的核碱基序列，其中该经修饰的寡核苷酸包含至少一个选自经修饰的糖部分和经修饰的核苷间键的修饰。

[0097] 实施例7.根据实施例6所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸由18-25个连接的核苷组成。

[0098] 实施例8.根据实施例6至7中任一项所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸由18、23或25个连接的核苷组成。

[0099] 实施例9.根据实施例6所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸的核碱基序列包括SEQ ID No:19至22或63至86中的任一者的核碱基序列。

[0100] 实施例10.根据实施例6所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸的核碱基序列

由SEQ ID No:19至22或63至86中的任一者的核碱基序列组成。

[0101] 实施例11.根据实施例6至10中任一项所述的寡聚化合物,其中经修饰的寡核苷酸包含至少一个经修饰的糖部分。

[0102] 实施例12.根据实施例11中任一项所述的寡聚化合物,其中经修饰的寡核苷酸包含至少一个非双环经修饰的糖部分。

[0103] 实施例13.根据实施例12所述的寡聚化合物,其中非双环经修饰的糖部分为2'-MOE糖部分或2'-NMA糖部分。

[0104] 实施例14.根据实施例11至13中任一项所述的寡聚化合物,其中经修饰的寡核苷酸的每个核苷包含经修饰的糖部分。

[0105] 实施例15.根据实施例11至14中任一项所述的寡聚化合物,其中每个经修饰的糖部分为2'-NMA糖部分。

[0106] 实施例16.根据实施例6至15中任一项所述的寡聚化合物,其中经修饰的寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷间键。

[0107] 实施例17.根据实施例16所述的寡聚化合物,其中至少一个经修饰的核苷间键为硫代磷酸酯核苷间键。

[0108] 实施例18.根据实施例16或实施例17所述的寡聚化合物,其中经修饰的寡核苷酸包含至少一个磷酸二酯核苷间键。

[0109] 实施例19.根据实施例16至18中任一项所述的寡聚化合物,其中每个核苷间键独立地选自磷酸二酯核苷间键和硫代磷酸酯核苷间键。

[0110] 实施例20.根据实施例16、17或19中任一项所述的寡聚化合物,其中每个核苷间键为硫代磷酸酯核苷间键。

[0111] 实施例21.根据实施例6至20中任一项所述的寡聚化合物,其中经修饰的寡核苷酸包含至少一个经修饰的核碱基。

[0112] 实施例22.根据实施例21所述的寡聚化合物,其中经修饰的核碱基为5-甲基胞嘧啶

[0113] 实施例23.一种寡聚化合物,其包含根据以下化学符号的经修饰的寡核苷酸:

[0114] $G_{ns}G_{ns}T_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:45);

[0115] $G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:46);

[0116] $A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:47);

[0117] $T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{no}G_{no}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:48);

[0118] $^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{no}T_{no}G_{ns}G_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:49);

[0119] $^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{no}G_{no}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:50);

[0120] $A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:51);

[0121] $T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID

NO:52)；

[0122] $^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{no}T_{no}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:53)；

[0123] $^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:54)；

[0124] $A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:55)；

[0125] $T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:56)；

[0126] $^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:57)；

[0127] $^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:58)；

[0128] $A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:59)；

[0129] $T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:60)；

[0130] $^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:61)；或

[0131] $^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:62)，

[0132] 其中：

[0133] A＝腺嘌呤核碱基，

[0134] ^{m}C＝5-甲基胞嘧啶核碱基，

[0135] G＝鸟嘌呤核碱基，

[0136] T＝胸腺嘧啶核碱基，

[0137] n＝2'-NMA糖部分，

[0138] s＝硫代磷酸酯核苷间键，并且

[0139] o＝磷酸二酯键。

[0140] 实施例24.根据实施例23所述的寡聚化合物，其由经修饰的寡核苷酸组成。

[0141] 实施例25.根据实施例23或实施例24所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸为游离酸。

[0142] 实施例26.根据实施例23或实施例24所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸为盐。

[0143] 实施例27.根据实施例26所述的寡聚化合物，其中经修饰的寡核苷酸为钠盐或钾盐。

[0144] 实施例28.根据实施例1至27中任一项所述的寡聚化合物的群，其中经修饰的寡核苷酸的硫代磷酸酯核苷间键中的全部均是立构无规的。

[0145] 实施例29.一种药物组合物，其包含根据实施例1至27中任一项所述的寡聚化合物

或根据实施例28所述的寡聚化合物的群,以及药学上可接受的稀释剂。

[0146] 实施例30.根据实施例29所述的药物组合物,其中药学上可接受的稀释剂为人工脑脊液(aCSF)或PBS。

[0147] 实施例31.根据实施例29或实施例30所述的药物组合物,其中药物组合物基本上由该寡聚化合物和aCSF或PBS组成。

[0148] 实施例32.根据实施例29至31中任一项所述的药物组合物,其中药物组合物基本上由经修饰的寡核苷酸的群或寡聚化合物的群和aCSF或PBS组成。

[0149] 实施例33.一种方法,其包括向受试者施用根据实施例1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据实施例28所述的寡聚化合物的群或根据实施例29至32中任一项所述的药物组合物。

[0150] 实施例34.一种治疗与SCN1A相关的疾病的方法,该方法包括向患有与SCN1A相关的疾病的受试者施用治疗有效量的根据实施例1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据实施例28所述的寡聚化合物的群或根据实施例29至32中任一项所述的药物组合物,从而治疗该与SCN1A相关的疾病。

[0151] 实施例35.根据实施例34所述的方法,其中与SCN1A相关的疾病为发育性或癫痫性脑病疾病。

[0152] 实施例36.根据实施例35所述的方法,其中发育性或癫痫性脑病疾病为Dravet综合征。

[0153] 实施例37.根据实施例35或实施例36所述的方法,其中发育性或癫痫性脑病疾病为遗传性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)、热性惊厥、特发性/一般性全面性癫痫(IGE/GGE)、颞叶癫痫、肌阵挛站立不能性癫痫(MAE)、伦诺克斯-加斯托综合征或婴儿游走性部分性癫痫(MMPSI)中的任一者。

[0154] 实施例38.根据实施例33至37中任一项所述的方法,其中施用寡聚化合物、寡聚化合物的群或药物组合物降低癫痫发作的频率、减少癫痫发作的持续时间、减少癫痫持续状态、改善行为功能、改善运动和平衡、改善骨科病状、改善运动功能、减少认知障碍、改善语言和言语、改善视觉运动整合功能、即兴视觉感知功能、改善执行功能或减少自主神经功能障碍。

[0155] 实施例39.根据实施例38所述的方法,其中癫痫发作是频繁的或持续时间延长的。

[0156] 实施例40.根据实施例38或实施例39所述的方法,其中癫痫发作是惊厥性、肌阵挛性、失神性、局灶性、迟钝状态或强直性中的任一种。

[0157] 实施例41.根据实施例33至40中任一项所述的方法,其中癫痫发作的频率降低。

[0158] 实施例42.根据实施例33至41中任一项所述的方法,其中癫痫发作的持续时间减少。

[0159] 实施例43.根据实施例33至42中任一项所述的方法,其中受试者为人。

[0160] 实施例44.一种增加细胞中的SCN1A的表达的方法,该方法包括使细胞与根据实施例1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据实施例28所述的寡聚化合物的群或根据实施例29至32中任一项所述的药物组合物接触。

[0161] 实施例45.一种调节细胞中的SCN1A RNA的剪接的方法,该方法包括使该细胞与根据实施例1至27中任一项所述的寡聚化合物接触。

[0162] 实施例46.根据实施例45所述的方法,其中包含NIE的SCN1A RNA的量减少。

[0163] 实施例47.根据实施例45或实施例46所述的方法,其中包含NIE-1的SCN1ARNA的量减少。

[0164] 实施例48.根据实施例45至47中任一项所述的方法,其中排除NIE的SCN1ARNA的量增加。

[0165] 实施例49.根据实施例45至48中任一项所述的方法,其中排除NIE-1的SCN1ARNA的量增加。

[0166] 实施例50.根据实施例45至49中任一项所述的方法,其中细胞为大脑皮层、海马体、脑干或丘脑细胞。

[0167] 实施例51.根据实施例45至50中任一项所述的方法,其中细胞为人细胞。

[0168] 实施例52.根据实施例1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据实施例28所述的寡聚化合物的群或根据实施例29至32中任一项所述的药物组合物用于治疗与SCN1A相关的疾病的用途。

[0169] 实施例53.根据实施例1至27中任一项所述的寡聚化合物、根据实施例28所述的寡聚化合物的群或根据实施例29至32中任一项所述的药物组合物在制造用于治疗与SCN1A相关的疾病的药物中的用途。

[0170] 实施例54.根据实施例52或实施例53所述的用途,其中与SCN1A相关的疾病为发育性或癫痫性脑病疾病。

[0171] 实施例55.根据实施例54所述的用途,其中发育性或癫痫性脑病疾病为Dravet综合征。

[0172] 实施例56.根据实施例54或实施例55所述的用途,其中发育性或癫痫性脑病疾病为遗传性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)、热性惊厥、特发性/一般性全面性癫痫(IGE/GGE)、颞叶癫痫、肌阵挛站立不能性癫痫(MAE)、伦诺克斯-加斯托综合征或婴儿游走性部分性癫痫(MMPSI)中的任一者。

[0173] 某些组合物

[0174] 在某些实施例中,化合物由下表中的化学符号表示。

[0175] 表1

[0176] 某些组合物

[0177] 在某些实施例中,化合物由以下化学符号(5'至3')表示:

[0178]

化合物编号	化学符号(5'至3')	SEQ ID NO
1464713	$A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	23
1464714	$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	24
1464717	$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	25
1464718	$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{no}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	26

1464719	$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{no}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	27
1464720	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	28
1464721	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	29
1464722	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	30
1464723	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{no}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	31
1594953	$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	32
1594954	$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	33
1594955	$A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	34
1594956	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	35
1594960	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{no}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	36
1594962	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	37
1594963	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	38
1594964	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	39
1594965	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{no}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	40
1594966	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{no}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	41
1594967	$A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{ns}T_{no}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	42
1594968	$A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$	43
1594969	$A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{n}$	44
1669097	$G_{ns}G_{ns}T_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{n}$	45
1669102	$G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{n}$	46
1669084	$A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$	47
1669085	$T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{no}G_{no}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$	48
1669086	$^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{no}T_{no}G_{ns}G_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$	49
1669087	$^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{no}G_{no}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$	50
1669088	$A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$	51
1669089	$T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$	52
1669090	$^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{no}T_{no}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$	53
1669091	$^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$	54
1669093	$A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$	55
1669094	$T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$	56
1669095	$^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$	57
1669096	$^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$	58
1669098	$A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$	59
1669099	$T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$	60
1669100	$^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$	61

[0179]

[0180]

1669101	$^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$	62

[0181] 其中,

[0182] A＝腺嘌呤核碱基,

[0183] ^{m}C＝5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0184] G＝鸟嘌呤核碱基,

[0185] T＝胸腺嘧啶核碱基,

[0186] n＝2'-NMA糖部分,

[0187] s＝硫代磷酸酯核苷间键,并且

[0188] o＝磷酸二酯核苷间键。

[0189] I.某些寡核苷酸

[0190] 在某些实施例中,本文提供包含寡核苷酸的寡聚化合物,该寡核苷酸由连接的核苷组成。寡核苷酸可以是未经修饰的寡核苷酸(RNA或DNA)或者可以是经修饰的寡核苷酸。经修饰的寡核苷酸包含相对于未经修饰的RNA或DNA的至少一个修饰。也就是说,经修饰的寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷(包含经修饰的糖部分和/或经修饰的核碱基)和/或至少一个经修饰的核苷间键。

[0191] 某些实施例提供了一种包含经修饰的寡核苷酸的寡聚化合物,该经修饰的寡核苷酸由17至30个连接的核苷组成,并且具有SEQ ID NO:19至22或63至86的核碱基序列中的任一者的、包含至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24或至少25个连续核碱基的核碱基序列,其中该经修饰的寡核苷酸包含至少一个选自经修饰的糖部分和经修饰的核苷间键的修饰。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由18-25个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由18、23或25个连接的核苷组成。

[0192] 某些实施例提供了一种包含经修饰的寡核苷酸的寡聚化合物,该经修饰的寡核苷酸包含SEQ ID No:19至22或63至86中的任一者的核碱基序列。

[0193] 某些实施例提供了一种包含经修饰的寡核苷酸的寡聚化合物,该经修饰的寡核苷酸由SEQ ID No:19至22或63至86中的任一者的核碱基序列组成。

[0194] 某些实施例提供了一种寡聚化合物,其包含根据以下化学符号的经修饰的寡核苷酸:

[0195] $A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:23);

[0196] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:24);

[0197] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:25);

[0198] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{no}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:26);

[0199] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{no}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:27);

[0200] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:28);

[0201] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:29);

[0202] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:30);

[0203] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{no}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:31);

[0204] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:32);

[0205] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:33);

[0206] $A_{ns}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:34);

[0207] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:35)；

[0208] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{no}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:36)；

[0209] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:37)；

[0210] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:38)；

[0211] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:39)；

[0212] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{no}T_{ns}T_{no}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:40)；

[0213] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{no}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:41)；

[0214] $A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{no}A_{ns}T_{no}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:42)；

[0215] $A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:43)；或

[0216] $A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{n}$(SEQ ID NO:44)；

[0217] 其中：

[0218] A＝腺嘌呤核碱基，

[0219] ^{m}C＝5-甲基胞嘧啶核碱基，

[0220] G＝鸟嘌呤核碱基，

[0221] T＝胸腺嘧啶核碱基，

[0222] n＝2'-NMA糖部分，

[0223] s＝硫代磷酸酯核苷间键，并且

[0224] o＝磷酸二酯核苷间键。

[0225] 某些实施例提供了一种寡聚化合物，其包含根据以下化学符号的经修饰的寡核苷酸：

[0226] $G_{ns}G_{ns}T_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:45)；

[0227] $G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}G_{ns}T_{ns}A_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:46)；

[0228] $A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:47)；

[0229] $T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{no}G_{no}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:48)；

[0230] $^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{no}T_{no}G_{ns}G_{no}A_{no}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:49)；

[0231] $^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{no}G_{no}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:50)；

[0232] $A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:51)；

[0233] $T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{no}T_{no}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:52)；

[0234] $^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{no}T_{no}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:53)；

[0235] $^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{no}G_{no}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:54)；

[0236] $A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{no}{}^{m}C_{no}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID

NO:55)；

[0237] $T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{no}A_{no}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:56)；

[0238] $^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{no}A_{no}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:57)；

[0239] $^{m}C_{ns}A_{ns}A_{no}G_{no}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:58)；

[0240] $A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:59)；

[0241] $T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:60)；

[0242] $^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{n}$(SEQ ID NO:61)；或

[0243] $^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}T_{ns}T_{ns}G_{ns}G_{ns}A_{ns}G_{ns}{}^{m}C_{ns}A_{ns}A_{ns}G_{ns}A_{ns}T_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}{}^{m}C_{ns}{}^{m}C_{ns}T_{ns}A_{ns}T_{ns}A_{n}$(SEQ ID NO:62)，

[0244] 其中：

[0245] A＝腺嘌呤核碱基，

[0246] ^{m}C＝5-甲基胞嘧啶核碱基，

[0247] G＝鸟嘌呤核碱基，

[0248] T＝胸腺嘧啶核碱基，

[0249] n＝2'-NMA糖部分，

[0250] s＝硫代磷酸酯核苷间键，并且

[0251] o＝磷酸二酯核苷间键。

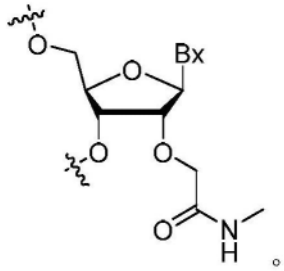
[0252] A.某些经修饰的核苷

[0253] 经修饰的核苷包含经修饰的糖部分或经修饰的核碱基或者经修饰的糖部分和经修饰的核碱基两者。在某些实施例中，包含以下经修饰的糖部分和/或以下经修饰的核碱基的经修饰的核苷可以掺入经修饰的寡核苷酸中。

[0254] 1.某些糖部分

[0255] 在某些实施例中，经修饰的糖部分为包含具有一个或多个取代基的呋喃糖基环的非双环经修饰的糖部分，其中没有一个取代基桥接呋喃糖基环的两个原子以形成双环结构。此类非桥接取代基可以位于呋喃糖基的任何位置处，包括但不限于2'、3'、4'和/或5'位置处的取代基。适合用于非双环经修饰的糖部分的2'-取代基的实例包括但不限于：2'-O$(CH_2)_2OCH_3$("MOE"或"O-甲氧基乙基")和2'-O-N-甲基乙酰胺("NMA")(参见U.S.6,147,200,Prakash等人,2003,Org.Lett.,5,403-6)。

[0256] "2'-O-N-甲基乙酰胺核苷"或"2'-NMA核苷"如下所示：

[0257] 

。

[0258] 在某些实施例中,非双环经修饰的糖部分为2'-MOE糖部分或2'-NMA糖部分。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的每个核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施例中,经修饰的糖部分为2'-NMA糖部分。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的每个核苷包含2'-NMA糖部分。

[0259] 在某些实施例中,经修饰的呋喃糖基糖部分和掺入此类经修饰的呋喃糖基糖部分的核苷由异构构型进一步限定。例如,除了天然存在的β-D-脱氧核糖基构型外,2'-脱氧呋喃糖基糖部分可以呈七种异构构型。此类经修饰的糖部分描述于例如WO 2019/157531中,其通过引用并入本文。2'-经修饰的糖部分相对于2'-脱氧呋喃糖基糖部分在2'-位置处具有额外的立体中心;因此,此类糖部分总共具有十六种可能的异构构型。除非另有说明,本文所述的2'-经修饰的糖部分呈β-D-核糖基异构构型。

[0260] 2.某些经修饰的核碱基

[0261] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含一个或多个包含未经修饰的核碱基的核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含一个或多个包含经修饰的核碱基的核苷。经修饰的核碱基的实例包括5-甲基胞嘧啶。

[0262] 教导某些经修饰的核碱基的制备的出版物包括但不限于Manoharan等人,US2003/0158403;Manoharan等人,US2003/0175906;Dinh等人,U.S.4,845,205;Spielvogel等人,U.S.5,130,302;Rogers等人,U.S.5,134,066;Bischofberger等人,U.S.5,175,273;Urdea等人,U.S.5,367,066;Benner等人,U.S.5,432,272;Matteucci等人,U.S.5,434,257;Gmeiner等人,U.S.5,457,187;Cook等人,U.S.5,459,255;Froehler等人,U.S.5,484,908;Matteucci等人,U.S.5,502,177;Hawkins等人,U.S.5,525,711;Haralambidis等人,U.S.5,552,540;Cook等人,U.S.5,587,469;Froehler等人,U.S.5,594,121;Switzer等人,U.S.5,596,091;Cook等人,U.S.5,614,617;Froehler等人,U.S.5,645,985;Cook等人,U.S.5,681,941;Cook等人,U.S.5,811,534;Cook等人,U.S.5,750,692;Cook等人,U.S.5,948,903;Cook等人,U.S.5,587,470;Cook等人,U.S.5,457,191;Matteucci等人,U.S.5,763,588;Froehler等人,U.S.5,830,653;Cook等人,U.S.5,808,027;Cook等人,U.S.6,166,199;和Matteucci等人,U.S.6,005,096。

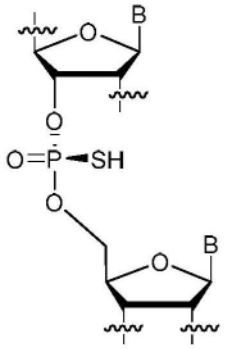
[0263] 3.某些经修饰的核苷间键

[0264] 天然存在的RNA和DNA的核苷间键为3'至5'磷酸二酯键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的核苷可以使用一个或多个经修饰的核苷间键连接在一起。两类主要的核苷间连接基团由磷原子的存在或不存在来定义。代表性的含磷核苷间键包括但不限于含有磷酸二酯键("P=O")的磷酸酯(也称为未经修饰的或天然存在的键)、磷酸三酯、甲基膦酸酯、氨基磷酸酯和硫代磷酸酯("P=S")以及二硫代磷酸酯("HS-P=S")。与天然存在的磷酸酯键相比,经修饰的核苷间键可用于改变、通常地增加寡核苷酸的核酸酶抗性。在某些实施例

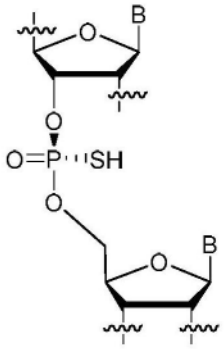
中,具有手性原子的核苷间键可以制备为外消旋混合物,或制备为单独的对映异构体。含磷和不含磷核苷间键的制备方法是本领域技术人员众所周知的。

[0265] 具有手性中心的代表性核苷间键包括但不限于硫代磷酸酯。包含具有手性中心的核苷间键的经修饰的寡核苷酸可以制备为包含立构无规核苷间键的经修饰的寡核苷酸的群,或制备为包含硫代磷酸酯或其他含有呈特定立体化学构型的手性中心的键的经修饰的寡核苷酸的群。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的群包含硫代磷酸酯核苷间键,其中硫代磷酸酯核苷间键中的全部均是立构无规的。此类经修饰的寡核苷酸可以使用引起每个硫代磷酸酯键的立体化学构型的随机选择的合成方法来产生。尽管如此,每个单个寡核苷酸分子的每个单个硫代磷酸酯均具有确定的立体构型。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的群富集包含呈特定的、独立选择的立体化学构型的一个或多个特定硫代磷酸酯核苷间键的经修饰的寡核苷酸。在某些实施例中,特定硫代磷酸酯键的特定构型存在于群中至少65%的分子中。在某些实施例中,特定硫代磷酸酯键的特定构型存在于群中至少70%的分子中。在某些实施例中,特定硫代磷酸酯键的特定构型存在于群中至少80%的分子中。在某些实施例中,特定硫代磷酸酯键的特定构型存在于群中至少90%的分子中。在某些实施例中,特定硫代磷酸酯键的特定构型存在于群中至少99%的分子中。此类手性富集的经修饰的寡核苷酸的群可以使用本领域已知的合成方法产生,例如以下文献中描述的方法:Oka等人,JACS125,8307(2003),Wan等人Nuc.Acid.Res.42,13456(2014)和WO 2017/015555。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的群富集具有至少一个呈(Sp)构型的所示硫代磷酸酯的经修饰的寡核苷酸。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的群富集具有至少一个呈(Rp)构型的硫代磷酸酯的经修饰的寡核苷酸。在某些实施例中,包含(Rp)和/或(Sp)硫代磷酸酯的经修饰的寡核苷酸分别包含一个或多个下式,其中"B"表示核碱基:

[0266]



(R_p)



(S_p)

[0267] 除非另有说明,本文所述的经修饰的寡核苷酸的手性核苷间键可以是立构无规的或呈特定的立体化学构型。

[0268] B.某些基序

[0269] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含一个或多个包含经修饰的糖部分的经修饰的核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含一个或多个包含经修饰的核碱基的经修饰的核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷间键。在此类实施例中,经修饰的寡核苷酸的经修饰的、未经修饰的和经不同修饰的糖部分、核碱基和/或核苷间键限定模式或基序。在某些实施例中,糖部分、核碱基和核苷间键的模式各自彼此独立。因此,经修饰的寡核苷酸可以通过其糖基序、核碱基基序和/或核苷间键基序来

描述(如本文所用,核碱基基序描述了对核碱基的独立于核碱基序列的修饰)。

[0270] 1.某些糖基序

[0271] 在某些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种类型的沿寡核苷酸或其区域以限定的模式或糖基序排列的经修饰的糖和/或未经修饰的糖部分。在某些情况下,此类糖基序包括但不限于本文所讨论的糖修饰中的任一者。

[0272] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸或其部分的每个核苷包含2'-取代的糖部分、双环糖部分、糖替代物或2'-脱氧核糖基糖部分。在某些实施例中,2'-取代的糖部分选自2'-MOE糖部分或2'-NMA糖部分。

[0273] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的每个核苷包含经修饰的糖部分("经完全修饰的寡核苷酸")。在某些实施例中,经完全修饰的寡核苷酸的每个核苷包含2'-取代的糖部分。在某些实施例中,2'-取代的糖部分选自2'-MOE糖部分或2'-NMA糖部分。在某些实施例中,经完全修饰的寡核苷酸的每个核苷包含相同的经修饰的糖部分("经均一修饰的糖基序")。在某些实施例中,经均匀修饰的糖基序的长度为7至20个核苷。在某些实施例中,经均匀修饰的糖基序的每个核苷包含2'-取代的糖部分。在某些实施例中,2'-取代的糖部分选自2'-MOE糖部分或2'-NMA糖部分。在某些实施例中,2'-取代的糖部分为2'-NMA糖部分。

[0274] 2.某些核碱基基序

[0275] 在某些实施例中,寡核苷酸包含沿寡核苷酸或其区域以限定的模式或基序排列的经修饰的和/或未经修饰的核碱基。在某些实施例中,每个核碱基均经修饰。在某些实施例中,核碱基中没有一个经修饰。在某些实施例中,每个嘌呤或每个嘧啶均经修饰。在某些实施例中,每个胞嘧啶均经修饰。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸中的胞嘧啶核碱基中的一些或全部为5-甲基胞嘧啶。在某些实施例中,胞嘧啶核碱基中的全部均为5-甲基胞嘧啶,并且经修饰的寡核苷酸的其他核碱基中的全部均为未经修饰的核碱基。

[0276] 3.某些核苷间键基序

[0277] 在某些实施例中,寡核苷酸包含沿寡核苷酸或其区域以限定的模式或基序排列的经修饰的和/或未经修饰的核苷间键。在某些实施例中,每个核苷间连接基团均为磷酸二酯核苷间键(P=O)。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的每个核苷间连接基团均为硫代磷酸酯核苷间键(P=S)。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸的每个核苷间键独立地选自硫代磷酸酯核苷间键和磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷间键独立地选自立构无规硫代磷酸酯、(Sp)硫代磷酸酯和(Rp)硫代磷酸酯。

[0278] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:soossssssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sosossssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sossossssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sosssosssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sosssssosssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核

苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:ssssoosssssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssssoossssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssssssoossssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssssssssoossss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sosssssssssosssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sosssssssssssssoss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssoosssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssssssssssooss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。.在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:ssssssosssssssoss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssssssosssssoss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssssssssosssoss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssssssssosososs,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:sssssssssssosssoss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:ossssssssssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:ossssssssssssssssso,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:ssoosoosoossssssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:ssoossssssssssssssssss,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5'至3')的核苷间键基序:

ssoossssssssssssssssss,其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个“o”代表磷酸二酯核苷间键。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有(5’至3’)的核苷间键基序:ssoosoossssssssssssssssss,其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键并且每个“o”代表磷酸二酯核苷间键。

[0279] 4.某些长度

[0280] 在某些实施例中,寡核苷酸(包括经修饰的寡核苷酸)可以具有多种长度范围中的任一种。在某些实施例中,寡核苷酸由X至Y个连接的核苷组成,其中X代表该范围中最少数量的核苷并且Y代表该范围中最大数量的核苷。在某些此类实施例中,X和Y各自独立地选自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和50;前提是X≤Y。例如,在某些实施例中,寡核苷酸由17至18、17至19、17至20、17至21、17至22、17至23、17至24、17至25、17至26、17至27、17至28、17至29、17至30、18至19、18至20、18至21、18至22、18至23、18至24、18至25、18至26、18至27、18至28、18至29、18至30、19至20、19至21、19至22、19至23、19至24、19至25、19至26、19至27、19至28、19至29、19至30、20至21、20至22、20至23、20至24、20至25、20至26、20至27、20至28、20至29、20至30、21至22、21至23、21至24、21至25、21至26、21至27、21至28、21至29、21至30、22至23、22至24、22至25、22至26、22至27、22至28、22至29、22至30、23至24、23至25、23至26、23至27、23至28、23至29、23至30、24至25、24至26、24至27、24至28、24至29、24至30、25至26、25至27、25至28、25至29、25至30、26至27、26至28、26至29、26至30、27至28、27至29、27至30、28至29、28至30、或29至30个连接的核苷组成。

[0281] 在某些实施例中,寡核苷酸由17个连接的核苷组成。在某些实施例中,寡核苷酸由18个连接的核苷组成。在某些实施例中,寡核苷酸由19个连接的核苷组成。在某些实施例中,寡核苷酸由20个连接的核苷组成。在某些实施例中,寡核苷酸由23个连接的核苷组成。在某些实施例中,寡核苷酸由25个连接的核苷组成。

[0282] B.某些经修饰的寡核苷酸的群

[0283] 经修饰的寡核苷酸的群(其中该群的所有经修饰的寡核苷酸具有相同的分子式)可以是立构无规的群或手性富集的群。在立构无规的群中,经修饰的寡核苷酸中的全部寡核苷酸的手性中心中的全部手性中心均是立构无规的。在手性富集的群中,在该群的经修饰的寡核苷酸中,至少一个特定的手性中心不是立构无规的。

[0284] 某些寡聚化合物

[0285] 在某些实施例中,本文提供寡聚化合物,其由寡核苷酸(经修饰的或未经修饰的)和任选的一个或多个缀合基团和/或末端基团组成。缀合基团由一个或多个缀合物部分和将缀合物部分连接到寡核苷酸的缀合物接头组成。缀合基团可以附接至寡核苷酸的任一端或两端和/或附接在任何内部位置处。在某些实施例中,缀合基团附接至经修饰的寡核苷酸的核苷的2’-位置。在某些实施例中,附接至寡核苷酸的任一端或两端的缀合基团为末端基团。在某些此类实施例中,缀合基团或末端基团附接在寡核苷酸的3’和/或5’-端处。在某些此类实施例中,缀合基团(或末端基团)附接在寡核苷酸的3’-端处。在某些实施例中,缀合基团附接在寡核苷酸的3’-端附近。在某些实施例中,缀合基团(或末端基团)附接在寡核苷酸的5’-端处。在某些实施例中,缀合基团附接在寡核苷酸的5’-端附近。

[0286] 末端基团的实例包括但不限于缀合基团、封端基团、磷酸酯部分、保护基团、经修

饰或未经修饰的核苷以及独立地经修饰或未经修饰的两个或更多个核苷。

[0287] A.某些缀合基团

[0288] 在某些实施例中,寡核苷酸共价附接至一个或多个缀合基团。在某些实施例中,缀合基团改变所附接的寡核苷酸的一种或多种性质,包括但不限于药效学、药代动力学、稳定性、结合、吸收、组织分布、细胞分布、细胞摄取、电荷和清除。

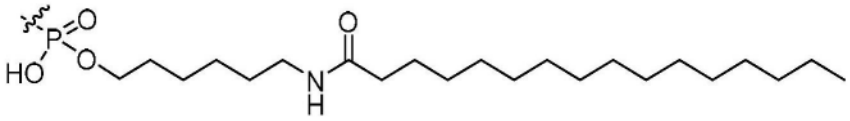
[0289] 在某些实施例中,一个或多个碳水化合物部分与经修饰的寡核苷酸的缀合可以优化该经修饰的寡核苷酸的一种或多种性质。在某些实施例中,碳水化合物部分附接至经修饰的寡核苷酸的经修饰的亚基。例如,经修饰的寡核苷酸的一个或多个核糖核苷酸亚基的核糖可以经另一部分、例如附接有碳水化合物配体的非碳水化合物(优选环状)载体替换。其中亚基的核糖已经经如此替换的核糖核苷酸亚基在本文中称为核糖替换修饰亚基(RRMS),其为经修饰的糖部分。环状载体可以为碳环系统,即一个或多个环原子可以为杂原子,例如氮、氧、硫。环状载体可以为单环系统,或者可以含有两个或更多个环,例如稠合环。环状载体可以为完全饱和的环系,或者它可以含有一个或多个双键。

[0290] 在某些实施例中,缀合基团赋予所附接的寡核苷酸新的性质,例如能够检测寡核苷酸的荧光团或报告基团。某些缀合基团和缀合物部分先前已有描述,例如:胆固醇部分(Letsinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1989,86,6553-6556),胆酸(Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1994,4,1053-1060),硫醚,例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人,Ann.N.Y.Acad.Sci.,1992,660,306-309;Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1993,3,2765-2770),硫代胆固醇(Oberhauser等人,Nucl.Acids Res.,1992,20,533-538),脂肪族链,例如十二烷二醇或十一烷基残基(Saison-Behmoaras等人,EMBO J.,1991,10,1111-1118;Kabanov等人,FEBS Lett.,1990,259,327-330;Svinarchuk等人,Biochimie,1993,75,49-54),磷脂,例如二-十六烷基-外消旋-甘油或三乙铵1,2-二-O-十六烷基-外消旋-甘油-3-H-膦酸酯(Manoharan等人,Tetrahedron Lett.,1995,36,3651-3654;Shea等人,Nucl.Acids Res.,1990,18,3777-3783),聚胺或聚乙二醇链(Manoharan等人,Nucleosides&Nucleotides,1995,14,969-973)或金刚烷乙酸棕榈酰部分(Mishra等人,Biochim.Biophys.Acta,1995,1264,229-237),十八胺或己基氨基-羰基-氧胆甾醇部分(Crooke等人,J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277,923-937),生育酚基团(Nishina等人,Molecular Therapy Nucleic Acids,2015,4,e220;和Nishina等人,Molecular Therapy,2008,16,734-740),或GalNAc簇(例如,WO2014/179620)。

[0291] 在某些实施例中,缀合基团可以包含选自以下中的任一者的缀合物部分:C22烷基、C20烷基、C16烷基、C10烷基、C21烷基、C19烷基、C18烷基、C17烷基、C15烷基、C14烷基、C13烷基、C12烷基、C11烷基、C9烷基、C8烷基、C7烷基、C6烷基、C5烷基、C22烯基、C20烯基、C16烯基、C10烯基、C21烯基、C19烯基、C18烯基、C17烯基、C15烯基、C14烯基、C13烯基、C12烯基、C11烯基、C9烯基、C8烯基、C7烯基、C6烯基或C5烯基。

[0292] 在某些实施例中,缀合基团可以包含选自以下中的任一者的缀合物部分:C22烷基、C20烷基、C16烷基、C10烷基、C21烷基、C19烷基、C18烷基、C17烷基、C15烷基、C14烷基、C13烷基、C12烷基、C11烷基、C9烷基、C8烷基、C7烷基、C6烷基或C5烷基,其中烷基链具有一个或多个不饱和键。

[0293] 在某些实施例中,缀合基团是具有以下结构的脂质:

[0294] 

[0295] 1.缀合物部分

[0296] 缀合物部分包括但不限于嵌入剂、报告分子、聚胺、聚酰胺、肽、碳水化合物(例如GalNAc)、维生素部分、聚乙二醇、硫醚、聚醚、胆固醇、硫代胆固醇、胆酸部分、叶酸、脂质、磷脂、生物素、吩嗪、菲啶、蒽醌、金刚烷、吖啶、荧光素、罗丹明、香豆素、荧光团和染料。

[0297] 在某些实施例中,缀合物部分包含活性药物物质,例如,阿司匹林、华法林、苯基丁氮酮、布洛芬、舒洛芬、芬布芬、酮洛芬、(S)-(+)-普拉洛芬、卡洛芬、丹磺基肌氨酸(dansylsarcosine)、2,3,5-三碘苯甲酸、芬戈莫德、氟芬那酸、亚叶酸、苯并噻二嗪、氯噻嗪、二氮杂䓬、吲哚美辛、巴比妥酸盐、头孢菌素、磺胺类药、抗糖尿病药、抗菌药或抗生素。

[0298] 2.缀合物接头

[0299] 缀合物部分通过缀合物接头附接至寡核苷酸。在某些寡聚化合物中,缀合物接头为单个化学键(即,缀合物部分通过单键直接附接至寡核苷酸)。在某些实施例中,缀合物接头包含链结构、如烃基链,或重复单元、如乙二醇、核苷或氨基酸单元的寡聚物。

[0300] 在某些实施例中,缀合物接头包含吡咯烷。

[0301] 在某些实施例中,缀合物接头包含选自烷基、氨基、氧代、酰胺、二硫化物、聚乙二醇、醚、硫醚和羟基氨基的一个或多个基团。在某些此类实施例中,缀合物接头包含选自烷基、氨基、氧代、酰胺和醚基团的基团。在某些实施例中,缀合物接头包含选自烷基和酰胺基团的基团。在某些实施例中,缀合物接头包含选自烷基和醚基团的基团。在某些实施例中,缀合物接头包含至少一个磷部分。在某些实施例中,缀合物接头包含至少一个磷酸基团。在某些实施例中,缀合物接头包含至少一个中性连接基团。

[0302] 在某些实施例中,缀合物接头(包括上述缀合物接头)为双官能连接部分,例如本领域已知可用于将缀合物部分附接至化合物(如本文所提供的寡核苷酸)的那些。一般而言,双官能连接部分包含至少两个官能团。官能团中的一个官能团经选择用以与化合物上的特定位点反应,并且另一个官能团经选择用以与缀合物部分反应。双官能连接部分中使用的官能团的实例包括但不限于用于与亲核基团反应的亲电子试剂和用于与亲电子基团反应的亲核试剂。在某些实施例中,双官能连接部分包含选自氨基、羟基、羧酸、硫醇、烷基、烯基和炔基的一个或多个基团。

[0303] 缀合物接头的实例包括但不限于吡咯烷、8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(ADO)、4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚氨酯(SMCC)和6-氨基己酸(AHEX或AHA)。其他缀合物接头包括但不限于取代或未取代的C_1-C_{10}烷基、取代或未取代的C_2-C_{10}烯基或取代或未取代的C_2-C_{10}炔基,其中优选取代基的非限制性列表包括羟基、氨基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫代烷氧基、卤素、烷基、芳基、烯基和炔基。

[0304] 在某些实施例中,缀合物接头包含1-10个接头核苷。在某些实施例中,缀合物接头包含2-5个接头核苷。在某些实施例中,缀合物接头恰好包含3个接头核苷。在某些实施例中,缀合物接头包含TCA基序。在某些实施例中,此类接头核苷为经修饰的核苷。在某些实施例中,此类接头核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施例中,接头核苷是未经修饰的。在某些实施例中,接头核苷包含选自嘌呤、取代的嘌呤、嘧啶或取代的嘧啶的、任选的受保护的

杂环碱基。在某些实施例中,可裂解部分为选自尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、4-N-苯甲酰基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、4-N-苯甲酰基-5-甲基胞嘧啶、腺嘌呤、6-N-苯甲酰基腺嘌呤、鸟嘌呤和2-N-异丁酰基鸟嘌呤的核苷。通常需要在接头核苷到达靶组织后将其从寡聚化合物裂解。因此,接头核苷通常通过可裂解键彼此连接并与寡聚化合物的其余部分连接。在某些实施例中,此类可裂解键为磷酸二酯键。

[0305] 本文中,接头核苷不被认为是寡核苷酸的一部分。因此,在其中寡聚化合物包含由指定数量或范围的连接的核苷和/或与参考核酸的指定互补性百分比组成的寡核苷酸,且寡聚化合物还包含含有缀合物接头(该缀合物接头包含接头核苷)的缀合基团的实施例中,那些接头核苷不计入寡核苷酸的长度,并且不用于确定寡核苷酸与参考核酸的互补性百分比。例如,寡聚化合物可包含(1)由8-30个核苷组成的经修饰的寡核苷酸;和(2)包含与经修饰的寡核苷酸的核苷连续的1-10个接头核苷的缀合基团。此种寡聚化合物中连续连接的核苷的总数超过30个。替代地,寡聚化合物可包含由8-30个核苷组成且不含缀合基团的经修饰的寡核苷酸。此种寡聚化合物中连续连接的核苷的总数不超过30个。除非另有说明,缀合物接头包含不超过10个接头核苷。在某些实施例中,缀合物接头包含不超过5个接头核苷。在某些实施例中,缀合物接头包含不超过3个接头核苷。在某些实施例中,缀合物接头包含不超过2个接头核苷。在某些实施例中,缀合物接头包含不超过1个接头核苷。

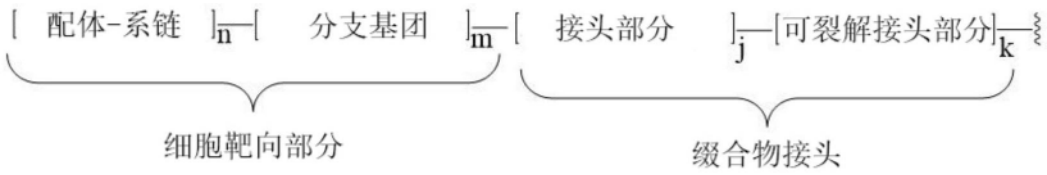
[0306] 在某些实施例中,需要将缀合基团从寡核苷酸裂解。例如,在某些情况下,包含特定缀合物部分的寡聚化合物更好地被特定细胞类型吸收,但是一旦寡聚化合物已被吸收,则需要裂解缀合基团以释放未缀合的或亲本寡核苷酸。因此,某些缀合物接头可包含一个或多个可裂解部分。在某些实施例中,可裂解部分为可裂解键。在某些实施例中,可裂解部分为包含至少一个可裂解键的原子团。在某些实施例中,可裂解部分包含具有一个、两个、三个、四个或多于四个可裂解键的原子团。在某些实施例中,可裂解部分在细胞或亚细胞区室(如溶酶体)内选择性地裂解。在某些实施例中,可裂解部分被内源性酶(如核酸酶)选择性地裂解。

[0307] 在某些实施例中,可裂解键选自酰胺、酯、醚、磷酸二酯的一种或两种酯、磷酸酯、氨基甲酸酯或二硫化物。在某些实施例中,可裂解键为磷酸二酯的一种或两种酯。在某些实施例中,可裂解部分包含磷酸酯或磷酸二酯。在某些实施例中,可裂解部分为寡核苷酸与缀合物部分或缀合基团之间的磷酸键。

[0308] 在某些实施例中,可裂解部分包含一个或多个接头核苷或由一个或多个接头核苷组成。在某些此类实施例中,该一个或多个接头核苷通过可裂解键彼此连接和/或与寡聚化合物的其余部分连接。在某些实施例中,此类可裂解键为未经修饰的磷酸二酯键。在某些实施例中,可裂解部分为2'-脱氧核苷,其通过磷酸核苷间键附接至寡核苷酸的3'或5'-末端核苷,并通过磷酸酯或硫代磷酸酯键共价附接至缀合物接头或缀合物部分的其余部分。在某些此类实施例中,可裂解部分为2'-脱氧腺苷。

[0309] 3.细胞靶向部分

[0310] 在某些实施例中,缀合基团包含细胞靶向部分。在某些实施例中,缀合基团具有通式:

[0311] 

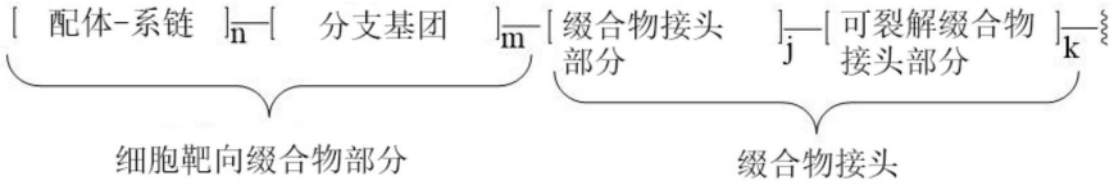
[0312] 其中n为1至约3,当n为1时m为0,当n为2或更大时m为1,j为1或0,且k为1或0。

[0313] 在某些实施例中,n为1、j为1,且k为0。在某些实施例中,n为1、j为0,且k为1。在某些实施例中,n为1、j为1,且k为1。在某些实施例中,n为2、j为1,且k为0。在某些实施例中,n为2、j为0,且k为1。在某些实施例中,n为2、j为1,且k为1。在某些实施例中,n为3、j为1,且k为0。在某些实施例中,n为3、j为0,且k为1。在某些实施例中,n为3、j为1,且k为1。

[0314] 在某些实施例中,缀合基团包含具有至少一个束缚配体的细胞靶向部分。在某些实施例中,细胞靶向部分包含共价附接至分支基团的两个束缚配体。

[0315] 在某些实施例中,细胞靶向部分的每个配体对靶细胞上的至少一种类型的受体具有亲和力。在某些实施例中,每个配体对哺乳动物肝细胞的表面上的至少一种类型的受体具有亲和力。在某些实施例中,每个配体对肝脱唾液酸糖蛋白受体(ASGP-R)具有亲和力。在某些实施例中,每个配体均为碳水化合物。

[0316] 在某些实施例中,缀合基团包含细胞靶向缀合物部分。在某些实施例中,缀合基团具有通式:

[0317] 

[0318] 其中n为1至约3,当n为1时m为0,当n为2或更大时m为1,j为1或0,且k为1或0。

[0319] 在某些实施例中,n为1、j为1,且k为0。在某些实施例中,n为1、j为0,且k为1。在某些实施例中,n为1、j为1,且k为1。在某些实施例中,n为2、j为1,且k为0。在某些实施例中,n为2、j为0,且k为1。在某些实施例中,n为2、j为1,且k为1。在某些实施例中,n为3、j为1,且k为0。在某些实施例中,n为3、j为0,且k为1。在某些实施例中,n为3、j为1,且k为1。

[0320] 在某些实施例中,缀合基团包含具有至少一个束缚配体的细胞靶向部分。在某些实施例中,细胞靶向部分包含共价附接至分支基团的两个束缚配体。在某些实施例中,细胞靶向部分包含共价附接至分支基团的三个束缚配体。

[0321] B.某些末端基团

[0322] 在某些实施例中,寡聚化合物包含一个或多个末端基团。在某些此类实施例中,寡聚化合物包含稳定的5'-磷酸酯。稳定的5'-磷酸酯包括但不限于5'-膦酸酯,包括但不限于5'-乙烯基膦酸酯。在某些实施例中,末端基团包含一个或多个脱碱基糖部分和/或反向核苷。在某些实施例中,末端基团包含一个或多个2'-连接的核苷或糖部分。在某些此类实施例中,2'-连接的基团为脱碱基糖部分。

[0323] II.反义活性

[0324] 在某些实施例中,寡聚化合物和寡聚双链体能够与靶核酸杂交,从而产生至少一种反义活性;此类寡聚化合物和寡聚双链体为反义化合物。在某些实施例中,当反义化合物在标准细胞测定中将靶核酸的量或活性降低或抑制25%或更多时,它们具有反义活性。在

某些实施例中,反义化合物选择性地影响一个或多个靶核酸。此类反义化合物包含与一个或多个靶核酸杂交从而产生一种或多种所需反义活性,并且不与一个或多个非靶核酸杂交,或不以产生大量不需要的反义活性的方式与一个或多个非靶核酸杂交的核碱基序列。

[0325] 在某些反义活性中,反义化合物与靶核酸的杂交引起裂解该靶核酸的蛋白质的募集。例如,某些反义化合物引起RNA酶H介导的靶核酸裂解。RNA酶H为细胞核酸内切酶,其裂解RNA:DNA双链体的RNA链。此种RNA:DNA双链体中的DNA不需要是未经修饰的DNA。在某些实施例中,本文描述了足够"类DNA"以引发RNA酶H活性的反义化合物。在某些实施例中,间隔寡核苷酸(gapmer)的间隙中的一个或多个非类DNA核苷是耐受的。

[0326] 在某些反义活性中,反义化合物或反义化合物的一部分被加载到RNA诱导的沉默复合物(RISC)中,最终引起靶核酸的裂解。例如,某些反义化合物使得靶核酸被Argonaute裂解。加载到RISC中的反义化合物为RNAi化合物。RNAi化合物可以是双链的(siRNA或dsRNAi)或单链的(ssRNA)。

[0327] 在某些实施例中,反义化合物与靶核酸的杂交不会引起裂解该靶核酸的蛋白质的募集。在某些实施例中,反义化合物与靶核酸的杂交引起靶核酸的剪接的改变。在某些实施例中,寡聚化合物与靶核酸的杂交引起外显子包含(inclusion)。在某些实施例中,寡聚化合物与靶核酸的杂交引起外显子排除(exclusion)。在某些实施例中,寡聚化合物与靶核酸的杂交引起包含NIE的RNA的量或水平降低。在某些实施例中,寡聚化合物与靶核酸的杂交引起靶核酸的量或活性的增加。在某些实施例中,反义化合物与靶核酸的杂交引起对靶核酸与蛋白质或其他核酸之间的结合相互作用的抑制。在某些实施例中,反义化合物与靶核酸的杂交引起靶核酸的翻译的改变。

[0328] 可以直接或间接观察反义活性。在某些实施例中,对反义活性的观察或检测涉及对靶核酸或由此种靶核酸编码的蛋白质的量的变化、核酸或蛋白质的剪接变体的比率的变化和/或细胞或动物的表型变化的观察或检测。

[0329] III.某些靶核酸

[0330] 在某些实施例中,寡聚化合物包含经修饰的寡核苷酸或由经修饰的寡核苷酸组成,该经修饰的寡核苷酸包含与靶核酸互补的区域。在某些实施例中,靶核酸为内源性RNA分子。在某些实施例中,靶核酸编码蛋白质。在某些此类实施例中,靶核酸选自:成熟mRNA和前mRNA,包括内含子区、外显子区和非翻译区。在某些实施例中,靶RNA为成熟mRNA。在某些实施例中,靶核酸为前mRNA。在某些实施例中,靶区域完全在内含子内。在某些实施例中,靶区域跨越内含子/外显子连接处。在某些实施例中,靶区域的至少50%在内含子内。

[0331] A.SCN1A

[0332] 在某些实施例中,寡聚化合物包含与编码SCN1A的靶核酸或其部分互补的经修饰的寡核苷酸或由其组成。在某些实施例中,SCN1A靶核酸具有SEQ ID NO:1中所示的核碱基序列(从核苷酸165982001至166152000截短的GENBANK登录号为NC_000002.12的互补序列)。在某些实施例中,SCN1A靶核酸具有SEQ ID NO:2中所示的核碱基序列(GENBANK登录号为NM_001165963.2)。

[0333] 在某些实施例中,使细胞或受试者与与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2互补的寡聚化合物接触会调节细胞或受试者中的SCN1A RNA的剪接。在某些实施例中,使细胞或受试者与与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2互补的寡聚化合物接触会增加SCN1A RNA和/或蛋白的量。在

某些实施例中,使细胞或受试者与与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2互补的寡聚化合物接触会减少包含NIE的SCN1A RNA的量。在某些实施例中,使细胞或受试者与与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2互补的寡聚化合物接触会增加排除NIE的SCN1A RNA的量。在某些实施例中,NIE为NIE-1。在某些实施例中,寡聚化合物包含经修饰的寡核苷酸或由经修饰的寡核苷酸组成。

[0334] 在某些实施例中,使受试者中的细胞与与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2互补的寡聚化合物接触会改善与SCN1A相关的疾病或病症的一种或多种症状或标志。在某些实施例中,与SCN1A相关的疾病或病症为DEE。在某些实施例中,DEE为Dravet综合征。在某些实施例中,症状为以下中的任一者:癫痫发作持续时间延长(通常持续超过10分钟)、频繁癫痫发作(例如惊厥性、肌阵挛性、失神性、局灶性、迟钝状态和强直性癫痫发作)、癫痫病突然意外死亡、癫痫持续状态、行为功能障碍(例如,攻击性、激越、强迫性、保守性、囤积行为或睡眠障碍)和发育迟缓、运动和平衡功能障碍、骨科病状、运动系统和认知功能障碍(例如,共济失调、震颤、构音障碍、锥体束征和锥体外束征)、认知障碍、语言和言语延迟问题、视觉运动整合功能障碍、视觉感知功能障碍、执行功能障碍、生长和营养问题、睡眠困难、慢性感染、感觉统合失调和自主神经功能障碍

[0335] B.某些组织中的某些靶核酸

[0336] 在某些实施例中,寡聚化合物包含经修饰的寡核苷酸或由经修饰的寡核苷酸组成,该经修饰的寡核苷酸包含与靶核酸互补的部分,其中该靶核酸在药理学相关组织中表达。在某些实施例中,药理学相关组织为构成中枢神经系统(CNS)的细胞和组织。此类组织包括脑组织,如大脑皮层、海马体、脑干和丘脑。

[0337] IV.某些药物组合物

[0338] 在某些实施例中,本文描述了包含一种或多种寡聚化合物的药物组合物。在某些实施例中,该一种或多种寡聚化合物各自由经修饰的寡核苷酸组成。在某些实施例中,药物组合物包含药学上可接受的稀释剂或载体。在某些实施例中,药物组合物包含无菌盐水溶液和一种或多种寡聚化合物或由其组成。在某些实施例中,无菌盐水为药物级盐水。在某些实施例中,药物组合物包含一种或多种寡聚化合物和无菌水或由其组成。在某些实施例中,无菌水是药物级水。在某些实施例中,药物组合物包含一种或多种寡聚化合物和磷酸盐缓冲盐水(PBS)或由其组成。在某些实施例中,无菌PBS为药物级PBS。在某些实施例中,药物组合物包含一种或多种寡聚化合物和人工脑脊液或由其组成。在某些实施例中,人工脑脊液为药物级人工脑脊液。

[0339] 在某些实施例中,药物组合物包含经修饰的寡核苷酸和PBS。在某些实施例中,药物组合物由经修饰的寡核苷酸和PBS组成。在某些实施例中,药物组合物基本上由经修饰的寡核苷酸和PBS组成。在某些实施例中,PBS是药物级的。

[0340] 在某些实施例中,药物组合物包含经修饰的寡核苷酸和人工脑脊液。在某些实施例中,药物组合物由经修饰的寡核苷酸和人工脑脊液组成。在某些实施例中,药物组合物基本上由经修饰的寡核苷酸和人工脑脊液组成。在某些实施例中,人工脑脊液是药物级的。

[0341] 在某些实施例中,药物组合物包含一种或多种寡聚化合物和一种或多种赋形剂。在某些实施例中,赋形剂选自水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、淀粉酶、硬脂酸镁、滑石粉、硅酸、粘性石蜡、羟甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。

[0342] 在某些实施例中,寡聚化合物可与药学上可接受的活性和/或惰性物质混合以用

于制备药物组合物或制剂。药物组合物的组成和配制方法取决于许多标准,包括但不限于施用途径、疾病程度或施用剂量。

[0343] 在某些实施例中,包含寡聚化合物的药物组合物涵盖寡聚化合物的任何药学上可接受的盐、寡聚化合物的酯或此类酯的盐。在某些实施例中,包含含有一种或多种寡核苷酸的寡聚化合物的药物组合物在施用于动物(包括人)时能够(直接或间接)提供其生物活性代谢物或残留物。因此,例如,本公开还涉及寡聚化合物的药学上可接受的盐、前药、此类前药的药学上可接受的盐和其他生物等效物。合适的药学上可接受的盐包括但不限于钠盐、钾盐、钙盐和镁盐。在某些实施例中,前药包含附接至经修饰的寡核苷酸的一个或多个缀合基团,其中该缀合基团被体内的内源性核酸酶裂解。

[0344] 脂质部分已以多种方法用于核酸疗法中。在某些此类方法中,将核酸、如寡聚化合物引入由阳离子脂质和中性脂质的混合物制成的预形成脂质体或脂质体复合物(lipoplex)中。在某些方法中,在不存在中性脂质的情况下形成具有单或多聚阳离子脂质的DNA复合物。在某些实施例中,选择脂质部分以增加药剂向特定细胞或组织的分布。在某些实施例中,选择脂质部分以增加药剂向脂肪组织的分布。在某些实施例中,选择脂质部分以增加药剂向肌肉组织的分布。

[0345] 在某些实施例中,药物组合物包含递送系统。递送系统的实例包括但不限于脂质体和乳剂。某些递送系统可用于制备某些药物组合物,包括包含疏水性化合物的那些。在某些实施例中,使用某些有机溶剂、如二甲亚砜。

[0346] 在某些实施例中,药物组合物包含一种或多种组织特异性递送分子,该组织特异性递送分子经设计用以将一种或多种包含本文所提供的寡聚化合物的药剂递送至特定组织或细胞类型。例如,在某些实施例中,药物组合物包含包被有组织特异性抗体的脂质体。

[0347] 在某些实施例中,药物组合物包含共溶剂系统。此类共溶剂系统中的某些包括例如苯甲醇、非极性表面活性剂、水混溶性有机聚合物和水相。在某些实施例中,此类共溶剂系统用于疏水性化合物。此种共溶剂系统的非限制性实例为VPD共溶剂系统,其是包含3%w/v苯甲醇、8%w/v的非极性表面活性剂聚山梨酯(Polysorbate)80TM和65%w/v聚乙二醇300的绝对乙醇溶液。此类共溶剂系统的比例可以有相当大的变化,而不会显著改变它们的溶解度和毒性特性。此外,共溶剂组分的特性可以变化:例如,可以使用其他表面活性剂代替聚山梨醇酯80TM;聚乙二醇的级分大小可以变化;其他生物相容性聚合物可以代替聚乙二醇,例如聚乙烯吡咯烷酮;并且其他糖或多糖可以取代右旋糖。

[0348] 在某些实施例中,药物组合物经制备用于口服施用。在某些实施例中,药物组合物经制备用于口腔施用。在某些实施例中,药物组合物经制备用于通过注射(例如,静脉内、皮下、肌内、鞘内(IT)、脑室内(ICV)等)施用。在某些此类实施例中,药物组合物包含载体并配制在水溶液中,如水或生理相容的缓冲液,如Hanks溶液、林格氏溶液或生理盐水缓冲液。在某些实施例中,包括其他成分(例如,有助于溶解性或用作防腐剂的成分)。在某些实施例中,使用适当的液体载体、悬浮剂等制备可注射混悬剂。某些注射用药物组合物存在于单位剂型中,例如,安瓿中或多剂量容器中。某些注射用药物组合物为在油性或水性媒剂中的混悬剂、溶液剂、或乳剂,并且可以含有调配剂,如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。适合用于注射用药物组合物的某些溶剂包括但不限于亲脂性溶剂和脂肪油如芝麻油、合成脂肪酸酯如油酸乙酯或甘油三酯、以及脂质体。

[0349] 在某些条件下,本文公开的某些化合物充当酸。尽管此类化合物可以绘制或描述为呈质子化(游离酸)形式或离子化并与阳离子(盐)缔合的形式,但此类化合物的水溶液以此类形式之间的平衡状态存在。例如,水溶液中寡核苷酸的磷酸酯键以游离酸、阴离子和盐形式之间的平衡状态存在。除非另有说明,本文所描述的化合物旨在包括所有此类形式。此外,某些寡核苷酸具有多个此类键,每个键均处于平衡状态。因此,溶液中的寡核苷酸以多种形式存在于多个位置处,且全部处于平衡状态。术语"寡核苷酸"旨在包括所有此类形式。绘制的结构必然描绘单一形式。然而,除非另有说明,此类附图同样旨在包括对应的形式。本文中,描绘化合物的游离酸的结构及其后的术语"或其盐"明确地包括可以完全或部分质子化/去质子化/与阳离子缔合的所有此类形式。在某些情况下,鉴定出一种或多种具体阳离子。阳离子包括但不限于钠、钾、钙和镁。在某些实施例中,描述化合物的游离酸的结构及其后的术语"或其药学上可接受的盐"明确地包括可以完全或部分质子化/去质子化/与一种或多种选自钠、钾、钙和镁的阳离子缔合的所有此类形式。

[0350] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物与钠一起存在于水溶液中。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物与钾一起存在于水溶液中。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物在PBS中。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物在水中。在某些此类实施例中,用NaOH和/或HCl调节溶液的pH以达到期望的pH。

[0351] 本文描述了某些具体剂量。剂量可以呈剂量单位的形式。为了清楚起见,以毫克为单位的经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物的剂量(或剂量单位)表示经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物的游离酸形式的质量。如上所述,在水溶液中,游离酸与阴离子和盐形式处于平衡。然而,为了计算剂量的目的,假设经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物作为无溶剂、无乙酸钠、无水、游离酸存在。例如,在经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物在包含钠的溶液(例如盐水)中的情况下,该经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物可以部分或完全去质子化并与Na+离子缔合。然而,质子的质量仍然计入剂量的重量,并且Na+离子的质量不计入剂量的重量。因此,例如,10mg化合物编号1464713的剂量或剂量单位等于重10mg的完全质子化分子的数量。这相当于10.51mg无溶剂、无乙酸钠、无水钠化化合物编号1464713。当寡聚化合物包含缀合基团时,该缀合基团的质量在计算此类寡聚化合物的剂量时被包括在内。如果缀合基团还具有酸,则为了计算剂量的目的,同样假定该缀合基团完全质子化。

[0352] 在某些实施例中,在寡聚化合物在包含钠、钾、钙和镁的溶液(如aCSF)中的情况下,该寡聚化合物可以部分或完全去质子化并与钠、钾、钙和/或镁缔合。然而,质子的质量仍然计入剂量的重量,并且钠、钾、钙和镁离子的质量不计入剂量的重量。

[0353] 在某些实施例中,当寡聚化合物包含缀合基团时,该缀合基团的质量在计算此类寡聚化合物的剂量时被包括在内。如果缀合基团还具有酸,则为了计算剂量的目的,同样假定该缀合基团完全质子化。

[0354] 非限制性披露和通过引用的并入

[0355] 本文列出的每一篇文献和专利出版物均通过引用以其整体并入。

[0356] 尽管已经根据某些实施例具体描述了本文所述的某些化合物、组合物和方法,但以下实例仅用于说明本文所述的化合物,并不旨在对其进行限制。本申请中所列举的参考文献、GenBank登录号、ENSEMBL标识符等中的每一者均通过引用以其整体并入本文。

[0357] 尽管本申请文件随附的序列表根据需要将每个序列标识为"RNA"或"DNA",但实际

上,这些序列可以通过化学修饰的任何组合进行修饰。本领域技术人员将容易理解,用于描述经修饰的寡核苷酸的如“RNA”或“DNA”的此类命名在某些情况下是任意的。例如,包含含有2'-OH糖部分和胸腺嘧啶碱基的核苷的寡核苷酸可描述为具有经修饰的糖(2'-OH代替DNA的一个2'-H)的DNA,或具有经修饰的碱基(胸腺嘧啶(甲基化尿嘧啶)代替RNA的尿嘧啶)的RNA。因此,本文所提供的核酸序列,包括但不限于序列表中的那些,旨在涵盖含有天然的或经修饰的RNA和/或DNA的任何组合的核酸,除非另有说明,包括但不限于此类具有经修饰的核碱基的核酸。作为进一步的实例且非限制性地,具有核碱基序列“ATCGATCG”的寡聚化合物涵盖具有此类核碱基序列的任何寡聚化合物,无论是经修饰的还是未经修饰的,包括但不限于此类包含RNA碱基的化合物,如具有序列“AUCGAUCG”的化合物和具有一些DNA碱基和一些RNA碱基(如“AUCGATCG”)的化合物;以及具有其他经修饰的核碱基(如“AT^{m}CGAUCG”,其中^{m}C表示在5-位置处包含甲基的胞嘧啶碱基)的寡聚化合物。

[0358] 本文所述的某些化合物(例如,经修饰的寡核苷酸)具有一个或多个不对称中心,且因此产生对映异构体、非对映异构体以及可以在绝对立体化学方面定义为(R)或(S)、为α或β(如对于糖端基异构体)或为(D)或(L)(如对于氨基酸)等的其他立体异构构型。绘制或描述为具有某些立体异构构型的本文所提供的化合物仅包括所示的化合物。除非另有说明,以未定义的立体化学绘制或描述的本文所提供的化合物包括所有此类可能的异构体,包括它们的立构无规形式和光学纯形式。同样,除非另有说明,还包括本文化合物的互变异构形式。除非另有说明,本文所描述的化合物旨在包括对应的盐形式。

[0359] 本文所述的化合物包括其中一个或多个原子被所示元素的非放射性同位素或放射性同位素替换的变体。例如,本文中包含氢原子的化合物涵盖每个^{1}H氢原子的所有可能的氘取代。本文化合物涵盖的同位素取代包括但不限于:^{2}H或^{3}H代替^{1}H、^{13}C或^{14}C代替^{12}C、^{15}N代替^{14}N、^{17}O或^{18}O代替^{16}O、以及^{33}S、^{34}S、^{35}S或^{36}S代替^{32}S。在某些实施例中,非放射性同位素取代可以赋予寡聚化合物有益于用作治疗或研究工具的新的性质。在某些实施例中,放射性同位素取代可以使化合物适合用于研究或诊断目的,如成像。

[0360] 实例

[0361] 以下实例说明了本公开的某些实施例并且不是限制性的。此外,在提供具体实施例的情况下,发明人已经考虑了那些具体实施例的一般应用。例如,具有特定基序的寡核苷酸的公开为具有相同或相似基序的其他寡核苷酸提供了合理的支持。并且,例如,在特定的高亲和力修饰出现在特定位置处的情况下,相同位置处的其他高亲和力修饰被认为是合适的,除非另有说明。

[0362] 实例1:与人SCN1A核酸互补的经修饰的寡核苷酸的设计

[0363] 如下表所示设计并合成与人SCN1A核酸互补的经修饰的寡核苷酸。

[0364] 下表中列出的每个经修饰的寡核苷酸与人SCN1A基因组序列(本文指定为SEQ ID NO:1(从核苷酸165982001至166152000截短的GENBANK登录号NC_000002.12的互补序列))和小鼠SCN1A基因组序列(本文指定为SEQ ID NO:3(从核苷酸66268001至66444000截短的GENBANK登录号NC_000068.7的互补序列))100%互补。“起始位点”表示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最5'端核苷。“终止位点”表示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最3'端核苷。

[0365] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为18个核苷。下表中经修饰的寡核苷酸的糖基序

为(从5’至3’):nnnnnnnnnnnnnnnnnn,其中每个“n”代表2’-NMA糖部分。每个经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序在下表中的“核苷间键基序(5’至3’)”列中提供,其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键,且每个“o”代表磷酸二酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0366] 表2具有混合PS/PO核苷间键的2’-NMA经修饰的寡核苷酸

[0367]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	核碱基序列 (5'至 3')	核苷间键基序 (5'至 3')	SEQ ID NO.
1464713	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	soosssssssssssss	13
1464714	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sososssssssssss	13
1464717	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sossosssssssssss	13
1464718	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sosssosssssssss	13
1464719	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sosssssosssssss	13
1464720	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssoosssssssssss	13
1464721	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssoosssssss	13
1464722	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssssoosssss	13
1464723	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssssssoossss	13
1594953	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sosssssssosssssss	13
1594954	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sosssssssssosssss	13
1594955	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sosssssssssssoss	13
1594956	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssoosssssssss	13
1594960	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssssssssooss	13
1594962	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssosssssssoss	13
1594963	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssssosssssoss	13
1594964	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssssssosssoss	13
1594965	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssssssssososs	13
1594966	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssssosssssosss	13
1594967	144708	144725	150106	150123	AGTTGGAGCAAGATTATC	sssssssssssososss	13

[0368] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为19个核苷。经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5’至3’):nnnnnnnnnnnnnnnnnnn,其中每个“n”代表2’-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序为(从5’至3’):ossssssssssssssssss,其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键,且每个“o”代表磷酸二酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0369] 表3

[0370] 具有混合PS/PO核苷间键的2’-NMA经修饰的寡核苷酸

[0371]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	核碱基序列（5'至3'）	SEQ ID NO.
1594968	144708	144726	150106	150124	AAGTTGGAGCAAGATTATC	14

[0372] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为20个核苷。经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5'至3'):nnnnnnnnnnnnnnnnnnnn,其中每个"n"代表2'-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序为(从5'至3'):ossssssssssssssssso,其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键,且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0373] 表4

[0374] 具有混合PS/PO核苷间键的2'-NMA经修饰的寡核苷酸

[0375]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	核碱基序列（5'至3'）	SEQ ID No.
1594969	144707	144726	150105	150124	AAGTTGGAGCAAGATTATCC	15

[0376] 实例2:野生型小鼠中靶向SCN1A的经修饰的寡核苷酸的影响

[0377] 将野生型C57BL/6雌性小鼠分成每组3只小鼠的组。每只小鼠接受50μg的经修饰的寡核苷酸的单次ICV推注。一组4只小鼠接受PBS作为阴性对照。

[0378] 化合物编号1429226为具有核碱基序列(从5'至3')AGTTGGAGCAAGATTATC(SEQ ID NO:13)的经修饰的寡核苷酸,其中每个核苷包含2'-NMA糖部分,每个核苷间键均为硫代磷酸酯核苷间键,且每个胞嘧啶均为5-甲基胞嘧啶。比较化合物1367010具有先前描述于WO 2019/040923(通过引用并入本文)中的化合物Ex 20X+1的核碱基序列、糖基序和核苷间键基序。比较化合物1367010具有(从5'至3')AGTTGGAGCAAGATTATC(SEQ ID NO:13)的核碱基序列,其中每个核苷均包含2'-MOE糖部分,且每个核苷间键均为硫代磷酸酯核苷间键。比较化合物1367010中的每个胞嘧啶均为5-甲基胞嘧啶。SEQID NO:13与SEQ ID NO:1从起始位点144708到终止位点144725 100%互补,并且与SEQ ID NO:3从起始位点150106到终止位点150123 100%互补。"起始位点"表示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最5'端核苷。"终止位点"表示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最3'端核苷。

[0379] 治疗后两周,处死小鼠并从皮质脑组织中提取RNA以进行SCN1A RNA的实时qPCR分析:使用小鼠引物探针组RTS48951(正向序列CCCTAAGAGCCTTATCACGATTT,本文指定为SEQ ID NO:4;反向序列GGCAAACCAGAAGCACATTC,本文指定为SEQ ID NO:5;探针序列AGGGTGGTTGTGAATGCCCTGTTA,本文指定为SEQ ID NO:6),以测量排除小鼠形式的NIE-1(NIE-1⁻)的SCN1A RNA的量,以及小鼠引物探针组RTS48949(正向序列AGCCCTTTATTATGGGTGGTT,本文指定为SEQ ID NO:7;反向序列CCAGAATATAAGGCAAACCAGAAG,本文指定为SEQ ID NO:8;探针序列TGGATGGAATTGCTCCTAACAGGGC,本文指定为SEQ ID NO:

9),以测量包含小鼠形式的NIE-1(NIE-1$^+$)的SCN1A转录本的量。SCN1A RNA表示为SCN1A RNA相对于PBS处理的动物中平均数量的百分比(%对照),标准化为小鼠GAPDH。使用引物探针组mGapdh_LTS00102(正向序列GGCAAATTCAACGGCACAGT,本文指定为SEQ ID NO:10;反向序列GGGTCTCGCTCCTGGAAGAT,本文指定为SEQ ID NO:11;探针序列AAGGCCGAGAATGGGAAGCTTGTCATC,本文指定为SEQ ID NO:12)扩增小鼠GAPDH。

[0380] 表5

[0381] 单剂量的经修饰的寡核苷酸对排除NIE-1(NIE-1$^-$)的小鼠SCN1A的量和包含NIE-1(NIE-1$^+$)的小鼠SCN1A的量的影响

[0382]

化合物编号	皮质	
	RTS48949 NIE-1$^+$	RTS48951 NIE-1$^-$
PBS	100	100
1367010	58	136
1429226	25	153
1464713	27	154
1464714	20	158
1464717	38	147
1464718	47	134
1464719	36	130

[0383]

1464720	49	138
1464721	38	136
1464722	34	135
1464723	27	139
1594953	42	150
1594954	35	150
1594955	52	125
1594956	42	124
1594960	49	120
1594962	22	141
1594963	38	130
1594964	55	124
1594965	24	144
1594966	45	132
1594967	58	130
1594968	46	130
1594969	34	118

[0384] 实例3:与SCN1A互补的经修饰的寡核苷酸在野生型小鼠中的耐受性

[0385] 在野生型小鼠中测试上述经修饰的寡核苷酸以评定寡核苷酸的耐受性。

[0386] 野生型雌性C57/B16小鼠各自接受700μg的经修饰的寡核苷酸的单次ICV剂量。每个治疗组由3-4只小鼠组成。一组4只小鼠接受PBS作为阴性对照。注射后3小时,根据七种不同的标准对小鼠进行评估。标准为:(1)小鼠聪明、警觉、反应灵敏;(2)小鼠在没有刺激的情况下站立或弯腰;(3)小鼠在没有刺激的情况下表现出任何运动;(4)小鼠在举起后表现出向前运动;(5)小鼠在举起后表现出任何动作;(6)小鼠对夹尾有反应;(7)规律呼吸。对于7个标准中的每一个,如果小鼠满足标准,则给予0分,并且如果小鼠不满足则给予1分(功能观察组合(Functional Observational Battery)评分或FOB)。评估所有7个标准后,将每只小鼠的分数相加,并在每个治疗组内取平均值。

[0387] 表6野生型小鼠的耐受性评分

[0388]

化合物编号	3 小时的 FOB
PBS	0.00
1464713	1.00
1464714	1.00

[0389]

1464717	0.67
1464718	1.00
1464719	1.33
1464720	1.00
1464721	1.67
1464722	1.67
1464723	1.67
1594953	1.00
1594954	1.33
1594955	2.33
1594956	2.33
1594960	2.67
1594962	2.00
1594963	2.00
1594964	2.33
1594965	2.67
1594966	2.33
1594967	3.33
1594968	2.33
1594969	1.00

[0390] 表7

[0391] 野生型小鼠的耐受性评分

[0392]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0
1367010	7

[0393] 表8

[0394] 野生型小鼠的耐受性评分

[0395]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0
1429226	4

[0396] 实例4:与人SCN1A互补的经修饰的寡核苷酸在大鼠中的耐受性,3小时研究

[0397] 在大鼠中测试上述经修饰的寡核苷酸以评定寡核苷酸的耐受性。Sprague Dawley大鼠各自接受3 mg的下表所列的寡核苷酸的单次鞘内(IT)剂量。每个治疗组由3-4只大鼠组成。一组4只大鼠接受PBS作为阴性对照。注射后3小时,评估每只大鼠的身体的7个不同部位的运动。这7个身体部位为:(1)大鼠的尾巴;(2)大鼠的后位;(3)大鼠的后肢;(4)大鼠的

后爪;(5)大鼠的前爪;(6)大鼠的前位;(7)大鼠的头。对于7个不同的身体部位中的每一个,如果身体部位正在移动,则给予每只大鼠0的子评分;或者如果身体部位瘫痪,则给予1(功能观察组合评分或FOB)。对7个身体部位中的每一个进行评估后,将每只大鼠的子评分相加,且然后对每组取平均值。例如,如果大鼠的尾巴、头部和所有其他评估的身体部位在3mg IT剂量后3小时内移动,则其将获得总评分0。如果另一只大鼠在3mg IT剂量后3小时都没有移动尾巴,但所有其他评估的身体部位都在移动,则其将获得总评分1。结果表示为每个治疗组的平均评分。

[0398] 表9大鼠的耐受性评分

[0399]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0.00
1464713	2.00
1464714	0.33
1464717	1.00
1464718	3.00
1464719	3.00
1464720	3.33
1464721	3.00
1464722	2.67
1464723	2.00
1594953	1.67
1594954	3.33
1594955	3.33
1594956	2.67
1594960	4.00
1594962	3.00
1594963	3.67
1594964	2.00
1594965	3.33
1594966	3.67
1594967	2.33

[0400]

1594968	2.67
1594969	2.67

[0401] 表10

[0402] 大鼠的耐受性评分

[0403]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0.25
1367010	6

[0404] 表11

[0405] 大鼠的耐受性评分

[0406]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0
1429226	4

[0407] 实例5:与SCN1A核酸互补的经修饰的寡核苷酸的设计

[0408] 如下表所示设计并合成与SCN1A核酸互补的经修饰的寡核苷酸。

[0409] 下表中列出的经修饰的寡核苷酸与本文指定为SEQ ID NO:1(在上文描述)的人SCN1A基因组序列,以及与本文指定为SEQ ID NO:3(在上文描述)的小鼠SCN1A基因组序列100%互补。“起始位点”表示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最5’端核苷。“终止位点”表示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最3’端核苷。“N.A.”表示经修饰的寡核苷酸与靶核酸序列不是100%互补。

[0410] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为18个核苷。下表中经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5’至3’):nnnnnnnnnnnnnnnnnn,其中每个“n”代表2’-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序为(从5’至3’):ssssssssssssssssss;其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0411] 表12

[0412] 具有均匀硫代磷酸酯核苷间键的2’-NMA经修饰的寡核苷酸

[0413]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	序列（5'至3'）	SEQ ID NO.
1521407	144779	144796	150177	150194	GGTAGCAAAAGGGGTAAT	63

[0414]

1521408	144776	144793	150174	150191	AGCAAAAGGGGTAATACA	64
1521409	144775	144792	150173	150190	GCAAAAGGGGTAATACAG	65
1521410	144774	144791	150172	150189	CAAAAGGGGTAATACAGT	66
1521411	144772	144789	150170	150187	AAAGGGGTAATACAGTAC	67
1521412	144771	144788	150169	150186	AAGGGGTAATACAGTACC	68
1521413	144766	144783	150164	150181	GTAATACAGTACCCATAA	69
1521414	144765	144782	150163	150180	TAATACAGTACCCATAAT	70
1521415	144764	144781	150162	150179	AATACAGTACCCATAATA	71
1521416	144763	144780	150161	150178	ATACAGTACCCATAATAA	72
1521417	144762	144779	150160	150177	TACAGTACCCATAATAAA	73
1521418	144761	144778	150159	150176	ACAGTACCCATAATAAAG	74
1521419	144716	144733	150114	150131	CCCATCCAAGTTGGAGCA	75
1521420	144715	144732	150113	150130	CCATCCAAGTTGGAGCAA	76
1521421	144714	144731	150112	150129	CATCCAAGTTGGAGCAAG	77
1521422	144713	144730	150111	150128	ATCCAAGTTGGAGCAAGA	78
1521423	144712	144729	150110	150127	TCCAAGTTGGAGCAAGAT	79
1521424	144711	144728	150109	150126	CCAAGTTGGAGCAAGATT	80
1521425	144710	144727	150108	150125	CAAGTTGGAGCAAGATTA	81
1521426	144709	144726	150107	150124	AAGTTGGAGCAAGATTAT	82
1521428	144706	144723	150104	150121	TTGGAGCAAGATTATCCT	83
1521429	144705	144722	150103	150120	TGGAGCAAGATTATCCTA	84
1521430	144704	144721	150102	150119	GGAGCAAGATTATCCTAT	85
1521431	144703	144720	150101	150118	GAGCAAGATTATCCTATA	86

[0415] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为25个核苷。下表中经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5'至3'):nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnn,其中每个"n"代表2'-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序为(从5'至3'):ssoosoosoosssssssssssssss;其中每个"s"代表硫代磷酸酯核苷间键,且每个"o"代表磷酸二酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0416] 表13

[0417] 具有混合PS/PO核苷间键的2'-NMA经修饰的寡核苷酸

[0418]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	序列（5'至3'）	SEQ ID NO.
1669084	144706	144730	150104	150128	ATCCAAGTTGGAGCAAGATTATCCT	19
1669085	144705	144729	150103	150127	TCCAAGTTGGAGCAAGATTATCCTA	20
1669086	144704	144728	150102	150126	CCAAGTTGGAGCAAGATTATCCTAT	21
1669087	144703	144727	150101	150125	CAAGTTGGAGCAAGATTATCCTATA	22

[0419] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为25个核苷。下表中经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5'至3')：nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnn，其中每个“n”代表2'-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序为(从5'至3')：ssoosoossssssssssssssss；其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键，且每个“o”代表磷酸二酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0420] 表14

[0421] 具有混合PS/PO核苷间键的2'-NMA经修饰的寡核苷酸

[0422]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	序列（5'至3'）	SEQ ID NO.
1669088	144706	144730	150104	150128	ATCCAAGTTGGAGCAAGATTATCCT	19
1669089	144705	144729	150103	150127	TCCAAGTTGGAGCAAGATTATCCTA	20
1669090	144704	144728	150102	150126	CCAAGTTGGAGCAAGATTATCCTAT	21
1669091	144703	144727	150101	150125	CAAGTTGGAGCAAGATTATCCTATA	22

[0423] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为25个核苷。下表中经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5'至3')：nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnn，其中每个“n”代表2'-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序为(从5'至3')：ssoossssssssssssssssssss；其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键，且每个“o”代表磷酸二酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0424] 表15具有混合PS/PO核苷间键的2'-NMA经修饰的寡核苷酸

[0425]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	序列（5'至3'）	SEQ ID NO.
1669093	144706	144730	150104	150128	ATCCAAGTTGGAGCAAGATTATCCT	19
1669094	144705	144729	150103	150127	TCCAAGTTGGAGCAAGATTATCCTA	20
1669095	144704	144728	150102	150126	CCAAGTTGGAGCAAGATTATCCTAT	21
1669096	144703	144727	150101	150125	CAAGTTGGAGCAAGATTATCCTATA	22

[0426] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为25个核苷。下表中经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5'至3')：nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnn，其中每个“n”代表2'-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序为(从5'至3')：sssssssssssssssssssssssss；其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0427] 表16具有均匀硫代磷酸酯核苷间键的2'-NMA经修饰的寡核苷酸

[0428]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	序列（5'至3'）	SEQ ID NO.
1669098	144706	144730	150104	150128	ATCCAAGTTGGAGCAAGATTATCCT	19
1669099	144705	144729	150103	150127	TCCAAGTTGGAGCAAGATTATCCTA	20
1669100	144704	144728	150102	150126	CCAAGTTGGAGCAAGATTATCCTAT	21
1669101	144703	144727	150101	150125	CAAGTTGGAGCAAGATTATCCTATA	22

[0429] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为23个核苷。下表中经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5'至3')：nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnn，其中每个“n”代表2'-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序呈现在下表中标记为“核苷间键(5'至3')”的列中，其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键，且每个“o”代表磷酸二酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0430] 表17

[0431] 具有混合PS/PO核苷间键的2'-NMA经修饰的寡核苷酸

[0432]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	序列（5'至3'）	核苷间键（5'至3'）	SEQ ID NO.
1669097	144774	144796	150172	150194	GGTAGCAAAAGGGGTAATACAGT	ssoosssssssssssssssss	18
1669102	144774	144796	150172	150194	GGTAGCAAAAGGGGTAATACAGT	sssssssssssssssssssss	18

[0433] “起始位点”表示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最5'端核苷。“终止位

点”表示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最3’端核苷。下表中列出的经修饰的寡核苷酸与本文指定为SEQ ID NO:3(在上文描述)的小鼠SCN1A序列100％互补;该序列与SEQ ID NO:1(在上文描述)的人SCN1A序列互补,并且具有位于标记为“化合物上的错配位置(5’至3’)”的列中所示的位置处的单个错配。非互补核碱基在核碱基序列列中以下划线、粗体、斜体字体标记。另外,下表中列出的经修饰的寡核苷酸与小鼠SCN1A基因组序列(在本文中指定为SEQ ID NO:3(在上文描述))100％互补。

[0434] 下表中经修饰的寡核苷酸的长度为18个核苷。下表中经修饰的寡核苷酸的糖基序为(从5’至3’):nnnnnnnnnnnnnnnnnn,其中每个“n”代表2’-NMA糖部分。经修饰的寡核苷酸的核苷间键基序为(从5’至3’):ssssssssssssssssss;其中每个“s”代表硫代磷酸酯核苷间键。每个胞嘧啶残基均为5-甲基胞嘧啶。

[0435] 表18

[0436] 具有均匀硫代磷酸酯核苷间键的2’-NMA经修饰的寡核苷酸

[0437]

化合物编号	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO: 1 上经修饰的寡核苷酸的错配的位置(5'至 3')	SEQ ID NO: 3 起始位点	SEQ ID NO: 3 终止位点	核碱基序列(5'至 3')	SEQ ID NO.
1521432	144702	144718	18	150100	150117	AGCAAGATTATCCTATA***T***	87
1521433	144701	144718	17	150099	150116	GCAAGATTATCCTATA***T***A	88
1521434	144699	144716	15	150097	150114	AAGATTATCCTATA***T***AAA	89

[0438] 实例6:野生型小鼠中靶向SCN1A的经修饰的寡核苷酸的影响

[0439] 将野生型C57BL/6小鼠分成每组3只小鼠的组。每只小鼠接受50μg的经修饰的寡核苷酸的单次ICV推注。一组4只小鼠接受PBS作为阴性对照。

[0440] 治疗后两周,处死小鼠,并从皮质脑组织中提取RNA以进行SCN1A RNA的实时qPCR分析:使用小鼠引物探针组RTS48951(在上文描述)以测量排除小鼠形式的NIE-1(NIE-1$^-$)的SCN1A RNA的量,以及小鼠引物探针组RTS48949(在上文描述)以测量包含小鼠形式的NIE-1(NIE-1$^+$)的SCN1A转录本的量。SCN1A RNA表示为SCN1A RNA相对于PBS处理的动物中平均数量的百分比(％对照),标准化为小鼠GAPDH。使用引物探针组mGapdh_LTS00102(在上文描述)扩增小鼠GAPDH。标有“†”的值来自与引物探针组的扩增子区域互补的寡核苷酸。可以使用额外的测定来测量与扩增子区域互补的经修饰的寡核苷酸的效力和功效。

[0441] 比较化合物1367010在上文描述。

[0442] 表19

[0443] 单剂量的经修饰的寡核苷酸对排除NIE-1(NIE-1$^-$)的小鼠SCN1A的量和包含NIE-1(NIE-1$^+$)的小鼠SCN1A的量的影响

[0444]

化合物编号	SCN1A RNA（%对照）	
	RTS48949 NIE-1^{+}	RTS48951 NIE-1^{-}
PBS	100	100
1367010	45	120
1429226	19	142
1521407	57	129
1521408	37	131
1521409	46	126
1521410	43	135
1521411	64	125
1521412	60†	123
1521413	52†	117
1521414	65†	109
1521415	59†	143
1521416	56†	113
1521417	56†	106
1521418	55†	110
1521419	60	125
1521420	44	114

[0445]

1521421	40	134
1521422	57	116
1521423	53	132
1521424	41	120
1521425	26	128
1521426	34	119
1521428	43	119
1521429	44	129
1521430	50	117
1521431	30	111
1521432	30	137
1521433	48	118
1521434	90	98

[0446] 表20

[0447] 单剂量的经修饰的寡核苷酸对排除NIE-1(NIE-1$^-$)的小鼠SCN1A的量和包含NIE-1(NIE-1$^+$)的小鼠SCN1A的量的影响

[0448]

化合物编号	皮质	
	RTS48949 NIE-1$^+$	RTS48951 NIE-1$^-$
PBS	100	100
1367010	52	121
1429226	29	154
1669084	86	112
1669085	74	108
1669086	69	120
1669087	78	113
1669088	45	139
1669089	60	123
1669090	62	113
1669091	57	126
1669093	45	123

[0449] 表21

[0450] 单剂量的经修饰的寡核苷酸对排除NIE-1(NIE-1$^-$)的小鼠SCN1A的量和包含NIE-1(NIE-1$^+$)的小鼠SCN1A的量的影响

[0451]

化合物编号	皮质	
	RTS48949 NIE-1$^+$	RTS48951 NIE-1$^-$
PBS	100	100
1367010	46	126
1429226	28	116
1669094	60	109
1669095	58	108
1669096	58	135
1669097	69	114
1669098	58	121
1669099	60	108
1669100	61	121
1669101	56	106
1669102	48	109

[0452] 实例7:野生型小鼠中靶向SCN1A的经修饰的寡核苷酸的效力

[0453] 将野生型C57BL/6雌性小鼠分成每组4只小鼠的组。每只小鼠以下表中定义的各种剂量接受经修饰的寡核苷酸的单次ICV推注。一组4只小鼠接受PBS作为阴性对照。

[0454] 治疗后两周,处死小鼠,并从皮质脑组织中提取RNA以进行SCN1A RNA的实时qPCR分析:使用小鼠引物探针组RTS48951(在上文描述)以测量排除小鼠形式的NIE-1(NIE-1$^-$)的SCN1A RNA的量,以及小鼠引物探针组RTS48949(在上文描述)以测量包含小鼠形式的NIE-1(NIE-1$^+$)的SCN1A转录本的量。SCN1A RNA表示为SCN1A RNA相对于PBS处理的动物中平均数量的百分比(%对照),标准化为小鼠GAPDH。使用引物探针组mGapdh_LTS00102(在上文描述)扩增小鼠GAPDH。使用GraphPad Prism计算ED50。

[0455] 比较化合物1367010在上文描述。

[0456] 表22

[0457] 多次剂量的经修饰的寡核苷酸对野生型小鼠中排除NIE-1(NIE-1$^-$)的小鼠SCN1A的量和包含(NIE-1$^+$)的小鼠SCN1A RNA的量的影响

[0458]

化合物编号	剂量(μg)	皮质		
		RTS48951 NIE-1$^-$	RTS48949 NIE-1$^+$	
		%对照	%对照	ED50 (μg)
PBS	-	100	100	-

[0459]

1429226	1	91	83	28
	3	103	102	
	10	94	74	
	30	115	62	
	100	168	17	
	300	134	8	
1464713	1	90	101	63
	3	95	107	
	10	90	94	
	30	101	72	
	100	107	47	
	300	129	12	
1464714	1	92	109	31
	3	103	105	
	10	101	83	
	30	116	59	
	100	134	19	
	300	141	12	
1594962	1	99	108	29
	3	97	98	
	10	100	79	
	30	101	59	
	100	114	18	
	300	150	6	
1594965	1	96	111	31
	3	89	106	
	10	105	91	
	30	122	55	
	100	126	22	
	300	138	4	

[0460] 表23

[0461] 多次剂量的经修饰的寡核苷酸对野生型小鼠中排除NIE-1(NIE-1$^-$)的小鼠SCN1A的量和包含(NIE-1$^+$)的小鼠SCN1A RNA的量的影响

[0462]

化合物编号	剂量(μg)	皮质		
		RTS48951 NIE-1$^-$	RTS48949 NIE-1$^+$	
		%对照	%对照	ED50 (μg)
PBS	-	100	100	-
1464717	1	110	82	26
	3	95	77	
	10	80	77	
	30	93	54	
	100	110	44	
	300	118	10	
1464723	1	66	83	33
	3	81	97	
	10	91	92	
	30	73	55	
	100	107	27	
	300	119	9	
1594953	1	63	83	35
	3	78	82	
	10	88	89	
	30	95	59	
	100	112	37	
	300	117	5	
1594954	1	89	71	14
	3	85	84	
	10	85	68	
	30	100	46	
	100	104	20	
	300	96	4	

[0463] 实例8:与SCN1A互补的经修饰的寡核苷酸在野生型小鼠中的耐受性

[0464] 在野生型小鼠中测试上述经修饰的寡核苷酸以评定寡核苷酸的耐受性。

[0465] 野生型雌性C57BL/6小鼠各自接受700μg的经修饰的寡核苷酸的单次ICV剂量,如下表所示。每个治疗组由3-4只小鼠组成。一组4只小鼠接受PBS作为阴性对照。注射后3小时,根据七种不同的标准对小鼠进行评估。标准为:(1)小鼠聪明、警觉、反应灵敏;(2)小鼠在没有刺激的情况下站立或弯腰;(3)小鼠在没有刺激的情况下表现出任何运动;(4)小鼠

在举起后表现出向前运动;(5)小鼠在举起后表现出任何动作;(6)小鼠对夹尾有反应;(7)规律呼吸。对于7个标准中的每一个,如果小鼠满足标准,则给予0分,并且如果小鼠不满足则给予1分(功能观察组合(Functional Observational Battery)评分或FOB)。评估所有7个标准后,将每只小鼠的分数相加,并在每个治疗组内取平均值。

[0466] 表24

[0467] 700μg的剂量下野生型小鼠的耐受性评分

[0468]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0.00
1367010	7

[0469] 表25

[0470] 700μg的剂量下野生型小鼠的耐受性评分

[0471]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0.00
1429226	4.00

[0472] 表26

[0473] 700μg的剂量下野生型小鼠的耐受性评分

[0474]

化合物编号	3 小时的 FOB
PBS	0.00
1464713	1.00
1464714	1.00
1464717	0.67
1464718	1.00
1464719	1.33
1464720	1.00
1464721	1.67
1464722	1.67
1464723	1.67
1594953	1.00

[0475]

1594954	1.33
1594955	2.33
1594956	2.33
1594960	2.67
1594962	2.00
1594963	2.00
1594964	2.33
1594965	2.67
1594966	2.33
1594967	3.33
1594968	2.33
1594969	1.00

[0476] 表27700μg的剂量下野生型小鼠的耐受性评分

[0477]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0.00
1669084	0.00
1669085	0.00
1669086	0.00
1669091	0.00
1669093	0.00

[0478] 实例9:与人SCN1A互补的经修饰的寡核苷酸在大鼠中的耐受性,3小时研究

[0479] 在大鼠中测试上述经修饰的寡核苷酸以评定寡核苷酸的耐受性。Sprague Dawley大鼠各自接受3mg的寡核苷酸的单次鞘内(IT)剂量,如下表所示。每个治疗组由4只大鼠组成。一组4只大鼠接受PBS作为阴性对照。注射后3小时,评估每只大鼠的身体的7个不同部位的运动。这7个身体部位为:(1)大鼠的尾巴;(2)大鼠的后位;(3)大鼠的后肢;(4)大鼠的后爪;(5)大鼠的前爪;(6)大鼠的前位;(7)大鼠的头。对于7个不同的身体部位中的每一个,如果身体部位正在移动,则给予每只大鼠0的子评分;或者如果身体部位瘫痪,则给予1(功能观察组合评分或FOB)。对7个身体部位中的每一个进行评估后,将每只大鼠的子评分相加,且然后对每组取平均值。例如,如果大鼠的尾巴、头部和所有其他评估的身体部位在3mg IT剂量后3小时内移动,则其将获得总评分0。如果另一只大鼠在3mg IT剂量后3小时都没有移动尾巴,但所有其他评估的身体部位都在移动,则其将获得总评分1。结果表示为每个治疗组的平均评分。

[0480] 表28

[0481] 3mg的剂量下大鼠的耐受性评分

[0482]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0.00
1367010	6.00

[0483] 表29

[0484] 3mg的剂量下大鼠的耐受性评分

[0485]

化合物编号	3小时的FOB
PBS	0.00
1429226	4.00

[0486] 表30

[0487] 3mg的剂量下大鼠的耐受性评分

[0488]

化合物编号	3 小时的 FOB
PBS	0.00
1464713	2.00
1464714	0.33
1464717	1.00
1464718	3.00
1464719	3.00
1464720	3.33
1464721	3.00
1464722	2.67
1464723	2.00
1594953	1.67
1594954	3.33
1594955	3.33
1594956	2.67
1594960	4.00
1594962	3.00
1594963	3.67
1594964	2.00
1594965	3.33

[0489]

1594966	3.67
1594967	2.33
1594968	2.67
1594969	2.67