



(21)申請案號：110142878 (22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 18 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/7088(2006.01)* *C07H21/04 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01) *A61P9/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/11/18 美國 63/115,499
 2021/08/11 美國 63/232,109

(71)申請人：美商 I O N I S 製藥公司(美國) IONIS PHARMACEUTICALS, INC. (US)
 美國

(72)發明人：慕力克 亞當 MULLICK, ADAM (US)；弗瑞爾 蘇珊 M FREIER, SUSAN M.
 (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：75 項 圖式數：0 共 159 頁

(54)名稱

用於調節血管收縮素原表現之化合物及方法

(57)摘要

提供用於減少細胞或個體中的 AGT RNA 之量或活性且在某些情況下減少細胞或個體中的 AGT 之量之化合物、方法及醫藥組合物。此等化合物、方法及醫藥組合物可用於改善心血管疾病之至少一種症狀或標誌。此等化合物及醫藥組合物可用於改善 RAAS 路徑相關之疾病或病症之至少一種症狀或標誌。此等症狀及標誌包括高血壓、慢性腎病、中風、心肌梗塞、心臟衰竭、心臟瓣膜疾病、血管動脈瘤、外周動脈疾病及器官損傷。此等心血管疾病包括高血壓、頑固性高血壓、馬凡氏症候群(Marfan syndrome)及心臟衰竭。

Provided are compounds, methods, and pharmaceutical compositions for reducing the amount or activity of AGT RNA in a cell or subject, and in certain instances reducing the amount of AGT in a cell or subject. Such compounds, methods, and pharmaceutical compositions are useful to ameliorate at least one symptom or hallmark of a cardiovascular disease. Such compound and pharmaceutical compositions are useful to ameliorate at least one symptom or hallmark of a RAAS pathway-related disease or disorder. Such symptoms and hallmarks include hypertension, chronic kidney disease, stroke, myocardial infarction, heart failure, valvular heart disease, aneurysms of the blood vessels, peripheral artery disease, and organ damage. Such cardiovascular diseases include hypertension, resistant hypertension, Marfan syndrome, and heart failure.



【發明摘要】

【中文發明名稱】用於調節血管收縮素原表現之化合物及方法

【英文發明名稱】COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATING
ANGIOTENSINOGEN EXPRESSION

【中文】

提供用於減少細胞或個體中的 AGT RNA 之量或活性且在某些情況下減少細胞或個體中的 AGT 之量之化合物、方法及醫藥組合物。此等化合物、方法及醫藥組合物可用於改善心血管疾病之至少一種症狀或標誌。此等化合物及醫藥組合物可用於改善 RAAS 路徑相關之疾病或病症之至少一種症狀或標誌。此等症狀及標誌包括高血壓、慢性腎病、中風、心肌梗塞、心臟衰竭、心臟瓣膜疾病、血管動脈瘤、外周動脈疾病及器官損傷。此等心血管疾病包括高血壓、頑固性高血壓、馬凡氏症候群(Marfan syndrome)及心臟衰竭。

【英文】

Provided are compounds, methods, and pharmaceutical compositions for reducing the amount or activity of AGT RNA in a cell or subject, and in certain instances reducing the amount of AGT in a cell or subject. Such compounds, methods, and pharmaceutical compositions are useful to ameliorate at least one symptom or hallmark of a cardiovascular disease. Such compound and pharmaceutical compositions are useful to ameliorate at least one symptom or hallmark of a RAAS pathway-related disease or disorder. Such symptoms and hallmarks include hypertension, chronic kidney disease, stroke, myocardial infarction, heart failure, valvular heart disease, aneurysms of the blood vessels, peripheral artery disease, and organ damage. Such cardiovascular diseases include hypertension, resistant hypertension, Marfan syndrome, and heart failure.

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】用於調節血管收縮素原表現之化合物及方法

【英文發明名稱】COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATING
ANGIOTENSINOGEN EXPRESSION

【技術領域】

【0001】 提供用於減少細胞或個體中的血管收縮素原 RNA 之量或活性且在某些情況下減少細胞或個體中的血管收縮素原(AGT)之量之化合物、方法及醫藥組合物。此等化合物及醫藥組合物可用於改善 RAAS 路徑相關之疾病或病症之至少一種症狀或標誌。此等疾病及病症包括高血壓、高血壓急症(亦即惡性高血壓)、頑固性高血壓、腎病(例如慢性腎病、多囊性腎病)、子癇前症、馬凡氏症候群(Marfan Syndrome)、中風、心臟病(例如心肌梗塞、心臟衰竭、鬱血性心臟衰竭、心臟瓣膜疾病)、血管動脈瘤、腹部動脈瘤、外周動脈疾病、器官損傷、肺動脈高血壓、肥胖、代謝症候群、NASH、NAFLD 及其他 RAAS 相關之疾病、病症及/或疾患或其症狀。

【先前技術】

【0002】 血管收縮素原(AGT)亦稱為 SERPINA8 或 ANHU，其係絲胺酸蛋白酶抑制劑(serpin)家族之成員且係腎素-血管收縮素-醛固酮系統(RAAS)之組分。其主要在肝臟中產生，且釋放至循環中，在循環中腎素將其轉化成血管收縮素 I。血管收縮素 I 隨後由血管收縮素轉化酶(ACE)轉化成血管收縮素 II。血管收縮素 II 係一種肽激素，其引起血管收縮，繼而可使血壓升高。血管收縮素 II 亦刺激腎上腺皮質分泌激素醛固酮。醛固酮使腎臟提高對鈉及水之重吸收，從而導致體內流體體積增加，其繼而可使血壓升高。RAAS 路徑之過度刺激或活動可導致高血壓。慢性高血壓稱為高血壓。高血壓個體之高血壓需要心臟更努力地工作，以使血液經由血管循環。

【0003】 高血壓仍為全球心血管疾病及中風所致死亡及失能之主要原因。儘管已進行廣泛研究且存在多種有效之治療性干預，但在美國，高血壓仍為一項重要的公共健康挑戰(Sigmund 等人，Hypertension 2020，75: 902-917)。目前經批准用於治療高血壓之療法存在局限性，此乃因所有高血壓患者中有很大大一部分未達成足夠之血壓控制。舉例而言，諸如 ACE 抑制劑及血管收縮素受體阻斷劑(ARB)等靶向腎素-血管收縮素系統(RAS)路徑之部分的藥物抑制 RAAS 路徑之能力有限(Nobakht 等人，Nat Rev Nephrol，2011，7:356-359)。另外，某些抗高血壓藥物(諸如 ACE 抑制劑)禁用於患有腎病之高血壓患者，此乃因其可能損害患者之腎功能。

【0004】 因此，需要找到抑制 RAAS 路徑且治療高血壓之替代治療。因此，本文之目標為提供用於治療此等疾病之化合物、方法及醫藥組合物。

【發明內容】

【0005】 本文提供用於減少細胞或個體中的 AGT RNA 之量或活性且在某些實施例中減少 AGT 蛋白之表現之化合物、方法及醫藥組合物。在某些實施例中，個體患有心血管疾病。在某些實施例中，個體患有高血壓。在某些實施例中，個體患有頑固性高血壓。在某些實施例中，個體患有馬凡氏症候群。在某些實施例中，個體患有腎病。在某些實施例中，可用於減少 AGT RNA 之量或活性之化合物為寡聚化合物。在某些實施例中，可用於減少 AGT RNA 之量或活性之化合物為經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，可用於降低 AGT 蛋白之表現之化合物為寡聚化合物。在某些實施例中，可用於降低 AGT 蛋白之表現之化合物為經修飾之寡核苷酸。

【0006】 亦提供可用於改善 RAAS 路徑相關之疾病或適應症之至少一種症狀或標誌之方法。在某些實施例中，疾病為高血壓。在某些實施例中，疾病為頑固性高血壓。在某些實施例中，疾病為馬凡氏症候群。在某些實施例中，適應

症為心臟衰竭。在某些實施例中，症狀或標誌包括高血壓、高血壓急症(亦即惡性高血壓)、子癇前症、中風、心臟病(例如心肌梗塞、心臟衰竭、鬱血性心臟衰竭、心臟瓣膜疾病)、血管動脈瘤、腹部動脈瘤、器官損傷、肺動脈高血壓、肥胖及其他 RAAS 路徑相關之疾病、病症及/或疾患或其症狀。

【實施方式】

序列表

【0007】 本申請案與呈電子格式之序列表一起提出申請。該序列表以創建於 2021 年 11 月 16 日之標題為 BIOL0393TWSEQ_ST25.txt 之檔案形式提供，其大小為 32 KB。該序列表之電子格式中之資訊係以全文引用的方式併入本文中。

【0008】 應理解，前述一般說明及以下詳細說明二者均僅為例示性及解釋性的，而不具有限制性。在本文中，除非另有明確說明，否則單數之使用包括複數。除非另有說明，否則如本文所用，使用「或」意指「及/或」。此外，術語「包括(including)」以及諸如「包括(includes 及 included)」等其他形式之使用不為限制性的。同樣，除非另有明確說明，否則諸如「要素」或「組分」等術語涵蓋構成一個單元之要素及組分以及構成一個以上亞單元之要素及組分。

【0009】 本文所用之章節標題僅用於組織目的，而不應解釋為限制所描述之標的物。本申請案中引用之所有文件或文件部分，包括(但不限於)專利、專利申請案、文章、書、專著及 GenBank、ENSEMBL 及 NCBI 參考序列記錄在此關於本文所論述之文件部分以及全文係以引用的方式明確地併入。

定義

【0010】 除非提供具體定義，否則與本文所闡述之分析化學、合成有機化學以及醫學及醫藥化學結合使用之命名法以及其中之程序及技術係此項技術中熟知且常用之彼等命名法以及程序及技術。在允許的情形下，本揭示案中通篇

所提及之所有專利、申請案、公開申請案及其他出版物以及其他資料均係以全文引用的方式併入本文中。

【0011】 除非另有指示，否則以下術語具有以下含義：

定義

【0012】 如本文所用，「2'-去氧核苷」意指包含 2'-H(H)去氧呋喃糖基糖部分之核苷。在某些實施例中，2'-去氧核苷為 2'-β-D-去氧核苷且包含 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，其具有如在天然去氧核糖核酸(DNA)中所發現之 β-D 組態。在某些實施例中，2'-去氧核苷可包含經修飾之核鹼基或可包含 RNA 核鹼基(尿嘧啶)。

【0013】 如本文所用，「2'-MOE」意指 2'-OCH₂CH₂OCH₃ 基團替代呋喃糖基糖部分之 2'-OH 基團。「2'-MOE 糖部分」意指 2'-OCH₂CH₂OCH₃ 基團替代呋喃糖基糖部分之 2'-OH 基團的糖部分。除非另有指示，否則 2'-MOE 糖部分呈 β-D-核糖基組態。「MOE」意指 O-甲氧基乙基。

【0014】 如本文所用，「2'-MOE 核苷」意指包含 2'-MOE 糖部分之核苷。

【0015】 如本文所用，「2'-OMe」意指替代呋喃糖基糖部分之 2'-OH 基團之 2'-OCH₃ 基團。如本文所用，「2'-O-甲基糖部分」或「2'-OMe 糖部分」意指 2'-OCH₃ 基團替代呋喃糖基糖部分之 2'-OH 基團的糖部分。除非另有指示，否則 2'-OMe 糖部分呈 β-D-核糖基組態。

【0016】 如本文所用，「2'-OMe 核苷」意指包含 2'-OMe 糖部分之核苷。

【0017】 如本文所用，「2'-取代之核苷」意指包含 2'-取代之糖部分之核苷。如本文所用，關於糖部分之「2'-取代」意指糖部分包含至少一個不為 H 或 OH 之 2'-取代基。

【0018】 如本文所用，「5-甲基胞嘧啶」意指胞嘧啶經連接至 5 位之甲基修飾。5-甲基胞嘧啶係經修飾之核鹼基。

【0019】 如本文所用，「約」意指在值之 $\pm 10\%$ 內。舉例而言，若陳述「化合物影響約 70%之 AGT 抑制」，則其暗示，AGT 水準受抑制之範圍為 63%至 77%。

【0020】 如本文所用，「投與」意指向個體提供醫藥劑。

【0021】 如本文所用，「血管收縮素原」及「AGT」在本文中可互換使用。血管收縮素原亦稱為 SERPINA8 及 ANHU。

【0022】 如本文所用，「抗高血壓藥物」係指能夠降低血壓之藥物。此等藥物之實例包括(但不限於)RAAS 抑制劑、利尿劑、鈣通道阻斷劑、腎上腺素能受體拮抗劑、腎上腺素能促效劑及血管舒張劑。在一個實例中，抗高血壓藥物卡托普利(captopril)可與本文所闡述之 AGT 化合物組合使用，以治療患有 RAAS 路徑相關之疾病、病症及/或疾患或處於患有 RAAS 路徑相關之疾病、病症及/或疾患之風險下的動物。

【0023】 如本文所用，「反義活性」意指可歸因於反義化合物與其靶核酸之雜交的任何可偵測及/或可量測之變化。在某些實施例中，反義活性係靶核酸或由該靶核酸編碼之蛋白質的量或表現與在不存在反義化合物情形下之靶核酸水準或靶蛋白水準相比降低。

【0024】 如本文所用，「反義化合物」意指能夠達成至少一種反義活性之寡聚化合物或寡聚雙鏈體。

【0025】 如本文所用，關於治療之「改善」意指至少一種症狀相對於不存在該治療之情形下的相同症狀得以改良。在某些實施例中，改善係症狀之嚴重程度或頻率降低，或症狀延遲出現或其嚴重程度或頻率之進展減緩。指標之進展或嚴重程度可藉由主觀或客觀量度來確定，其為熟習此項技術者所已知。

【0026】 如本文所用，「血壓」係指循環系統中血液對血管壁之壓力。動物之血壓主要由心臟跳動引起。在每一心跳期間，血壓在最大(收縮)血壓(SBP)與最小(舒張)血壓(DBP)之間變化。平均動脈壓(MAP)係在心跳週期期間之平均動

脈壓。可藉由血壓計(blood pressure meter)(亦即血壓計(sphygmomanometer))量測血壓。正常靜息狀態下之血壓收縮壓小於 120 mmHg 且舒張壓小於 80 mmHg，且通常表示為收縮壓(最高讀數)/舒張壓(最低讀數) mmHg。

【0027】 如本文所用，「雙環核苷」或「BNA」意指包含雙環糖部分之核苷。

【0028】 如本文所用，「雙環糖」或「雙環糖部分」意指包含兩個環之經修飾之糖部分，其中經由連結第一環中的兩個原子之橋形成第二環，藉此形成雙環結構。在某些實施例中，雙環糖部分之第一環係呋喃糖基部分。在某些實施例中，呋喃糖基糖部分係核糖基部分。在某些實施例中，雙環糖部分不包含呋喃糖基部分。

【0029】 如本文所用，「cEt」意指 4'至 2'橋替代核糖基糖部分之 2'OH-基團，其中該橋具有式 4'-CH(CH₃)-O-2'，且其中該橋之甲基係呈 *S* 組態。「cEt 糖部分」係 4'至 2'橋替代核糖基糖部分之 2'OH-基團的雙環糖部分，其中該橋具有式 4'-CH(CH₃)-O-2'，且其中該橋之甲基係呈 *S* 組態。「cEt」意指受約束乙基。

【0030】 如本文所用，「cEt 核苷」意指包含 cEt 糖部分之核苷。

【0031】 如本文所用，「可裂解部分」意指在(例如)細胞內、個體、動物或人類體內之生理條件下裂解之鍵或原子團。

【0032】 如本文所用，關於寡核苷酸之「互補」意指，當該寡核苷酸與另一核酸之核鹼基序列以相對方向對齊時，該寡核苷酸或其一或多個部分之至少 70%的核鹼基能夠與另一核酸或其一或多個部分之核鹼基彼此氫鍵結。如本文所用，「互補核鹼基」意指能夠彼此形成氫鍵之核鹼基。互補核鹼基對包括腺嘌呤(A)與胸腺嘧啶(T)、腺嘌呤(A)與尿嘧啶(U)、胞嘧啶(C)與鳥嘌呤(G)及 5-甲基胞嘧啶(^mC)與鳥嘌呤(G)。互補寡核苷酸及/或靶核酸不需要在每一核苷處具有核鹼基互補性。相反地，一些錯配係可忍受的。如本文所用，關於寡核苷酸或其一部分之「完全互補」或「100%互補」意指，該寡核苷酸或其一部分與另一寡

核苷酸或靶核酸在該兩個寡核苷酸中之較短者之每一核鹼基處互補，或若該等寡核苷酸具有相同長度，則在每一核苷處互補。

【0033】 如本文所用，「結合基團」意指直接或間接地連接至寡核苷酸之原子團。結合基團包括結合部分及將該結合部分連接至寡核苷酸之結合連接體。

【0034】 如本文所用，「結合連接體」意指單鍵或包含至少一個將結合部分連結至寡核苷酸之鍵的原子團。

【0035】 如本文所用，「結合部分」意指經由結合連接體連接至寡核苷酸之原子團。

【0036】 如本文所用，寡核苷酸背景中之「鄰接」係指彼此緊鄰之核苷、核鹼基、糖部分或核苷間鍵聯。舉例而言，「鄰接核鹼基」意指在序列中彼此緊鄰之核鹼基。

【0037】 如本文所用，「掌性富集群體」意指複數個具有相同分子式之分子，其中群體內在特定掌性中心處含有特定立體化學組態之分子的數目或百分比大於在該特定掌性中心為立體隨機的情況下群體內在相同特定掌性中心處預期含有相同特定立體化學組態之分子的數目或百分比。在每一分子內具有多個掌性中心之分子的掌性富集群體可含有一或多個立體隨機掌性中心。在某些實施例中，分子為經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，分子為包含經修飾之寡核苷酸之化合物。

【0038】 如本文所用，關於核苷間鍵聯之「掌性控制」意指，在該鍵聯處對於特定立體化學組態而言掌性為富集的。

【0039】 如本文所用，「去氧區」意指 5-12 個鄰接核苷酸之區域，其中至少 70% 之核苷為 2'-β-D-去氧核苷。在某些實施例中，每一核苷選自 2'-β-D-去氧核苷、雙環核苷及 2'-取代之核苷。在某些實施例中，去氧區支持 RNA 酶 H 活性。在某些實施例中，去氧區為間隙聚體之間隙或內部區域。

【0040】 如本文所用，「間隙聚體」意指包含內部區域之經修飾之寡核苷酸，該內部區域位於具有一或多個核苷之外部區域之間，具有複數個支持 RNA 酶 H 裂解之核苷，其中構成內部區域之核苷在化學上不同於構成外部區域之一或多個核苷。內部區域可稱為「間隙」，且外部區域可稱為「翼」。內部區域為去氧區。內部區域或間隙之位置係指內部區域之核苷之順序且自內部區域之 5'端開始計數。除非另有指示，否則「間隙聚體」係指糖模體。在某些實施例中，間隙之每一核苷為 2'-β-D-去氧核苷。在某些實施例中，間隙包含在間隙之 1 位、2 位、3 位、4 位或 5 位處的一個 2'-取代之核苷，且間隙之其餘核苷為 2'-β-D-去氧核苷。如本文所用，術語「MOE 間隙聚體」指示具有包含 2'-β-D-去氧核苷之間隙及包含 2'-MOE 核苷之翼的間隙聚體。如本文所用，術語「混合翼間隙聚體」指示具有翼之間隙聚體，該等翼包含含有至少兩種不同的糖修飾之經修飾之核苷。除非另有指示，否則間隙聚體可包含一或多個經修飾之核苷間鍵聯及/或經修飾之核鹼基，且此等修飾不一定遵循糖修飾之間隙聚體模式。

【0041】 如本文所用，「熱點區」係靶核酸上之一系列核鹼基，其易受寡聚化合物介導之靶核酸量或活性降低之影響。

【0042】 如本文所用，「雜交」意指互補寡核苷酸及/或核酸之配對或退火。雖然不限於特定機制，但最常見的雜交機制涉及互補核鹼基之間的氫鍵結，其可為沃森-克里克(Watson-Crick)、胡斯坦(Hoogsteen)或反向胡斯坦氫鍵結。

【0043】 如本文所用，「高血壓」或「HTN」係指動物血壓升高之慢性醫學疾患。升高之血壓需要心臟更努力地工作，以使血液經由血管循環。若血壓持續處於或高於 130/80 mmHg (階段 1)或 140/90 mmHg (階段 2)，則稱存在高血壓。高血壓分為原發性(primary、essential)或繼發性的。原發性高血壓沒有明確原因，且認為與遺傳學、飲食、缺乏鍛煉及肥胖有關。繼發性高血壓由另一醫學疾患引起。高血壓係預期壽命縮短、慢性腎病、中風、心肌梗塞、心臟衰竭、血管

動脈瘤(例如主動脈動脈瘤)、外周動脈疾病、器官損傷(例如心臟擴大或肥大)及其他心血管疾病、病症及/或疾患或其症狀之主要風險因素。抗高血壓藥物、飲食改變及生活方式改變可降低高血壓，且減少與高血壓相關之疾病、病症及/或疾患。高血壓可對藥物干預(亦即能藉由市售藥物療法控制)無抗性，或對藥物干預有抗性。

【0044】 如本文所用，「核苷間鍵聯」意指寡核苷酸中鄰接核苷之間的共價鍵聯。如本文所用，「經修飾之核苷間鍵聯」意指除磷酸二酯核苷間鍵聯以外之任何核苷間鍵聯。「硫代磷酸酯核苷間鍵聯」係經修飾之核苷間鍵聯，其中磷酸二酯核苷間鍵聯之一個非橋接氧原子經硫原子置換。

【0045】 如本文所用，「連接體核苷」意指將寡核苷酸直接或間接地連接至結合部分之核苷。連接體核苷位於寡聚化合物之結合連接體內。連接體核苷不被視為寡聚化合物之寡核苷酸部分之一部分，即使其與寡核苷酸鄰接。

【0046】 如本文所用，「非雙環之經修飾糖部分」意指包含修飾(諸如取代基)之經修飾之糖部分，其在糖之兩個原子之間不會形成橋以致形成第二環。

【0047】 如本文所用，「錯配」或「非互補」意指當將第一寡核苷酸與第二寡核苷酸對齊時，第一寡核苷酸之核鹼基不與第二寡核苷酸或靶核酸之相應核鹼基互補。

【0048】 如本文所用，「模體」意指寡核苷酸中未經修飾及/或經修飾之糖部分、核鹼基及/或核苷間鍵聯之模式。

【0049】 如本文所用，「核鹼基」意指未經修飾之核鹼基或經修飾之核鹼基。如本文所用，「未經修飾之核鹼基」係腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)、尿嘧啶(U)或鳥嘌呤(G)。如本文所用，「經修飾之核鹼基」係除未經修飾之 A、T、C、U 或 G 以外的能夠與至少一種未經修飾之核鹼基配對之原子團。「5-甲基胞嘧啶」係經修飾之核鹼基。通用鹼基係經修飾之核鹼基，其可與該五種未

經修飾之核鹼基中之任一者配對。如本文所用，「核鹼基序列」意指靶核酸或寡核苷酸中鄰接核鹼基之順序，該順序與任何糖或核苷間鍵聯修飾無關。

【0050】 如本文所用，「核苷」意指包含核鹼基及糖部分之化合物或化合物片段。核鹼基及糖部分各自獨立地未經修飾或經修飾。如本文所用，「經修飾之核苷」意指包含經修飾之核鹼基及/或經修飾之糖部分的核苷。經修飾之核苷包括缺少核鹼基之無鹼基核苷。「連接之核苷」係以鄰接序列相連結之核苷(亦即，在彼等連接之核苷之間不存在其他核苷)。

【0051】 如本文所用，「寡聚化合物」意指寡核苷酸及視情況一或多種額外特徵，諸如結合基團或末端基團。寡聚化合物可與同第一寡聚化合物互補之第二寡聚化合物配對或可能不配對。「單股寡聚化合物」係未配對之寡聚化合物。術語「寡聚雙鏈體」意指由兩種具有互補核鹼基序列之寡聚化合物形成的雙鏈體。寡聚雙鏈體之每一寡聚化合物可稱為「雙鏈體化之寡聚化合物」。

【0052】 如本文所用，「寡核苷酸」意指經由核苷間鍵聯連結的一股連接核苷，其中每一核苷及核苷間鍵聯可經修飾或未經修飾。除非另有指示，否則寡核苷酸係由 8-50 個連接之核苷組成。如本文所用，「經修飾之寡核苷酸」意指其中至少一個核苷或核苷間鍵聯經修飾之寡核苷酸。如本文所用，「未經修飾之寡核苷酸」意指不包含任何核苷修飾或核苷間修飾之寡核苷酸。

【0053】 如本文所用，「器官損傷」或「終末器官損傷」係指在由循環系統供給之主要器官中發生的損傷，諸如心臟(例如心肌肥大、心臟功能減退及/或心臟衰竭)、腎臟(例如白蛋白尿、蛋白尿、腎功能減退及/或腎衰竭)、眼睛(例如高血壓性視網膜病變)、腦(例如中風)及諸如此類。高血壓可損害動物之器官。在某些實施例中，心臟損傷係纖維化、心臟細胞及/或肌肉肥大，從而導致心臟擴大。

【0054】 如本文所用，「醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑」意指適用於投與給個體之任何物質。某些此等載劑使得能夠將醫藥組合物調配為(例如)錠劑、丸劑、糖衣錠、膠囊、液體、凝膠、糖漿、漿液、懸浮液及菱形錠劑以供由個體經口攝取。在某些實施例中，醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑係無菌水、無菌鹽水、無菌緩衝溶液或無菌人工腦脊髓液。

【0055】 如本文所用，「醫藥學上可接受之鹽」意指化合物之生理學及醫藥學上可接受之鹽。醫藥學上可接受之鹽保留母體化合物之期望生物活性，且不賦予其不期望之毒物學效應。

【0056】 如本文所用，「醫藥組合物」意指適於向個體投與之物質混合物。舉例而言，醫藥組合物可包含寡聚化合物及無菌水溶液。在某些實施例中，醫藥組合物在某些細胞株中在自由攝取分析中顯示活性。

【0057】 如本文所用，「前藥」意指在個體或其細胞內轉化成與体外形式不同之形式的治療劑。通常，藉由存在於細胞或組織中之酶(例如內源性或病毒酶)或化學品之作用及/或藉由生理條件促進前藥在個體內之轉化。

【0058】 如本文所用，「減少量或活性」係指相對於未經處理之樣品或對照樣品中之轉錄表現或活性減少或阻斷轉錄表現或活性，且不一定指示轉錄表現或活性之完全消除。

【0059】 如本文所用，「腎素-血管收縮素-醛固酮系統」、「腎素-血管收縮素-醛固酮系統路徑」、「RAAS 路徑」或「RAAS」係指多組分酶促路徑，其中前體組分(血管收縮素原)被各種酶(諸如腎素及血管收縮素轉化酶(ACE))轉化成下游組分，諸如血管收縮素 I 及血管收縮素 II。血管收縮素 I 刺激路徑中類固醇醛固酮之分泌。RAAS 路徑調控血壓及流體平衡。

【0060】 如本文所用，「腎素-血管收縮素系統」或「RAS」或「RAS 路徑」係指 RAAS 路徑之一部分。促效劑或拮抗劑已靶向此路徑之各種組分以阻斷該

等組分之產生。舉例而言，已開發腎素抑制劑、ACE 抑制劑、血管收縮素-受體阻斷劑(ARB)及諸如此類，以抑制或阻斷 RAS 路徑。然而，由於各種機制或不良效應，靶向各種 RAS 路徑組分之市售療法在完全抑制或阻斷 RAS 路徑方面無效(Nobakht 等人，Nat Rev Nephrol，2011，7:356-359)。

【0061】 如本文所用，「RAAS 相關之疾病、病症及/或疾患」或「RAAS 路徑相關之疾病、病症及/或疾患」係指動物中與 RAAS 相關之任何疾病、病症或疾患。RAAS 相關之疾病、病症及/或疾患之實例包括預期壽命縮短、高血壓(例如非頑固性高血壓、頑固性高血壓)、腎病(例如慢性腎病、多囊性腎病)、中風、心臟病(例如心肌梗塞、心臟衰竭、心臟瓣膜疾病)、血管動脈瘤(例如主動脈動脈瘤)、外周動脈疾病、器官損傷(例如心臟損傷或肥大)、組織纖維化及其他心血管疾病、病症及/或疾患或其症狀。在某些實施例中，RAAS 相關之疾病、病症及/或疾患不包括高血壓。

【0062】 如本文所用，「頑固性高血壓」或「RHTN」定義為 a)儘管同時使用 3 種或更多種來自不同藥物類別之抗高血壓劑且以最大耐受劑量投與，但血壓仍高於治療目標(通常 $\geq 130/80$ mmHg)；或 b)僅在投與至少 4 種不同類別之抗高血壓劑以達成控制後，才將血壓控制在治療目標或低於治療目標。

【0063】 除非另有指定，否則如本文所用，「RNA」意指 RNA 轉錄物且包括前 mRNA 及成熟 mRNA。

【0064】 如本文所用，「RNAi 化合物」意指反義化合物，其至少部分地經由 RISC 或 Ago2 起作用以調節靶核酸及/或由靶核酸編碼之蛋白質。RNAi 化合物包括(但不限於)雙股 siRNA、單股 RNA (ssRNA)及微 RNA，包括微 RNA 模擬物。在某些實施例中，RNAi 化合物調節靶核酸之量、活性及/或剪接。術語 RNAi 化合物不包括經由 RNA 酶 H 起作用之反義化合物。

【0065】 如本文所用，關於寡核苷酸之「自互補」意指寡核苷酸至少部分地與自身雜交。

【0066】 如本文所用，「標準活體外分析」意指實例中所闡述之分析及其合理變化形式。

【0067】 如本文所用，「標準活體內分析」意指實例中所闡述之分析及其合理變化形式。

【0068】 如本文所用，「立體隨機掌性中心」在具有相同分子式之分子群體背景下意指具有隨機立體化學組態之掌性中心。舉例而言，在包含立體隨機掌性中心之分子群體中，具有立體隨機掌性中心(*S*)組態之分子的數目可與具有立體隨機掌性中心(*R*)組態之分子的數目相同，但不一定相同。當掌性中心之立體化學組態係並非為控制立體化學組態而設計之合成方法的結果時，可將其視為隨機的。在某些實施例中，立體隨機掌性中心係立體隨機硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【0069】 如本文所用，「個體」意指人類或非人類動物。

【0070】 如本文所用，「糖部分」意指未經修飾之糖部分或經修飾之糖部分。如本文所用，「未經修飾之糖部分」意指如在 RNA 中發現之 2'-OH(H) β -D-核糖基部分(「未經修飾之 RNA 糖部分」)，或如在 DNA 中發現之 2'-H(H) β -D-去氧核糖基糖部分(「未經修飾之 DNA 糖部分」)。未經修飾之糖部分在 1'位、3'位及 4'位中之每一者處具有一個氫，在 3'位處具有氧且在 5'位處具有兩個氫。如本文所用，「經修飾之糖部分」或「經修飾之糖」意指經修飾之呋喃糖基糖部分或糖替代物。

【0071】 如本文所用，「糖替代物」意指經修飾之糖部分，其具有除呋喃糖基部分以外的可將核鹼基連接至另一基團之部分，諸如寡核苷酸中之核苷間鍵

聯、結合基團或末端基團。包含糖替代物之經修飾核苷可併入至寡核苷酸內之一或多個位置中，且此等寡核苷酸能夠與互補寡聚化合物或靶核酸雜交。

【0072】 如本文所用，「症狀」或「標誌」意指指示疾病或病症之存在或程度的任何身體特徵或測試結果。在某些實施例中，症狀對於個體或檢查或測試該個體之醫學專業人士顯而易見。在某些實施例中，標誌在進行包括(但不限於)死後測試之侵入性診斷測試時顯而易見。

【0073】 如本文所用，「靶核酸」及「靶 RNA」意指反義化合物經設計欲影響之核酸。

【0074】 如本文所用，「靶區」意指寡聚化合物經設計欲與之雜交之靶核酸之一部分。

【0075】 如本文所用，「末端基團」意指共價連接至寡核苷酸末端之化學基團或原子團。

【0076】 如本文所用，「治療有效量」意指醫藥劑為個體提供治療益處之量。舉例而言，治療有效量改良疾病之症狀。

某些實施例

【0077】 本揭示案提供以下非限制性編號實施例：

【0078】 實施例 1：一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由 14 至 30 個連接之核苷組成且具有包含 SEQ ID NO: 12-15 之核鹼基序列中之任一者之至少 14 個、至少 15 個或 16 個鄰接核鹼基的核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【0079】 實施例 2：一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由 14 至 30 個連接之核苷組成且具有包含至少 14 個、至少 15 個或至少 16 個與以下互補之鄰接核鹼基之核鹼基序列：

SEQ ID NO: 1 之核鹼基 2046-2061 之等長部分；

SEQ ID NO: 1 之核鹼基 2271-2286 之等長部分；

SEQ ID NO: 1 之核鹼基 2272-2287 之等長部分；

其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【0080】 實施例 3：一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由 16 個連接之核苷組成且具有包含 SEQ ID NO: 12 之核鹼基序列之核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【0081】 實施例 4：一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由 16 個連接之核苷組成且具有包含 SEQ ID NO: 13 之核鹼基序列之核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【0082】 實施例 5：一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由 16 個連接之核苷組成且具有包含 SEQ ID NO: 14 之核鹼基序列之核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【0083】 實施例 6：一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由 16 個連接之核苷組成且具有包含 SEQ ID NO: 15 之核鹼基序列之核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【0084】 實施例 7：如實施例 1 至 6 中任一實施例之寡聚化合物，其中當在該經修飾之寡核苷酸之整個核鹼基序列上量測時，該經修飾之寡核苷酸具有與

SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 中之任一者之核鹼基序列至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95% 或 100% 互補之核鹼基序列。

【0085】 實施例 8：如實施例 1 至 7 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個雙環糖部分。

【0086】 實施例 9：如實施例 8 之寡聚化合物，其中該雙環糖部分具有 4'-2' 橋，其中該 4'-2' 橋選自 -CH₂-O- 及 -CH(CH₃)-O-。

【0087】 實施例 10：如實施例 1 至 9 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個非雙環之經修飾糖部分。

【0088】 實施例 11：如實施例 10 之寡聚化合物，其中該非雙環之經修飾糖部分為 2'-MOE 糖部分或 2'-OMe 糖部分。

【0089】 實施例 12：如實施例 1 至 11 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個糖替代物。

【0090】 實施例 13：如實施例 12 之寡聚化合物，其中該糖替代物為嗎啉基、經修飾之嗎啉基、PNA、THP 及 F-HNA 中之任一者。

【0091】 實施例 14：如實施例 1 至 13 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸為間隙聚體。

【0092】 實施例 15：如實施例 14 之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有包含以下之糖模體：

5'區，其由 1-6 個連接之 5'區核苷組成；

中央區，其由 6-10 個連接之中央區核苷組成；及

3'區，其由 1-6 個連接之 3'區核苷組成；其中

該等 5'區核苷中之每一者及該等 3'區核苷中之每一者包含經修飾之糖部分，且該等中央區核苷中之至少 6 者包含 2'-β-D-去氧核糖基糖部分。

【0093】 實施例 16：如實施例 14 之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有包含以下之糖模體：

5'區，其由 1-6 個連接之 5'區核苷組成；

中央區，其由 6-10 個連接之中央區核苷組成；及

3'區，其由 1-6 個連接之 3'區核苷組成；其中

該等 5'區核苷中之每一者及該等 3'區核苷中之每一者包含經修飾之糖部分，且該等中央區核苷中之每一者包含 2'-去氧核糖基糖部分。

【0094】 實施例 17：如實施例 14 之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有包含以下之糖模體：

5'區，其由 3 個連接之 5'區核苷組成；

中央區，其由 10 個連接之中央區核苷組成；及

3'區，其由 3 個連接之 3'區核苷組成；其中

該等 5'區核苷中之每一者及該等 3'區核苷中之每一者包含經 2'-MOE 修飾之糖部分或經 cEt 修飾之糖部分，且該等中央區核苷中之每一者包含 2'-β-D-去氧核糖基糖部分。

【0095】 實施例 18：如實施例 14 之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有包含以下之糖模體：

5'區，其由 3 個連接之 5'區核苷組成；

中央區，其由 10 個連接之中央區核苷組成；及

3'區，其由 43 個連接之 3'區核苷組成；其中

該等 5'區核苷中之每一者及該等 3'區核苷中之每一者包含經 2'-MOE 修飾之糖部分或經 cEt 修飾之糖部分，且該等中央區核苷中之至少 6 者包含 2'-β-D-去氧核糖基糖部分。

【0096】 實施例 19：如實施例 1 至 18 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有選自以下之糖模體(5' 至 3')：eekdddddddddkke、ekkdddddddddkke、kkkdydddddddkkk、kkkddydddddddkkk、kkkdddyydddddddkkk、kkkdddddddddkkk 或 eeeeeeeeeeeeeee；其中『e』表示 2'-MOE 糖部分，『k』表示 cEt 糖部分，『d』表示 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，且『y』表示 2'-OMe 糖部分。

【0097】 實施例 20：如實施例 1 至 19 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核苷間鍵聯。

【0098】 實施例 21：如實施例 20 之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸之每一核苷間鍵聯為經修飾之核苷間鍵聯。

【0099】 實施例 22：如實施例 20 或實施例 21 之寡聚化合物，其中至少一個核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【0100】 實施例 23：如實施例 20 及 22 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個磷酸二酯核苷間鍵聯。

【0101】 實施例 24：如實施例 20、22 及 23 中任一實施例之寡聚化合物，其中每一核苷間鍵聯為磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【0102】 實施例 25：如實施例 21 之寡聚化合物，其中每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【0103】 實施例 26：如實施例 1 至 20 或 22 至 24 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有 soosssssssos 之核苷間鍵聯模體；其中，s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯且 o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【0104】 實施例 27：如實施例 1 至 26 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核鹼基。

【0105】 實施例 28：如實施例 27 之寡聚化合物，其中該經修飾之核鹼基為 5-甲基胞嘧啶。

【0106】 實施例 29：如實施例 1 至 28 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸由 12-30 個、12-22 個、12-20 個、14-18 個、14-20 個、15-17 個、15-25 個或 16-20 個連接之核苷組成。

【0107】 實施例 30：如實施例 1 至 28 中任一實施例之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸由 16 個連接之核苷組成。

【0108】 實施例 31：如實施例 1 至 30 中任一實施例之寡聚化合物，其包含結合基團。

【0109】 實施例 32：如實施例 31 之寡聚化合物，其中該結合基團包含含有 1-3 個 GalNAc 配位體之 GalNAc 簇。

【0110】 實施例 33：如實施例 31 及 32 中任一實施例之寡聚化合物，其中該結合基團包含由單鍵組成之結合連接體。

【0111】 實施例 34：如實施例 31 至 33 中任一實施例之寡聚化合物，其中該結合基團包含可裂解連接體。

【0112】 實施例 35：如實施例 31 至 34 中任一實施例之寡聚化合物，其中該結合基團包含含有 1-3 個連接體核苷之結合連接體。

【0113】 實施例 36：如實施例 31 至 35 中任一實施例之寡聚化合物，其中該結合基團在該經修飾之寡核苷酸之 5'端處連接至該經修飾之寡核苷酸。

【0114】 實施例 37：如實施例 31 至 35 中任一實施例之寡聚化合物，其中該結合基團在該經修飾之寡核苷酸之 3'端處連接至該經修飾之寡核苷酸。

【0115】 實施例 38：如實施例 1 至 37 中任一實施例之寡聚化合物，其中該寡聚化合物係單股寡聚化合物。

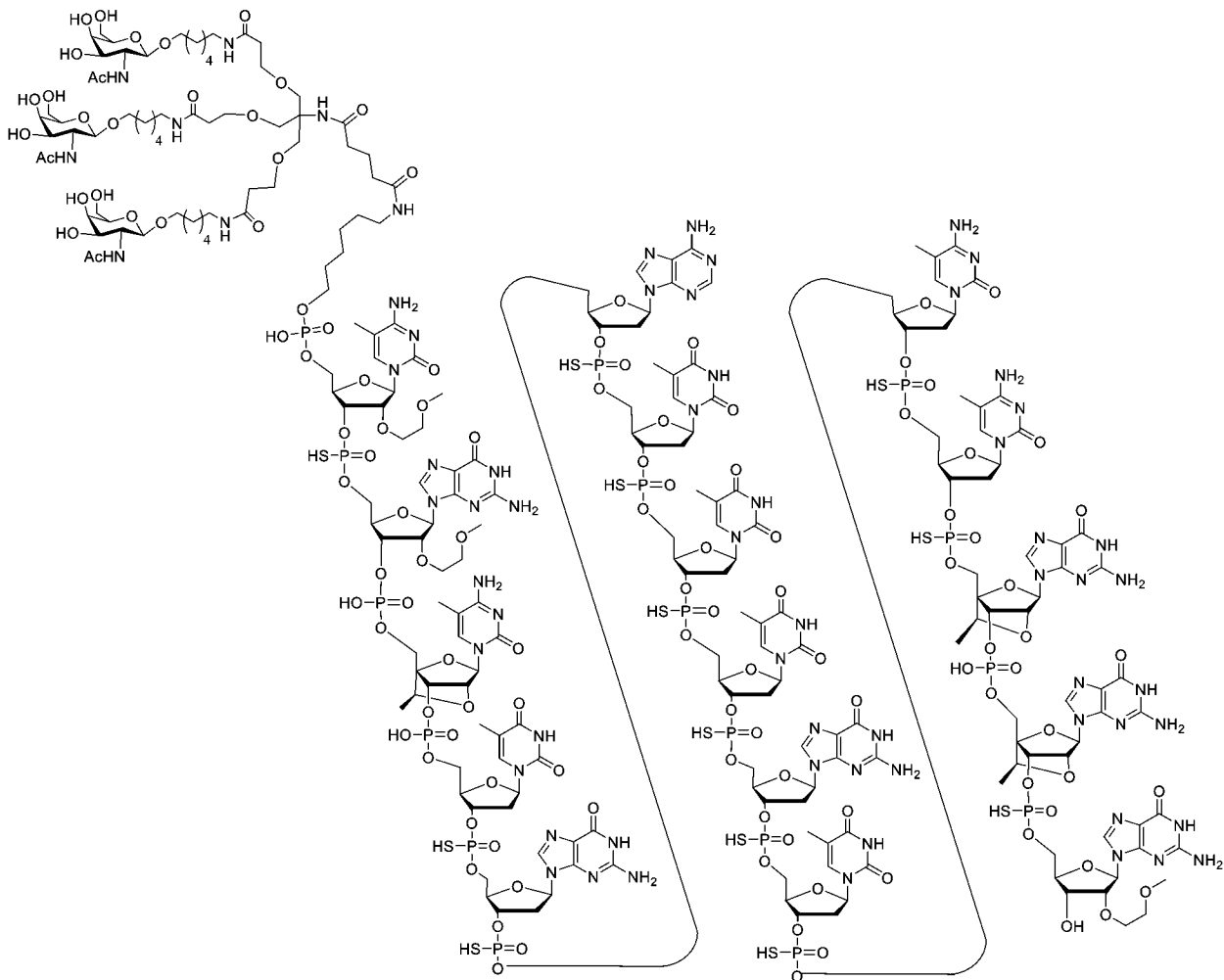
【0116】 實施例 39：如實施例 1 至 37 中任一實施例之寡聚化合物，其由該經修飾之寡核苷酸組成。

【0117】 實施例 40：一種寡聚雙鏈體，其包含如實施例 1 至 37 中任一實施例之寡聚化合物。

【0118】 實施例 41：一種反義化合物，其包含如實施例 1 至 39 中任一實施例之寡聚化合物或如實施例 40 之寡聚雙鏈體，或由其組成。

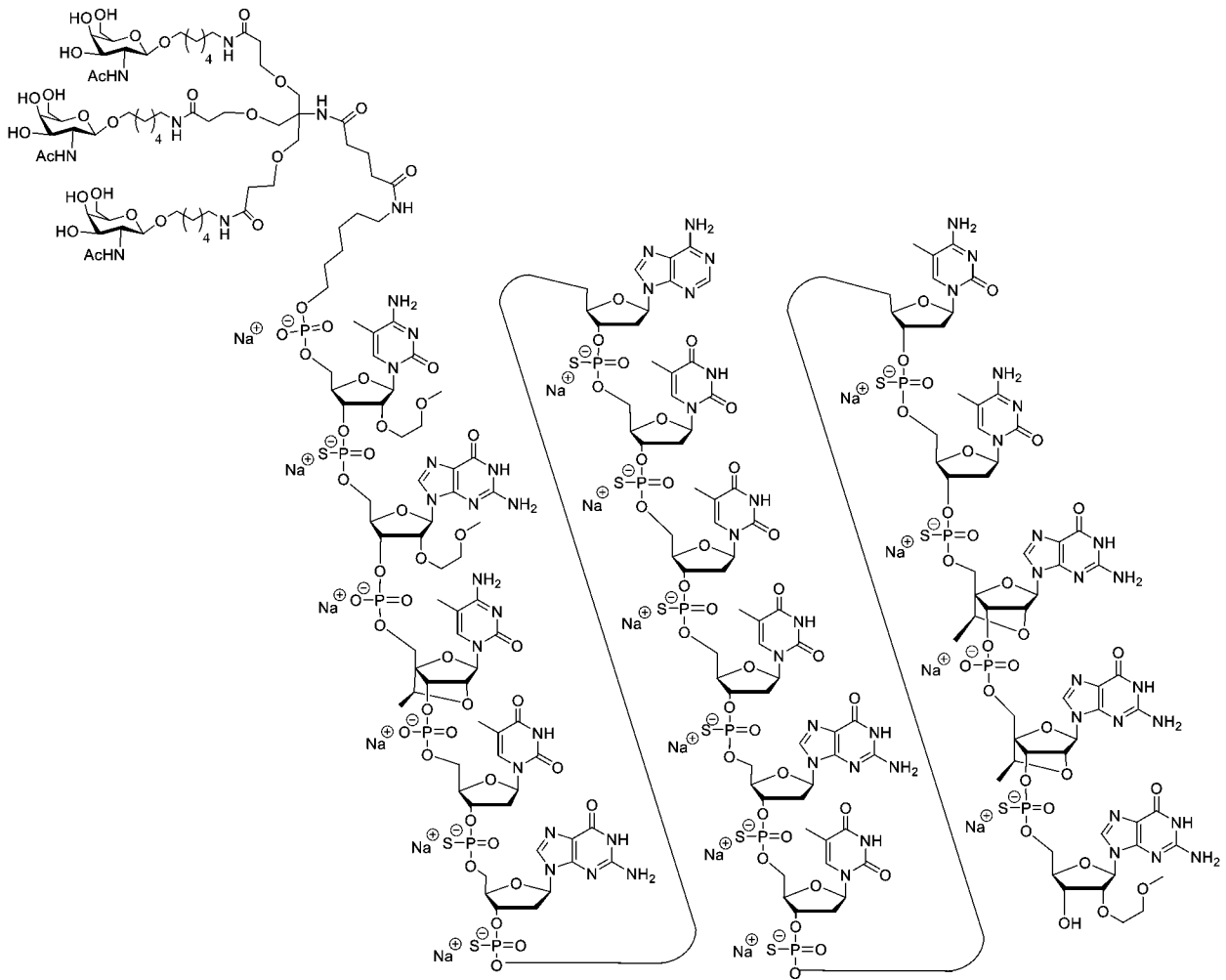
【0119】 實施例 42：一種醫藥組合物，其包含如實施例 1 至 39 中任一實施例之寡聚化合物或如實施例 40 之寡聚雙鏈體以及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【0120】 實施例 43：一種根據以下化學結構之化合物或其鹽，



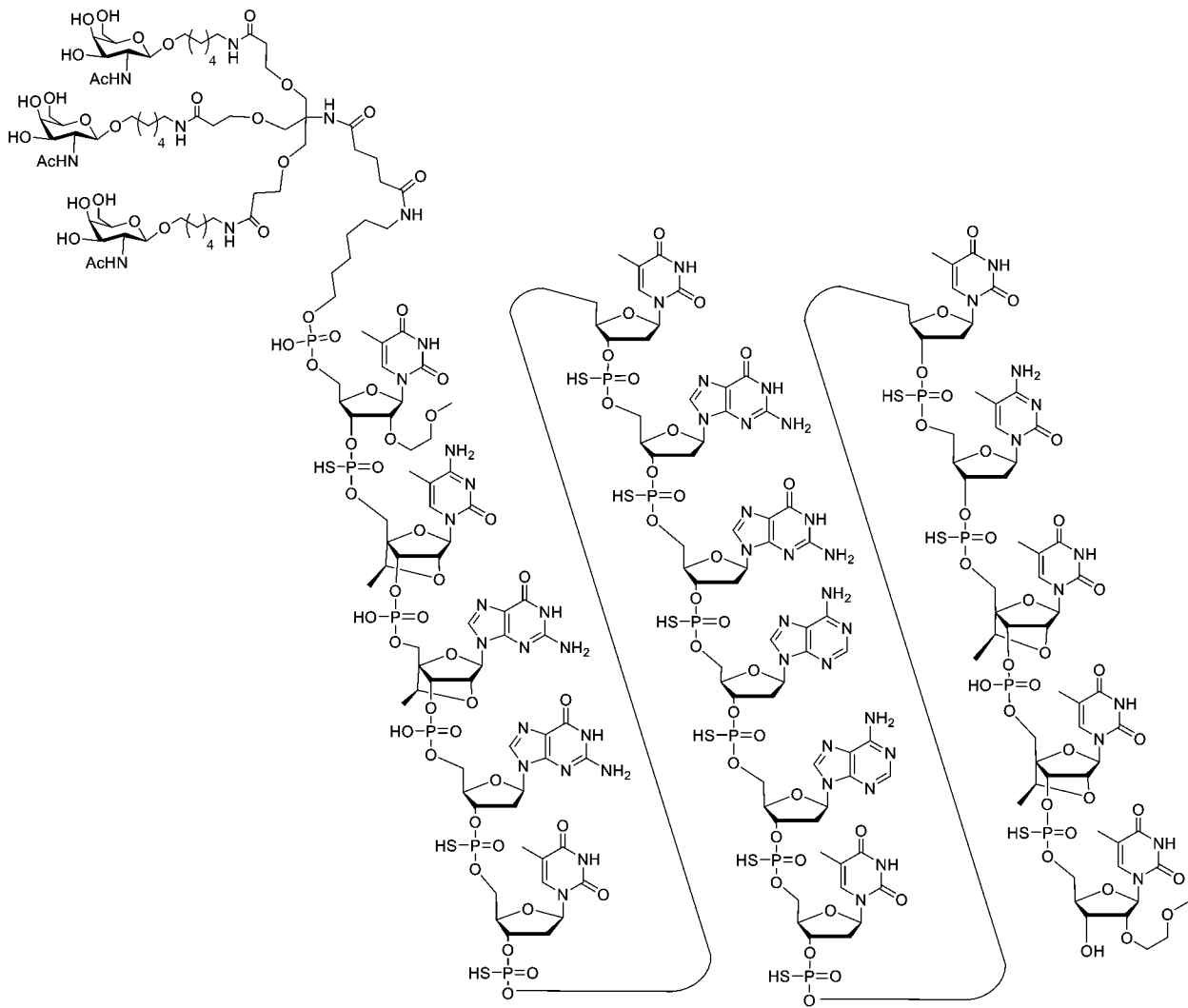
(SEQ ID NO: 12)。

【0121】 實施例 44：一種根據以下化學結構之化合物，



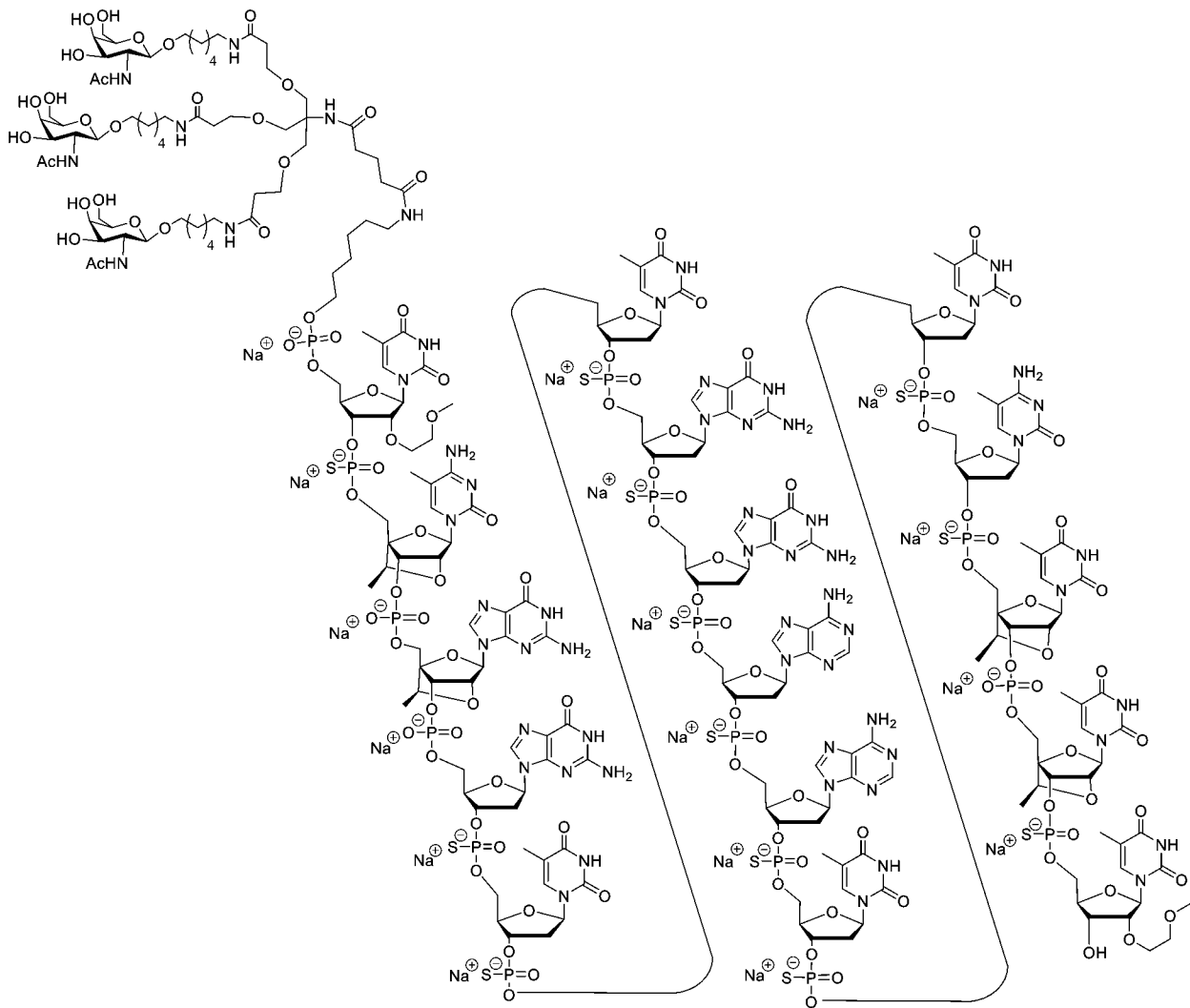
(SEQ ID NO: 12)。

【0122】 實施例 45：一種根據以下化學結構之化合物或其鹽，



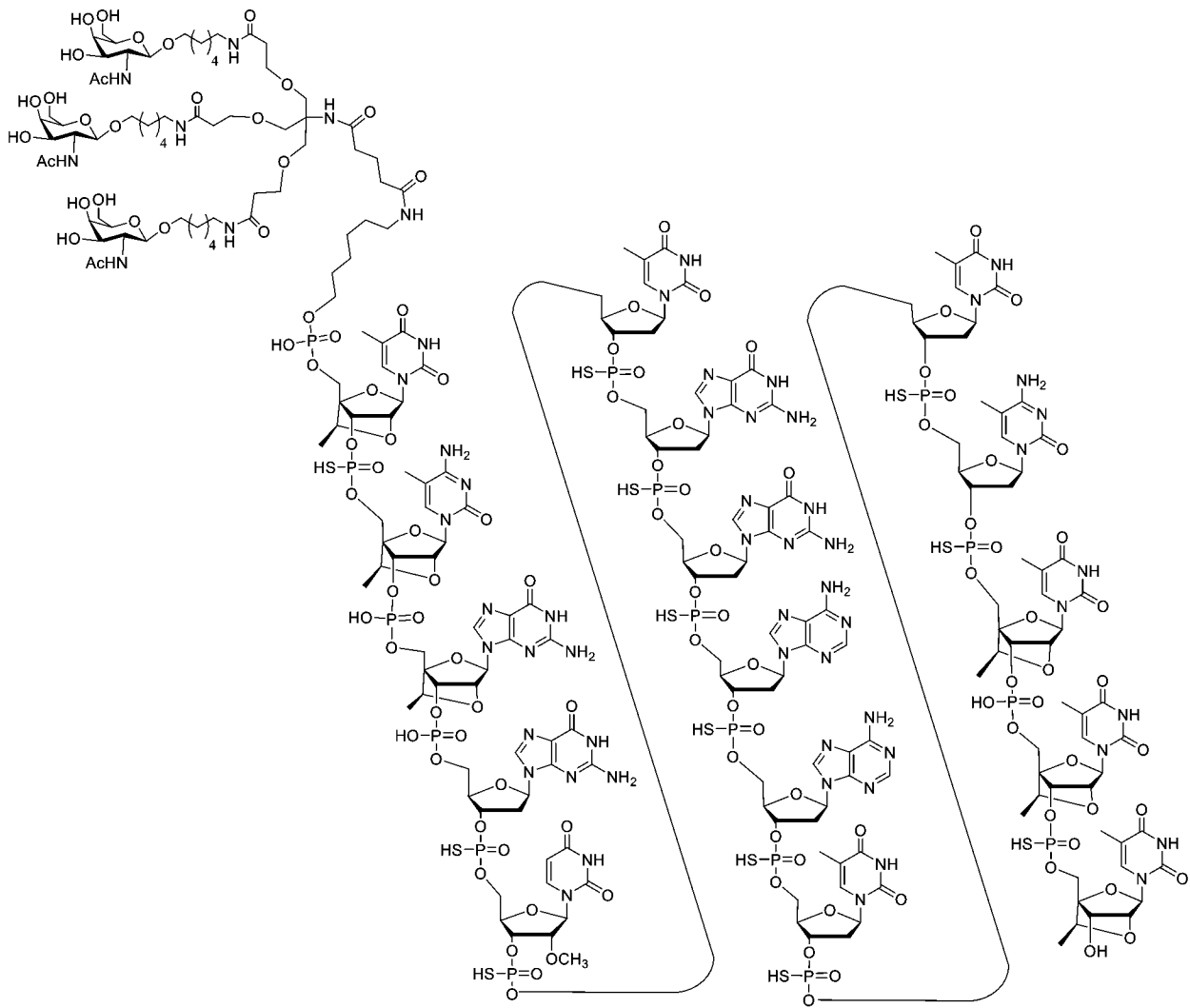
(SEQ ID NO: 13)。

【0123】 實施例 46：一種根據以下化學結構之化合物，



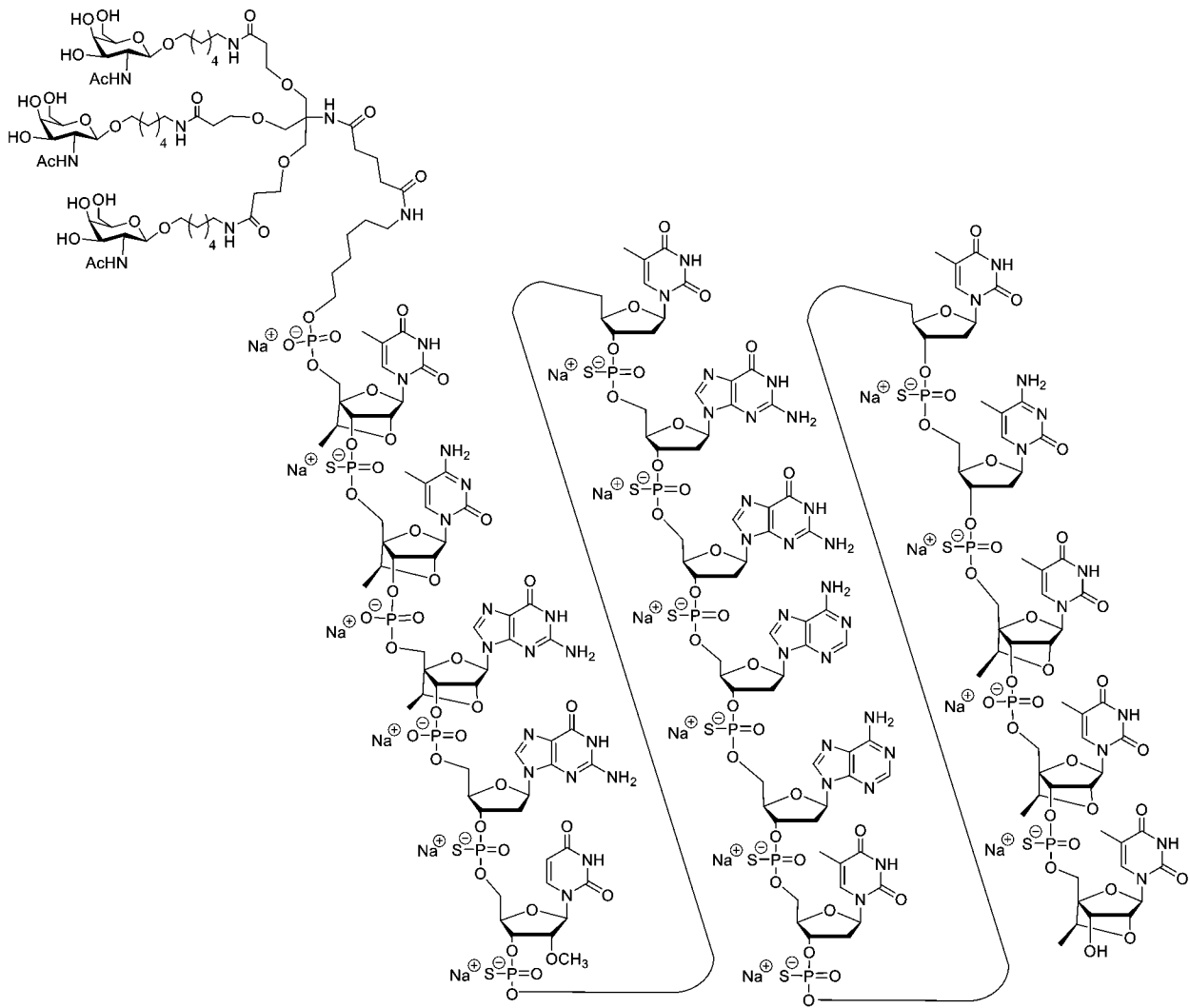
(SEQ ID NO: 13)。

【0124】 實施例 47：一種根據以下化學結構之化合物或其鹽，



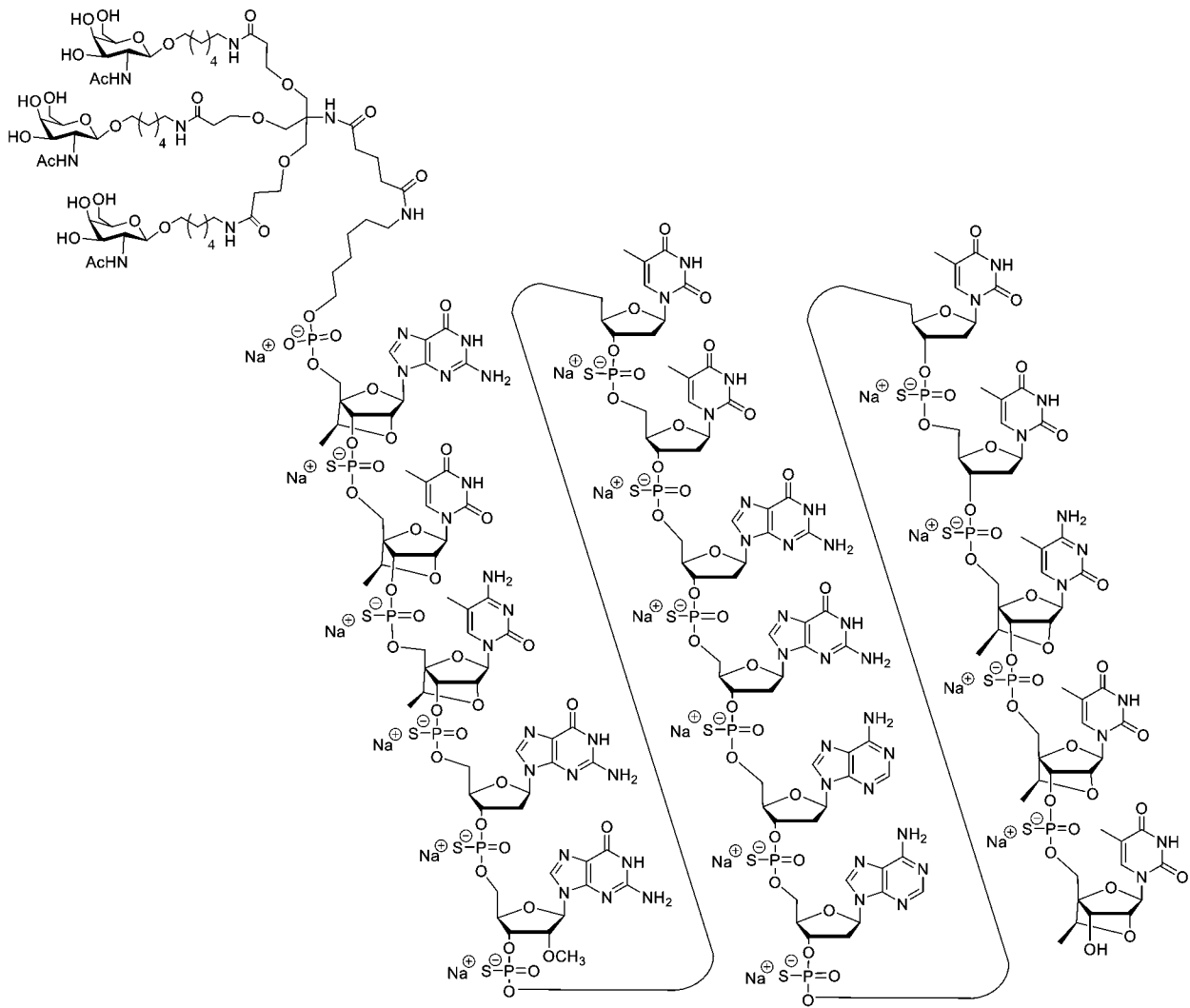
(SEQ ID NO: 14)。

【0125】 實施例 48：一種根據以下化學結構之化合物，



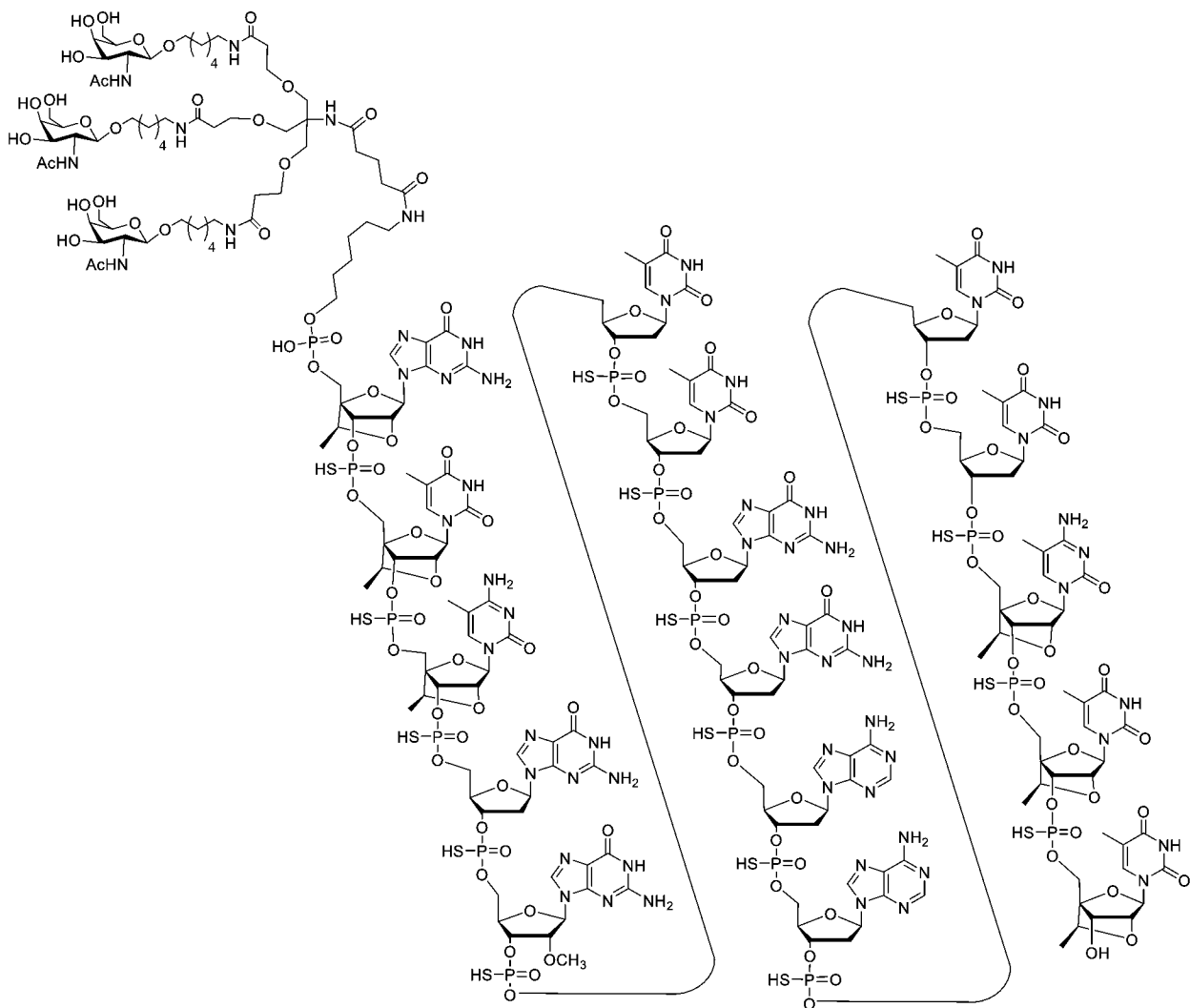
(SEQ ID NO: 14)。

【0126】 實施例 49：一種根據以下化學結構之化合物或其鹽，



(SEQ ID NO: 15)。

【0127】 實施例 50：一種根據以下化學結構之化合物，



(SEQ ID NO: 15)。

【0128】 實施例 51：如實施例 43、45、47 及 49 中任一實施例之經修飾之寡核苷酸，其為該化學結構之鈉鹽或鉀鹽。

【0129】 實施例 52：一種醫藥組合物，其包含如實施例 43 至 51 中任一實施例之經修飾之寡核苷酸以及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【0130】 實施例 53：一種化合物，其包含根據以下化學記法之經修飾之寡核苷酸： $mC_{es}G_{eo}mC_{ko}T_{ds}G_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}mC_{ds}mC_{ds}G_{ko}G_{ks}G_e$ (SEQ ID NO: 12)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

e = 2'-β-D-MOE 糖部分，

k = cEt 糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【0131】 實施例 54：一種化合物，其包含根據以下化學記法之經修飾之寡核苷酸： $T_{es}{}^mC_{ko}G_{ko}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ko}T_{ks}T_e$ (SEQ ID NO: 13)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

e = 2'-β-D-MOE 糖部分，

k = cEt 糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【0132】 實施例 55：一種化合物，其包含根據以下化學記法之經修飾之寡核苷酸： $G_{ks}T_{ks}{}^mC_{ks}G_{ds}G_{ys}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ks}T_{ks}T_k$ (SEQ ID NO: 15)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

k = cEt 糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

y = 2'-OMe 核糖部分，且

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【0133】 實施例 56：一種化合物，其包含根據以下化學記法之經修飾之寡核苷酸： $T_{ks}^m C_{ko} G_{ko} G_{ds} U_{ys} T_{ds} G_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} T_{ko} T_{ks} T_k$ (SEQ ID NO: 14)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

$^m C$ = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

U = 尿嘧啶核鹼基，

k = cEt 糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

y = 2'-OMe 核糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【0134】 實施例 57：如實施例 53 至 56 中任一實施例之化合物，其包含共價連接至結合基團之該經修飾之寡核苷酸。

【0135】 實施例 58：如實施例 53 至 56 中任一實施例之醫藥組合物，及醫藥學上可接受之稀釋劑或載劑。

【0136】 實施例 59：一種如實施例 53 至 56 中任一實施例之經修飾之寡核苷酸的掌性富集群體，其中該群體富集包含至少一個具有特定立體化學組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯的經修飾之寡核苷酸。

【0137】 實施例 60：如實施例 59 之掌性富集群體，其中該群體富集包含至少一個具有(Sp)組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯的經修飾之寡核苷酸。

【0138】 實施例 61：如實施例 59 之掌性富集群體，其中該群體富集包含至少一個具有(Rp)組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯的經修飾之寡核苷酸。

【0139】 實施例 62：如實施例 59 之掌性富集群體，其中該群體富集在每一硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有特定獨立選擇之立體化學組態的經修飾之寡核苷酸。

【0140】 實施例 63：如實施例 59 之掌性富集群體，其中該群體富集在每一硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有(Sp)組態的經修飾之寡核苷酸或富集在每一硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有(Rp)組態的經修飾之寡核苷酸。

【0141】 實施例 64：如實施例 59 之掌性富集群體，其中該群體富集在一個特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有(Rp)組態且在其餘硫代磷酸酯核苷間鍵聯中之每一者處具有(Sp)組態的經修飾之寡核苷酸。

【0142】 實施例 65：如實施例 59 之掌性富集群體，其中該群體富集沿 5' 至 3' 方向具有至少 3 個呈 Sp、Sp 及 Rp 組態之鄰接硫代磷酸酯核苷間鍵聯的經修飾之寡核苷酸。

【0143】 實施例 66：一種如實施例 59 至 65 中任一實施例之經修飾之寡核苷酸的群體，其中該經修飾之寡核苷酸之所有硫代磷酸酯核苷間鍵聯均為立體隨機的。

【0144】 實施例 67：一種方法，其包括向個體投與如任一前述實施例之醫藥組合物。

【0145】 實施例 68：一種治療與 RAAS 路徑相關之疾病的方法，其包括向患有與 RAAS 路徑相關之疾病或處於患有該疾病風險下之個體投與治療有效量之如任一前述實施例之醫藥組合物，藉此治療該與 RAAS 路徑相關之疾病。

- 【0146】 實施例 69：如實施例 68 之方法，其中該疾病係心血管疾病。
- 【0147】 實施例 70：如實施例 68 及 69 中任一實施例之方法，其中該疾病選自高血壓、頑固性高血壓、馬凡氏症候群、心臟衰竭、腎病、肥胖、代謝症候群、NASH 及 NAFLD。
- 【0148】 實施例 71：如實施例 68 至 70 中任一實施例之方法，其中該疾病之至少一種症狀或標誌得以改善。
- 【0149】 實施例 72：如實施例 71 之方法，其中該症狀或標誌係以下中之任一者：高血壓、高血壓急症(亦即惡性高血壓)、中風、子癇前症、血管動脈瘤、腹部動脈瘤、外周動脈疾病、器官損傷或肺動脈高血壓。
- 【0150】 實施例 73：如實施例 67 至 72 中任一實施例之方法，其中該醫藥組合物全身投與。
- 【0151】 實施例 74：如實施例 73 中任一實施例之方法，其中該醫藥組合物係以皮下或肌內任一方式投與。
- 【0152】 實施例 75：一種如實施例 1 至 37 中任一實施例之寡聚化合物或如實施例 40 之寡聚雙鏈體之用途，其用於減少細胞中之 AGT 表現。
- 【0153】 實施例 76：如實施例 75 之用途，其中 AGT RNA 之水準降低。
- 【0154】 實施例 77：如實施例 75 之用途，其中 AGT 蛋白之水準降低。

I. 某些寡核苷酸

【0155】 在某些實施例中，本文提供寡聚化合物，該等寡聚化合物包含由連接之核苷組成的寡核苷酸。寡核苷酸可為未經修飾之寡核苷酸(RNA 或 DNA)或可為經修飾之寡核苷酸。相對於未經修飾之 RNA 或 DNA，經修飾之寡核苷酸包含至少一種修飾。亦即，經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核苷(包含經修飾之糖部分及/或經修飾之核鹼基)及/或至少一個經修飾之核苷間鍵聯。

A. 某些經修飾之核苷

【0156】 經修飾之核苷包含經修飾之糖部分或經修飾之核鹼基或者經修飾之糖部分及經修飾之核鹼基二者。

1. 某些糖部分

【0157】 在某些實施例中，經修飾之糖部分係非雙環之經修飾糖部分。在某些實施例中，經修飾之糖部分係雙環或三環糖部分。在某些實施例中，經修飾之糖部分係糖替代物。此等糖替代物可包含一或多個取代，該(等)取代對應於其他類型的經修飾之糖部分之彼等取代。

【0158】 在某些實施例中，經修飾之糖部分係非雙環之經修飾糖部分，其包含具有一或多個取代基之呋喃糖基環，該等取代基均不橋接該呋喃糖基環之兩個原子以形成雙環結構。此等非橋接取代基可位於呋喃糖基之任何位置，包括(但不限於)位於 2' 位、4' 位及/或 5' 位之取代基。在某些實施例中，非雙環之經修飾糖部分之一或多個非橋接取代基具有支鏈。適於非雙環之經修飾糖部分的 2'-取代基之實例包括(但不限於)：2'-F、2'-OCH₃ (「OMe」或「O-甲基」)及 2'-O(CH₂)₂OCH₃ (「MOE」或「O-甲氧基乙基」)。在某些實施例中，2'-取代基選自：鹵基、烯丙基、胺基、疊氮基、SH、CN、OCN、CF₃、OCF₃、O-C₁-C₁₀ 烷氧基、經取代之 O-C₁-C₁₀ 烷氧基、O-C₁-C₁₀ 烷基、經取代之 O-C₁-C₁₀ 烷基、S-烷基、N(R_m)-烷基、O-烯基、S-烯基、N(R_m)-烯基、O-炔基、S-炔基、N(R_m)-炔基、O-伸烷基-O-烷基、炔基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基、O-芳烷基、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n)或 OCH₂C(=O)-N(R_m)(R_n)，其中每一 R_m 及 R_n 獨立地為 H、胺基保護基團或經取代或未經取代之 C₁-C₁₀ 烷基，以及 Cook 等人，U.S. 6,531,584；Cook 等人，U.S. 5,859,221；及 Cook 等人，U.S. 6,005,087 中所闡述之 2'-取代基。該等 2'-取代基之某些實施例可進一步經一或多個獨立地選自以下之取代基取代：羥基、胺基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基(NO₂)、硫醇、硫基烷氧基、硫基烷基、鹵素、烷基、芳基、烯基及炔基。適於非雙環之

經修飾糖部分的 4'-取代基之實例包括(但不限於)烷氧基(例如甲氧基)、烷基及 Manoharan 等人，WO 2015/106128 中所闡述之彼等基團。適於非雙環之經修飾糖部分的 5'-取代基之實例包括(但不限於)：5'-甲基(R 或 S)、5'-乙烯基及 5'-甲氧基。在某些實施例中，非雙環之經修飾糖部分包含一個以上非橋接糖取代基，例如 2'-F-5'-甲基糖部分以及 Migawa 等人，WO 2008/101157 及 Rajeev 等人，US2013/0203836 中所闡述的經修飾之糖部分及經修飾之核苷。

【0159】 在某些實施例中，2'-取代之非雙環之經修飾核苷包含糖部分，該糖部分包含選自以下之非橋接 2'-取代基：F、NH₂、N₃、OCF₃、OCH₃、O(CH₂)₃NH₂、CH₂CH=CH₂、OCH₂CH=CH₂、OCH₂CH₂OCH₃、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n)、O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ 及 N-取代之乙醯胺(OCH₂C(=O)-N(R_m)(R_n))，其中每一 R_m 及 R_n 獨立地為 H、胺基保護基團或經取代或未經取代之 C₁-C₁₀ 烷基。

【0160】 在某些實施例中，2'-取代之非雙環之經修飾核苷包含糖部分，該糖部分包含選自以下之非橋接 2'-取代基：F、OCF₃、OCH₃、OCH₂CH₂OCH₃、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂ON(CH₃)₂、O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ 及 OCH₂C(=O)-N(H)CH₃ (「NMA」)。

【0161】 在某些實施例中，2'-取代之非雙環之經修飾核苷包含糖部分，該糖部分包含選自以下之非橋接 2'-取代基：F、OCH₃ 及 OCH₂CH₂OCH₃。

【0162】 在某些實施例中，經修飾之呋喃糖基糖部分及併有此等經修飾之呋喃糖基糖部分的核苷進一步由異構組態定義。舉例而言，2'-去氧呋喃糖基糖部分可呈除天然 β-D-去氧核糖基組態外之七種異構組態。此等經修飾之糖部分闡述於(例如) WO 2019/157531 中，該案以引用的方式併入本文中。2'-經修飾之糖部分相對於 2'-去氧呋喃糖基糖部分在 2' 位具有另一立體中心；因此，此等糖部

分具有總計十六種可能的異構組態。除非另有指定，否則本文所闡述之 2'-經修飾之糖部分係呈 β -D-核糖基異構組態。

【0163】 某些經修飾之糖部分包含取代基，該取代基橋接呋喃糖基環之兩個原子以形成第二環，從而產生雙環糖部分。在某些此等實施例中，雙環糖部分在 4'與 2'呋喃糖環原子之間包含橋。此等 4'至 2'橋接糖取代基之實例包括(但不限於)：4'-CH₂-2'、4'-(CH₂)₂-2'、4'-(CH₂)₃-2'、4'-CH₂-O-2' (「LNA」)、4'-CH₂-S-2'、4'-(CH₂)₂-O-2' (「ENA」)、4'-CH(CH₃)-O-2' (稱為「受約束乙基」或「cEt」)、4'-CH₂-O-CH₂-2'、4'-CH₂-N(R)-2'、4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (「受約束 MOE」或「cMOE」)及其類似物(例如，參見 Seth 等人，U.S. 7,399,845；Bhat 等人，U.S. 7,569,686；Swayze 等人，U.S. 7,741,457；及 Swayze 等人，U.S. 8,022,193)、4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' 及其類似物(例如，參見 Seth 等人，U.S. 8,278,283)、4'-CH₂-N(OCH₃)-2' 及其類似物(例如，參見 Prakash 等人，U.S. 8,278,425)、4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (例如，參見 Allerson 等人，U.S. 7,696,345 及 Allerson 等人，U.S. 8,124,745)、4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (例如，參見 Zhou 等人，*J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134)、4'-CH₂-C(=CH₂)-2' 及其類似物(例如，參見 Seth 等人，U.S. 8,278,426)、4'-C(R_aR_b)-N(R)-O-2'、4'-C(R_aR_b)-O-N(R)-2'、4'-CH₂-O-N(R)-2' 及 4'-CH₂-N(R)-O-2'，其中每一 R、R_a 及 R_b 獨立地為 H、保護基團或 C₁-C₁₂ 烷基(例如，參見 Imanishi 等人，U.S. 7,427,672)。

【0164】 在某些實施例中，此等 4'至 2'橋獨立地包含 1 至 4 個獨立地選自以下之連接基團：-[C(R_a)(R_b)]_n-、-[C(R_a)(R_b)]_n-O-、-C(R_a)=C(R_b)-、-C(R_a)=N-、-C(=NR_a)-、-C(=O)-、-C(=S)-、-O-、-Si(R_a)₂-、-S(=O)_x-及 -N(R_a)-；

其中：

x 係 0、1 或 2；

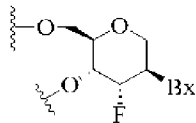
n 係 1、2、3 或 4；

每一 R_a 及 R_b 獨立地為 H、保護基團、羥基、 C_1 - C_{12} 烷基、經取代之 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、經取代之 C_2 - C_{12} 烯基、 C_2 - C_{12} 炔基、經取代之 C_2 - C_{12} 炔基、 C_5 - C_{20} 芳基、經取代之 C_5 - C_{20} 芳基、雜環基團、經取代之雜環基團、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_5 - C_7 脂環族基團、經取代之 C_5 - C_7 脂環族基團、鹵素、 OJ_1 、 NJ_1J_2 、 SJ_1 、 N_3 、 $COOJ_1$ 、醯基($C(=O)-H$)、經取代之醯基、 CN 、磺醯基($S(=O)_2-J_1$)或亞砜基(sulfoxyl)($S(=O)-J_1$)；且

每一 J_1 及 J_2 獨立地為 H、 C_1 - C_{12} 烷基、經取代之 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、經取代之 C_2 - C_{12} 烯基、 C_2 - C_{12} 炔基、經取代之 C_2 - C_{12} 炔基、 C_5 - C_{20} 芳基、經取代之 C_5 - C_{20} 芳基、醯基($C(=O)-H$)、經取代之醯基、雜環基團、經取代之雜環基團、 C_1 - C_{12} 胺基烷基、經取代之 C_1 - C_{12} 胺基烷基或保護基團。

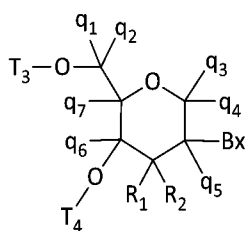
【0165】 其他雙環糖部分為此項技術中所已知，例如，參見：Freier 等人，*Nucleic Acids Research*，1997，25(22)，4429-4443；Albaek 等人，*J. Org. Chem.*，2006，71，7731-7740；Singh 等人，*Chem. Commun.*，1998，4，455-456；Koshkin 等人，*Tetrahedron*，1998，54，3607-3630；Kumar 等人，*Bioorg. Med. Chem. Lett.*，1998，8，2219-2222；Singh 等人，*J. Org. Chem.*，1998，63，10035-10039；Srivastava 等人，*J. Am. Chem. Soc.*，2007，129，8362-8379；Wengel 等人，U.S. 7,053,207；Imanishi 等人，U.S. 6,268,490；Imanishi 等人，U.S. 6,770,748；Imanishi 等人，U.S. RE44,779；Wengel 等人，U.S. 6,794,499；Wengel 等人，U.S. 6,670,461；Wengel 等人，U.S. 7,034,133；Wengel 等人，U.S. 8,080,644；Wengel 等人，U.S. 8,034,909；Wengel 等人，U.S. 8,153,365；Wengel 等人，U.S. 7,572,582；Ramasamy 等人，U.S. 6,525,191；Torsten 等人，WO 2004/106356；Wengel 等人，WO 1999/014226；Seth 等人，WO 2007/134181；Seth 等人，U.S. 7,547,684；Seth 等人，U.S. 7,666,854；Seth 等人，U.S. 8,088,746；Seth 等人，U.S. 7,750,131；Seth 等人，U.S. 8,030,467；Seth 等人，U.S. 8,268,980；Seth 等人，U.S. 8,546,556；Seth 等人，U.S. 8,530,640；

酸(「HNA」)、安醇(anitol)核酸(「ANA」)、甘露醇核酸(「MNA」)(例如，參見 Leumann, *CJ. Bioorg. & Med. Chem.* 2002, 10, 841-854)、氟 HNA:



F-HNA

(「F-HNA」, 例如, 參見 Swayze 等人, U.S. 8,088,904; Swayze 等人, U.S. 8,440,803; Swayze 等人, U.S. 8,796,437; 及 Swayze 等人, U.S. 9,005,906; F-HNA 亦可稱為 F-THP 或 3'-氟四氫吡喃)及具有下式之包含其他經修飾之 THP 化合物的核苷:



其中, 獨立地, 對於每一經修飾之 THP 核苷:

Bx 為核鹼基部分;

T₃ 及 T₄ 各自獨立地為將經修飾之 THP 核苷連接至寡核苷酸之其餘部分的核苷間連接基團, 或 T₃ 及 T₄ 中之一者為將經修飾之 THP 核苷連接至寡核苷酸之其餘部分的核苷間連接基團且 T₃ 及 T₄ 中之另一者為 H、經基保護基團、連接之結合基團或 5' 或 3' 末端基團;

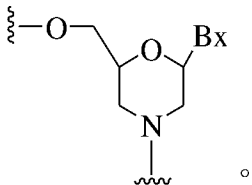
q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆ 及 q₇ 各自獨立地為 H、C₁-C₆ 烷基、經取代之 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、經取代之 C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基或經取代之 C₂-C₆ 炔基; 且

R₁ 及 R₂ 各自獨立地選自: 氫、鹵素、經取代或未經取代之烷氧基、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、OC(=X)J₁、OC(=X)NJ₁J₂、NJ₃C(=X)NJ₁J₂ 及 CN, 其中 X 為 O、S 或 NJ₁, 且每一 J₁、J₂ 及 J₃ 獨立地為 H 或 C₁-C₆ 烷基。

【0171】 在某些實施例中, 提供經修飾之 THP 核苷, 其中 q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆ 及 q₇ 各自為 H。在某些實施例中, q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆ 及 q₇ 中之至少一者不為 H。在某些實施例中, q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆ 及 q₇ 中之至少一者為甲

基。在某些實施例中，提供經修飾之 THP 核苷，其中 R_1 及 R_2 中之一者為 F。在某些實施例中， R_1 為 F 且 R_2 為 H，在某些實施例中， R_1 為甲氧基且 R_2 為 H，且在某些實施例中， R_1 為甲氧基乙氧基且 R_2 為 H。

【0172】 在某些實施例中，糖替代物包含具有 5 個以上原子及一個以上雜原子之環。舉例而言，已報導包含嗎啉基糖部分之核苷及其在寡核苷酸中之用途(例如，參見 Braasch 等人，*Biochemistry*，2002，41，4503-4510 及 Summerton 等人，U.S. 5,698,685；Summerton 等人，U.S. 5,166,315；Summerton 等人，U.S. 5,185,444；及 Summerton 等人，U.S. 5,034,506)。如本文所用，術語「嗎啉基」意指具有以下結構之糖替代物：



【0173】 在某些實施例中，可(例如)藉由相較於以上嗎啉基結構添加或改變各種取代基對嗎啉基進行修飾。此等糖替代物在本文中稱為「經修飾之嗎啉基」。

【0174】 在某些實施例中，糖替代物包含非環狀部分。包含此等非環狀糖替代物之核苷及寡核苷酸之實例包括(但不限於)：肽核酸(「PNA」)、非環狀丁基核酸(例如，參見 Kumar 等人，*Org. Biomol. Chem.*，2013，11，5853-5865)以及 Manoharan 等人，WO2011/133876 中所闡述之核苷及寡核苷酸。

【0175】 此項技術中已知許多其他雙環及三環糖及糖替代物環系統可用於經修飾之核苷中。

2. 某些經修飾之核鹼基

【0176】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含一或多個包含未經修飾之核鹼基的核苷。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含一或多個包含經修飾

之核鹼基的核苷。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含一或多個不包含核鹼基之核苷，稱為無鹼基核苷。

【0177】 在某些實施例中，經修飾之核鹼基選自：5-取代之嘧啶、6-氮雜嘧啶、烷基或炔基取代之嘧啶、烷基取代之嘌呤以及 N-2、N-6 及 O-6 取代之嘌呤。在某些實施例中，經修飾之核鹼基選自：2-胺基丙基腺嘌呤、5-羥甲基胞嘧啶、黃嘌呤、次黃嘌呤、2-胺基腺嘌呤、6-N-甲基鳥嘌呤、6-N-甲基腺嘌呤、2-丙基腺嘌呤、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶及 2-硫胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH₃)尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶、5-核糖基尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶；8-鹵基、8-胺基、8-硫醇、8-硫基烷基、8-羥基、8-氮雜及其他 8-取代之嘌呤；5-鹵基、具體而言 5-溴、5-三氟甲基、5-鹵基尿嘧啶及 5-鹵基胞嘧啶；7-甲基鳥嘌呤、7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-胺基腺嘌呤、7-去氮鳥嘌呤、7-去氮腺嘌呤、3-去氮鳥嘌呤、3-去氮腺嘌呤、6-N-苯甲醯基腺嘌呤、2-N-異丁醯基鳥嘌呤、4-N-苯甲醯基胞嘧啶、4-N-苯甲醯基尿嘧啶、5-甲基 4-N-苯甲醯基胞嘧啶、5-甲基 4-N-苯甲醯基尿嘧啶、通用鹼基、疏水性鹼基、混雜鹼基、大小擴大之鹼基及氟化鹼基。其他經修飾之核鹼基包括三環嘧啶，諸如 1,3-二氮雜吩噁嗪-2-酮、1,3-二氮雜吩噁嗪-2-酮及 9-(2-胺基乙氧基)-1,3-二氮雜吩噁嗪-2-酮(G-鈷)。經修飾之核鹼基亦可包括嘌呤或嘧啶鹼基經其他雜環置換之彼等核鹼基，該等其他雜環例如 7-去氮-腺嘌呤、7-去氮鳥苷、2-胺基吡啶及 2-吡啶酮。其他核鹼基包括 Merigan 等人，U.S. 3,687,808 中所揭示之彼等核鹼基；*The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering*，Kroschwitz，J.I. 編輯，John Wiley & Sons，1990，858-859；Englich 等人，*Angewandte Chemie*，國際版，1991，30，613；Sanghvi，Y.S.，*Antisense Research and Applications*，Crooke，S.T. 及 Lebleu，B. 編輯，CRC Press，第 15 章，1993，273-288 中所揭示

之彼等核鹼基；及 *Antisense Drug Technology*，Crooke S.T. 編輯，CRC Press，第 6 章及第 15 章，2008，163-166 及 442-443 中所揭示之彼等核鹼基。

【0178】 教示某些上述經修飾之核鹼基以及其他經修飾之核鹼基的製備之公開案包括(但不限於) 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，6,166,199；及 Matteucci 等人，U.S. 6,005,096。

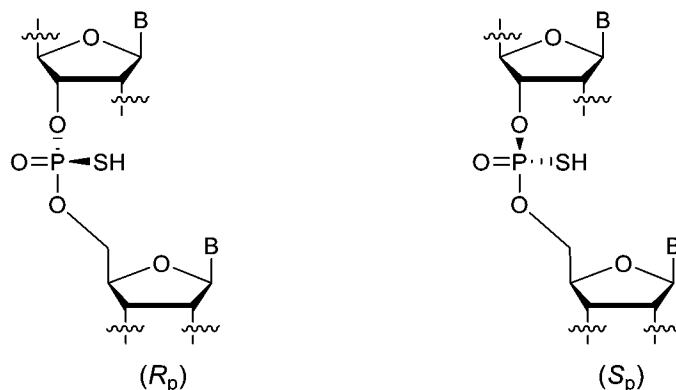
3. 某些經修飾之核苷間鍵聯

【0179】 在某些實施例中，可使用任何核苷間鍵聯將經修飾之寡核苷酸之核苷連接在一起。根據存在或不存在磷原子來定義兩種主要類別之核苷間連接基團。代表性含磷核苷間鍵聯包括(但不限於)磷酸二酯，其含有磷酸二酯鍵(「 $P(O_2)=O$ 」)(亦稱為未經修飾之鍵聯或天然鍵聯)；磷酸三酯；甲基磷酸酯；胺基磷酸酯；硫代磷酸酯(「 $P(O_2)=S$ 」)及二硫代磷酸酯(「 $HS-P=S$ 」)。代表性不含磷核苷間連接基團包括(但不限於)亞甲基甲基亞胺基(- $CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-$)、硫代二酯、硫羰胺基甲酸酯(- $O-C(=O)(NH)-S-$)；矽氧烷

(-O-SiH₂-O-)；及 N,N'-二甲基胍(-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)-)。經修飾之核苷間鍵聯與天然磷酸二酯核苷間鍵聯相比可用於改變、通常增加寡核苷酸之核酸酶抗性。在某些實施例中，可將具有掌性原子之核苷間鍵聯製備成外消旋混合物或分開之鏡像異構物。製備含磷及不含磷核苷間鍵聯之方法為熟習此項技術者所熟知。

【0180】 具有掌性中心之代表性核苷間鍵聯包括(但不限於)烷基膦酸酯及硫代磷酸酯。可將包含具有掌性中心之核苷間鍵聯的經修飾之寡核苷酸製備成包含立體隨機核苷間鍵聯的經修飾之寡核苷酸之群體，或製備成包含呈特定立體化學組態之硫代磷酸酯核苷間鍵聯的經修飾之寡核苷酸之群體。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之群體包含硫代磷酸酯核苷間鍵聯，其中所有該等硫代磷酸酯核苷間鍵聯均為立體隨機的。此等經修飾之寡核苷酸可使用隨機選擇每一硫代磷酸酯核苷間鍵聯之立體化學組態之合成方法來生成。儘管如此，如熟習此項技術者所充分理解，每一個別寡核苷酸分子之每一個別硫代磷酸酯具有確定之立體組態。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之群體富集包含一或多個呈特定獨立選擇之立體化學組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯的經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，群體中至少 65% 之分子中存在特定組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在某些實施例中，群體中至少 70% 之分子中存在特定組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在某些實施例中，群體中至少 80% 之分子中存在特定組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在某些實施例中，群體中至少 90% 之分子中存在特定組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在某些實施例中，群體中至少 99% 之分子中存在特定組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯。經修飾之寡核苷酸之此等掌性富集群體可使用此項技術中已知之合成方法來生成，例如以下文獻中所闡述之方法：Oka 等人，*JACS* 125，8307 (2003)；Wan 等人 *Nuc. Acid. Res.* 42，13456 (2014)；及 WO 2017/015555。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之群體富集具有至少一種呈(sp)組態之所指示硫代磷酸酯的經修飾之寡核苷

酸。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之群體富集具有至少一種呈(Rp)組態之硫代磷酸酯的經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，包含(Rp)及/或(Sp)硫代磷酸酯之經修飾之寡核苷酸分別包含以下各式中之一或多者，其中「B」指示核鹼基：



除非另有指示，否則本文所闡述之經修飾之寡核苷酸的掌性核苷間鍵聯可為立構隨機的或呈特定立體化學組態。

【0181】 中性核苷間鍵聯包括(但不限於)磷酸三酯、甲基磷酯、MMI (3'-CH₂-N(CH₃)-O-5')、醯胺 -3 (3'-CH₂-C(=O)-N(H)-5')、醯胺 -4 (3'-CH₂-N(H)-C(=O)-5')、甲縮醛(3'-O-CH₂-O-5')、甲氧基丙基(MOP)及硫基甲縮醛(3'-S-CH₂-O-5')。其他中性核苷間鍵聯包括非離子鍵聯，其包含矽氧烷(二烷基矽氧烷)、羧酸酯、羧醯胺、硫化物、磺酸酯及醯胺(例如，參見 *Carbohydrate Modifications in Antisense Research*; Y.S. Sanghvi 及 P.D. Cook 編輯，ACS Symposium Series 580；第 3 章及第 4 章，40-65)。其他中性核苷間鍵聯包括包含混合之 N、O、S 及 CH₂ 組成部分之非離子鍵聯。

B. 某些模體

【0182】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含一或多個包含經修飾之糖部分的經修飾之核苷。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含一或多個包含經修飾之核鹼基的經修飾之核苷。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含一或多個經修飾之核苷間鍵聯。在此等實施例中，經修飾之寡核苷酸之經修飾、未經修飾及經不同修飾之糖部分、核鹼基及/或核苷間鍵聯定義模式或模體。在

某些實施例中，糖部分、核鹼基及核苷間鍵聯之模式各自彼此獨立。因此，經修飾之寡核苷酸可由其糖模體、核鹼基模體及/或核苷間鍵聯模體來描述(如本文所用，核鹼基模體描述對核鹼基之修飾，與核鹼基之序列無關)。

1. 某些糖模體

【0183】 在某些實施例中，寡核苷酸包含以限定模式或糖模體沿寡核苷酸或其一部分排列的一或多種類型之經修飾之糖及/或未經修飾之糖部分。在某些情況下，此等糖模體包括(但不限於)本文所論述之糖修飾中之任一者。

【0184】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸具有間隙聚體模體，該間隙聚體模體由兩個外部區或「翼」及中央或內部區或「間隙」定義。間隙聚體模體之三個區(5'翼、間隙及3'翼)形成核苷之鄰接序列，其中每一翼之核苷之至少一些糖部分不同於間隙之核苷之至少一些糖部分。具體而言，每一翼中最靠近間隙之核苷(5'翼之最3'端核苷及3'翼之最5'端核苷)之至少糖部分不同於相鄰間隙核苷之糖部分，由此界定翼與間隙之間的邊界(亦即，翼/間隙接點)。在某些實施例中，間隙內之糖部分彼此相同。在某些實施例中，間隙包括一或多個核苷，該(等)核苷所具有之糖部分不同於間隙之一或多個其他核苷之糖部分。在某些實施例中，兩個翼之糖模體彼此相同(對稱間隙聚體)。在某些實施例中，5'翼之糖模體不同於3'翼之糖模體(不對稱間隙聚體)。

【0185】 在某些實施例中，間隙聚體之翼包含 1-6 個核苷。在某些實施例中，間隙聚體之每一翼之每一核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之每一翼之至少一個核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之每一翼之至少兩個核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之每一翼之至少三個核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之每一翼之至少四個核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之每一翼之至少五個核苷包含經修飾之糖部分。

【0186】 在某些實施例中，間隙聚體之間隙包含 7-12 個核苷。在某些實施例中，間隙聚體之間隙之至少六個核苷包含 2'- β -D-去氧核糖基糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之間隙之每一核苷包含 2'-去氧核糖基糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之間隙之每一核苷包含 2'- β -D-去氧核糖基糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之間隙之至少一個核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之間隙之至少一個核苷包含 2'-OMe 糖部分。

【0187】 在某些實施例中，間隙聚體為去氧間隙聚體。在某些實施例中，在每一翼/間隙接點之間隙側的核苷包含 2'-去氧核糖基糖部分，且在每一翼/間隙接點之翼側的核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之間隙之至少六個核苷包含 2'- β -D-去氧核糖基糖部分。在某些實施例中，間隙之每一核苷包含 2'-去氧核糖基糖部分。在某些實施例中，間隙聚體之每一翼之每一核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，間隙之一個核苷包含經修飾之糖部分且間隙之每一其餘核苷包含 2'-去氧核糖基糖部分。

【0188】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含具有完全經修飾之糖模體的部分或由其組成。在此等實施例中，經修飾之寡核苷酸的完全經修飾之部分的每一核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，整個經修飾之寡核苷酸之每一核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含具有完全經修飾之糖模體的部分或由其組成，其中完全經修飾之部分內的每一核苷包含相同的經修飾之糖部分，在本文中稱為均勻經修飾之糖模體。在某些實施例中，完全經修飾之寡核苷酸為均勻經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，均勻經修飾之寡核苷酸之每一核苷包含相同的 2'-修飾。

【0189】 在本文中，間隙聚體之三個區之長度(核苷數目)可使用記法[5'翼中之核苷數目]-[間隙中之核苷數目]-[3'翼中之核苷數目]來提供。因此，5-10-5 間隙聚體由每一翼中之 5 個連接之核苷及間隙中之 10 個連接之核苷組成。倘若此

命名法隨後為特定修飾，則該修飾為每一翼之每一糖部分中的修飾且間隙核苷包含 2'- β -D-去氧核糖基糖部分。因此，5-10-5 MOE 間隙聚體由 5'翼中之 5 個連接之 2'-MOE 核苷、間隙中之 10 個連接之 2'- β -D-去氧核糖核苷及 3'翼中之 5 個連接之 2'-MOE 核苷組成。3-10-3 cEt 間隙聚體由 5'翼中之 3 個連接之 cEt 核苷、間隙中之 10 個連接之 2'- β -D-去氧核糖核苷及 3'翼中之 3 個連接之 cEt 核苷組成。5-8-5 間隙聚體由 5'翼中之包含經修飾之糖部分的 5 個連接之核苷、間隙中之 8 個連接之 2'-去氧核糖核苷及 3'翼中之包含經修飾之糖部分的 5 個連接之核苷組成。混合翼間隙聚體在 5'翼及/或 3'翼中具有至少兩個不同的經修飾糖。5-8-5 或 5-8-4 混合翼間隙聚體在 5'翼及/或 3'翼中具有至少兩個不同的經修飾之糖部分。

【0190】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸為 5-10-5 MOE 間隙聚體。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸為 4-10-6 MOE 間隙聚體。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸為 6-10-4 MOE 間隙聚體。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸為 5-8-5 MOE 間隙聚體。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸為 X-Y-Z MOE 間隙聚體，其中 X 及 Z 獨立地選自 1、2、3、4、5 或 6 個連接之 2'-MOE 核苷，且 Y 為 7、8、9、10 或 11 個連接之去氧核糖核苷。

【0191】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸具有選自以下之糖模體(5'至 3')：meeemdddddddddmmmmm，其中『d』表示 2'-去氧核糖基糖部分，『e』表示 2'-MOE 糖部分，且『m』表示 2'-OMe 糖部分。

2. 某些核鹼基模體

【0192】 在某些實施例中，寡核苷酸包含以所定義之模式或模體沿寡核苷酸或其一部分排列的經修飾及/或未經修飾之核鹼基。在某些實施例中，每一核鹼基均經修飾。在某些實施例中，核鹼基均不經修飾。在某些實施例中，每一嘌呤或每一嘧啶均經修飾。在某些實施例中，每一腺嘌呤均經修飾。在某些實施例中，每一鳥嘌呤均經修飾。在某些實施例中，每一胸腺嘧啶均經修飾。在某

些實施例中，每一尿嘧啶均經修飾。在某些實施例中，每一胞嘧啶均經修飾。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸中之一些或所有胞嘧啶核鹼基為 5-甲基胞嘧啶。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之所有胞嘧啶核鹼基均為 5-甲基胞嘧啶且所有其他核鹼基均為未經修飾之核鹼基。

【0193】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含經修飾之核鹼基之嵌段。在某些此等實施例中，嵌段位於寡核苷酸之 3'端。在某些實施例中，嵌段位於寡核苷酸之 3'端的 3 個核苷內。在某些實施例中，嵌段位於寡核苷酸之 5'端。在某些實施例中，嵌段位於寡核苷酸之 5'端的 3 個核苷內。

【0194】 在某些實施例中，具有間隙聚體模體之寡核苷酸包含含有經修飾之核鹼基之核苷。在某些此等實施例中，一個包含經修飾之核鹼基之核苷位於具有間隙聚體模體之寡核苷酸之中央間隙中。在某些此等實施例中，核苷之糖部分為 2'-去氧核糖基糖部分。在某些實施例中，經修飾之核鹼基選自：2-硫嘧啶及 5-丙炔嘧啶。

3. 某些核苷間鍵聯模體

【0195】 在某些實施例中，寡核苷酸包含以所定義之模式或模體沿寡核苷酸或其一部分排列的經修飾及/或未經修飾之核苷間鍵聯。在某些實施例中，每一核苷間連接基團為磷酸二酯核苷間鍵聯($P(O_2)=O$)。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之每一核苷間連接基團為硫代磷酸酯核苷間鍵聯($P(O_2)=S$)。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之每一核苷間鍵聯獨立地選自硫代磷酸酯核苷間鍵聯及磷酸二酯核苷間鍵聯。在某些實施例中，每一硫代磷酸酯核苷間鍵聯獨立地選自立體隨機硫代磷酸酯、(*Sp*)硫代磷酸酯及(*Rp*)硫代磷酸酯。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之糖模體為間隙聚體且間隙內之核苷間鍵聯全部均經修飾。在某些此等實施例中，翼中之一些或所有核苷間鍵聯為未經修飾之磷酸二酯核苷間鍵聯。在某些實施例中，末端核苷間鍵聯經修飾。在某些實施例中，

sooossssssssoooss，其中每一「s」表示硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且每一「o」表示磷酸二酯核苷間鍵聯。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸具有如下核苷間鍵聯模體(5'至3')：sooosssssssssssssss，其中每一「s」表示硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且每一「o」表示磷酸二酯核苷間鍵聯。

C. 某些長度

【0198】 可增加或減小寡核苷酸之長度，而不消除活性。舉例而言，在 Woolf 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309，1992 中，測試了一系列長度為 13-25 個核鹼基之寡核苷酸在卵母細胞注射模型中誘導靶核酸裂解之能力。長度為 25 個核鹼基且在寡核苷酸末端附近具有 8 個或 11 個錯配鹼基之寡核苷酸能夠引導靶核酸之特異性裂解，但程度較不含錯配之寡核苷酸低。類似地，使用 13 個核鹼基寡核苷酸(包括具有 1 或 3 個錯配之彼等寡核苷酸)達成靶標特異性裂解。

【0199】 在某些實施例中，寡核苷酸(包括經修飾之寡核苷酸)可具有多種長度範圍中之任一者。在某些實施例中，寡核苷酸由 X 至 Y 個連接之核苷組成，其中 X 表示範圍內最少之核苷數目，且 Y 表示範圍內最大之核苷數目。在某些此等實施例中，X 及 Y 各自獨立地選自 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 及 50；條件係 $X \leq Y$ 。舉例而言，在某些實施例中，寡核苷酸由 12 至 13、12 至 14、12 至 15、12 至 16、12 至 17、12 至 18、12 至 19、12 至 20、12 至 21、12 至 22、12 至 23、12 至 24、12 至 25、12 至 26、12 至 27、12 至 28、12 至 29、12 至 30、13 至 14、13 至 15、13 至 16、13 至 17、13 至 18、13 至 19、13 至 20、13 至 21、13 至 22、13 至 23、13 至 24、13 至 25、13 至 26、13 至 27、13 至 28、13 至 29、13 至 30、14 至 15、14 至 16、14 至 17、14 至 18、14 至 19、14 至 20、14 至 21、

14 至 22、14 至 23、14 至 24、14 至 25、14 至 26、14 至 27、14 至 28、14 至 29、
14 至 30、15 至 16、15 至 17、15 至 18、15 至 19、15 至 20、15 至 21、15 至 22、
15 至 23、15 至 24、15 至 25、15 至 26、15 至 27、15 至 28、15 至 29、15 至 30、
16 至 17、16 至 18、16 至 19、16 至 20、16 至 21、16 至 22、16 至 23、16 至 24、
16 至 25、16 至 26、16 至 27、16 至 28、16 至 29、16 至 30、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 29、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 個連接之核苷組成。

D. 某些經修飾之寡核苷酸

【0200】 在某些實施例中，將上述修飾(糖、核鹼基、核苷間鍵聯)併入至經修飾之寡核苷酸中。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之特徵在於其修飾模體及總長度。在某些實施例中，此等參數各自彼此獨立。因此，除非另有指示，否則具有間隙聚體糖模體之寡核苷酸之每一核苷間鍵聯可經修飾或未經修飾，且可遵循或不遵循糖修飾之間隙聚體修飾模式。舉例而言，糖間隙聚體之翼區內的核苷間鍵聯可彼此相同或不同，且可與糖模體之間隙區之核苷間鍵聯相

同或不同。同樣，此等糖間隙聚體寡核苷酸可包含一或多個經修飾之核鹼基，此與糖修飾之間隙聚體模式無關。除非另有指示，否則所有修飾均與核鹼基序列無關。

E. 經修飾之寡核苷酸之某些群體

【0201】 群體中所有經修飾之寡核苷酸均具有相同分子式的經修飾之寡核苷酸之群體可為立體隨機群體或掌性富集群體。在立體隨機群體中，所有經修飾之寡核苷酸之所有掌性中心均為立體隨機的。在掌性富集群體中，至少一個特定掌性中心在該群體之經修飾之寡核苷酸中不為立體隨機的。在某些實施例中，掌性富集群體之經修飾之寡核苷酸富集 β -D 核糖基糖部分，且所有硫代磷酸酯核苷間鍵聯均為立體隨機的。在某些實施例中，掌性富集群體之經修飾之寡核苷酸富集 β -D 核糖基糖部分及至少一個呈特定立體化學組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯二者。

F. 核鹼基序列

【0202】 在某些實施例中，寡核苷酸(未經修飾或經修飾之寡核苷酸)進一步由其核鹼基序列描述。在某些實施例中，寡核苷酸具有與第二寡核苷酸或鑑別之參照核酸(諸如靶核酸)互補之核鹼基序列。在某些此等實施例中，寡核苷酸之一部分具有與第二寡核苷酸或鑑別之參照核酸(諸如靶核酸)互補之核鹼基序列。在某些實施例中，寡核苷酸之一部分或整個長度上之核鹼基序列與第二寡核苷酸或核酸(諸如靶核酸)至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95% 或 100% 互補。

II. 某些寡聚化合物

【0203】 在某些實施例中，本文提供寡聚化合物，其由寡核苷酸(經修飾或未經修飾)及視情況一或多個結合基團及/或末端基團組成。結合基團由一或多個結合部分及將結合部分連接至寡核苷酸之結合連接體組成。結合基團可連接至

寡核苷酸之一端或兩端及/或連接在任一內部位置。在某些實施例中，結合基團連接至經修飾之寡核苷酸之核苷的 2'位。在某些實施例中，連接至寡核苷酸之一端或兩端的結合基團為末端基團。在某些此等實施例中，結合基團或末端基團連接在寡核苷酸之 3'端及/或 5'端。在某些此等實施例中，結合基團(或末端基團)連接在寡核苷酸之 3'端。在某些實施例中，結合基團連接在寡核苷酸之 3'端附近。在某些實施例中，結合基團(或末端基團)連接在寡核苷酸之 5'端。在某些實施例中，結合基團連接在寡核苷酸之 5'端附近。

【0204】 末端基團之實例包括(但不限於)結合基團、封端基團、磷酸酯部分、保護基團、無鹼基核苷、經修飾或未經修飾之核苷及兩個或更多個獨立地經修飾或未經修飾之核苷。

A. 某些結合基團

【0205】 在某些實施例中，寡核苷酸共價連接至一或多個結合基團。在某些實施例中，結合基團使所連接之寡核苷酸之一或多種性質改質，包括(但不限於)藥效學、藥物動力學、穩定性、結合、吸收、組織分佈、細胞分佈、細胞攝取、電荷及清除。在某些實施例中，結合基團賦予所連接之寡核苷酸新的性質，例如使得能夠偵測寡核苷酸之螢光團或報導基團。某些結合基團及結合部分先前已予以闡述，例如：膽固醇部分(Letsinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，1989，86，6553-6556)；膽酸(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)；硫膽固醇(Oberhauser 等人，*Nucl. Acids Res.*，1992，20，533-538)；脂肪族鏈，例如十二烷-二醇或十一烷基殘基(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

1,2-二-O-十六烷基-外消旋-甘油-3-H-磷酸三乙基銨(Manoharan 等人, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 3651-3654; Shea 等人, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18, 3777-3783); 聚胺或聚乙二醇鏈(Manoharan 等人, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14, 969-973); 或金剛烷乙酸、棕櫚基部分(Mishra 等人, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264, 229-237); 十八烷基胺或己胺基-羰基-羥膽固醇部分(Crooke 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277, 923-937); 生育酚基團(Nishina 等人, *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 2015, 4, e220; 及 Nishina 等人, *Molecular Therapy*, 2008, 16, 734-740); 或 GalNAc 簇(例如 WO2014/179620)。

1. 結合部分

【0206】 結合部分包括(但不限於)嵌插物、報導分子、聚胺、聚醯胺、肽、碳水化合物、維生素部分、聚乙二醇、硫醚、聚醚、膽固醇、硫膽固醇、膽酸部分、葉酸鹽、脂質、親脂基團、磷脂、生物素、吩嗪、菲啶、蔥醌、金剛烷、吡啶、螢光黃、玫瑰紅、香豆素、螢光團及染料。

【0207】 在某些實施例中，結合部分包含活性原料藥，例如阿司匹林(aspirin)、華法林(warfarin)、苯丁吡唑酮(phenylbutazone)、布洛芬(ibuprofen)、舒洛芬(suprofen)、芬布芬(fen-bufen)、酮洛芬(ketoprofen)、(S)-(+)-普拉洛芬(pranoprofen)、卡洛芬(carprofen)、丹磺醯肌胺酸(dansylsarcosine)、2,3,5-三碘苯甲酸、芬戈莫德(fingolimod)、氟芬那酸(flufenamic acid)、醛葉酸、苯并噻二嗪、氯噻嗪、二氫呷、吲哚美辛(indo-methicin)、巴比妥酸鹽(barbiturate)、頭孢菌素(cephalosporin)、磺胺藥、抗糖尿病藥、抗細菌劑或抗生素。

2. 結合連接體

【0208】 結合部分經由結合連接體連接至寡核苷酸。在某些寡聚化合物中，結合連接體為單一化學鍵(亦即，結合部分經由單鍵直接連接至寡核苷酸)。在某些寡聚化合物中，結合部分經由更複雜之結合連接體連接至寡核苷酸，該

更複雜之結合連接體包含一或多個結合連接體部分，該(等)結合連接體部分係構成結合連接體之亞單元。在某些實施例中，結合連接體包含諸如烴基鏈等鏈結構或諸如乙二醇、核苷或胺基酸單元等重複單元之寡聚物。

【0209】 在某些實施例中，結合連接體包含一或多個選自以下之基團：烷基、胺基、側氧基、醯胺、二硫化物、聚乙二醇、醚、硫醚及羥基胺基。在某些此等實施例中，結合連接體包含選自以下之基團：烷基、胺基、側氧基、醯胺及醚基。在某些實施例中，結合連接體包含選自烷基及醯胺基之基團。在某些實施例中，結合連接體包含選自烷基及醚基之基團。在某些實施例中，結合連接體包含至少一個磷部分。在某些實施例中，結合連接體包含至少一個磷酸基。在某些實施例中，結合連接體包括至少一個中性連接基團。

【0210】 在某些實施例中，結合連接體、包括上文所闡述之結合連接體為雙官能連接部分，例如此項技術中已知可用於將結合基團連接至母體化合物之彼等雙官能連接部分，諸如本文所提供之寡核苷酸。一般而言，雙官能連接部分包含至少兩個官能基。選擇一個官能基結合至母體化合物上之特定位點，且選擇另一官能基結合至結合基團。雙官能連接部分中所用官能基之實例包括(但不限於)用於與親核基團反應之親電子體及用於與親電子基團反應之親核體。在某些實施例中，雙官能連接部分包含一或多個選自以下之基團：胺基、羥基、羧酸、硫醇、烷基、烯基及炔基。

【0211】 結合連接體之實例包括(但不限於)吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸琥珀醯亞胺基酯(SMCC)及 6-胺基己酸(AHEX 或 AHA)。其他結合連接體包括(但不限於)經取代或未經取代之 C_1 - C_{10} 烷基、經取代或未經取代之 C_2 - C_{10} 烯基或經取代或未經取代之 C_2 - C_{10} 炔基，其中較佳取代基之非限制性列表包括羥基、胺基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫基烷氧基、鹵素、烷基、芳基、烯基及炔基。

【0212】 在某些實施例中，結合連接體包含 1-10 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含 2-5 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含恰好 3 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含 TCA 模體。在某些實施例中，此等連接體核苷為經修飾之核苷。在某些實施例中，此等連接體核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，連接體核苷未經修飾。在某些實施例中，連接體核苷包含選自以下之視情況經保護之雜環鹼基：嘌呤、經取代之嘌呤、嘧啶或經取代之嘧啶。在某些實施例中，可裂解部分為選自以下之核苷：尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、4-N-苯甲醯基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、4-N-苯甲醯基-5-甲基胞嘧啶、腺嘌呤、6-N-苯甲醯基腺嘌呤、鳥嘌呤及 2-N-異丁醯基鳥嘌呤。通常期望連接體核苷在寡聚化合物到達靶組織後自寡聚化合物裂解。因此，連接體核苷通常經由可裂解鍵彼此連接及連接至寡聚化合物之其餘部分。在某些實施例中，此等可裂解鍵係磷酸二酯鍵。

【0213】 在本文中，連接體核苷不視為寡核苷酸之一部分。因此，在寡聚化合物包含由指定數目或範圍之連接核苷組成及/或與參照核酸具有指定互補性百分比之寡核苷酸且寡聚化合物亦包含含有結合連接體(包含連接體核苷)之結合基團的實施例中，彼等連接體核苷不計入寡核苷酸之長度且不用於確定寡核苷酸對於參照核酸之互補性百分比。舉例而言，寡聚化合物可包含(1)經修飾之寡核苷酸，其由 8-30 個核苷組成及(2)結合基團，其包含 1-10 個與經修飾之寡核苷酸之核苷鄰接的連接體核苷。在此一寡聚化合物中，鄰接連接之核苷總數大於 30。或者，寡聚化合物可包含由 8-30 個核苷組成的經修飾之寡核苷酸且無結合基團。在此一寡聚化合物中，鄰接連接之核苷總數不超過 30。除非另有指示，否則結合連接體包含不超過 10 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含不超過 5 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含不超過 3 個連接體

核苷。在某些實施例中，結合連接體包含不超過 2 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含不超過 1 個連接體核苷。

【0214】 在某些實施例中，期望結合基團自寡核苷酸裂解。舉例而言，在某些情況中，包含特定結合部分之寡聚化合物較佳由特定細胞類型攝取，但一旦寡聚化合物已被攝取，則期望裂解結合基團以釋放未結合之寡核苷酸或母體寡核苷酸。因此，某些結合連接體可包含一或多個可裂解部分。在某些實施例中，可裂解部分為可裂解鍵。在某些實施例中，可裂解部分為包含至少一個可裂解鍵之原子團。在某些實施例中，可裂解部分包含具有一個、兩個、三個、四個或四個以上可裂解鍵之原子團。在某些實施例中，可裂解部分在細胞或亞細胞區室(諸如溶酶體)內部選擇性裂解。在某些實施例中，可裂解部分由內源性酶(諸如核酸酶)選擇性裂解。

【0215】 在某些實施例中，可裂解鍵選自：醯胺、酯、醚、磷酸二酯之一個或兩個酯、磷酸酯、胺基甲酸酯或二硫化物。在某些實施例中，可裂解鍵為磷酸二酯之一個或兩個酯。在某些實施例中，可裂解部分包含磷酸酯或磷酸二酯。在某些實施例中，可裂解部分為寡核苷酸與結合部分或結合基團之間的磷酸酯或磷酸二酯鍵聯。

【0216】 在某些實施例中，可裂解部分包含一或多個連接體核苷或由其組成。在某些此等實施例中，該一或多個連接體核苷經由可裂解鍵彼此連接及/或連接至寡聚化合物之其餘部分。在某些實施例中，此等可裂解鍵為未經修飾之磷酸二酯鍵。在某些實施例中，可裂解部分為 2'-去氧核苷，該 2'-去氧核苷藉由磷酸二酯核苷間鍵聯連接至寡核苷酸之 3'或 5'末端核苷且藉由磷酸酯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯共價連接至結合連接體或結合部分之其餘部分。在某些此等實施例中，可裂解部分為 2'-去氧腺苷。

3. 細胞靶向部分

【0221】 在某些實施例中，本文所闡述之寡聚化合物包含具有與靶核酸之核鹼基序列互補之核鹼基序列的寡核苷酸。在某些實施例中，寡聚化合物與第二寡聚化合物配對以形成寡聚雙鏈體。此等寡聚雙鏈體包含具有與靶核酸互補之部分的第一寡聚化合物及具有與該第一寡聚化合物互補之部分的第二寡聚化合物。在某些實施例中，寡聚雙鏈體之第一寡聚化合物包含以下或由其組成：(1) 經修飾或未經修飾之寡核苷酸及視情況結合基團，及(2) 第二經修飾或未經修飾之寡核苷酸及視情況結合基團。寡聚雙鏈體之一種或全部兩種寡聚化合物可包含結合基團。寡聚雙鏈體之每一寡聚化合物之寡核苷酸可包括非互補懸垂核苷。

IV. 反義活性

【0222】 在某些實施例中，寡聚化合物及寡聚雙鏈體能夠與靶核酸雜交，從而產生至少一種反義活性；此等寡聚化合物及寡聚雙鏈體為反義化合物。在某些實施例中，當反義化合物在標準細胞分析中使靶核酸之量或活性降低 25% 或更多時，其具有反義活性。在某些實施例中，反義化合物選擇性地影響一或多種靶核酸。此等反義化合物包含如下核鹼基序列：其與一或多種靶核酸雜交，從而產生一或多種期望之反義活性，且不與一或多種非靶核酸雜交或不以導致產生顯著不期望之反義活性的方式與一或多種非靶核酸雜交。

【0223】 在某些反義活性中，反義化合物與靶核酸之雜交使得裂解靶核酸之蛋白質募集。舉例而言，某些反義化合物導致 RNA 酶 H 介導之靶核酸裂解。RNA 酶 H 係細胞內核酸酶，其裂解 RNA:DNA 雙鏈體之 RNA 股。此一 RNA:DNA 雙鏈體中之 DNA 不需要為未經修飾之 DNA。在某些實施例中，本文闡述足夠為「DNA 樣」以引發 RNA 酶 H 活性之反義化合物。在某些實施例中，容許間隙聚體之間隙中存在一或多個非 DNA 樣核苷。

【0224】 在某些反義活性中，反義化合物或反義化合物之一部分加載至 RNA 誘導之沈默複合物(RISC)中，最終導致靶核酸裂解。舉例而言，某些反義化合物

使得靶核酸由亞古爾蛋白(Argonaute)裂解。加載至 RISC 中之反義化合物為 RNAi 化合物。RNAi 化合物可為雙股(siRNA)或單股(ssRNA)。

【0225】 在某些實施例中，反義化合物與靶核酸之雜交不會使裂解該靶核酸之蛋白質募集。在某些實施例中，反義化合物與靶核酸之雜交導致靶核酸之剪接改變。在某些實施例中，反義化合物與靶核酸之雜交導致抑制靶核酸與蛋白質或其他核酸之間的結合相互作用。在某些實施例中，反義化合物與靶核酸之雜交導致靶核酸之轉譯改變。

【0226】 可直接或間接地觀察反義活性。在某些實施例中，觀察或偵測反義活性涉及觀察或偵測靶核酸或由該靶核酸編碼的蛋白質之量的變化、核酸或蛋白質之剪接變異體之比率的變化及/或細胞或個體之表型變化。

V. 某些靶核酸

【0227】 在某些實施例中，寡聚化合物包含含有與靶核酸互補之部分的寡核苷酸或由其組成。在某些實施例中，靶核酸為內源性 RNA 分子。在某些實施例中，靶核酸編碼蛋白質。在某些此等實施例中，靶核酸選自：成熟 mRNA 及前 mRNA，包括內含子、外顯子及非轉譯區。在某些實施例中，靶核酸為成熟 mRNA。在某些實施例中，靶核酸為前 mRNA。在某些實施例中，靶區完全位於內含子內。在某些實施例中，靶區跨內含子/外顯子接點。在某些實施例中，靶區至少 50%位於內含子內。

A. 與靶核酸之互補性/錯配

【0228】 可引入錯配鹼基而不消除活性。舉例而言，Gautschi 等人(J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, 2001 年 3 月)展示與 bcl-2 mRNA 具有 100%互補性且與 bcl-xL mRNA 具有 3 個錯配之寡核苷酸能夠降低 bcl-2 及 bcl-xL 二者在活體外及活體內之表現。此外，此寡核苷酸展示強效活體內抗腫瘤活性。Maher 及 Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988)測試了一系列串聯之 14 核鹼基寡核苷酸及

包含兩個或三個串聯寡核苷酸之序列的 28 及 42 核鹼基寡核苷酸分別在兔網狀紅血球分析中阻止人類 DHFR 之轉譯的能力。三個 14 核鹼基寡核苷酸中之每一者單獨地能夠抑制轉譯，但較 28 或 42 核鹼基寡核苷酸處於更適中之水準。

【0229】 在某些實施例中，寡核苷酸在寡核苷酸之整個長度上與靶核酸互補。在某些實施例中，寡核苷酸與靶核酸 99%、95%、90%、85%或 80%互補。在某些實施例中，寡核苷酸在寡核苷酸之整個長度上與靶核酸至少 80%互補且包含與靶核酸 100%或完全互補之部分。在某些實施例中，完全互補之部分的長度為 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 或 24 個核鹼基。

【0230】 在某些實施例中，寡核苷酸相對於靶核酸包含一或多個錯配核鹼基。在某些實施例中，針對靶標之反義活性因該錯配而降低，但針對非靶標之活性所降低之量更大。因此，在某些實施例中，寡核苷酸之選擇性得以改良。在某些實施例中，錯配特定地定位於具有間隙聚體模體之寡核苷酸內。在某些實施例中，錯配位於自間隙區 5'端之 1 位、2 位、3 位、4 位、5 位、6 位、7 位、8 位、9 位、10 位或 11 位處。在某些實施例中，錯配位於自 5'翼區或 3'翼區 5'端之 1 位、2 位、3 位、4 位、5 位或 6 位處。

B. AGT

【0231】 在某些實施例中，寡聚化合物包含與靶核酸互補之寡核苷酸或由其組成，其中該靶核酸係 AGT 核酸。在某些實施例中，AGT 核酸具有 SEQ ID NO: 1 (GENBANK 登錄號 NM_000029.3)或 SEQ ID NO: 2 (自核苷酸 230700001 至 230718000 截短之 GENBANK 登錄號 NC_000001.11 之互補序列)中所示之序列。

【0232】 在某些實施例中，使細胞與同 SEQ ID NO: 1 及 2 中之任一者互補之寡聚化合物接觸使 AGT RNA 之量降低，且在某些實施例中使 AGT 蛋白之量降低。在某些實施例中，寡聚化合物由經修飾之寡核苷酸組成。在某些實施例

中，使細胞與同 SEQ ID NO: 1 及 2 中之任一者互補之寡聚化合物接觸使細胞中 AGT RNA 之量降低，且在某些實施例中使細胞中 AGT 蛋白之量降低。在某些實施例中，細胞在活體外。在某些實施例中，細胞在個體體內。在某些實施例中，寡聚化合物由經修飾之寡核苷酸組成。在某些實施例中，使個體中之細胞與同 SEQ ID NO: 1 及 2 中之任一者互補之寡聚化合物接觸改善心血管疾病之一或多種症狀或標誌。在某些實施例中，疾病為高血壓。在某些實施例中，疾病為頑固性高血壓。在某些實施例中，疾病為馬凡氏症候群。在某些實施例中，疾病為心臟衰竭。在某些實施例中，症狀或標誌選自高血壓、慢性腎病、中風、心肌梗塞、心臟衰竭、心臟瓣膜疾病、血管動脈瘤、外周動脈疾病及器官損傷。

【0233】 在某些實施例中，當根據標準細胞分析投與時，與 SEQ ID NO: 1 及 2 中之任一者互補之寡聚化合物能夠使活體外 AGT RNA 之可偵測量降低至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80% 或至少 90%。在某些實施例中，當根據標準活體外分析投與時，與 SEQ ID NO: 1 或 2 互補之寡聚化合物能夠使活體外 AGT 之量降低至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80% 或至少 90%。在某些實施例中，與 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 互補之寡聚化合物能夠使個體之 AGT RNA 之可偵測量降低至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80% 或至少 90%。

VI. 某些結合化合物

【0234】 在某些實施例中，本文所闡述之寡聚化合物包含寡核苷酸(經修飾或未經修飾)及視情況一或多個結合基團及/或末端基團，或由其組成。結合基團由一或多個結合部分及將結合部分連接至寡核苷酸之結合連接體組成。結合基團可連接至寡核苷酸之一端或兩端及/或連接在任一內部位置。在某些實施例中，結合基團連接至經修飾之寡核苷酸之核苷的 2' 位。在某些實施例中，連接

至寡核苷酸之一端或兩端的結合基團為末端基團。在某些此等實施例中，結合基團或末端基團連接在寡核苷酸之 3'端及/或 5'端。在某些此等實施例中，結合基團(或末端基團)連接在寡核苷酸之 3'端。在某些實施例中，結合基團連接在寡核苷酸之 3'端附近。在某些實施例中，結合基團(或末端基團)連接在寡核苷酸之 5'端。在某些實施例中，結合基團連接在寡核苷酸之 5'端附近。

【0235】 在某些實施例中，寡核苷酸經修飾。在某些實施例中，化合物之寡核苷酸具有與靶核酸互補之核鹼基序列。在某些實施例中，寡核苷酸與信使 RNA (mRNA)互補。在某些實施例中，寡核苷酸與前 mRNA 互補。在某些實施例中，寡核苷酸與有義轉錄物互補。

【0236】 末端基團之實例包括(但不限於)結合基團、封端基團、磷酸酯部分、保護基團、經修飾或未經修飾之核苷及兩個或更多個獨立地經修飾或未經修飾之核苷。

【0237】 在某些實施例中，寡核苷酸共價連接至一或多個結合基團。在某些實施例中，結合基團使所連接之寡核苷酸之一或多種性質改質，包括(但不限於)藥效學、藥物動力學、穩定性、結合、吸收、組織分佈、細胞分佈、細胞攝取、電荷及清除。在某些實施例中，結合基團賦予所連接之寡核苷酸新的性質，例如使得能夠偵測寡核苷酸之螢光團或報導基團。某些結合基團及結合部分先前已予以闡述，例如：膽固醇部分(Letsinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，1989，86，6553-6556)；膽酸(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)；硫膽固醇(Oberhauser 等人，*Nucl. Acids Res.*，1992，20，533-538)；脂肪族鏈，例如十二烷-二醇或十一烷基殘基(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 1,2-二-O-十六烷基-外消旋-甘油-3-H-磷酸三乙基銻(Manoharan 等人, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 3651-3654; Shea 等人, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18, 3777-3783); 聚胺或聚乙二醇鏈(Manoharan 等人, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14, 969-973); 或金剛烷乙酸、棕櫚基部分(Mishra 等人, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264, 229-237); 十八烷基胺或己胺基-羰基-羥膽固醇部分(Crooke 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277, 923-937); 生育酚基團(Nishina 等人, *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 2015, 4, e220; 及 Nishina 等人, *Molecular Therapy*, 2008, 16, 734-740); 或 GalNAc 簇(例如 WO2014/179620)。

1. 結合部分

【0238】 結合部分包括(但不限於)嵌插物、報導分子、聚胺、聚醯胺、肽、碳水化合物(例如 GalNAc)、維生素部分、聚乙二醇、硫醚、聚醚、膽固醇、硫膽固醇、膽酸部分、葉酸鹽、脂質、磷脂、生物素、吩嗪、菲啶、蔥醌、金剛烷、吡啶、螢光黃、玫瑰紅、香豆素、螢光團及染料。

【0239】 在某些實施例中, 結合部分包含活性原料藥, 例如阿司匹林、華法林、苯丁吡唑酮、布洛芬、舒洛芬、芬布芬、酮洛芬、(S)-(+)-普拉洛芬、卡洛芬、丹磺醯肌胺酸、2,3,5-三碘苯甲酸、芬戈莫德、氟芬那酸、醛葉酸、苯并噻二嗪、氯噻嗪、二氮呋、吡啶美辛、巴比妥酸鹽、頭孢菌素、磺胺藥、抗糖尿病藥、抗細菌劑或抗生素。

2. 結合連接體

【0240】 結合部分經由結合連接體連接至寡核苷酸。在某些化合物中, 結合連接體為單一化學鍵(亦即, 結合部分經由單鍵直接連接至寡核苷酸)。在某些化合物中, 結合部分經由更複雜之結合連接體連接至寡核苷酸, 該更複雜之結合連接體包含一或多個結合連接體部分, 該(等)結合連接體部分係構成結合連接體

之亞單元。在某些實施例中，結合連接體包含諸如烴基鏈等鏈結構或諸如乙二醇、核苷或胺基酸單元等重複單元之寡聚物。

【0241】 在某些實施例中，結合連接體包含一或多個選自以下之基團：烷基、胺基、側氧基、醯胺、二硫化物、聚乙二醇、醚、硫醚及羥基胺基。在某些此等實施例中，結合連接體包含選自以下之基團：烷基、胺基、側氧基、醯胺及醚基。在某些實施例中，結合連接體包含選自烷基及醯胺基之基團。在某些實施例中，結合連接體包含選自烷基及醚基之基團。在某些實施例中，結合連接體包含至少一個磷部分。在某些實施例中，結合連接體包含至少一個磷酸基。在某些實施例中，結合連接體包括至少一個中性連接基團。

【0242】 在某些實施例中，結合連接體、包括上文所闡述之結合連接體為雙官能連接部分，例如此項技術中已知可用於將結合基團連接至母體化合物之彼等雙官能連接部分，諸如本文所提供之寡核苷酸。一般而言，雙官能連接部分包含至少兩個官能基。選擇一個官能基結合至母體化合物上之特定位點，且選擇另一官能基結合至結合基團。雙官能連接部分中所用官能基之實例包括(但不限於)用於與親核基團反應之親電子體及用於與親電子基團反應之親核體。在某些實施例中，雙官能連接部分包含一或多個選自以下之基團：胺基、羥基、羧酸、硫醇、烷基、烯基及炔基。

【0243】 結合連接體之實例包括(但不限於)吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸琥珀醯亞胺基酯(SMCC)及 6-胺基己酸(AHEX 或 AHA)。其他結合連接體包括(但不限於)經取代或未經取代之 C_1 - C_{10} 烷基、經取代或未經取代之 C_2 - C_{10} 烯基或經取代或未經取代之 C_2 - C_{10} 炔基，其中較佳取代基之非限制性列表包括羥基、胺基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫基烷氧基、鹵素、烷基、芳基、烯基及炔基。

【0244】 在某些實施例中，結合連接體包含 1-10 個連接體核苷。在某些實施例中，此等連接體核苷為經修飾之核苷。在某些實施例中，此等連接體核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施例中，連接體核苷未經修飾。在某些實施例中，連接體核苷包含選自以下之視情況經保護之雜環鹼基：嘌呤、經取代之嘌呤、嘧啶或經取代之嘧啶。在某些實施例中，可裂解部分為選自以下之核苷：尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、4-N-苯甲醯基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、4-N-苯甲醯基-5-甲基胞嘧啶、腺嘌呤、6-N-苯甲醯基腺嘌呤、鳥嘌呤及 2-N-異丁醯基鳥嘌呤。通常期望連接體核苷在化合物到達靶組織後自化合物裂解。因此，連接體核苷通常經由可裂解鍵彼此連接及連接至化合物之其餘部分。在某些實施例中，此等可裂解鍵為磷酸二酯鍵。

【0245】 在本文中，連接體核苷不視為寡核苷酸之一部分。因此，在化合物包含由指定數目或範圍之連接核苷組成及/或與參照核酸具有指定互補性百分比之寡核苷酸且化合物亦包含含有結合連接體(包含連接體核苷)之結合基團的實施例中，彼等連接體核苷不計入寡核苷酸之長度且不用於確定寡核苷酸對於參照核酸之互補性百分比。舉例而言，化合物可包含(1)經修飾之寡核苷酸，其由 8-30 個核苷組成及(2)結合基團，其包含 1-10 個與經修飾之寡核苷酸之核苷鄰接的連接體核苷。在此一化合物中，鄰接連接之核苷總數大於 30。或者，化合物可包含由 8-30 個核苷組成的經修飾之寡核苷酸且無結合基團。在此一化合物中，鄰接連接之核苷總數不超過 30。除非另有指示，否則結合連接體包含不超過 10 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含不超過 5 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含不超過 3 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含不超過 2 個連接體核苷。在某些實施例中，結合連接體包含不超過 1 個連接體核苷。

【0246】 在某些實施例中，期望結合基團自寡核苷酸裂解。舉例而言，在某些情況中，包含特定結合部分之化合物較佳由特定細胞類型攝取，但一旦化合物已被攝取，則期望裂解結合基團以釋放未結合之寡核苷酸或母體寡核苷酸。因此，某些結合連接體可包含一或多個可裂解部分。在某些實施例中，可裂解部分為可裂解鍵。在某些實施例中，可裂解部分為包含至少一個可裂解鍵之原子團。在某些實施例中，可裂解部分包含具有一個、兩個、三個、四個或四個以上可裂解鍵之原子團。在某些實施例中，可裂解部分在細胞或亞細胞區室(諸如溶酶體)內部選擇性裂解。在某些實施例中，可裂解部分由內源性酶(諸如核酸酶)選擇性裂解。

【0247】 在某些實施例中，可裂解鍵選自：醯胺、酯、醚、磷酸二酯之一個或兩個酯、磷酸酯、胺基甲酸酯或二硫化物。在某些實施例中，可裂解鍵為磷酸二酯之一個或兩個酯。在某些實施例中，可裂解部分包含磷酸酯或磷酸二酯。在某些實施例中，可裂解部分為寡核苷酸與結合部分或結合基團之間的磷酸酯鍵聯。

【0248】 在某些實施例中，可裂解部分包含一或多個連接體核苷或由其組成。在某些此等實施例中，該一或多個連接體核苷經由可裂解鍵彼此連接及/或連接至化合物之其餘部分。在某些實施例中，此等可裂解鍵為未經修飾之磷酸二酯鍵。在某些實施例中，可裂解部分為 2'-去氧核苷，該 2'-去氧核苷藉由磷酸酯核苷間鍵聯連接至寡核苷酸之 3'或 5'末端核苷且藉由磷酸酯或硫代磷酸酯鍵聯共價連接至結合連接體或結合部分之其餘部分。在某些此等實施例中，可裂解部分為 2'-去氧腺苷。

3. 某些細胞靶向結合部分

【0249】 在某些實施例中，結合基團包含細胞靶向結合部分。在某些實施例中，結合基團具有以下通式：

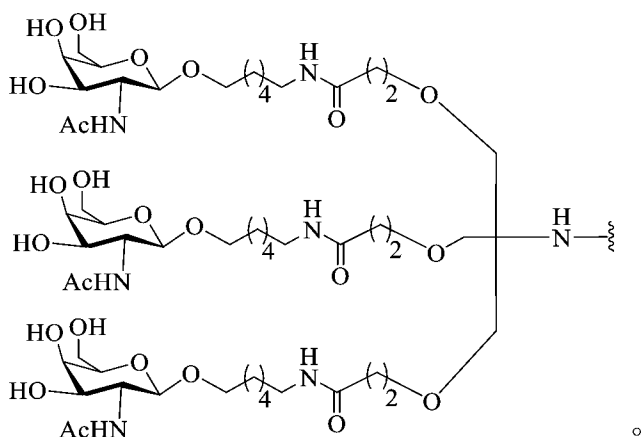
【0253】 在某些實施例中，細胞靶向部分之每一系鏈包含一或多個選自以下之呈任何組合之基團：烷基、經取代之烷基、醚、硫醚、二硫化物、胺基、側氧基、醯胺、磷酸二酯及聚乙二醇。在某些實施例中，每一系鏈係直鏈脂肪族基團，其包含一或多個選自以下之呈任何組合之基團：烷基、醚、硫醚、二硫化物、胺基、側氧基、醯胺及聚乙二醇。在某些實施例中，每一系鏈係直鏈脂肪族基團，其包含一或多個選自以下之呈任何組合之基團：烷基、磷酸二酯、醚、胺基、側氧基及醯胺。在某些實施例中，每一系鏈係直鏈脂肪族基團，其包含一或多個選自以下之呈任何組合之基團：烷基、醚、胺基、側氧基及醯胺。在某些實施例中，每一系鏈係直鏈脂肪族基團，其包含一或多個選自以下之呈任何組合之基團：烷基、胺基及側氧基。在某些實施例中，每一系鏈係直鏈脂肪族基團，其包含一或多個選自烷基及側氧基之呈任何組合之基團。在某些實施例中，每一系鏈係直鏈脂肪族基團，其包含一或多個選自烷基及磷酸二酯之呈任何組合之基團。在某些實施例中，每一系鏈包含至少一個磷連接基團或中性連接基團。在某些實施例中，每一系鏈包含長度為約 6 至約 20 個原子之鏈。在某些實施例中，每一系鏈包含長度為約 10 至約 18 個原子之鏈。在某些實施例中，每一系鏈包含長度為約 10 個原子之鏈。

【0254】 在某些實施例中，細胞靶向部分之每一配位體對靶細胞上之至少一種類型之受體具有親和力。在某些實施例中，每一配位體對哺乳動物肝臟細胞表面上之至少一種類型之受體具有親和力。在某些實施例中，每一配位體對肝去唾液酸糖蛋白受體(ASGP-R)具有親和力。在某些實施例中，每一配位體為碳水化合物。在某些實施例中，每一配位體獨立地選自半乳糖、N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)、甘露糖、葡萄糖、葡萄糖胺及岩藻糖。在某些實施例中，每一配位體為 N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)。在某些實施例中，細胞靶向部分包含 3 個

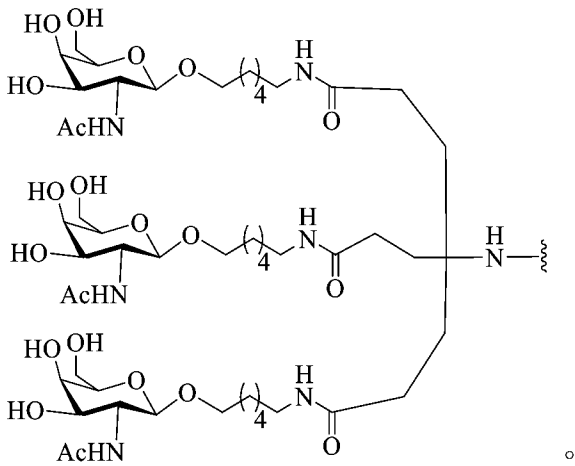
GalNAc 配位體。在某些實施例中，細胞靶向部分包含 2 個 GalNAc 配位體。在某些實施例中，細胞靶向部分包含 1 個 GalNAc 配位體。

【0255】 在某些實施例中，細胞靶向部分之每一配位體為碳水化合物、碳水化合物衍生物、經修飾之碳水化合物、多糖、經修飾之多糖或多糖衍生物。在某些此等實施例中，結合基團包含碳水化合物簇(例如，參見 Maier 等人，「Synthesis of Antisense Oligonucleotides Conjugated to a Multivalent Carbohydrate Cluster for Cellular Targeting」, *Bioconjugate Chemistry*, 2003, 14, 18-29 或 Rensen 等人，「Design and Synthesis of Novel *N*-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor」, *J. Med. Chem.* 2004, 47, 5798-5808)。在某些此等實施例中，每一配位體為胺基糖或硫糖。舉例而言，胺基糖可選自此項技術中已知之諸多化合物，諸如唾液酸、 α -D-半乳糖胺、 β -胞壁酸、2-去氧-2-甲基胺基-L-葡萄糖吡喃糖、4,6-二去氧-4-甲醯胺基-2,3-二-O-甲基-D-吡喃甘露糖、2-去氧-2-磺胺基-D-葡萄糖吡喃糖及 *N*-磺基-D-葡糖胺及 *N*-乙醇醯基- α -神經胺酸。舉例而言，硫糖可選自 5-硫基- β -D-葡萄糖吡喃糖、甲基 2,3,4-三-O-乙醯基-1-硫基-6-O-三苯甲基- α -D-葡萄糖吡喃糖苷、4-硫基- β -D-半乳吡喃糖及乙基 3,4,6,7-四-O-乙醯基-2-去氧-1,5-二硫基- α -D-葡萄糖庚糖吡喃糖苷。

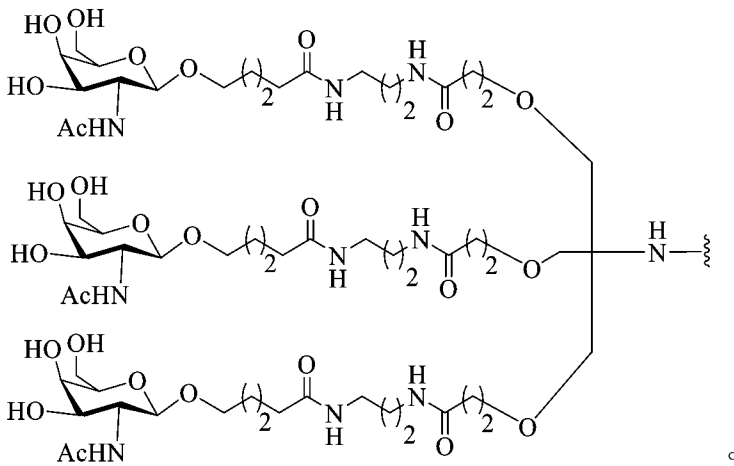
【0256】 在某些實施例中，結合基團包含具有下式之細胞靶向部分：



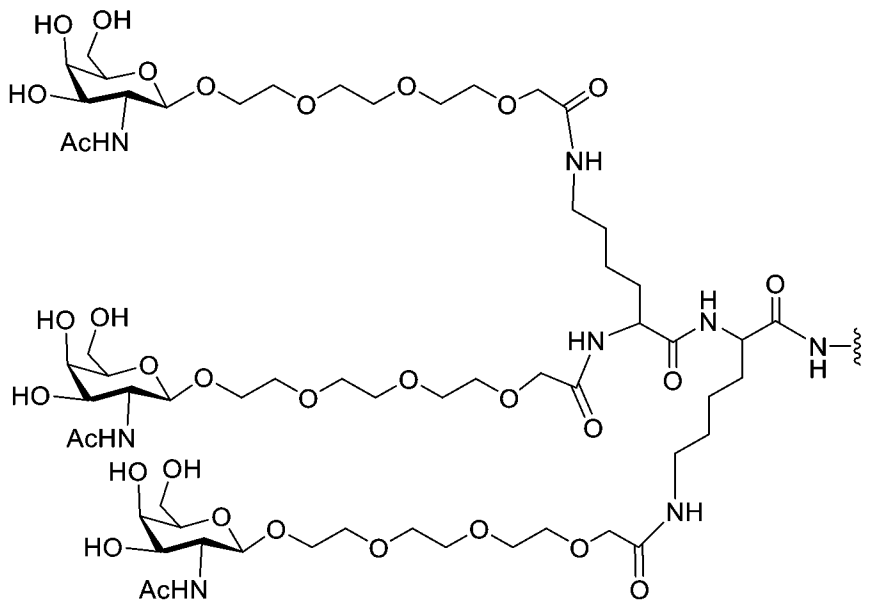
【0257】 在某些實施例中，結合基團包含具有下式之細胞靶向部分：



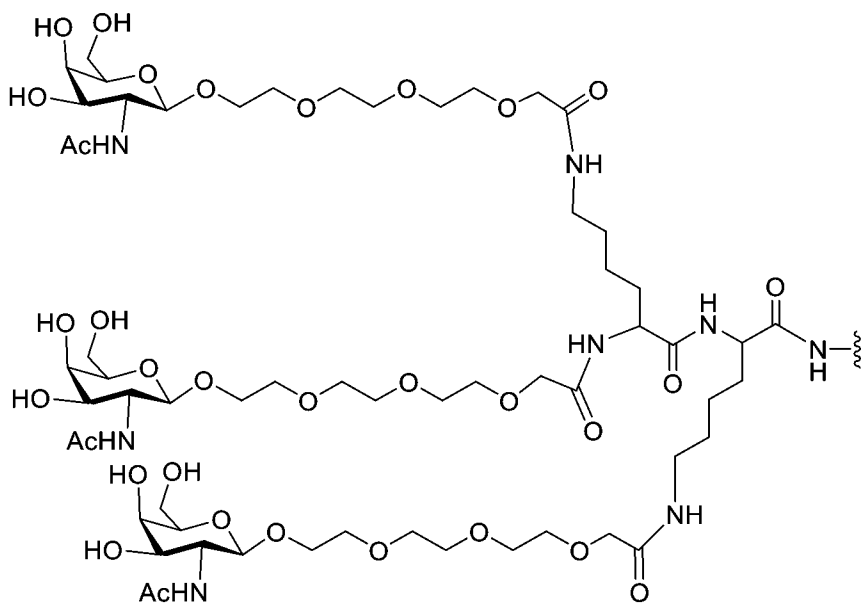
【0258】 在某些實施例中，結合基團包含具有下式之細胞靶向部分：



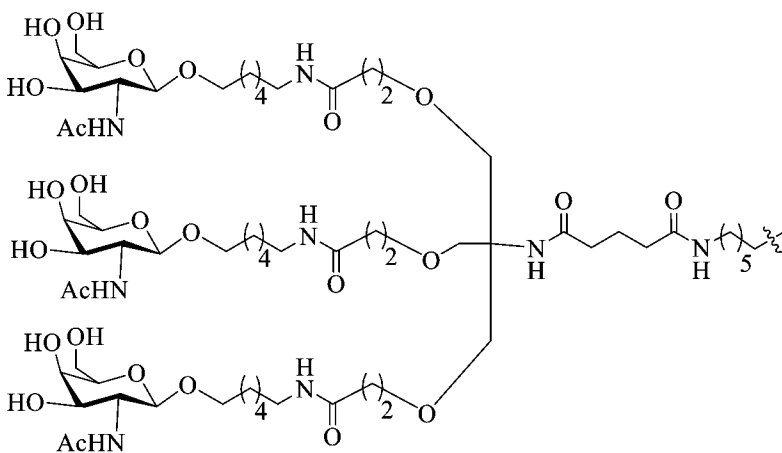
【0259】 在某些實施例中，結合基團包含具有下式之細胞靶向部分：



【0260】 在某些實施例中，結合基團包含具有下式之細胞靶向部分：



【0261】 在某些實施例中，化合物包含在本文中描述為「LICA-1」之結合基團。LICA-1 具有下式：



【0262】 在某些實施例中，本文所闡述之包含 LICA-1 及位於結合連接體內之可裂解部分的化合物具有下式：

【0264】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含間隙聚體或完全經修飾之糖模體以及包含至少一個、兩個或三個 GalNAc 配位體之結合基團。在某些實施例中，化合物包含在以下參考文獻中之任一者中所發現之結合基團：Lee, *Carbohydr Res*, 1978, 67, 509-514；Connolly 等人, *J Biol Chem*, 1982, 257, 939-945；Pavia 等人, *Int J Pep Protein Res*, 1983, 22, 539-548；Lee 等人, *Biochem*, 1984, 23, 4255-4261；Lee 等人, *Glycoconjugate J*, 1987, 4, 317-328；Toyokuni 等人, *Tetrahedron Lett*, 1990, 31, 2673-2676；Biessen 等人, *J Med Chem*, 1995, 38, 1538-1546；Valentijn 等人, *Tetrahedron*, 1997, 53, 759-770；Kim 等人, *Tetrahedron Lett*, 1997, 38, 3487-3490；Lee 等人, *Bioconjug Chem*, 1997, 8, 762-765；Kato 等人, *Glycobiol*, 2001, 11, 821-829；Rensen 等人, *J Biol Chem*, 2001, 276, 37577-37584；Lee 等人, *Methods Enzymol*, 2003, 362, 38-43；Westerlind 等人, *Glycoconj J*, 2004, 21, 227-241；Lee 等人, *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(19), 5132-5135；Maierhofer 等人, *Bioorg Med Chem*, 2007, 15, 7661-7676；Khorev 等人, *Bioorg Med Chem*, 2008, 16, 5216-5231；Lee 等人, *Bioorg Med Chem*, 2011, 19, 2494-2500；Kornilova 等人, *Analyt Biochem*, 2012, 425, 43-46；Pujol 等人, *Angew Chemie Int Ed Engl*, 2012, 51, 7445-7448；Biessen 等人, *J Med Chem*, 1995, 38, 1846-1852；Sliedregt 等人, *J Med Chem*, 1999, 42, 609-618；Rensen 等人, *J Med Chem*, 2004, 47, 5798-5808；Rensen 等人, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26, 169-175；van Rossenberg 等人, *Gene Ther*, 2004, 11, 457-464；Sato 等人, *J Am Chem Soc*, 2004, 126, 14013-14022；Lee 等人, *J Org Chem*, 2012, 77, 7564-7571；Biessen 等人, *FASEB J*, 2000, 14, 1784-1792；Rajur 等人, *Bioconjug Chem*, 1997, 8, 935-940；Duff 等人, *Methods Enzymol*, 2000, 313, 297-321；Maier 等人, *Bioconjug Chem*, 2003, 14, 18-29；Jayaprakash 等人, *Org Lett*, 2010, 12, 54

10-5413 ; Manoharan , *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* , 2002 , 12 , 103-128 ; Merwin 等人 , *Bioconjug Chem* , 1994 , 5 , 612-620 ; Tomiya 等人 , *Bioorg Med Chem* , 2013 , 21 , 5275-5281 ; 國際申請案 WO1998/013381 ; WO2011/038356 ; WO1997/046098 ; WO2008/098788 ; WO2004/101619 ; WO2012/037254 ; WO2011/120053 ; WO2011/100131 ; WO2011/163121 ; WO2012/177947 ; WO2013/033230 ; WO2013/075035 ; WO2012/083185 ; WO2012/083046 ; WO2009/082607 ; WO2009/134487 ; WO2010/144740 ; WO2010/148013 ; WO1997/020563 ; WO2010/088537 ; WO2002/043771 ; WO2010/129709 ; WO2012/068187 ; WO2009/126933 ; WO2004/024757 ; WO2010/054406 ; WO2012/089352 ; WO2012/089602 ; WO2013/166121 ; WO2013/165816 ; 美國專利 4,751,219 ; 8,552,163 ; 6,908,903 ; 7,262,177 ; 5,994,517 ; 6,300,319 ; 8,106,022 ; 7,491,805 ; 7,491,805 ; 7,582,744 ; 8,137,695 ; 6,383,812 ; 6,525,031 ; 6,660,720 ; 7,723,509 ; 8,541,548 ; 8,344,125 ; 8,313,772 ; 8,349,308 ; 8,450,467 ; 8,501,930 ; 8,158,601 ; 7,262,177 ; 6,906,182 ; 6,620,916 ; 8,435,491 ; 8,404,862 ; 7,851,615 ; 已公開之美國專利申請公開案 US2011/0097264 ; US2011/0097265 ; US2013/0004427 ; US2005/0164235 ; US2006/0148740 ; US2008/0281044 ; US2010/0240730 ; US2003/0119724 ; US2006/0183886 ; US2008/0206869 ; US2011/0269814 ; US2009/0286973 ; US2011/0207799 ; US2012/0136042 ; US2012/0165393 ; US2008/0281041 ; US2009/0203135 ; US2012/0035115 ; US2012/0095075 ; US2012/0101148 ; US2012/0128760 ; US2012/0157509 ; US2012/0230938 ; US2013/0109817 ; US2013/0121954 ; US2013/0178512 ; US2013/0236968 ; US2011/0123520 ; US2003/0077829 ; US2008/0108801 ; 及 US2009/0203132 。

VII. 某些醫藥組合物

【0265】 在某些實施例中，本文闡述包含一或多種寡聚化合物之醫藥組合物。在某些實施例中，該一或多種寡聚化合物各自由經修飾之寡核苷酸組成。在某些實施例中，醫藥組合物包含醫藥學上可接受之稀釋劑或載劑。在某些實施例中，醫藥組合物包含鹽水溶液及一或多種寡聚化合物，或由其組成。在某些實施例中，醫藥組合物包含無菌鹽水溶液及一或多種寡聚化合物，或由其組成。在某些實施例中，無菌鹽水係醫藥級鹽水。在某些實施例中，醫藥組合物包含一或多種寡聚化合物及水，或由其組成。在某些實施例中，醫藥組合物包含一或多種寡聚化合物及無菌水，或由其組成。在某些實施例中，無菌水係醫藥級水。在某些實施例中，醫藥組合物包含一或多種寡聚化合物及磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)，或由其組成。在某些實施例中，無菌 PBS 係醫藥級 PBS。

【0266】 在某些實施例中，醫藥組合物包含一或多種寡聚化合物及一或多種賦形劑。在某些實施例中，賦形劑選自水、鹽溶液、乙醇、聚乙二醇、明膠、乳糖、澱粉酶、硬脂酸鎂、滑石、矽酸、黏性石蠟、羥甲基纖維素及聚乙烯吡咯啉酮。

【0267】 在某些實施例中，寡聚化合物可與醫藥學上可接受之活性及/或惰性物質混合以供製備醫藥組合物或調配物。用於調配醫藥組合物之組合物及方法取決於多種準則，包括(但不限於)投與途徑、疾病程度或欲投與之劑量。

【0268】 在某些實施例中，包含寡聚化合物之醫藥組合物涵蓋該寡聚化合物之任何醫藥學上可接受之鹽、該寡聚化合物之酯或此等酯之鹽。在某些實施例中，包含含有一或多種寡核苷酸之寡聚化合物的醫藥組合物在投與給個體(包括人類)時能夠提供(直接或間接地)生物活性代謝物或其殘餘物。因此，舉例而言，本揭示案亦係關於寡聚化合物之醫藥學上可接受之鹽、前藥、此等前藥之醫藥學上可接受之鹽及其他生物等效形式。適宜的醫藥學上可接受之鹽包括(但

不限於)鈉鹽及鉀鹽。在某些實施例中，前藥包含一或多個連接至寡核苷酸之結合基團，其中結合基團由體內之內源性核酸酶裂解。

【0269】 在多種方法中已將脂質部分用於核酸療法中。在某些此等方法中，將核酸(諸如寡聚化合物)引入至由陽離子脂質及中性脂質之混合物製得的預形成之脂質體或脂質複合物(lipoplex)中。在某些方法中，在不存在中性脂質之情形下形成具有單陽離子脂質或聚陽離子脂質之 DNA 複合物。在某些實施例中，選擇脂質部分以增加醫藥劑至特定細胞或組織之分佈。在某些實施例中，選擇脂質部分以增加醫藥劑至脂肪組織之分佈。在某些實施例中，選擇脂質部分以增加醫藥劑至肌肉組織之分佈。

【0270】 在某些實施例中，醫藥組合物包含遞送系統。遞送系統之實例包括(但不限於)脂質體及乳液。某些遞送系統可用於製備某些醫藥組合物，包括彼等包含疏水性化合物之醫藥組合物。在某些實施例中，使用某些有機溶劑，諸如二甲亞碸。

【0271】 在某些實施例中，醫藥組合物包含一或多種組織特異性遞送分子，該(等)遞送分子經設計以將一或多種包含本文所提供之寡聚化合物之醫藥劑遞送至特定組織或細胞類型。舉例而言，在某些實施例中，醫藥組合物包括包覆有組織特異性抗體之脂質體。

【0272】 在某些實施例中，醫藥組合物包含共溶劑系統。某些此等共溶劑系統包含(例如)苧醇、非極性表面活性劑、水可混溶性有機聚合物及水相。在某些實施例中，此等共溶劑系統用於疏水性化合物。此一共溶劑系統之非限制性實例為 VPD 共溶劑系統，其係包含 3% w/v 苧醇、8% w/v 非極性表面活性劑聚山梨醇酯 80™及 65% w/v 聚乙二醇 300 之無水乙醇溶液。此等共溶劑系統之比例可相當大地改變，而不顯著地改變其溶解性及毒性特徵。此外，共溶劑組分之屬性(identity)可改變：例如，可使用其他表面活性劑代替聚山梨醇酯 80™；

聚乙二醇之分數大小可改變；其他生物相容性聚合物可替代聚乙二醇，例如聚乙烯吡咯啉酮；且可用其他糖或多糖取代右旋糖。

【0273】 在某些實施例中，醫藥組合物經製備用於經口投與。在某些實施例中，醫藥組合物經製備用於經頰投與。在某些實施例中，醫藥組合物經製備用於藉由注射投與(例如靜脈內、皮下、肌內、鞘內(IT)、腦室內(ICV)、神經內、神經周等)。在某些此等實施例中，醫藥組合物包含載劑且在水溶液中調配，該水溶液為諸如水或生理學相容性緩衝液，諸如漢克氏溶液(Hanks's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理鹽水緩衝液。在某些實施例中，包括其他成分(例如幫助溶解或充當防腐劑之成分)。在某些實施例中，使用適當液體載劑、懸浮劑及諸如此類製備可注射懸浮液。某些注射用醫藥組合物係以單位劑型(例如於安瓿中或於多劑量容器中)呈現。某些注射用醫藥組合物係於油性或水性媒劑中之懸浮液、溶液或乳液，且可含有諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑等調配劑。適用於注射用醫藥組合物中之某些溶劑包括(但不限於)親脂性溶劑及脂肪油(諸如芝麻油)、合成脂肪酸酯(諸如油酸乙酯或甘油三酯)及脂質體。

【0274】 在某些條件下，本文所揭示之某些化合物充當酸。儘管此等化合物可以質子化(游離酸)形式、或電離及與陽離子締合(鹽)形式來繪製或描述，但此等化合物之水溶液以此等形式平衡存在。舉例而言，水溶液中寡核苷酸之磷酸酯鍵聯以游離酸、陰離子及鹽形式平衡存在。除非另有指示，否則本文所闡述之化合物意欲包括所有此等形式。此外，某些寡核苷酸具有若干此等鍵聯，其各自處於平衡狀態。因此，溶液中之寡核苷酸以一系列形式存在於多個位置，全部處於平衡狀態。術語「寡核苷酸」意欲包括所有此等形式。所繪製之結構必然繪示單一形式。然而，除非另有指示，否則此等圖式同樣意欲包括對應形式。在本文中，繪示化合物之游離酸之結構繼之以術語「或其鹽」明確地包括

可為完全或部分質子化/去質子化/與陽離子締合之所有此等形式。在某些情況下，鑑別出一或多種特定陽離子。

【0275】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物在含鈉水溶液中。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物在含鉀水溶液中。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物在 PBS 中。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物在水中。在某些此等實施例中，利用 NaOH 及/或 HCl 調整溶液之 pH 以達成期望 pH。

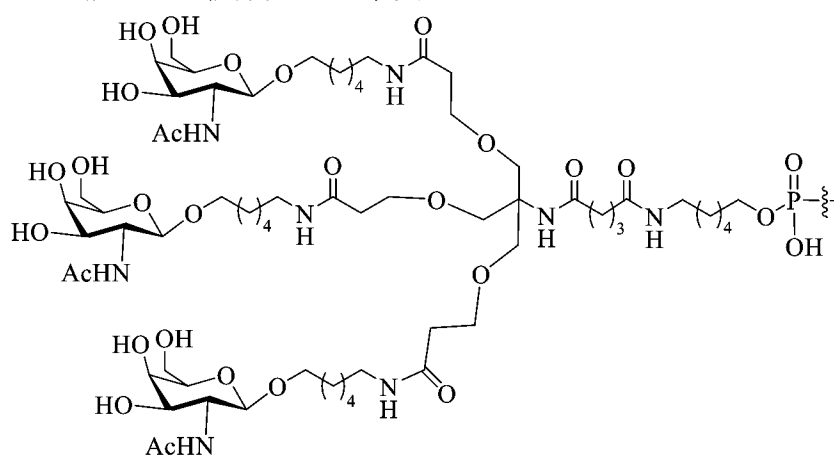
【0276】 在本文中，對某些具體劑量予以闡述。劑量可呈劑量單位形式。為清晰起見，經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物之劑量(或劑量單位)(以毫克計)指示該經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物之游離酸形式之質量。如上文所闡述，在水溶液中，游離酸與陰離子及鹽形式處於平衡狀態。然而，出於計算劑量之目的，假定經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物以無溶劑、無乙酸钠、無水之游離酸形式存在。舉例而言，倘若經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物在包含鈉之溶液(例如鹽水)中，則該經修飾之寡核苷酸或寡聚化合物可部分或完全去質子化且與 Na⁺離子締合。然而，質子之質量仍然計入劑量之重量，而 Na⁺離子之質量不計入劑量之重量。當寡聚化合物包含結合基團時，在計算此寡聚化合物之劑量時包括結合基團之質量。若結合基團亦具有酸，則出於計算劑量之目的，同樣假定結合基團完全質子化。

VIII. 某些組合物

1. 1205407 號化合物

【0277】 在某些實施例中，1205407 號化合物表徵為 3-10-3 MOE/cEt 混合翼間隙聚體，其在 5' 端與結合基團結合。化合物 1205407 具有 CGCTGATTTGTCCGGG (SEQ ID NO: 12)之序列(自 5'至 3')，其中核苷 1 至 3 具有 e-e-k(自 5'至 3')之糖修飾，其中核苷 14 至 16 具有 k-k-e 之糖修飾，其中每

一『e』表示 2'-MOE 糖部分，且每一『k』係指 cEt 糖部分；且核苷 4 至 13 中之每一者為 2'-β-D-去氧核苷；其中核苷 2 至 3、3 至 4 及 14 至 15 之間的核苷間鍵聯為磷酸二酯核苷間鍵聯且核苷 1 至 2、4 至 5、5 至 6、6 至 7、7 至 8、8 至 9、9 至 10、10 至 11、11 至 12、12 至 13、13 至 14 及 15 至 16 之間的核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且其中每一胞嘧啶為 5-甲基胞嘧啶。1205407 號化合物具有 5'-參己基胺基-(THA)-C₆GalNAc₃封端，其由如下結構表示，其中磷酸基連接至 5'-核苷之 5'-氧原子：



【0278】 在某些實施例中，1205407 號化合物由以下化學記法表示：
 THA-C₆-GalNAc₃-^mC_{es}G_{eo}^mC_{ko}T_{ds}G_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}G_{ko}G_{ks}G_e (SEQ ID NO: 12)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

^mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

e = 2'-β-D-MOE 糖部分，

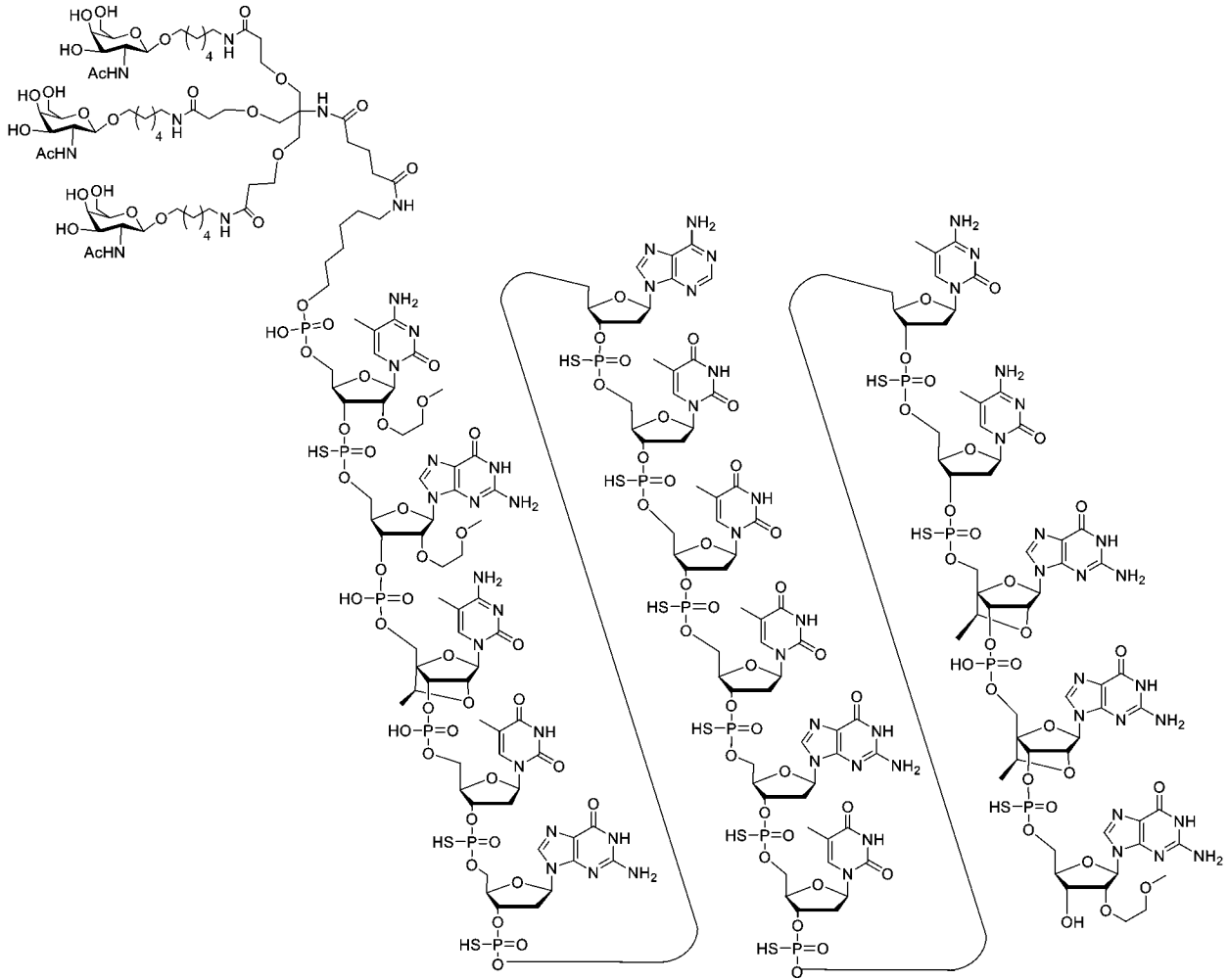
k = cEt 糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

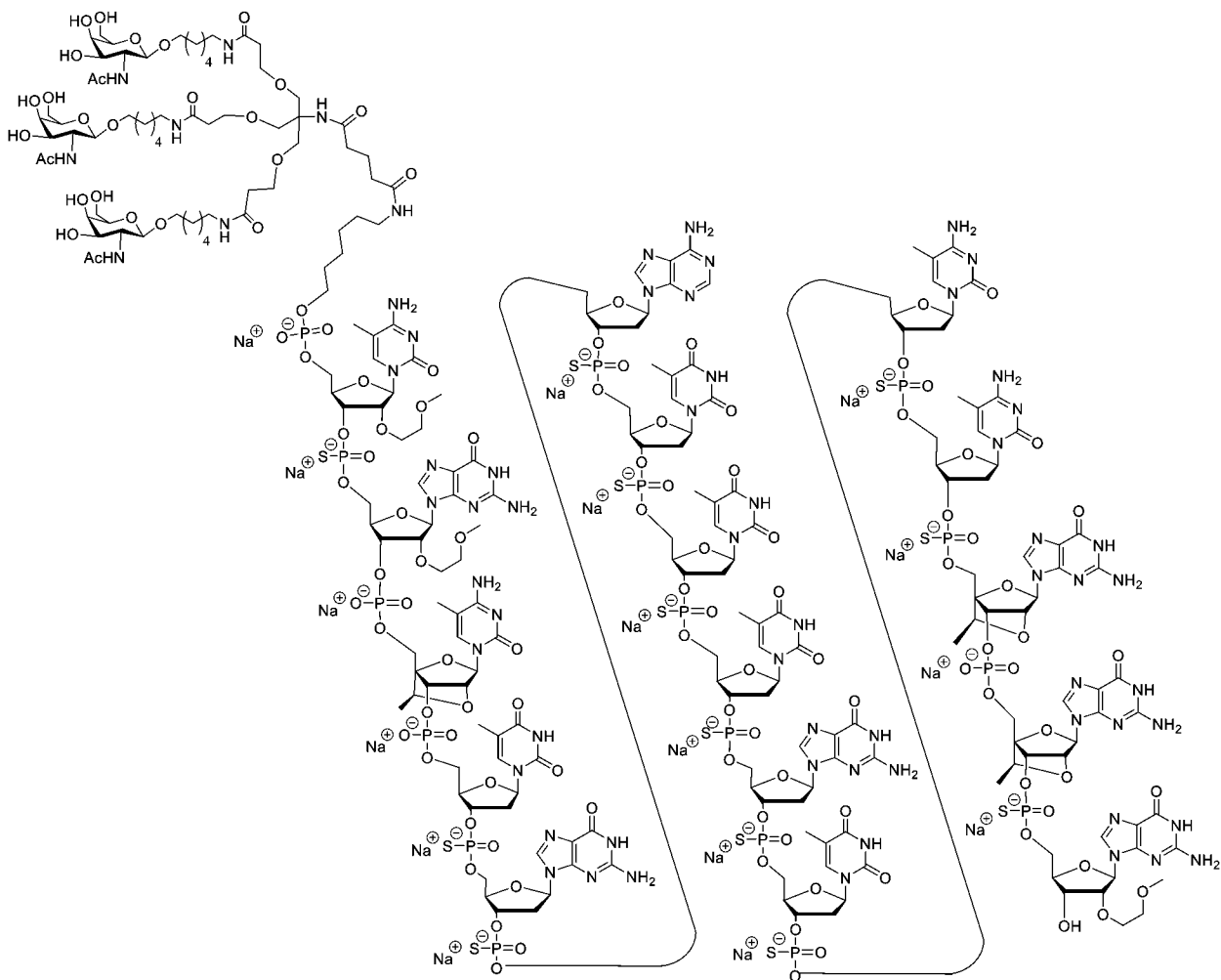
o=磷酸二酯核苷間鍵聯。

【0279】 在某些實施例中，1205407 號化合物由以下化學結構表示：



(SEQ ID NO: 12)，或其鹽。

【0280】 在某些實施例中，1205407 號化合物之鈉鹽由以下化學結構表示：



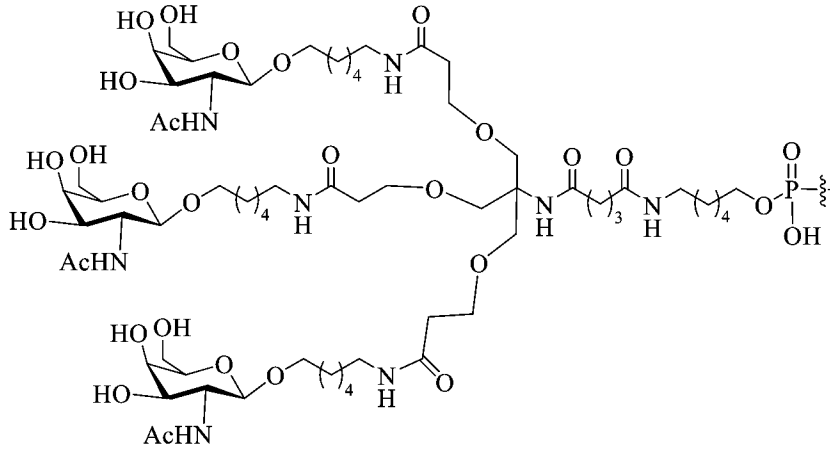
(SEQ ID NO: 12)。

【0281】 在某些實施例中，1205407 號化合物係呈陰離子形式。

2. 1205408 號化合物

【0282】 在某些實施例中，1205408 號化合物表徵為 3-10-3 MOE/cEt 混合翼間隙聚體，其在 5' 端與結合基團結合。化合物 1205408 具有 TCGGTTGGAATTCTTT (SEQ ID NO: 13) 之序列(自 5' 至 3')，其中核苷 1 至 3 具有 e-k-k (自 5' 至 3') 之糖修飾且其中核苷 14 至 16 具有 k-k-e 之糖修飾；其中每一『e』表示 2'- MOE 糖部分，且每一『k』係指 cEt 糖部分；且核苷 4 至 13 中之每一者為 2'-β-D-去氧核苷；其中核苷 2 至 3、3 至 4 及 14 至 15 之間的核苷間鍵聯為磷酸二酯核苷間鍵聯且核苷 1 至 2、4 至 5、5 至 6、6 至 7、7 至 8、8 至 9、9 至 10、10 至 11、11 至 12、12 至 13、13 至 14 及 15 至 16 之間的核苷間鍵聯為

硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且其中每一胞嘧啶為 5-甲基胞嘧啶。1205408 號化合物具有 5'-參己基胺基-(THA)-C₆GalNAc₃封端，其由如下結構表示，其中磷酸基連接至 5'-核苷之 5'-氧原子：



【0283】 在某些實施例中，1205408 號化合物由以下化學記法表示：
THA-C6-GalNAc₃- T_{es}^mC_{ko}G_{ko}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ko}T_{ks}T_e (SEQ ID NO: 13)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

^mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

e = 2'-β-D-MOE 糖部分，

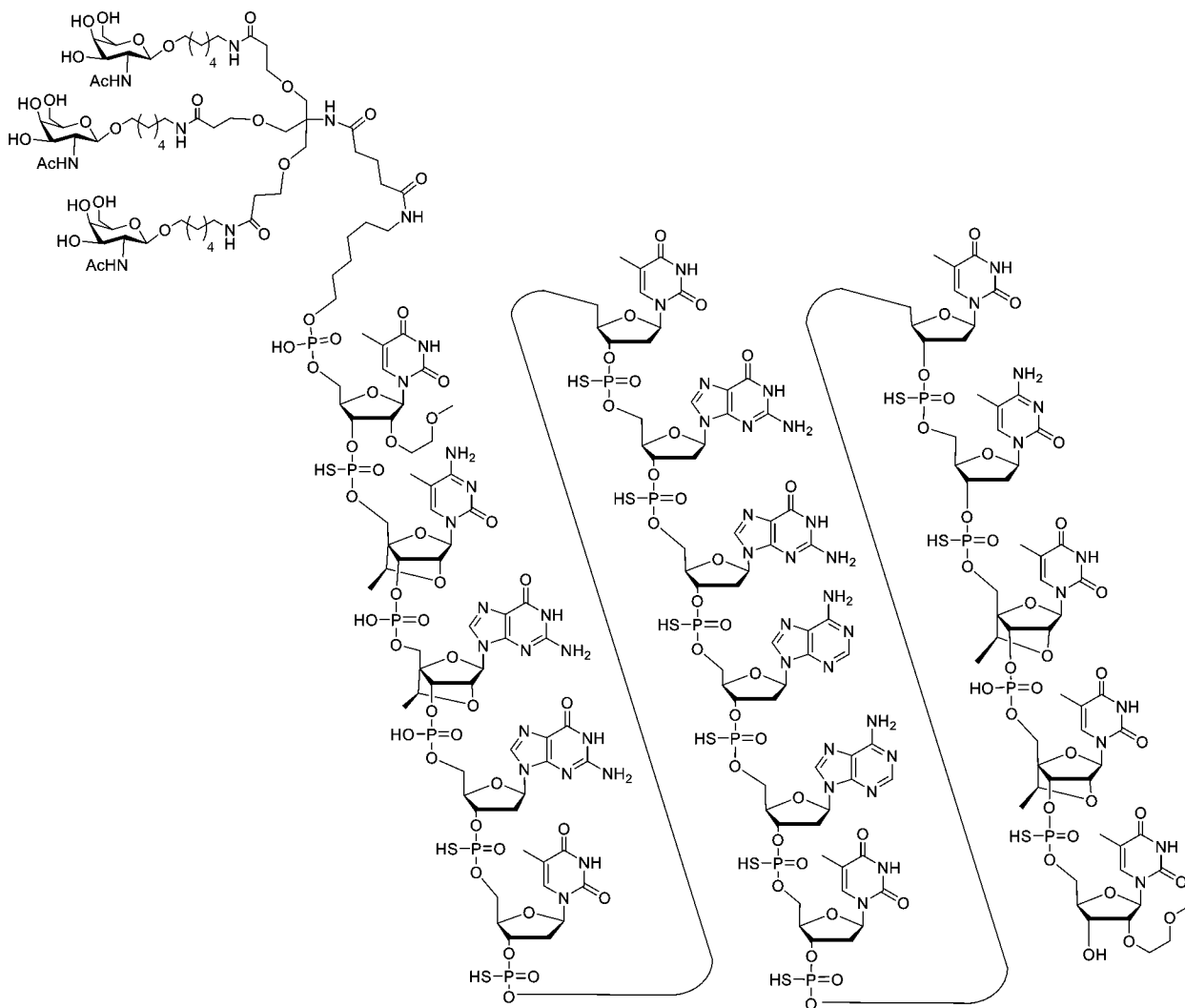
k = cEt 糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

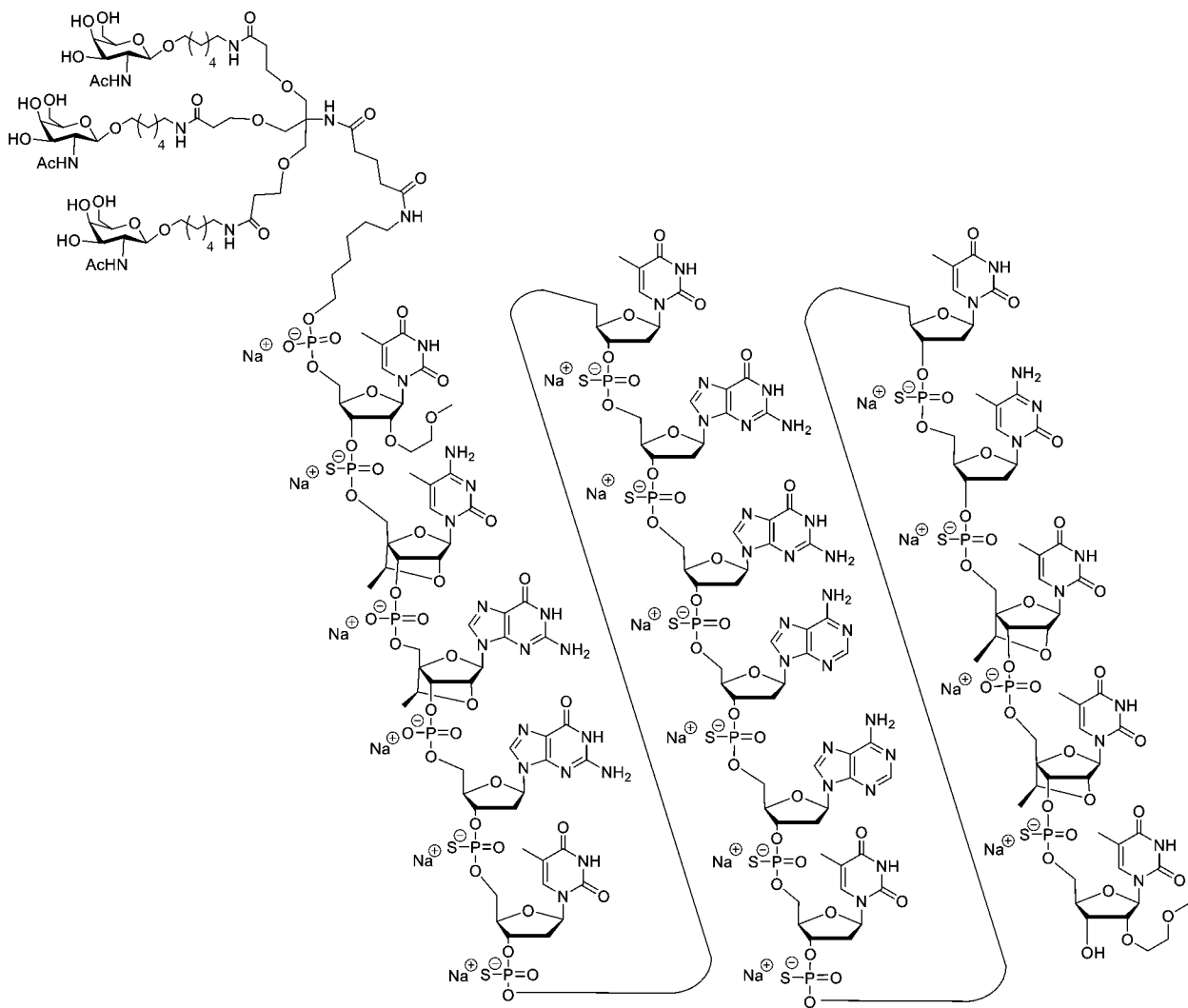
o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【0284】 在某些實施例中，1205408 號化合物由以下化學結構表示：



(SEQ ID NO: 13), 或其鹽。

【0285】 在某些實施例中，1205408 號化合物之鈉鹽由以下化學結構表示：

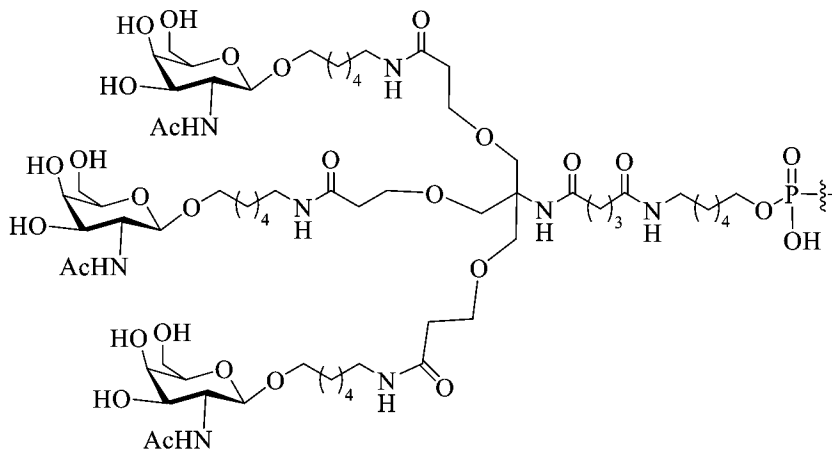


(SEQ ID NO: 13)。

【0286】 在某些實施例中，1205408 號化合物係呈陰離子形式。

3. 1250837 號化合物

【0287】 在某些實施例中，1250837 號化合物表徵為 3-10-3 間隙聚體，其在 5' 端與結合基團結合。化合物 1250837 具有 GTCGGTTGGAATTCTT (SEQ ID NO: 15) 之序列(自 5' 至 3')，其中核苷 1 至 3 及 14 至 16 具有 cEt 糖修飾，其中核苷 5 具有 2'-OMe 核糖，且其中核苷 4 及 6 至 13 中之每一者為 2'-β-D-去氧核苷；其中核苷之間的每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且其中每一胞嘧啶為 5-甲基胞嘧啶。1250837 號化合物具有 5'-參己基胺基-(THA)-C₆GalNAc₃ 封端，其由如下結構表示，其中磷酸基連接至 5'-核苷之 5'-氧原子：



【0288】 在某些實施例中，1250837 號化合物由以下化學記法表示：
 THA-C6-GalNAc₃-G_{ks}T_{ks}^mC_{ks}G_{ds}G_{ys}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{ks}T_{ks}T_k (SEQ ID NO:
 15)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

^mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

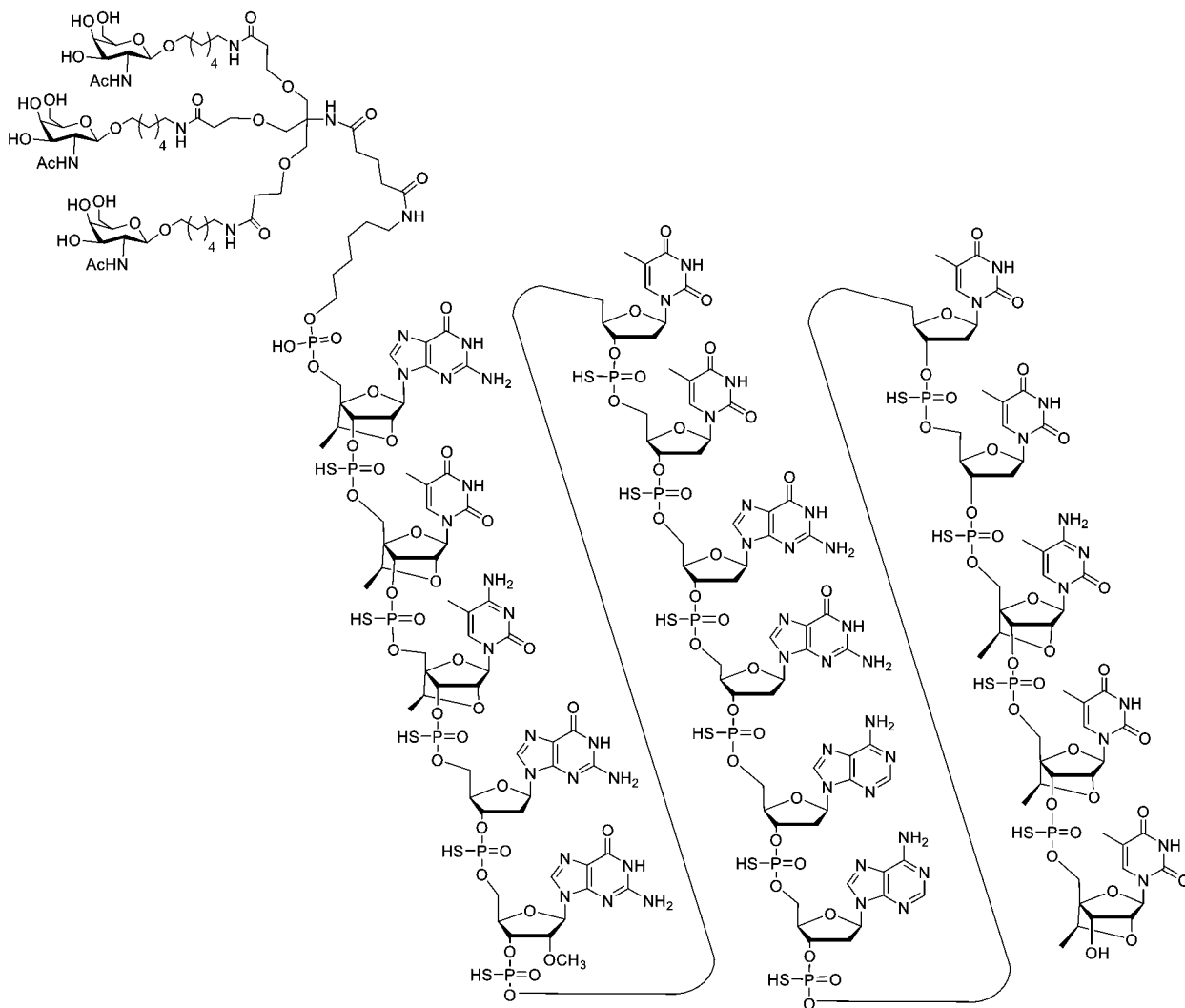
k = cEt 糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

y = 2'-OMe 核糖部分，且

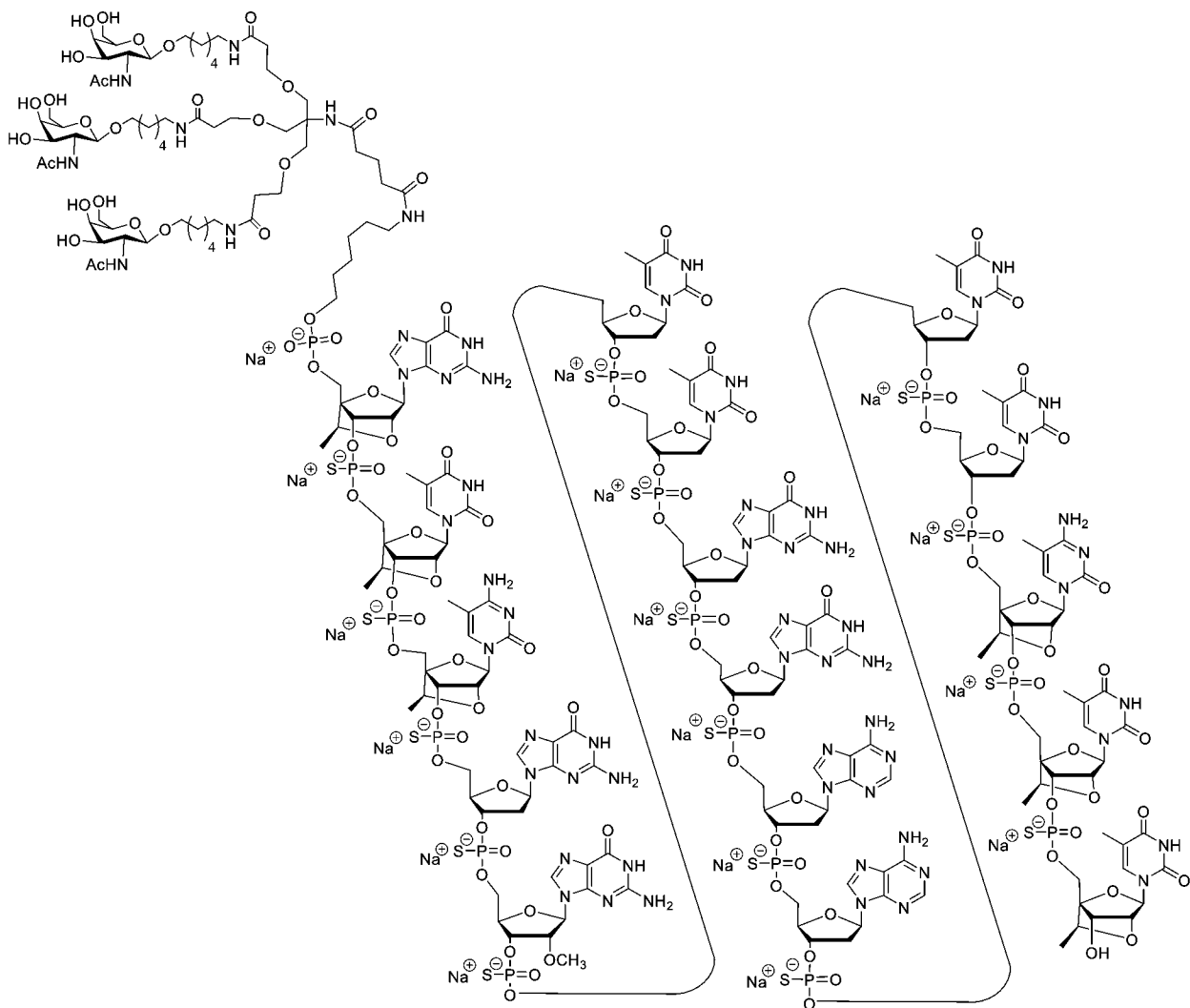
s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【0289】 在某些實施例中，1250837 號化合物由以下化學結構表示：



(SEQ ID NO: 15), 或其鹽。

【0290】 在某些實施例中，1250837 號化合物之鈉鹽由以下化學結構表示：



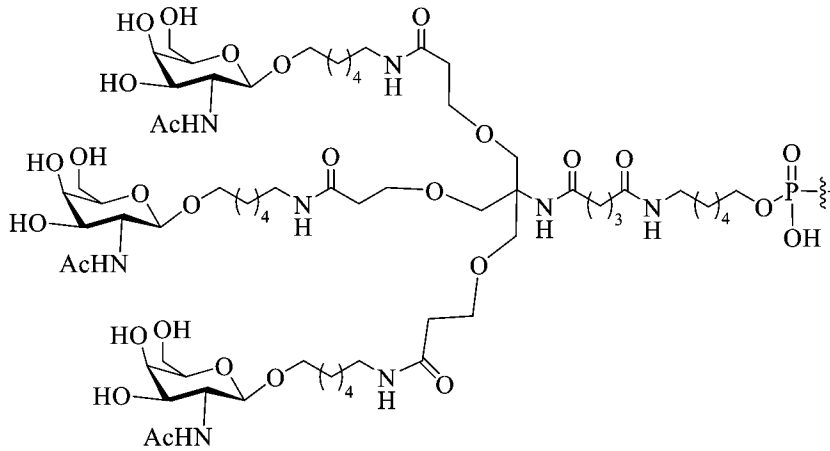
(SEQ ID NO: 15)。

【0291】 在某些實施例中，1250837 號化合物係呈陰離子形式。

4. 1250851 號化合物

【0292】 在某些實施例中，1250851 號化合物表徵為 3-10-3 間隙聚體，其在 5' 端與結合基團結合。化合物 1250851 具有 TCGGUTGGAATTCTTT (SEQ ID NO: 14) 之序列(自 5' 至 3')，其中核苷 1 至 3 及 14 至 16 具有 cEt 糖修飾，其中核苷 5 具有 2'-OMe 核糖，且其中核苷 4 及 6 至 13 中之每一者為 2'-β-D-去氧核苷；其中核苷 2 至 3、3 至 4 及 14 至 15 之間的核苷間鍵聯為磷酸二酯核苷間鍵聯且核苷 1 至 2、4 至 5、5 至 6、6 至 7、7 至 8、8 至 9、9 至 10、10 至 11、11 至 12、12 至 13、13 至 14 及 15 至 16 之間的核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且其中每一胞嘧啶為 5-甲基胞嘧啶。1250851 號化合物具有 5'-參己基胺基

-(THA)-C₆GalNAc₃ 封端，其由如下結構表示，其中磷酸基連接至 5'-核苷之 5'-氧原子：



【0293】 在某些實施例中，1250851 號化合物由以下化學記法表示：

THA-C6-GalNAc₃- T_{ks}^mC_{ko}G_{ko}G_{ds}U_{ys}T_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ko}T_{ks}T_k (SEQ ID NO: 14)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

^mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

U = 尿嘧啶核鹼基，

k = cEt 糖部分，

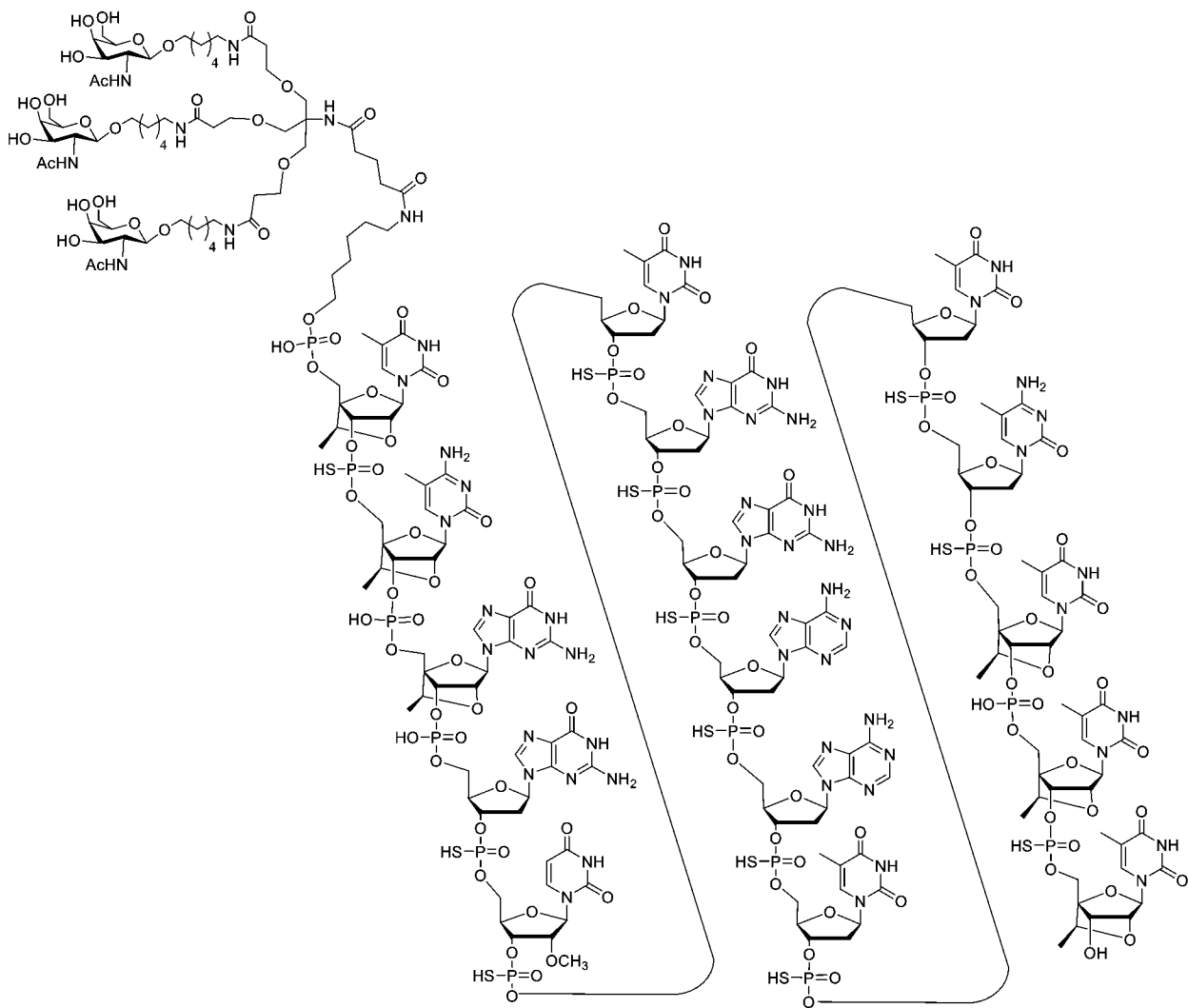
d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

y = 2'-OMe 核糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

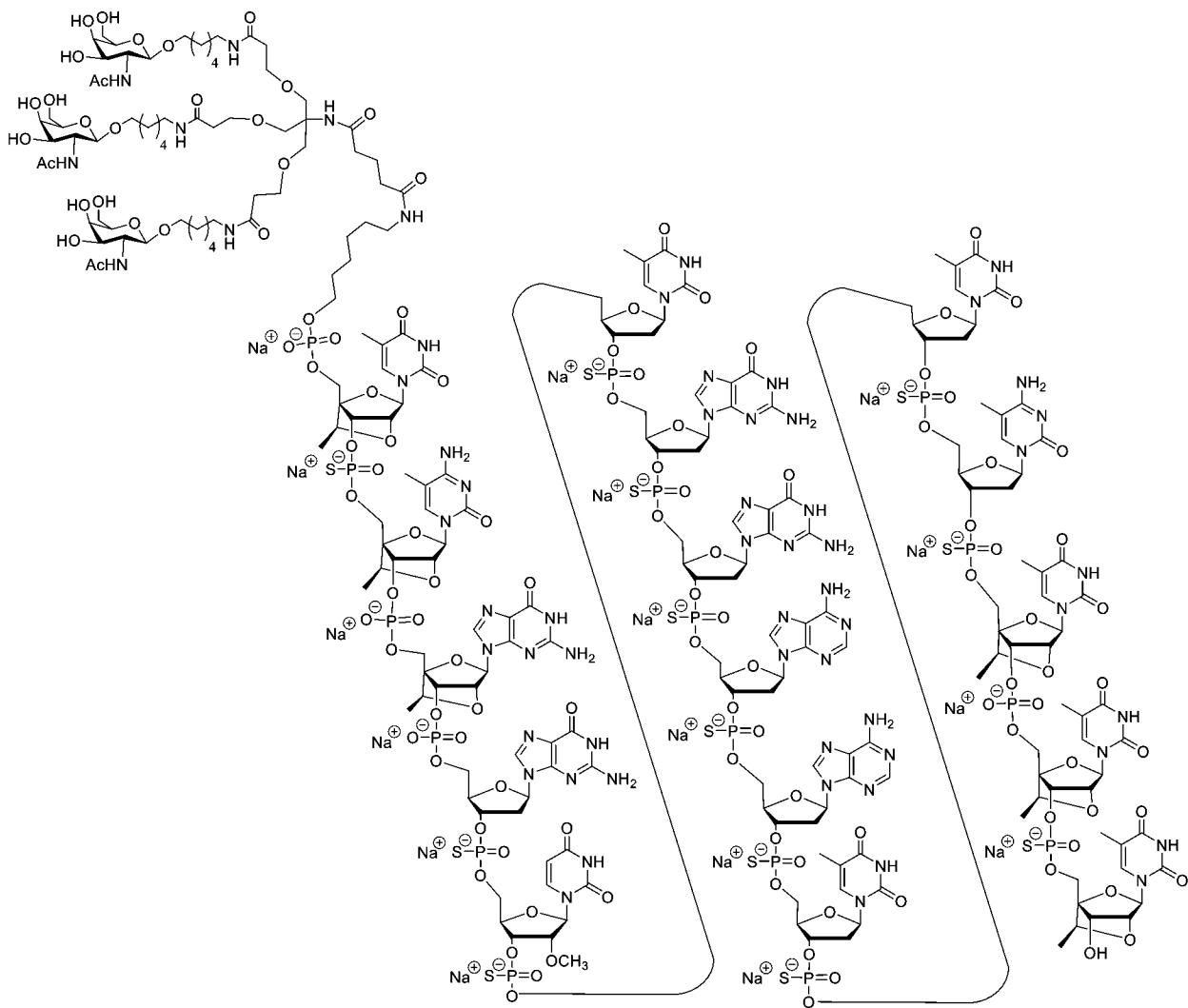
o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【0294】 在某些實施例中，1250851 號化合物由以下化學結構表示：



(SEQ ID NO: 14), 或其鹽。

【0295】 在某些實施例中，1250851 號化合物之鈉鹽由以下化學結構表示：



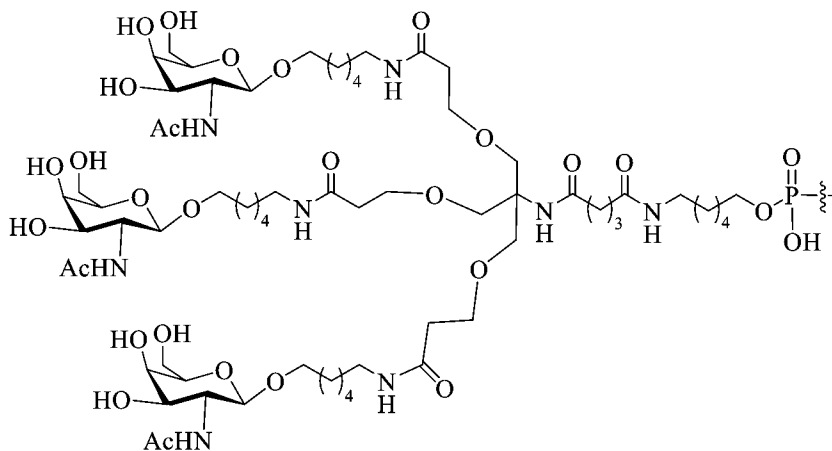
(SEQ ID NO: 14)。

【0296】 在某些實施例中，1250851 號化合物係呈陰離子形式。

VI. 某些比較組合物

【0297】 在某些實施例中，757456 號化合物係比較化合物。757456 號化合物先前闡述於以引用方式併入本文中之 WO2017062816 中，且具有 CACAAACAAGCTGGTCGGTT (SEQ ID NO: 28) 之序列(自 5' 至 3')，其中該化合物包含結合基團及經修飾之寡核苷酸；其中該經修飾之寡核苷酸為 5-10-5 MOE 間隙聚體，其中該中央間隙區段由十個 2'-β-D-去氧核苷組成且 5' 翼及 3' 翼區段各自由五個經 2'-MOE 修飾之核苷組成。每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶。757456 號化合物具有 5'-參己基胺基

-(THA)-C₆GalNAc₃ 封端，其由如下結構表示，其中磷酸基連接至 5'-核苷之 5'-氧原子：



【0298】 在某些實施例中，568637 號化合物係比較化合物。568637 號化合物先前闡述於以引用方式併入本文中之 WO2017062816 中，且具有 CGCTGATTTGTCCGGG (SEQ ID NO: 12)之序列(自 5'至 3')，其中該化合物由經修飾之寡核苷酸組成；其中該經修飾之寡核苷酸之長度為 16 個核苷且具有如由糖模體 eekdddddddddkke 所描述之混合糖部分；其中每一『d』表示 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，每一『e』表示 2'-MOE 糖部分，且每一『k』表示 cEt 糖部分。每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶。

【0299】 在某些實施例中，1176644 號化合物係比較化合物。1176644 號化合物係具有 5'-參己基胺基-(THA)-C₆GalNAc₃ 封端之 568637 號化合物。與 568637 號化合物類似，1176644 號化合物具有 CGCTGATTTGTCCGGG (SEQ ID NO: 12)之序列(自 5'至 3')，其中該化合物包含經修飾之寡核苷酸；其中該經修飾之寡核苷酸之長度為 16 個核苷且具有如由糖模體 eekdddddddddkke 所描述之混合糖部分；其中每一『d』表示 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，每一『e』表示 2'-MOE 糖部分，且每一『k』表示 cEt 糖部分。每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶。

【0300】 在某些實施例中，本文所闡述之化合物優於 WO2017062816 中所闡述之化合物，此乃因其展示一或多種改良之性質，諸如效能。

【0301】 舉例而言，與 757456 號化合物相比，1205407 號化合物展示改良之活體內效能。如實例 5 中所示，在 2.7 mg/kg 之劑量下，1205407 號化合物分別達成 93% 及 90% 之 AGT RNA 及蛋白質抑制。相比之下，在 3.3 mg/kg 之劑量下，757456 號化合物分別達成 65% 及 60% 之 AGT RNA 及蛋白質抑制。因此，在此分析中，1205407 號化合物較 757456 號化合物更強效。舉例而言，如實例 6 之研究 1 中所示，1205407 號化合物在肝臟及血漿中之 ED₅₀ 為 0.1。相比之下，757456 號化合物在肝臟及血漿中之 ED₅₀ 為 1.3。因此，在此分析中，1205407 號化合物較 757456 號化合物更強效。

【0302】 舉例而言，與 757456 號化合物相比，1205407 號化合物展示改良之離體效能。如實例 8 中所示，使用 Hepatopac 系統，1205407 號化合物之離體 IC₅₀ 為 0.04 nM。相比之下，757456 號化合物之離體 IC₅₀ >20 μM。因此，在此分析中，1205407 號化合物較 757456 號化合物更強效。

【0303】 舉例而言，與 757456 號化合物或 1176644 號化合物相比，1205407 號化合物展示改良之活體外效能。如實例 7 中所示，當在活體外利用兩種不同的引子探針集測試時，1205407 號化合物之 IC₅₀ 為 8 nM 及 12 nM。相比之下，在相同之活體外培養條件下，757456 號化合物之 IC₅₀ 為 868 nM 及 709 nM。相比之下，在相同之活體外培養條件下，1176644 號化合物之 IC₅₀ 為 35 nM 及 43 nM。因此，在此分析中，1205407 號化合物較 757456 號化合物或 1176644 號化合物更強效。

【0304】 舉例而言，與 757456 號化合物或 1176644 號化合物相比，1205407 號化合物展示改良之活體內效能。如實例 6 之研究 2 中所示，1205407 號化合物在基因轉殖小鼠研究中之 ED₅₀ 為 0.11 且 ED₇₅ 為 0.38。相比之下，757456 號化

合物之 ED₅₀ 為 2.1 且 ED₇₅ 為 2.68。相比之下，1176644 號化合物之 ED₅₀ 為 0.38 且 ED₇₅ 為 0.61。因此，在此分析中，1205407 號化合物較 757456 號化合物或 1176644 號化合物更強效。

非限制性揭示內容及以引用之方式併入

【0305】 本文所揭示之每一文獻及專利公開案均係以全文引用的方式併入。

【0306】 雖然已根據某些實施例具體地闡述本文所闡述之某些化合物、組合物及方法，但以下實例僅用於闡釋本文所闡述之化合物且不意欲限制該等化合物。本申請案中所列舉之每一參考文獻、GenBank 登錄號及諸如此類均係以全文引用的方式併入本文中。

【0307】 儘管伴隨此申請之序列表視需要將每一序列鑑別為「RNA」或「DNA」，但實際上，彼等序列可用任何化學修飾組合加以修飾。熟習此項技術者將容易地瞭解，在某些情況下，諸如「RNA」或「DNA」等描述經修飾之寡核苷酸之名稱為任意的。舉例而言，可將包含含有 2'-OH 糖部分及胸腺嘧啶鹼基之核苷的寡核苷酸描述為具有經修飾之糖部分(2'-OH 替代 DNA 之一個 2'-H)的 DNA 或描述為具有經修飾之鹼基(胸腺嘧啶(甲基化尿嘧啶)替代 RNA 之尿嘧啶)的 RNA。因此，本文所提供之核酸序列(包括(但不限於)序列表中之彼等核酸序列)意欲涵蓋含有天然或經修飾之 RNA 及/或 DNA 之任何組合的核酸，包括(但不限於)具有經修飾之核鹼基的此等核酸。作為另一實例但無限制性，具有核鹼基序列「ATCGATCG」之寡聚化合物涵蓋具有此核鹼基序列之任何寡聚化合物，無論經修飾抑或未經修飾，包括(但不限於)包含 RNA 鹼基之此等化合物，諸如具有序列「AUCGAUCG」之彼等化合物；及具有一些 DNA 鹼基及一些 RNA 鹼基之彼等化合物，諸如「AUCGATCG」；及具有其他經修飾之核鹼基之寡聚化合物，諸如「AT^mCGAUCG」，其中 ^mC 指示在 5 位包含甲基之胞嘧啶鹼基。

【0308】 本文所闡述之某些化合物(例如經修飾之寡核苷酸)具有一或多個非對稱中心，且由此產生鏡像異構物、非鏡像異構物及其他立體異構組態，該等組態可就絕對立體化學而言定義為(*R*)或(*S*)、 α 或 β (諸如對於糖變旋異構物)或者(*D*)或(*L*) (諸如對於胺基酸等)。本文所提供之繪製或描述為具有某些立體異構組態之化合物僅包括所指示之化合物。除非另有指定，否則本文所提供的以未定義之立體化學繪製或描述之化合物包括所有此等可能的異構物，包括其立體隨機形式及光學純形式。同樣，除非另有指示，否則亦包括本文化合物之所有順式及反式異構物以及互變異組態式。本文所闡述之寡聚化合物包括掌性純或富集混合物以及外消旋混合物。舉例而言，具有複數個硫代磷酸酯核苷間鍵聯之寡聚化合物包括硫代磷酸酯核苷間鍵聯之掌性受控或隨機之此等化合物。除非另有指示，否則本文所闡述之化合物意欲包括相應之鹽形式。

【0309】 本文所闡述之化合物包括一或多個原子經指示元素之非放射性同位素或放射性同位素置換之變化形式。舉例而言，包含氫原子之本文化合物涵蓋針對每一 ^1H 氫原子之所有可能的氘取代。本文化合物所涵蓋之同位素取代包括(但不限於)： ^2H 或 ^3H 替代 ^1H ， ^{13}C 或 ^{14}C 替代 ^{12}C ， ^{15}N 替代 ^{14}N ， ^{17}O 或 ^{18}O 替代 ^{16}O 及 ^{33}S 、 ^{34}S 、 ^{35}S 或 ^{36}S 替代 ^{32}S 。在某些實施例中，非放射性同位素取代可賦予寡聚化合物新的性質，該等新的性質對於用作治療或研究工具有益。在某些實施例中，放射性同位素取代可使化合物適於研究或診斷目的，諸如成像。

實例

【0310】 以下實例闡釋本揭示案之某些實施例且不具有限制性。此外，在提供具體實施例之情形下，本發明人考慮了彼等具體實施例之通用應用。

實例 1：與人類 AGT 核酸互補的經修飾之寡核苷酸之設計

【0311】 如以下各表中所闡述，設計與人類 AGT 核酸互補的經修飾之寡核苷酸。所有以下各表中之「起始位點」指示靶核酸序列中與經修飾之寡核苷酸互

補之最 5'端核苷。「終止位點」指示靶核酸序列中與經修飾之寡核苷酸互補之最 3'端核苷。以下各表中所列示之每一經修飾之寡核苷酸與 SEQ ID NO: 1 (GENBANK 登錄號 NM_000029.3)或與 SEQ ID NO: 2 (自核苷酸 230700001 至 230718000 截短之 GENBANK 登錄號 NC_000001.11 之互補序列)或與該二者 100%互補。

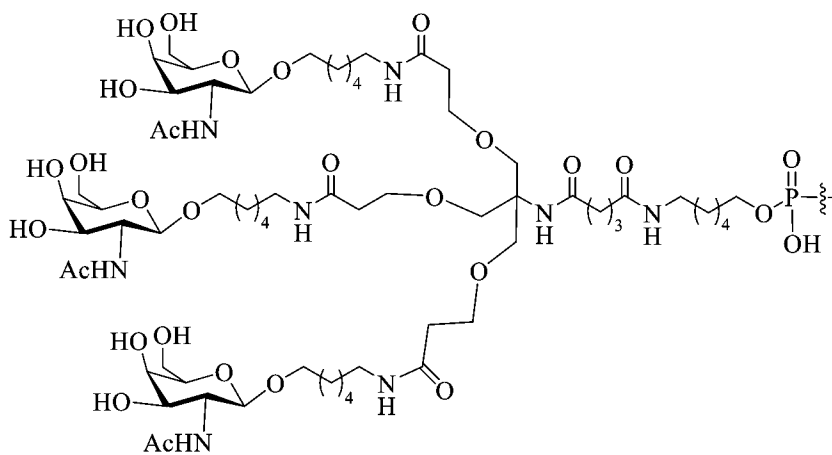
【0312】 表 1 中的經修飾之寡核苷酸之長度為 16 個核苷且具有如下表中所指示之混合糖部分，其中每一『d』表示 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，每一『e』表示 2'- MOE 糖部分，且每一『k』表示 cEt 糖部分。每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶。568637 係先前在 WO 2017/062816 中所描述之比較化合物。

表 1

與人類 AGT RNA 互補的具有統一 PS 核苷間鍵聯之 3-10-3 MOE/cEt 混合翼間隙聚體

化合物 ID	SEQ ID NO: 1 起始位點	SEQ ID NO: 1 終止位點	SEQ ID NO: 2 起始位點	SEQ ID NO: 2 終止位點	序列(5'至 3')	糖模體 (5'至 3')	SEQ ID NO
568637	2046	2061	14940	14955	CGCTGATTTGTCCGGG	eekdddddddddkke	12

【0313】 表 2 至 6 中的經修飾之寡核苷酸均具有 5'-參己基胺基-(THA)-C₆GalNAc₃ 封端，其由如下結構表示，其中磷酸基連接至 5'-核苷之 5'-氧原子：



【0314】 表 2 中的經修飾之寡核苷酸之長度為 16 個核苷且具有如所指示之混合糖部分，其中每一『d』表示 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，每一『e』表示 2'-MOE 糖部分，且每一『k』係指 cEt 糖部分。間隙聚體之核苷間模體為(自 5'至 3')：soosssssssssos；其中每一『o』表示磷酸二酯核苷間鍵聯，且每一『s』表示硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶。

表 2

與人類 AGT RNA 互補的具有混合 PO/PS 核苷間鍵聯之 GalNAc 結合之 3-10-3 MOE/cEt 混合翼間隙聚體

化合物 ID	SEQ ID NO: 1 起始位點	SEQ ID NO: 1 終止位點	SEQ ID NO: 2 起始位點	SEQ ID NO: 2 終止位點	序列(5'至 3')	糖模體 (5'至 3')	SEQ ID NO
1205407	2046	2061	14940	14955	THA-GalNAc-CGCTGATTTGTC CGGG	eekddddddddd kke	12
1205408	2271	2286	15165	15180	THA-GalNAc-TCGGTTGGAATT CTTT	ekkddddddddd kke	13
1205410	2046	2061	14940	14955	THA-GalNAc-CGCTGATTTGTC CGGG	ekkddddddddd kke	12

【0315】 表 3 中的經修飾之寡核苷酸之長度為 16 個核苷且具有如所指示之混合糖部分，其中每一『d』表示 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，每一『e』表示 2'-MOE 糖部分，每一『k』係指 cEt 糖部分，且每一『y』係指 2'-OMe 核糖。間隙聚體

之核苷間模體為(自 5'至 3')：soosssssssos；其中每一『o』表示磷酸二酯核苷間鍵聯，且每一『s』表示硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶，除非由加粗加下劃線之『C』指示，在該情形下，胞嘧啶未甲基化。

表 3

與人類 AGT RNA 互補且具有混合 PO/PS 核苷間鍵聯之在間隙中具有 2'-OMe 之 GalNAc 結合之 3-10-3 cEt 間隙聚體

化合物 ID	SEQ ID NO: 1 起始位點	SEQ ID NO: 1 終止位點	SEQ ID NO: 2 起始位點	SEQ ID NO: 2 終止位點	序列(5'至 3')	糖模體 (5'至 3')	SEQ ID NO
1299239	637	652	7279	7294	THA-GalNAc-CTCATUGTGGAT GACG	kkkddydddddd kkk	16
1299240	637	652	7279	7294	THA-GalNAc-CTCATTGTGGAT GACG	kkkddydddddd kkk	17
1299247	711	726	7353	7368	THA-GalNAc-TGAATUGGAGCA GGTA	kkkddydddddd kkk	18
1299248	711	726	7353	7368	THA-GalNAc-TGAATTGGAGCA GGTA	kkkddydddddd kkk	19
1251199	785	800	7427	7442	THA-GalNAc-CGGTGTCAAGTT TTGC	kkkdyddddddd kkk	20
1251204	182 6	184 1	1472 0	1473 5	THA-GalNAc-GTTGGGTAGACT CTGT	kkkdyddddddd kkk	21
1250850	204 6	206 1	1494 0	1495 5	THA-GalNAc-CGCTGATTTGTCC GGG	kkkdyddddddd kkk	12
1251213	226 8	228 3	1516 2	1517 7	THA-GalNAc-GTTGGAATTCCTT TTG	kkkdyddddddd kkk	22
1250851	227 1	228 6	1516 5	1518 0	THA-GalNAc-TCGGUTGGAATT CTTT	kkkdyddddddd kkk	14

【0316】 表 4 中的經修飾之寡核苷酸之長度為 16 個核苷且具有如所指示之混合糖模體，其中『d』表示 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，『e』表示 2'-MOE 糖部分，且『k』係指 cEt 糖部分。每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶。

表 4

與人類 AGT RNA 互補的具有統一 PS 核苷間鍵聯之 GalNAc 結合之 3-10-3

MOE/cEt 混合翼間隙聚體

化合物 ID	SEQ ID NO: 1 起始位點	SEQ ID NO: 1 終止位點	SEQ ID NO: 2 起始位點	SEQ ID NO: 2 終止位點	序列(5'至 3')	糖模體 (5'至 3')	SEQ ID NO
117664 4	204 6	206 1	1494 0	1495 5	THA-GalNAc-CGCTGATTTGTC CGGG	eekdddddddd kke	12
117664 8	227 1	228 6	1516 5	1518 0	THA-GalNAc-TCGGTTGGAATT CTTT	ekkdddddddd kke	13
117664 9	227 2	228 7	1516 6	1518 1	THA-GalNAc-GTCGGTTGGAAT TCTT	ekkdddddddd kke	15
117665 3	204 6	206 1	1494 0	1495 5	THA-GalNAc-CGCTGATTTGTC CGGG	ekkdddddddd kke	12
123146 3	183 4	184 9	1472 8	1474 3	THA-GalNAc-GTTAAGCTGTTG GGTA	kkkdddddddd kkk	23

【0317】 表 5 中的經修飾之寡核苷酸之長度為 16 個核苷且具有如所指示之混合糖模體，其中『d』表示 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，『e』表示 2'-MOE 糖部分，『k』係指 cEt 糖部分，且『y』係指 2'-OMe 核糖。每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶，除非由加粗加下劃線之『**C**』指示，在該情形下，胞嘧啶未甲基化。

表 5

與人類 AGT RNA 互補且具有統一 PS 核苷間鍵聯的在間隙中具有 2'-OMe 之

GalNAc 結合之 3-10-3 cEt 間隙聚體

化合物 ID	SEQ ID NO: 1 起始位點	SEQ ID NO: 1 終止位點	SEQ ID NO: 2 起始位點	SEQ ID NO: 2 終止位點	序列(5'至 3')	糖模體 (5'至 3')	SEQ ID NO
12508 35	2046	2061	1494 0	1495 5	THA-GalNAc-CGCTGATTTGTC CGGG	kkkdyddddddd kkk	12
12508 36	2271	2286	1516 5	1518 0	THA-GalNAc-TCGGUTGGAATT CTTT	kkkdyddddddd kkk	14

12508 37	2272	2287	1516 6	1518 1	THA-GalNAc-GTCGGTTGGAAT TCTT	kkkdyddddddd kkk	15
12508 40	711	726	7353	7368	THA-GalNAc-TGAAUTGGAGC AGGTA	kkkdyddddddd kkk	24
12508 42	1729	1744	1376 0	1377 5	THA-GalNAc-TTGCAGGTTTCAG CTCG	kkkdyddddddd kkk	25
12512 16	1822	1837	1471 6	1473 1	THA-GalNAc-GGTAGACTCTGT GGGC	kkkdyddddddd kkk	26
12512 28	2268	2283	1516 2	1517 7	THA-GalNAc-GTTGGAATTCTT TTTG	kkkdyddddddd kkk	27

【0318】 表 6 中的經修飾之寡核苷酸係具有統一硫代磷酸酯核苷間鍵聯之 5-10-5 MOE 間隙聚體。該化合物之長度為 20 個核苷，其中該中央間隙區段由十個 2'-β-D-去氧核苷組成且 5'翼及 3'翼區段各自由五個經 2'-MOE 修飾之核苷組成。每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。所有胞嘧啶殘基均為 5-甲基胞嘧啶。757456 係先前在 WO 2017/062816 中所描述之比較化合物。

表 6

與人類 AGT RNA 互補的具有統一 PS 核苷間鍵聯之 GalNAc 結合之 5-10-5 MOE 間隙聚體

化合物 ID	SEQ ID NO: 1 起始位點	SEQ ID NO: 1 終止位點	SEQ ID NO: 2 起始位點	SEQ ID NO: 2 終止位點	序列(5'至 3')	糖模體(5'至 3')	SEQ ID NO
757456	2281	2300	15175	15194	THA-GalNAc-CACAAACAAGCTGGTCTG GTT	eeeeedddddddddeeee e	28

實例 2：HepG2 細胞中人類 AGT 之劑量依賴性活體外抑制

【0319】 藉由電穿孔，用稀釋至如以下各表中所指定之不同濃度的經修飾之寡核苷酸處理密度為每孔 10,000 個細胞之經培養 HepG2 細胞。在大約 24 小時之處理期後，如先前所闡述使用人類 AGT 引子-探針集 RTS3721 (闡述於上文中) 量測 AGT RNA 水準。使用引子探針集 RTS104 (正向序列 GAAGGTGAAGGTCGGAGTC，在本文中指定為 SEQ ID NO: 9；反向序列 GAAGATGGTGATGGGATTTC，在本文中指定為 SEQ ID NO: 10；探針序列

CAAGCTTCCCGTTCTCAGCC，在本文中指定為 SEQ ID NO: 11)，以人類 GAPDH 表現水準對 AGT RNA 水準作正規化。結果在以下各表中呈現為相對於未經處理之對照細胞之 AGT 抑制百分比。如本文所用，值『0』指示利用經修飾之寡核苷酸處理不抑制 AGT mRNA 水準。

表 7

HepG2 細胞中經修飾之寡核苷酸之多劑量分析

化合物 編號	抑制%					IC ₅₀ (μ M)
	23 nM	94 nM	375 nM	1500 nM	6000 nM	
1250840	0	0	5	25	51	5.3
1231463	0	8	14	47	77	1.8
1205407	0	19	52	81	91	0.4
1250850	12	25	49	74	93	0.4
1251213	0	6	3	33	71	2.8
1251228	0	0	4	34	58	3.9
1205408	3	5	15	47	77	1.8
1250836	0	9	22	48	75	1.7
1250851	11	7	24	61	80	1.1
1250837	11	4	29	61	83	1.0
1299239	13	37	65	92	97	0.8
1299240	23	56	85	97	96	1.9
1205410	6	16	31	68	98	0.2
1250835	10	20	50	87	86	0.4

實例 3：靶向人類 AGT 的經修飾之寡核苷酸在 CD-1 小鼠中之耐受性

【0320】 CD1 小鼠係常用於安全性及功效測試之多用途小鼠模型。利用選自上述研究之經修飾之寡核苷酸治療小鼠，且評估各種血漿化學標記物之水準變化。

治療

【0321】 利用 15 mg/kg 經修飾之寡核苷酸皮下注射 6 至 8 週齡雄性 CD-1 小鼠組，每週一次，持續六週(總計 7 次治療)。一組雄性 CD-1 小鼠注射鹽水。在最後一次投與後 72 小時，使小鼠安樂死。

血漿化學標記物

【0322】 為評估經修飾之寡核苷酸對肝臟功能之效應，使用自動化臨床化學分析儀(Hitachi Olympus AU400c, Melville, NY)量測血尿素氮(BUN)、白蛋白、丙胺酸轉胺酶(ALT)、天冬胺酸轉胺酶(AST)、肌酸酐(CREA)及總膽紅素(TBIL)之血漿水準。結果呈現於下表中。

表 8

雄性 CD-1 小鼠中之血漿化學標記物

化合物 編號	BUN (mg/dL)	白蛋白 (g/dL)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	TBIL (mg/dL)	CREA (mg/dL)
鹽水	23	3	31	49	0.14	0.08
1176644	24	3	52	56	0.13	0.11
1176648	25	3	70	51	0.12	0.11
1176653	22	3	309	330	0.12	0.09
1205407	21	3	123	83	0.12	0.09
1205408	24	3	64	78	0.12	0.13
1205410	26	3	161	121	0.13	0.11
1231463	27	3	132	188	0.19	0.13

【0323】 將在第 6 週自小鼠組獲得之血液送至 IDEXX BioResearch, 以量測血球計數。計數包括紅血球(RBC)計數、白血球(WBC)計數、血紅素(HGB)、血容比(HCT)、平均紅血球容積(MCV)、平均紅血球血紅素(MCH)、平均紅血球血紅素濃度(MCHC)及個別白血球計數，諸如單核球(MON)、嗜中性球(NEU)、淋巴球(LYM)及血小板(PLT)之計數。結果呈現於下以下各表中。

表 9

雄性 CD-1 小鼠中之血球計數

化合物 編號	WBC (K/uL)	RBC (M/uL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	NEU (/uL)	LYM (/uL)	MON (/uL)	PLT (K/uL)
鹽水	8	9	14	47	52	16	31	1133	6142	390	1290
1176644	6	9	14	46	50	16	31	919	4533	231	1182
1176648	4	9	14	44	50	16	31	703	3370	227	1186
1176653	8	10	15	48	48	15	32	989	6505	361	829
1205407	9	10	15	47	47	15	33	901	7171	355	1228
1205408	9	9	15	46	48	15	32	1633	6745	501	1446
1205410	6	9	14	45	50	16	32	714	5112	227	994

1231463	8	10	15	46	48	16	32	872	6365	481	1260
---------	---	----	----	----	----	----	----	-----	------	-----	------

【0324】 在第 1 天及第 35 天量測小鼠體重，且每一組之平均體重呈現於下表中。在研究結束時量測肝臟、脾及腎臟重量，且呈現於下表中。所引起的器官重量之任何變化超出經修飾之寡核苷酸之預期範圍的經修飾之寡核苷酸排除在進一步研究之外

表 10

體重及器官重量(g)

化合物 編號	體重(g)		肝臟 重量 (g)	腎臟 重量 (g)	脾重 量(g)
	第 1 天	第 35 天			
PBS	31.7	37.7	2.1	0.7	0.2
1176644	31.0	37.7	2.5	0.5	0.1
1176648	32.4	40.0	2.5	0.6	0.1
1176653	32.0	40.7	2.8	0.7	0.1
1205407	31.7	39.2	2.7	0.6	0.1
1205408	30.5	38.3	2.2	0.5	0.1
1205410	29.8	35.2	2.4	0.5	0.1
1231463	32.5	39.6	2.5	0.5	0.1

實例 4：靶向人類 AGT 的經修飾之寡核苷酸在 Sprague-Dawley 大鼠中之耐受性

【0325】 Sprague-Dawley 大鼠係用於安全性及功效評估之多用途模型。利用來自上文實例中所闡述研究之 Ionis 經修飾之寡核苷酸治療大鼠，且評估各種血漿化學標記物之水準變化。

研究 1

治療

【0326】 使雄性 Sprague-Dawley 大鼠維持在 12 小時明/暗循環下，且隨意餵食 Purina 正常大鼠飼料。每組 4 隻 Sprague-Dawley 大鼠各自每週皮下注射 15 mg/kg Ionis 寡核苷酸，持續 6 週(總計 6 個劑量)。在最後一次劑量後 72 小時，使大鼠安樂死；且收穫器官、尿液及血漿以供進一步分析。

血漿化學標記物

【0327】 為評估 Ionis 寡核苷酸對肝功能之效應，使用自動化臨床化學分析儀 (Hitachi Olympus AU400c, Melville, NY) 量測轉胺酶之血漿水準。量測 ALT (丙胺酸轉胺酶) 及 AST (天冬胺酸轉胺酶) 之血漿水準，且結果以 IU/L 表示呈現於下表中。亦使用同一臨床化學分析儀量測總膽紅素 (TBIL)、肌酸酐、白蛋白及血尿素氮 (BUN) 之血漿水準，且結果亦呈現於下表中。

表 11

Sprague-Dawley 大鼠中之血漿化學標記物

化合物 編號	BUN (mg/dL)	白蛋白 (g/dL)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	TBIL (mg/dL)	CREA (mg/dL)
鹽水	17	3	27	78	0.13	0.23
1205407	15	3	69	182	0.15	0.25
1205408	20	3	34	151	0.36	0.25

器官重量

【0328】 在研究結束時量測肝臟、心臟、脾及腎臟重量，且呈現於下表中。

表 12

器官重量(g)

化合物 編號	肝臟 (g)	腎臟 (g)	脾(g)
鹽水	13.7	3.4	0.8
1205407	15.2	3.6	1.2
1205408	18.3	4.0	1.2

腎臟功能

【0329】 為評估 Ionis 經修飾之寡核苷酸對腎臟功能之效應，使用自動化臨床化學分析儀 (Hitachi Olympus AU400c, Melville, NY) 量測尿總蛋白質及肌酸酐水準。總蛋白質對肌酸酐之比率 (P/C 比) 呈現於下表中。

表 13

Sprague-Dawley 大鼠中之總蛋白質對肌酸酐比率

化合物 編號	P/C 比
鹽水	1.1
1205407	2.1
1205408	0.7

研究 2

治療

【0330】 使雄性 Sprague-Dawley 大鼠維持在 12 小時明/暗循環下，且隨意餵食 Purina 正常大鼠飼料。每組 4 隻 Sprague-Dawley 大鼠各自每週皮下注射 15 mg/kg Ionis 寡核苷酸，持續 6 週(總計 6 個劑量)。在最後一次劑量後 72 小時，使大鼠安樂死；且收穫器官、尿液及血漿以供進一步分析。

血漿化學標記物

【0331】 為評估 Ionis 寡核苷酸對肝功能之效應，使用自動化臨床化學分析儀 (Hitachi Olympus AU400c, Melville, NY) 量測轉胺酶之血漿水準。量測 ALT (丙胺酸轉胺酶) 及 AST (天冬胺酸轉胺酶) 之血漿水準，且結果以 IU/L 表示呈現於下表中。亦使用同一臨床化學分析儀量測總膽紅素 (TBIL)、肌酸酐、白蛋白及血尿素氮 (BUN) 之血漿水準，且結果亦呈現於下表中。

表 14

Sprague-Dawley 大鼠中之血漿化學標記物

化合物 編號	BUN (mg/dL)	白蛋白 (g/dL)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	TBIL (mg/dL)	CREA (mg/dL)
鹽水	16	3	28	112	0.11	0.27
1250837	18	4	32	129	0.14	0.23
1250851	18	3	119	641	0.41	0.25

器官重量

【0332】 在研究結束時量測肝臟、心臟、脾及腎臟重量，且呈現於下表中。

表 15

器官重量(g)

化合物 編號	肝臟 (g)	腎臟 (g)	脾(g)
鹽水	12.242	3.388	1.051
1250837	13.771	3.580	1.184
1250851	14.850	3.756	1.166

腎臟功能

【0333】 為評估 Ionis 經修飾之寡核苷酸對腎臟功能之效應，使用自動化臨床化學分析儀(Hitachi Olympus AU400c，Melville，NY)量測尿總蛋白質及肌酸酐水準。總蛋白質對肌酸酐之比率(P/C 比)呈現於下表中。

表 16

Sprague-Dawley 大鼠中之總蛋白質對肌酸酐比率

化合物 編號	P/C 比
鹽水	0.9
1250837	1.1
1250851	0.8

實例 5：與人類 AGT 互補的經修飾之寡核苷酸在基因轉殖小鼠中之活性

【0334】 Curt Sigmund 博士之實驗室藉由插入含有人類血管收縮素原基因(大約 11.5 kb)以及 5' (1.2 kb)及 3' (1.4 kb)側接序列之 14 kb 基因轉殖構築體而開發出基因轉殖 AGT 小鼠模型(Yang G 等人，1994. J Biol Chem 269(51):32497-502)，且使用該模型進一步測試上文所闡述之經修飾之寡核苷酸。

治療

【0335】 將 AGT 基因轉殖小鼠分組，每組 2 隻小鼠。每一小鼠每週皮下注射 2.7 mg/kg 經修飾之寡核苷酸(第 0 天及第 7 天，總計 2 個劑量)。一組 2 隻小鼠接受鹽水作為陰性對照。另外，一組 2 隻小鼠接受 3.3 mg/kg 之比較經修飾之寡核苷酸 757456 (第 0 天及第 7 天，總計 2 個劑量)。在最後一次劑量後三天(第 10 天)，將小鼠處死。收集肝臟及血漿以供分析。

RNA 及蛋白質分析

【0336】 自肝臟組織中提取 RNA 用於即時 PCR 分析，以使用人類引子探針集 RTS3721 (闡述於上文中)量測 AGT RNA 之量。結果呈現為相對於鹽水對照之 AGT RNA 抑制百分比，其以如藉由 RIBOGREEN®所量測之總 RNA 含量作正規化。另外，提取血漿，以使用 ELISA 套組(人類總血管收縮素原分析套組，IBL，目錄號 27412)量測血漿中之人類 AGT 蛋白水準。結果呈現為相對於鹽水對照之 AGT 蛋白抑制百分比。

表 17

基因轉殖小鼠中人類 AGT RNA 及蛋白質之減少

化合物 編號	劑量 (mg/kg)	肝臟中之 抑制% (AGT RNA)	血漿中之 抑制% (AGT 蛋 白)
757456	3.3	65	60
1231463	2.7	93	87
1176644	2.7	90	91
1176648	2.7	93	90
1176653	2.7	96	93
1205407	2.7	93	90
1205408	2.7	94	91
1205410	2.7	96	92
1250842	2.7	88	65
1251204	2.7	44	47

實例 6：與人類 AGT RNA 互補的經修飾之寡核苷酸在基因轉殖小鼠中之效能，多劑量

【0337】 在上文所闡述之基因轉殖小鼠模型中，以劑量依賴性方式進一步測試經修飾之寡核苷酸。

治療

【0338】 將 AGT 基因轉殖小鼠分組，每組 2 隻小鼠。每一小鼠以下表中所指示之濃度皮下注射兩個劑量(在第 0 天及第 7 天)之經修飾之寡核苷酸。一組 4 隻小鼠接受 PBS 作為陰性對照。在最後一次劑量後 72 小時(第 10 天)，使小鼠安樂

死。收集肝臟及血漿以供分析。在一些研究中添加 757456 號化合物作為比較化合物。

研究 1

RNA 及蛋白質分析

【0339】 自肝臟組織中提取 RNA 用於即時 PCR 分析，以使用人類引子探針集 RTS3721 (闡述於上文中)量測 AGT RNA 之量。結果呈現為相對於鹽水對照之 AGT RNA 抑制百分比，其以如藉由 RIBOGREEN®所量測之總 RNA 含量作正規化。另外，提取血漿，以使用 ELISA 套組(人類總血管收縮素原分析套組，IBL，目錄號 27412)量測血漿中之人類 AGT 蛋白水準。結果呈現為相對於鹽水對照之 AGT 蛋白抑制百分比。

表 18

基因轉殖小鼠中人類 AGT RNA 及蛋白質之減少(%)

化合物編號	劑量 (mg/kg)	肝臟中之抑制% (AGT RNA)	ED ₅₀ (mg/kg)	血漿中之抑制% (AGT 蛋白)
757456	4.5	81	1.3	81
	1.5	41		49
	0.5	39		31
1205407	4.5	97	0.1	97
	1.5	95		94
	0.5	75		79
1205408	4.5	97	0.2	95
	1.5	91		90
	0.5	75		74
1205410	4.5	98	0.1	98
	1.5	97		96
	0.5	83		85
1231463	4.5	97	0.3	94
	1.5	90		87
	0.5	70		65
1250835	4.5	88	0.2	91
	1.5	86		84

	0.5	72		73
1250836	4.5	95	0.1	96
	1.5	93		93
	0.5	82		77
	4.5	96		94
1250837	1.5	89	0.2	88
	0.5	62		69
	4.5	96		95
1250840	1.5	81	0.3	85
	0.5	47		64
	4.5	91		93
1250850	1.5	78	0.2	84
	0.5	74		78
	4.5	96		96
1250851	1.5	94	0.1	95
	0.5	77		81
	4.5	92		91
1251199	1.5	84	0.2	83
	0.5	69		69
	4.5	91		93
1251213	1.5	84	0.2	86
	0.5	74		75
	4.5	90		91
1251216	1.5	79	0.3	80
	0.5	46		68
	4.5	94		95
1251228	1.5	83	0.2	88
	0.5	58		67
	4.5	99		98
1299247	1.5	98	0.1	97
	0.5	83		84
	4.5	89		91
1299248	1.5	74	0.3	84
	0.5	49		61

研究 2

RNA 及蛋白質分析

【0340】 自肝臟組織中提取 RNA 用於即時 PCR 分析，以使用人類引子探針集 RTS3721 (闡述於上文中)量測 AGT RNA 之量。結果呈現為相對於鹽水對照之 AGT RNA 抑制百分比，其以如藉由 RIBOGREEN®所量測之總 RNA 含量作正規

化。另外，提取血漿，以使用 ELISA 套組(人類總血管收縮素原分析套組，IBL，目錄號 27412)量測血漿中之人類 AGT 蛋白水準。結果呈現為相對於鹽水對照之 AGT 蛋白抑制百分比。

表 19

基因轉殖小鼠中人類 AGT RNA 及蛋白質之減少

化合物 編號	劑量 (mg/kg)	肝臟中之 抑制% (AGT RNA)	ED50 (mg/kg)	血漿中之 抑制% (AGT 蛋 白)
1205407	5.0	98	0.14	96
	1.7	93		90
	0.6	85		80
	0.2	56		37
	0.1	30		29
1205408	5.0	98	0.27	95
	1.7	93		88
	0.6	73		76
	0.2	37		23
	0.1	9		0
1250837	5.0	85	0.53	83
	1.7	84		84
	0.6	57		64
	0.2	26		40
	0.1	0		46
1250851	5.0	94	0.23	95
	1.7	89		91
	0.6	76		76
	0.2	32		49
	0.1	32		37

研究 3

RNA 及蛋白質分析

【0341】 自肝臟組織中提取 RNA 用於即時 PCR 分析，以使用人類引子探針集 RTS3721 (闡述於上文中)量測 AGT RNA 之量。結果呈現為相對於鹽水對照之 AGT RNA 抑制百分比，其以如藉由 RIBOGREEN®所量測之總 RNA 含量作正規

化。另外，提取血漿，以使用 ELISA 套組(人類總血管收縮素原分析套組，IBL，目錄號 27412)量測血漿中之人類 AGT 蛋白水準。結果呈現為相對於鹽水對照之 AGT 蛋白抑制百分比。如本文所用，值『0』指示利用經修飾之寡核苷酸處理不抑制 AGT 水準。

表 20

基因轉殖小鼠中人類 AGT RNA 及蛋白質之減少

化合物 編號	劑量 (mg/kg)	肝臟中之 抑制% (AGT RNA)	ED50 (mg/kg)	ED75 (mg/kg)	血漿中之 抑制% (AGT 蛋 白)
757456	10	88	2.1	2.68	88
	3.3	74			72
	0.1	0			0
	0.04	0			0
1205407	1.5	86	0.11	0.38	87
	0.5	68			62
	0.17	38			29
	0.06	35			11
1176644	1.5	76	0.38	0.61	71
	0.5	62			51
	0.17	0			5
	0.06	0			0
1250837	1.5	74	0.22	0.67	67
	0.5	60			52
	0.17	38			28
	0.06	0			0
1176649	1.5	83	0.20	0.59	82
	0.5	50			56
	0.17	17			17
	0.06	0			0

實例 7：基因轉殖小鼠肝細胞中人類 AGT 之劑量依賴性活體外抑制

【0342】 本研究中使用上文所闡述之基因轉殖 AGT 小鼠模型。在白該等基因轉殖小鼠中提取之原代小鼠肝細胞中，測試以上研究中所闡述的經修飾之寡核苷酸在各種劑量下對 AGT RNA 之抑制。

【0343】 將原代小鼠基因轉殖肝細胞以 20,000 個細胞/孔之密度平鋪，且藉由自由攝取稀釋至如以下各表中所指定之不同濃度的經修飾之寡核苷酸進行處理。在培育隔夜後，使用人類 AGT 引子-探針集 RTS3721(正向序列 CCCTGATGGGAGCCAGTGT，在本文中指定為 SEQ ID NO: 3；反向序列 AGCAGGGAGAAGCCCTTCA，在本文中指定為 SEQ ID NO: 4；探針序列 CCCTGGCTTTCAACACCTACGTCCACT，在本文中指定為 SEQ ID NO: 5)量測 AGT RNA 水準。另外，使用第二人類 AGT 引子探針集 RTS4039 (正向序列 GGACAAGGTGGAGGGTCTCA，在本文中指定為 SEQ ID NO: 6；反向序列 AGATCCTTGCAGCACCAGTTG，在本文中指定為 SEQ ID NO: 7；探針序列 ATGAAGAACTATCTCCCCGGACCATCCA，在本文中指定為 SEQ ID NO: 8)量測人類 AGT RNA 水準證實數據。以如藉由 RIBOGREEN®所量測之總 RNA 含量對 AGT RNA 水準作正規化。結果在以下各表中呈現為相對於未經處理之對照細胞之 AGT 抑制百分比。如本文所用，值『0』指示利用經修飾之寡核苷酸處理不抑制 AGT mRNA 水準。亦呈現每一經修飾之寡核苷酸之半最大抑制濃度 (IC₅₀)。使用非線性回歸，使用 log(抑制劑)對反應之 4 參數可變斜率法，將底值及頂值分別固定為 0 及 100 來計算 IC₅₀ (Prism)。

表 21

原代小鼠肝細胞中經修飾之寡核苷酸之多劑量分析

化合物 編號	抑制% (RTS3721)								IC ₅₀ (μM)
	0.61 nM	2.44 nM	9.77 nM	39.06 nM	156.25 nM	625 nM	2500 nM	10000 nM	
757456	0	0	0	0	39	52	32	20	868
1205407	36	19	51	74	86	94	88	77	8
1176644	0	8	25	51	79	88	86	88	35
1176649	0	0	25	33	60	74	72	53	95
1250837	0	0	12	27	61	67	72	73	145

表 22

原代小鼠肝細胞中經修飾之寡核苷酸之多劑量分析

化合物 編號	抑制% (RTS4039)								IC ₅₀ (μ M)
	0.61 nM	2.44 nM	9.77 nM	39.06 nM	156.25 nM	625 nM	2500 nM	10000 nM	
757456	0	0	0	3	43	50	37	7	709
1205407	27	21	44	69	84	89	87	83	12
1176644	0	16	16	48	74	85	82	82	43
1176649	0	0	13	35	55	74	73	65	116
1250837	2	0	14	28	57	66	70	67	169

實例 8：HepatoPac® 中人類 AGT 之劑量依賴性離體抑制

【0344】 HepatoPac® 套組係可自 BIOIVT 獲得之市售肝臟模型系統，其由與支持性基質細胞共培養之微圖案化肝細胞「島」組成。處理前，使 96 孔 HepatoPac 板於新鮮維持培養基中在 37°C 及 10% CO₂ 下平衡 48 小時。將經修飾之寡核苷酸以下表中所描述之濃度稀釋至維持培養基中 48 小時。48 小時後，用不含額外寡核苷酸之新鮮維持培養基更換培養基。在寡核苷酸添加後 96 小時收集細胞溶解物，且使用引子探針集 RTS3721 (闡述於上文中) 藉由 RT-PCR 進行分析。結果在以下各表中呈現為相對於未經處理之對照細胞之 AGT 抑制百分比。如本文所用，值『0』指示利用經修飾之寡核苷酸處理不抑制 AGT mRNA 水準。在 Prism 中使用可變斜率 4 參數邏輯式回歸計算 IC₅₀，將曲線之底值及頂值分別設為 5 及 100。

表 23

Hepatopac® 細胞中經修飾之寡核苷酸之多劑量分析

化合物 編號	抑制%						IC ₅₀ (μ M)
	6.4 nM	32 nM	160 nM	800 nM	4000 nM	20000 nM	
757456	31	31	21	16	29	16	>20
1250850	0	3	18	61	78	86	0.85
1205407	27	52	70	84	93	92	0.04
1205410	9	46	63	89	95	99	0.06

實例 9：靶向人類 AGT 的經修飾之寡核苷酸在食蟹猴中之效應

【0345】 利用選自上文實例中所闡述研究中之經修飾之寡核苷酸治療食蟹猴。

治療

【0346】 在研究之前，將該等猴子隔離，之後為馴化期，在此期間每天觀察動物之一般健康情況。該等猴子年齡為 2-4 歲且重 2-4 kg。九組 4 隻隨機分配之雄性食蟹猴各自在背部四個不同的部位之間以順時針輪轉方式皮下注射 Ionis 寡核苷酸或鹽水。在第 1 天、第 4 天及第 8 天之負載劑量後，每週一次(在第 15 天、第 22 天、第 29 天、第 36 天、第 43 天、第 50 天、第 57 天、第 64 天、第 71 天、第 78 天及第 85 天)向猴子投用 20 mg/kg Ionis 寡核苷酸。4 隻食蟹猴之對照組以類似方式注射 0.9%鹽水且用作對照組。

【0347】 在研究期間，至少每天一次觀察猴子是否有生病或痛苦之征象。任何顯示嚴重虛弱或毒性征象之動物，尤其是若似乎瀕臨死亡，則出於人道原因，在諮詢主治獸醫師後儘快實施安樂死。在最後一次劑量後大約 48 小時的第 87 天，藉由在深度麻醉下驅血對動物進行排定之安樂死。實例中所闡述之方案已獲機構動物照護及使用委員會(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)批准。

體重及器官重量量測

【0348】 為評估 Ionis 寡核苷酸對動物整體健康之效應，量測體重及器官重量。屍體剖檢前量測終末體重。亦量測器官重量，且所有重量量測值均呈現於下表中。

表 24

體重及器官重量(g)

化合物編號	終末體重	肝臟與膽囊	腎臟	脾
鹽水	2967	60	13	3
1205407	2956	96	15	5
1205408	2971	72	13	3
1205410	2868	101	14	4
1231463	2923	69	13	5

1250835	2949	93	16	6
1250836	2973	71	14	6
1250837	2712	63	15	3
1250850	3044	97	17	5
1250851	2806	63	15	3

腎臟及肝臟功能

【0349】 為評估 Ionis 寡核苷酸對肝功能及腎臟功能之效應，在第 87 天自所有研究組收集血液樣品。猴子在血液收集前禁食隔夜。在不含抗凝劑之管中收集血液以用於血清分離。使管在室溫下保持最少 90 分鐘，且接著以 3000 rpm 離心 10 分鐘以獲得血清。使用 Toshiba 200FR NEO 化學分析儀(Toshiba Co., Japan) 量測各種肝臟功能標記物之水準。量測血尿素氮(BUN)、肌酸酐(CREA)、總蛋白質(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)、白蛋白/球蛋白(A/G)計算比、丙胺酸轉胺酶(ALT)、天冬胺酸轉胺酶(AST)、總膽紅素(TBIL)之血漿水準，且結果呈現於下表中。

表 25

食蟹猴血漿中之肝臟功能標記物

化合物 編號	BUN (mg/dL)	CREA (mg/dL)	TP (g/dL)	ALB (g/dL)	GLO (g/dL)	A/G 比	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	TBIL (mg/dL)
鹽水	28	0.8	6.9	4.1	2.8	1.5	50	57	0.25
1205407	23	0.8	6.9	4.0	2.9	1.4	67	55	0.20
1205408	26	0.8	6.7	4.0	2.7	1.5	53	50	0.27
1205410	21	0.9	6.9	3.9	3.0	1.3	145	72	0.26
1231463	22	0.8	7.3	4.0	3.4	1.2	112	75	0.26
1250835	19	0.9	7.4	3.8	3.6	1.1	129	82	0.25
1250836	23	1.1	7.7	3.9	3.8	1.1	150	95	0.34
1250837	21	0.8	6.9	4.2	2.7	1.6	91	68	0.28
1250850	21	0.8	7.4	4.0	3.4	1.2	85	86	0.25
1250851	20	0.8	6.8	4.1	2.7	1.6	63	64	0.27

促發炎性蛋白質分析

【0350】 為評估 Ionis 經修飾之寡核苷酸在食蟹猴中之任何發炎性效應，採集血液樣品以供分析。猴子在血液收集前禁食隔夜。在第 85 天(投藥前，及投藥後 24 小時)，自每一動物收集大約 0.8 mL 血液且置於不含抗凝劑之管中以用於血清

分離。使管在室溫下保持最少 90 min，且接著在室溫下以 3,000 rpm 離心 10 min 以獲得血清。使用 Toshiba 120 FR NEO 化學分析儀(Toshiba Co., Japan)量測補體 C3。另一發炎標記物 C 反應蛋白(CRP)與上文針對肝臟功能所測試之臨床化學參數一起測試。

表 26

食蟹猴之促發炎性蛋白質分析

化合物編號	補體 C3 (mg/dL)		CRP (mg/L)
	第 85 天(投藥前)	第 86 天(投藥後 24 小時)	第 87 天
鹽水	110	110	2
1205407	94	91	10
1205408	93	93	4
1205410	117	111	14
1231463	92	102	6
1250835	84	75	15
1250836	78	82	9
1250837	82	87	1
1250850	86	83	12
1250851	86	92	3

血液學

【0351】 為評估 Ionis 經修飾之寡核苷酸對食蟹猴血液學參數之任何效應，在第 87 天自每一可用研究動物收集大約 0.5 mL 血液之血液樣品。樣品收集在含有 K₂-EDTA 之管中。使用 ADVIA2120i 血液分析儀(Siemens, USA)分析樣品之紅血球(RBC)計數、血紅素(HGB)、血容比(HCT)、平均紅血球容積(MCV)、平均紅血球血紅素(MCH)、平均紅血球血紅素濃度(MCHC)、血小板計數(PLT)、白血球(WBC)計數、個別白血球計數(諸如單核球(MON)、嗜中性球(NEU)及淋巴球(LYM)之計數)。

表 27

食蟹猴之血球計數

化合物 編號	WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MC V (fL)	MC H (pg)	MCH C (g/dL)	NEU (%)	LYM (%)	MO N (%)	PLT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
鹽水	13	6	14	45	78	24	30	39	55	4	403
1205407	11	6	13	43	77	23	30	40	56	3	377
1205408	12	6	13	44	78	23	30	43	51	3	375
1205410	8	6	13	45	81	24	30	32	63	2	312
1231463	10	6	13	45	78	24	30	28	66	3	338
1250835	10	6	14	47	79	24	30	28	65	4	370
1250836	12	6	14	45	75	23	31	29	66	3	354
1250837	7	6	13	43	77	24	31	37	59	3	288
1250850	8	5	13	42	78	23	30	29	66	3	376
1250851	9	6	14	45	77	24	31	45	51	2	356

尿液分析

【0352】 在收集新鮮尿液的前一天，將食物取出隔夜，但供應水。在第 87 天，使用濕冰上之清潔籠盤自所有動物收集新鮮尿液樣品(清晨第一次尿)，以用於尿分析及尿液化學。尿分析/尿液化學參數包括肌酸酐(UCRE)、蛋白質/肌酸酐(P/C)比、微量蛋白(UTP)及尿液微量白蛋白(UALB)，該等參數使用 Toshiba 120FR 自動化化學分析儀(Toshiba Co., Japan)量測。

表 28

食蟹猴之尿分析及尿液化學標記物

化合物 編號	UTP (mg/dL)	UALB (mg/dL)	P/C 比	UCRE (mg/dL)
鹽水	7	0.57	0.15	55
1205407	7	0.29	0.19	37
1205408	7	0.47	0.14	52
1205410	7	0.34	0.19	52
1231463	7	0.37	0.13	63
1250835	12	0.58	0.14	95
1250836	10	0.54	0.11	114
1250837	7	0.41	0.16	49
1250850	7	0.55	0.08	105
1250851	9	0.74	0.07	140

【序列表】

<110> 美商IONIS製藥公司(Ionis Pharmaceuticals, Inc.)

<120> 用於調節血管收縮素原表現之化合物及方法

<130> BIOL0393TW

<150> 63/232,109

<151> 2021-08-11

<150> 63/115,499

<151> 2020-11-18

<160> 28

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2587

<212> DNA

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

```

atcccatgag cgggcagcag ggtcagaagt ggccccctg ttgcctaagc aagactctcc      60
cctgccctct gccctctgca cctccggcct gcatgtccct gtggcctctt gggggtacat      120
ctccccgggc tgggtcagaa ggccctgggtg gttggcctca ggctgtcaca cacctagggga      180
gatgtcccg tttctgggaa ccttggcccc gactcctgca aacttcggt aatgtgtaac      240
tcgaccctgc accggtcac tctgttcagc agtgaaactc tgcacgatc actaagactt      300
cctggaagag gtcccagcgt gagtgtcgt tctggcatct gtccttctgg ccagcctgtg      360
gtctggccaa gtgatgtaac cctcctctcc agcctgtgca caggcagcct gggaacagct      420
ccatccccac ccctcagcta taaatagggc atcgtgacc ggccggggga agaagctgcc      480
gttgttctgg gtactacagc agaagggtat gcggaagcga gcacccagc ctgagatggc      540
tcctgccggt gtgagcctga gggccacat cctctgcctc ctggcctggg ctggcctggc      600
tgaggtgac cgggtgtaca tacaccctt ccacctcgtc atccacaatg agagtacctg      660
tgagcagctg gcaaaggcca atgccgggaa gccc aaagac cccaccttca tacctgtccc      720
aattcaggcc aagacatccc ctgtgatga aaaggccta caggaccagc tggctctagt      780

```

cgctgcaaaa cttgacaccg aagacaagtt gagggccgca atggtcggga tgctggccaa 840
cttcttgggc ttccgtatat atggcatgca cagttagcta tggggcgtgg tccatggggc 900
cacctgcttc tccccaacgg ctgtctttgg caccctggcc tctctctatc tgggagcctt 960
ggaccacaca gctgacaggc tacaggcaat cctgggtgtt ccttggaaagg acaagaactg 1020
cacctcccgg ctggatgctc acaaggctct gctctgccctg caggctgtac agggcctgct 1080
agtggcccag ggacagggctg atagccaggc ccagctgctg ctgtccacgg tggtagggct 1140
gttcacagcc ccaggcctgc acctgaagca gccgtttgtg cagggcctgg ctctctatac 1200
ccctgtggtc ctcccacgct ctctggactt cacagaactg gatgttgctg ctgagaagat 1260
tgacaggttc atgcaggctg tgacaggatg gaagactggc tgctccctga tgggagccag 1320
tgtggacagc accttggctt tcaacaccta cgtccacttc caaggaaga tgaagggctt 1380
ctccctgctg gccgagcccc aggagtctg ggtggacaac agcacctcag tgtctgttcc 1440
catgtctctt ggcatgggca ccttccagca ctggagtac atccaggaca acttctcggc 1500
gactcaagtg ccttccactg agagcgctg cctgctgctg atccagcctc actatgcctc 1560
tgacctggac aaggtaggagg gtctcacttt ccagcaaac tcctcaact ggatgaagaa 1620
actatctccc cggaccatcc acctgacat gccccaactg gtgctgcaag gatcttatga 1680
cctgcaggac ctgctcgccc aggttagct gcccgccatt ctgcacaccg agctgaacct 1740
gcaaaaattg agcaatgacc gcatcagggt gggggagggt ctgaacagca tttttttga 1800
gcttgaagcg gatgagagag agcccacaga gctacccaa cagcttaaca agcctgaggt 1860
cttggaggtg acctgaacc gccattcct gtttgctgtg tatgatcaa gcgccactgc 1920
cctgcacttc ctggccgctg tggccaacc gctgagcaca gcatgaggcc agggccccag 1980
aacacagtgc ctggcaaggc ctctgccctt gccctttgag gcaaaggcca gcagcagata 2040
acaacccccg acaaatcagc gatgtgtcac cccagctc ccacctttc ttctaatgag 2100
tcgactttga gctggaaagc agccgtttct ccttggctc agtgtgctgc atggagttag 2160
cagtagaagc ctgcagcggc acaaatgcac ctcccagttt gctgggttta ttttagagaa 2220
tgggggtggg gaggcaagaa ccagtgttta gcgcgggact actgttcaa aaagaatcc 2280

aaccgaccag cttgtttgtg aaacaaaaaa gtgttccctt ttcaagttga gaacaaaaat 2340
 tgggttttaa aattaaagta tacatTTTTg cattgccttc ggtttgtatt tagtgtcttg 2400
 aatgtaagaa catgacctcc gtgtagtgc tglataacct tagtttttc cacagatgct 2460
 tgtgattttt gaacaatacg tgaagatgc aagcacctga atttctgttt gaatgcggaa 2520
 ccatagctgg ttatttctcc cttgtgttag taataaacgt cttgccaca taagcctcca 2580
 aaaaaaa 2587

<210> 2

<211> 18000

<212> DNA

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 2

cagagcaaga ccccaactct aaaacaacac acaaaaatac agccatttct cctgggtgaa 60
 atgggggagc tcagactatt ttgttttatt tgcaggagt ctaaagcca tgtgagccaa 120
 cttaaagaaa ttctgtttgt atttgagtgt tctttattgg aaagaaatgg acttttcct 180
 aatgagccca ttttacaat cgagagctcc aaatgcccgg ttccagcccc catgatatag 240
 atgggcagca atgaggacca gaaatgctgg gaagtgtcct tgcattgcaa ggaaaacttg 300
 gaacttcaag gatccatcat gggatgcagg acagtaggct ccaccctct tctgctttc 360
 cagtaaatga tgttcagggc tcacatgcct ctccaaggc atgatgtggg gttgcagttc 420
 tgatcccagc agagaacaag gctcctgtga aacaattagt ttggctcag aggcaaaaaa 480
 tggaaacccc attcctgtat ttacccttca ttctttcctt acctcataca gctggttcca 540
 ggtttgattg catcatatac ataaataaat aatctgcttt cctggtttgg tttagttttg 600
 ctggagagag gagtttatgt gttcatccca tgaactagctg ggtggtcaag agattggaaa 660
 gtaggagttc tagtttagac caagtctcat ctcaaaaacc acagagtaga actgatccca 720
 aacgtcatca tcctgtagg gaaaagaaag agagatcaga ctgttactgt gtctatatag 780
 aaagggaaga cataagagac tccattttga aaaagagcta tactttaaac aattgctttg 840
 ctgagatgtt gtttaattgt agctttgccc cagccacttt gaccaacct ggagctcaca 900

aaaacatgtg ttgtataaaa tcaaggttta agggatctag ggctgtgtca aagtggctgg	960
ggcaaagcta caaattaaca acatctcagc aaagcaattg tttaaagtac agctcttttt	1020
caaaatggag tctcttatgt ctccctttc tatatagaca cagtaacagt ctgatctctc	1080
ttttttttcc ctacatatcc caatagcacc tgcctgacta atacatcatg ctctgctgac	1140
tccatatgtg gctggtttcc tggatccgat tctgactgat ggtatctgtt ctcacgctgc	1200
taataaagac ataccagaga ctgggtaatt tataaagaaa aagaggttta atggacttat	1260
gtgttccacg tggctgggga ggccfcacaa tcatggtgga aggtgaagga ggagcaaaag	1320
cacatcttac atgggtggctg gcaaaagaga gaaagcatgt tcaggggaac tcccctttat	1380
aaaaccatca gatctcatga gacttatgca ctatcacaag aacagcatca gaaagatcca	1440
ccctcatgat tcaattacct cccactgggt ccctcccatg acacatggga attatgggag	1500
ctacaattgg agatttgggt ggggacacag ccaaaccata tcagatggct tatttggttt	1560
ctatgtagaa cctctgcttt tcattcaaca gtcttcattt agccacagat aagctctgtc	1620
cctaacttcc actgatggaa tgtacacata agaaacttcc actgatggaa tgaacacaga	1680
aggtgcctac tgggaagaaa actggcctga atctgagctg ggtcaaatgt ctgcagtcag	1740
tttgaatggc tgctccttat ggggaataatt tacattctca ataaaattct ctagcaattt	1800
tctgattgat tttaatgagc tttaaagcct tacgtagaag atccccagc tgatagtcag	1860
cttgggcat ggattaaggg cttttaacca atcttgcaac aagttaagc agatattctt	1920
tattgggtcc aatctaacca aaattatfff ctatgttct cccagtaac gtgtcattat	1980
taagagaagt ttggcttgct tagaggccaa atttagaggg tctgaaatt ttatfffctt	2040
ttacaccact ttccagcatg ttacctgac agttgtttat tatctttgct gttgaatgga	2100
gtgatcattc caagggcccg aggcaggagg cccaggcaca gtggaaactc tcccaaagac	2160
caggatcttt gttttgttcc ctgacatatg ctgagcacca ggaatagtga gtgaatgaaa	2220
caaattgtga ggctttaaag agccgaata tttaaacct gggcacaagg ttgttgctta	2280
atcagtgcta gatccttacc tccccctgt gtccaggagg acttgttact gcagttaaac	2340
cacttgctga tctcaaaaca actagttagt ggcacagcca ggcctaggac cccagtctct	2400

actgttccaa ctaaccatt cgcaggcagg agcactttga atggtctctt attttaaaaa	2460
aattaaatta aaattgtcta tttattttaga gacagagtct tactctgtag cccaggctcg	2520
agtgacagtgg tgcaatcata gctcactgta acctccatct cctggcctca aaaagtgttt	2580
gaattacaga tgcgaggcac tgtacctggc ccgaatgttc tgttcagaca aagccacctc	2640
taagtcgctg tggggcccca gacaagtgat ttttgaggag tccctatcta taggaacaaa	2700
gtaattaaaa aaatgtatth cagaatttac aggcccatgt gagatatgat ttttttaaat	2760
gaagatttag agtaatgggt aaaaaagagg tatttgtgtg tttgttgatt gttcagtcag	2820
tgaatgtaca gcttctgcct cataatccagg caccatctct tctgctctt tgtttgtaaa	2880
tgttccattc ctgggtaatt tcatgtctgc catcgtggat atgccgtggc tcttgaacc	2940
tgcttgtgtt gaagcaggat cttccttctt gtcccttcag tgcctaata ccatgtatth	3000
aaggctggac acatcaccac tcccaacctg cctcaccac tgcgtcactt gtgatcactg	3060
gcttctggcg actctcacca aggtctctgt catgccctgt tataatgact acaaaagcaa	3120
gtcttaccta taggaaaata agaattataa cccttttact ggtcatgtga aacttaccat	3180
ttgcaatttg tacagcataa acacagaaca gcacatctth caatgcctgc atcctgaagg	3240
cattttgttt gtgtctttca atctggctgt gctattgttg gtgtttaaca gtctccccag	3300
ctacactgga aacttccaga aggcacttht cacttgcctg tgtgttttcc ccagtgtcta	3360
ttagaggcct ttgcacaggg taggctctth ggagcagctg aaggtcacac atcccatgag	3420
cgggcagcag ggtcagaagt ggccccctg ttgcctaagc aagactctcc cctgccctct	3480
gccctctgca cctccggcct gcatgtccct gtggcctctt ggggggtacat ctcccggggc	3540
tgggtcagaa ggcctgggtg gttggcctca gctgtcaca cacctaggga gatgtccccg	3600
tttctgggaa ccttggcccc gactcctgca aacttcggta aatgtgtaac tcgaccctgc	3660
accggctcac tctgttcagc agtgaaactc tgcacgac actaagactt cctggaagag	3720
gtcccagcgt gagtgtcgt tctggcatct gtcttctgg ccagcctgtg gtctggccaa	3780
gtgatgtaac cctctctcc agcctgtgca caggcagcct gggaacagct ccatccccac	3840
ccctcagcta taaatagggc atcgtgacct ggccggggga agaagctgcc gttgttctgg	3900

gtactacagc agaaggtaa cccggggccc cctcagctcc ttctcggct tgtctctctc 3960
agatgtaact gagctgtggg ctaggaggaa aaggccggga ggaggcacgg tgatgactga 4020
aaaacctctc cctctcata agaccagtca tccggacgcy ggctttcccc cactcgggtgc 4080
ccacctgggg tcttacagga ggagctgctc ctctcagca ataggacaag atggtcaggt 4140
cttctgctt ccgctgagaa aagttagggt cctcaggaac ggagcagact ggtacaggaa 4200
cagagtcac c atggccaaga gtccaccggg tctctttgcc atcaggagga atagcagggc 4260
ttgtgcagga attggggctg gagggaaagg ccgggctcgg tcagtctcca gctgggatcc 4320
ccagagtgtt caccctaccc ctccctcgag acagactgcc tgactgtgtg tcatcaggt 4380
ggtcaccatc tccctgaacc tcgatttct cactataaa atggaactaa taacgatgcc 4440
tgggctccct gtctcagggg ctctggfata gctgaagaga actaatataa catgaaagt 4500
ctttctaagc tttgggataa gctaaaaggc agattccaat tttattcgag ggcagcgtag 4560
attggtgctt cagctcgtgg atgacagagt cagggggcct ggttctgagt cctagtctg 4620
tctcttccca gctgtgtgac gttgaacaag tcactggacc tctctgttcc tctgcaaac 4680
agcatgaacc aattcattaa ctacttctcc aggatgcagt aggtcccagg gactatccta 4740
ggaatgtggg ctgtattagt aaacacaaca gcgggaacce tgttccgggg ctacattca 4800
catcagagca aacagacaaa gacgctggac agaataagtg cataactaca tggtagagag 4860
ggttataagg agggaaaagg ggagctggat gagagagttg agagtgcccg gtgtggtggg 4920
gaaagctgca ggggtgaaata ctgcatcagg gaaacctcag ggaaggtgag gactatggtg 4980
aggtcagagg ggttgatatg agaacagtc cctgcaaatg gcaggcacca caggagcatg 5040
agccgtcacc ttcaccttta gcattcagcc cgggagaagt agggagacat agaaggggca 5100
ggtgctggcc aagaggcagg ggcaggagag gagaaggcgg aggggcactc agggcgaggg 5160
tgtcaggccc gccaccccag agcaccatta ctcccaggac gcggctgctg gcagacctgg 5220
aaccagccta gggagcagcc gcagatcaca actgagaaca aacgacagtc tctgcctcaa 5280
aaatggccca tggaaattgcg tctctggaga cgtgcctga gcaggagcag cacagtgagc 5340
gggctgcatc gaccagcgc atccaaacc cgaacagttg gcgcttctca ggcaggactt 5400

cccagcagtc ggtteccaca ggtttccct gttgacctga tttgatgtga ctgtctagat 5460
 taggtgtgaa ctgggtggctt aggccttctct gcacagaaaag gcctgcaagc agcagagaga 5520
 gttttctgtt ccatttttcc atgtcatgtg gctcttccctg agaacagcgg atggagtcaa 5580
 atgcatgggg agtgggggtga gatggtagct gaggtcagaa tttggcattt gaatgactga 5640
 agcagaacaa aacacaccag gtacttcagc agctgcaccg tgttgagggc aggtgctggt 5700
 tacgggtctg ggtgagggaa gccagctgcc aatgtaagaa gaatgactgg gtatgcttag 5760
 atgaagcaga aaaatctagg catcaagggtg gccttgagtc agt gatgaca cgctacagct 5820
 ccaaggaagc ctggcctagc cctgggggga cagaaaaggc caagaagtga cgatattgca 5880
 gtacaccccc ctccacaaga aatgagtgag atgtggtaca aaatgtaga attgaatgaa 5940
 tcaatagaat aaacgttcat ccttcaatc aagaagagtc agatgaaatg aattagcagg 6000
 gccagcccaa gaacctcttc tgggggtctc agggtagctt tcattttag tagctgaggc 6060
 tgaagcccag ctgcaaggcc tttgagagaa cgtggtgctg gaccctgtc tagggcaggg 6120
 gttctaaacc ctgcttacct atcagagtca cctgagaatt ttctatTTTT ttttttttt 6180
 ttttatacgt ggtcccagca cagactaagg aatccaacta tcattgggca agccatgcta 6240
 ggtatgcatg cctttggggc tctgcagggg atagcctat gcagggatgg ttgagagctg 6300
 gttttgggggt tgagacacgt gggaaact tggactttgg gctgagcctg tgggtctcaa 6360
 tcccggctgc atgttgggac cacagggaga tgacaaaacc atccccagcc ctcacctag 6420
 ggccctcgaa tgagcatctc aggggtctag gaggcctcca caaagaccta ctgattggca 6480
 cacacttgtt tctctaggaa gagaacttac agctgcaggc aggagcatgt cttaatctgc 6540
 ttgggctgcc ataagtagca cagactggga gggtttaaca acagaaatgt gttatctcac 6600
 agttctggaa gctagaagcc tgggagccag ccatcagcag agttggttc ctctgggtcc 6660
 tctatccttg gctttagat ggccgtcttc tctctgtgtc cccacatggt ctccctctg 6720
 tgtccccaca tggctcttcc tctgtgtgtg tccatgtcct catctctct tctcataagg 6780
 acacaggtca tattagatca gggctcacc tcattggcctc attttaactt aatcatctct 6840
 ttaaagatcc tgtctccaaa taatggtcac attctgaggt cctggggttg aggacttcaa 6900

cacgggcatt atggccgftg ggggaggtag gacataattc agctgatatt ggtgcatttt	6960
gcacttggat catgtagata ttttccatgg agctttgaat ccatttcttc tttttttgt	7020
agacatgaat ggatttattc tgggctaaat ggtgacaggg aatattgaga caatgaaaga	7080
tctggttaga tggcacttaa aggtcagtta ataaccacct ttcacccttt gcaaaatgat	7140
atttcaggtt atgCGgaagc gagcacccca gctgagatg gctcctgccg gtgtgagcct	7200
gaggggccacc atcctctgcc tectggcctg ggtctggcctg gctgcaggtg accgggtgta	7260
catacacccc ttccacctcg tcatccacaa tgagagtacc tgtgagcagc tggcaaaggc	7320
caatgccggg aagcccaaag accccacctt catacctgct ccaattcagg ccaagacatc	7380
ccctgtggat gaaaaggccc tacaggacca gctgggtgcta gtcgctgcaa aacttgacac	7440
cgaagacaag ttgaggggcg caatggtcgg gatgctggcc aacttcttgg gcttccgtat	7500
atatggcatg cacagtgagc tatggggcgt ggtccatggg gccaccgtcc tctcccaac	7560
ggctgtcttt ggcaccctgg cctctctcta tctgggagcc ttggaccaca cagctgacag	7620
gctacaggca atcctgggtg ttccttggaa ggacaagaac tgcacctccc ggctggatgc	7680
gcacaaggtc ctgtctgccc tgcaggctgt acagggcctg ctagtggccc agggcagggc	7740
tgatagccag gcccagctgc tgctgtccac ggtgggtggc gtgttcacag ccccaggcct	7800
gcacctgaag cagccgtttg tgcaggcctt ggtctctctat acccctgtgg tctcccacg	7860
ctctctggac ttcacagaac tggatgttgc tgctgagaag attgacaggt tcatgcaggc	7920
tgtgacagga tggaaagactg gctgctccct gatgggagcc agtgtggaca gcaccctggc	7980
tttaacacc tacgtccact tccaaggtaa ggcaaacctc tctgctggct ctggccctag	8040
gacttagtat ccaatgtgta gctgagatca gccagtcagg ccttggagat gggcaggggg	8100
cagccctgcy gacataacctg gtgaccaccc ttgagaagtg gggaaagtggc tgctccgctg	8160
ggtccctgga tgggccgtcc acctcctgga cctgctgccc tactatgtgc acgactatac	8220
aacatccttt ttcttacatc atttaatccc ctatgatgt ggtgaagagg tatttgtgcc	8280
tttgtttacc agtgaagaaa tagagactcg gagaacaaaa gtgccttgct caagatggca	8340
cagccaccag tgggggtcct gggattgaaa cccacatctc ctggccccac agcccagttc	8400

tacactcaga agggtcaggt tcatactct tfgagaaggtc aggaactggg gtccttgccc	8460
catgcagaaa taagcaattg gcttgcttaa atccctttca tgftaggagg ggcattactg	8520
aaaaccctct actacaaaga ttgttgattt tttttttttt ttttattgag acagggctct	8580
gttctgtcac ccaggctgca gtgtagtggg gccatcattg ctcactgtag ccttgaactc	8640
ctggcctcaa gcgatcctcc cacctctgcc ttccaaagtg ttgggattaa aggtgtgagc	8700
cactgcaccc agccacagat tgcttaaagc attcatttaa caaatacttg ttgaggattt	8760
gctacttgta agactttaag cctggcatct cagaggaggc cagaggaggg ctgtataggc	8820
cctgcctcca ggcttttaaa ggtcaatggg caaatgccta ggatttggag ctgcagggaa	8880
acgtgctcca caaggtaact cagggaaagcc tcggggctct cagaggacag aggtcactgg	8940
ggagcggaga gcaggccttg cctggcagtg agggcaacag ggctggtgaa gctaggagca	9000
agcatgatga gcccagcctg cagagtttg ggcaaggaa gaggatgggg cggttggctt	9060
ggcatgagtg ttgaaccaga aaatgggcct ggggagggca gagctggaga cactttgaac	9120
gccatgcttg gtaggtgttg gaatggggac gcgttctgtt cagaggtcac cccggaagcc	9180
tgccgtgtgc agactggagg cagggaggat tgtttgaagg ttacycaaga gtccaggcac	9240
acagtcacgg gaacacgtgc tcaggagca gctcggcaaa tccatgggtg gggtagggct	9300
gaggggtgtg tctaagagac actgaggagg ctctgtcaag atgttaacct cgtgagggac	9360
agagagccag gcgggaggtg aaagacaaga ctgtggagaa agaggttcag tggcgcatag	9420
tgatTTTTCT taccacaaca acctccttga ggtctttccc ttcgggttca gggagaggtg	9480
atagatgggg ggattgctca gccctggcac tgactggtca caggggcaga ggccagcccg	9540
agggttgccc ggttgagggt ggcagcacac tltgcagggc agagcaggga cacatggact	9600
tagcctgctg tccttaggag aagtgtctgg aggagcgtc actgagaagg agggctctgc	9660
agaaggcaaa ggcaagaaag ccagtggcat ctgaaatggg tctccttcg aaagagagca	9720
catccacctg acccagaccg cagagccagg ccaggaggaa gaggaggaag aataaaaaag	9780
ccaaccacat cgggactcaa aggaagccca ggtcctcgc cggcctccac cgcatgctgc	9840
cctgaccctg cccacttcc taactttgct ggcctcagtt tccgtcaaag gaggcagcca	9900

cttcctgccc acatggtctg tccagtgagg agatcggggg ctgtctcggg acctctaggt 9960
ttcccttttag caatgatggt ctatftacat gacctcagca ggcagctaga tgtgtcccac 10020
tagagaggac ctgaggatct ggggcctgat gggctccagg gtaccgtctg cccagtgttt 10080
gctgtgtctc tgagcatggg gcgctggccc tgggtggttc catgacacca ggtcctgact 10140
tgacctcgac agatttacct agcctccgga tgagaatggt gagctgtgca tgtcagacga 10200
gcagagggaa gacggcagcc actctcatgt caaatcccag cgtcttttgg gaggcagctt 10260
ccctttttta gtttagtttg ttggaagaaa agaattgtcc ctttcccccc tctaaactaa 10320
aagccttgcc agcccaggtg ggcagcaccg aggtccctgc agggaacgtg caaggggaac 10380
cctgcagttt cccgtcaca tgccttccg agactgagtg ctccgaggac tgaggacgag 10440
aaatatgcca ggtctgccac tgccttctta cgagaccggg acccagggga ggcacagcca 10500
tgcccagctc ctgctgcca gttctgtcct cccagctgcc ctactttcat gctgggacct 10560
ccaattcagt acaaaggag acctcactgt ttctgaacca tctctactca gactcccaag 10620
tgccacgtgc ccaggggact gttctgtgac aaacttatac acaacttac cctattctcc 10680
taagaacaac cgcagaatag gcctttcagg atgagtggga ggacagccga gggcagggat 10740
gtgctagtgt aaggctgagg cagaggggtg gctgctgtca tggaaagacc ccagtaact 10800
gcgtcacaca caaattgtg tcttctccc acaacgggct ctcccagtt ctctgtcacc 10860
tgcacggccc tgtgagcagg aggggaaaca gagggctcac cctgcccc aaggcccagt 10920
gtgcaaatcc attcatcaca acgaggtgt gtgagtctcc ccagtagcaa gggctgtgta 10980
ggaatggagc cctcgtttcc ggggcctgcg tggcccactc tgtattctat gactgtgatg 11040
ggggaggggtg ggggccacag gacagctggt gggctctgcc atggctgggg ctagacatgg 11100
attaaaaagt gagtatgagc aggggcctct aggagtggtg ggatagtgcg gtggtggcca 11160
catgtcattc tacgtgcgtc caaacctaca gaatgtaaaa caccagagg gagactcaaa 11220
gaaaactatc aactttgagt gctgaggacg tgcagtgtg ggttcgtcag ttgcaacaaa 11280
tgggccacgc tgggtgtgaga tgttgatcac gggggaggct gtgtagtggg ggacaagagt 11340
tatatgggaa ctttctgtac tttctgctcg attttctgtg gaacctaaag tcaactctaa 11400

aaataacatc tcttaaatTT tttaaaaagt gAgTgtgtca aaccacagcc tttgggtcag 11460
gacagttcta ggtttgagtt gacctggcag gtaccagtgg cttatgtccc ttaaggtgac 11520
agatgcaaaa cccccggttt ggtgcctggc atgtttgtgtg tcttgcaggt ggcggttagg 11580
gctgcctcag tgaactcaaa tggctgcatt ttacaggaga aatatttgag ccacacttgc 11640
ggtcctgtgg ccaggagaat gcagagtggc ctggggggggg ccaaggaagg aggctgaggc 11700
agggcgaggg gcaggatctg ggcccttggT gtctgccagc cctcattcct gccctgtct 11760
tgggtgactc ttccctccct gtctcctgtc tggatttcag ggaagatgaa gggcttctcc 11820
ctgctggccg agccccagga gttctgggtg gacaacagca cctcagtgtc tgttcccatg 11880
ctctctggca tgggcacctt ccagcactgg agtgacatcc aggacaactt ctcggtgact 11940
caagtgcctt tcactgagag cgcctgcctg ctgctgatcc agcctcacta tgcctctgac 12000
ctggacaagg tggagggtct cactttccag caaaactccc tcaactggat gaagaaacta 12060
tctccccgtt aggagcctcc cggctctccc tggaatgtgg gagccacact gtctgceca 12120
ggctgggggc ggggtgggga gtagacacac ctgagctgag ccttgggtgc agagcagggc 12180
agggccgcgg tggcacgggg ctgggcaggc ggcctgtgtg tctgtctacc agtcctctat 12240
ccagccagca cccagctctc cagttagtgt ctgtctttca agtgaggca aggtaaagga 12300
ggagaggaag aatgcttttt ctacacttac acttgcctgg tagttttgga gggggagaaa 12360
acattgcaat ccgccctctg agagaggacc attttggTcc cacacctgac acacagcaca 12420
cctgtgacat ccaagagctt cttggaactg acttgccagg aggttccgga cttcgcgtga 12480
gcgggggtgg ggccttctca gggagcgtcc cttgactcca gaacgccctt gctggcggct 12540
ggcggctggg tgggatagg tgttgttagc tcctctttcc tgctgcaatt cctttccaca 12600
gagccctgga ctcaaaactac acatcacccc agatcatcga ggcctggaaa tctgtcecca 12660
gaggcaggca ttgagtgaca cgatggcttG acatcaactc tgggtgtttt ttatgtttta 12720
aaaattgtga tggtaaaata tacgtaacaa aatttgccat cgtaaccatt ttcgagtgca 12780
cagttcagtG gtactaggcc cattcacact gttgtgcagc catcaccccc gtccatctcc 12840
atztatcttC tcaacttccc aaactgaagc tctgtcctgc tgaaacacta actctccatt 12900

tccccctccc cttggccccg gcaaccacca c gatgtcctc gaggttcacc catgtttag 12960
cacatgtcag aatgtccttc cttttgaagg ctgaataata ttccattgca tgtggttacc 13020
accttttgtg tatccactca tccatc gatg gacacgtggg ttgcttccac ctttgagctg 13080
ctgtgaatag tgcagtgtag cctgtaaaca tgggtgtact gtcagctctt ataagtctt 13140
gatacatcac tggaaatgtc catgggctct gaaggatgcc aaaagatgga agaggctcta 13200
tacgaagatc aatcgagttg acatagcaac gtgtccagca cgaggttgac actgtaccct 13260
cctgcctctc tccctttcat ggggtgtcatg tcatcaagaa cactgctgtg gcagtagtaa 13320
gacacagtgc attatttcag agaatagcat ttaaaaatta cccaagtaac acaccttcaa 13380
tgcagccaac ctaaaaacag aatgcaccaa aggacaacca ttcttaggtc ctcatcggtg 13440
aatcttctat gtccctcaca tagtattgca aatgacatga aggattttta ttgtaggttt 13500
tgctgaaatt ttccccagg gggaggatga cttagttggg tgatgggggg agcaaacatc 13560
cctgtcgtca gggttgggtg caaggagcat aagcctgcct ggctctggg agagccctca 13620
ctgtgtggcc tggagccttc ctaactgtc atcatctccc caggaccatc cacctgacca 13680
tgccccaaact ggtgtcgtcaa ggatcttatg acctgcagga cctgctcggc caggctgagc 13740
tgcccccat tctgcacacc gagctgaacc tgcaaaaatt gagcaatgac cgcacaggg 13800
tgggggaggt atgtgtgagc ctgtgtctgt gcctgacctg ggttccaagt gtgcacaggg 13860
tgggagggcat g gatgtlaagg gacacagagg aggtatggg tggggccagc agggcaagag 13920
ggagcggaga gtagggccaa aggtgggaga gaagtagcca gagcattctg gggccttcca 13980
ggtgcagagc agcaaatccc tccccatccc tctgtgcct cctcctgcta ggtgtgtgtt 14040
ccatggctct gcttggcctt gccttgctc agggctctcc agggttccta tagtggagtt 14100
gaaaccggga tgaagacagc aagcaccct ggacctggtg cctgggccc agcccctct 14160
tcagggaaat gctgagcagc agacagaatg tccccctgcc atgtggcacc atgcacatct 14220
gcagctacca aggatgtgcc ttgatgttct gggccctgtg ctcaagtctg gggagaaagt 14280
gggagttctt acgggggcca gcgggaagag ccctctgtg taagttagct aagccctggc 14340
actggtgggc catggccaag ggagccagga atctgcctg ggacatcagg gcagaatgtg 14400

aagatgggag gatgtaaggg gtgtgttagg gaggagccgg catgtgagtt tggccattgt 14460
ggccaattaa cggtcattcta cacacagaca cacccttgcc tacactgagg ggcaggcata 14520
cactgtgcat cctcctggca ggctggaaaa tgtccccctc caggacagtg cacagcacag 14580
aggcctgag cccaccccg g cctctagcc ctacagcacc tgggtcacc agtgcgcct 14640
cagaatgac ctgatgtctg ctgctttgca ggtgctgaac agcatttttt ttgagcttga 14700
agcggatgag agagagccca cagagtctac ccaacagctt aacaagcctg aggtcttgg 14760
ggtgaccctg aaccgccc at tctgtttgc tgtgtatgat caaagcgcca ctgccctgca 14820
cttctgggc cgcgtggcca acccgctgag cacagcatga ggcagggcc ccagaacaca 14880
gtgcctggca aggcctctgc cctggcctt tgaggcaaag gccagcagca gataacaacc 14940
ccggacaaat cagcgtgtg tccccccag tctcccact tttcttctaa tgagtcgact 15000
ttgagctgga aagcagccgt ttctccttgg tctaagtgtg ctgcatggag tgagcagtag 15060
aagcctgcag cggcacaat gcacctcca gtttctggg tttattttag agaatggggg 15120
tggggaggca agaaccagtg tttagcgcg gactactgtt ccaaaaagaa ttccaaccga 15180
ccagcttgtt tgtgaacaa aaaagtgtc cttttcaag ttgagaacaa aaattgggtt 15240
ttaaattaa agtatacatt tttgcattgc ctccggtttg tatttagtgt cttgaatgta 15300
agaacatgac ctccgtgtag tgtctgtaac acctagttt ttccacaga tgcttggat 15360
ttttgaacaa tacgtgaaag atgcaagcac ctgaatttct gtttgaatgc ggaaccatag 15420
ctggttattt ctcccttgtg ttagtaataa acgtcttgcc acaataagcc tccaaaatt 15480
ttatcttca tttagcagcc aaacagatgt atacaattca gcagatagac tgtgcaaacg 15540
aaagtcttt cctggacttt ggatggaatt tccatgggag gtctgagcca gtacttagca 15600
gtcctttgaa gttttagggtg atgcttttct ctggacactt ccattggtaa gcagtgggtg 15660
ccatctgtgt gatggacagg gggcgggaag aggggtgacag ggaaggcccc atacccatg 15720
tggcacctgg gaaaggaacc aggcagatgg gacttcttcc gtctctgtga cacagggcca 15780
gactgctgct ggtattgtgc cccgggagtg gaaggtagag aaataaatct tcacaaataa 15840
atatttgc aa tttccccca tctgttgagt gcctctgcct gctcctctc gatgggatta 15900

ggcccacagt tcggaatctt ggggagagcc aaggaagcgg taggcaccca gtaggcccac 15960
ggccgtcggc tgatagcaat ggtgatgctg tcctacctac ttgtgtaagg cattcgatct 16020
tcctcccttc catacatatt gaaataaata agccgcgcaa tgtgttagct attgatcaga 16080
actaaagtga agtcagccac ggggattaca aatctcggct tctcccctca tgttcctgag 16140
agtcttcccc tggttttgaa cacatctccc tagctcgatg tcaaggtagg ggattctgtc 16200
ggcaacagca gtgcccttag ttgcttcgtc gtaactcccc gtcaccgggt ttattcagtt 16260
acctccagt cccactctca gagcttctg gcttgttctg ctctcaaagc gggtagagct 16320
ggcacacatg gactctccga aacggctgca agatgccaaag tttctcggaa gaactggaag 16380
cacagagacc agaagtgctt taaggctctg ctattcagtg tggcgttag accggcagtg 16440
gcggcagctg ccctgggagc ttgttagaat gtggcttctc acgcccctcc tggacctaca 16500
gagtcagaat ctgcagtttt acaggaggctc caggcttggga agttgctcgt agagacctga 16560
gacagcgcag ccacgtgctg gaaacaaagc atttaagttt gtgactttat tttaaaaggc 16620
agcaggcagt cgacaaacca atttcttcta cttagaggcg gcttcggctt ctggaagtcg 16680
ctaggagtat aaagttgcca accagcgtg tctcccgt gttttctgtg cacttataaa 16740
tgggaagtta ggtcaggata gatctctcag ctattacaag gatacaaaat acgaacattc 16800
tacaagttac ttaacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca caaaattaat 16860
tccacaggtc agtttctctg aaacattttt tcaactaaatt ctaagtcttc ctggagttgc 16920
aagtgcctat ctctagaca aggcaattac tcaccaacta aaatcactgt caatctgaga 16980
tttcggctgg gcatgagacc atggtcaggg gatgctttga acagcctctg aggaaattag 17040
tgagtttgaa aaatggaaag atttttatta ctacttggc agtaaaacct gatggggaca 17100
gacgtcaggc tgtttaagat cctcagaaga aaaagttgat agtgtgaata ttccataatt 17160
tgccacacga agatglacat gtgattataa ggtgctgttg cagaagcccc tgggggtgtt 17220
atgggatata cactatatgg gccactttac ctctctaaaa tctgaaaaac ttcaactact 17280
gaaacatgga ctgaaggttt tgaatagtggt atggtgaatt tgaataccat cccgtgtgat 17340
tttttttct agcagacttt agtttttag agcagtttta agcccacacc aaaactgaga 17400

ggaagataca gcaatttctc atataccccc tactaccttc cagtctcccc cattattgac 17460
 atccccacc cagagtggtc catttcttac aaccacgaa cctacattga cacatcatta 17520
 ttactcaacg tccatagttt acattagggt tggctcttgg tgttgatcat tctatgggtt 17580
 tagacaattt tcaggagttt cactgacctg aaaatectct gtgtccctcc tattcaccce 17640
 tcttccctc ctaaccactg gtaaccaccg atcctattcc catcttctcc atagttttgc 17700
 ctttcccacc caggatgtca tatagtggaa tcattcagta tgtggccttt ccagattagc 17760
 ctctttcact tagtaatgtg catttaagtt tcttccatgt cttttcatga tcgtcattt 17820
 cttttttatt gctaaatact atgccactgt ctggatgtgt cacagtttat ttattcacct 17880
 actgaaggac atcttgcttg tttccaagtt gtggcaattg cgaattaagc tgctacagac 17940
 acccatgtgt gggtttttgt gtggacatgt ttaccccaca caatttttaa agttgctcaa 18000

<210> 3
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 引子

<400> 3
 ccctgatggg agccagtgt 19

<210> 4
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 引子

<400> 4
 agcagggaga agcccttca 19

<210> 5
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 探針

<400> 5

ccctggcttt caacacctac gtccact

27

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 引子

<400> 6

ggacaaggtg gagggctca

20

<210> 7

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 引子

<400> 7

agatccttgc agcaccagtt g

21

<210> 8

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 探針

<400> 8

atgaagaaac tatctccccg gaccatcca

29

<210> 9

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 引子

<400> 9 gaaggtgaag gtcggagtc	19
<210> 10 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220> <223> 引子	
<400> 10 gaagatggtg atgggatttc	20
<210> 11 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220> <223> 探針	
<400> 11 caagcttccc gttctcagcc	20
<210> 12 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 12 cgctgatttg tccggg	16
<210> 13 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 13	

tcggttgaa ttcttt

16

<210> 14

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> 在該等位置處之鹼基為RNA

<400> 14

tcggttgaa ttcttt

16

<210> 15

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 15

gtcgttgga attctt

16

<210> 16

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> 在該等位置處之鹼基為RNA

<400> 16

ctcatugtgg atgacg

16

<210> 17
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 17
ctcattgtgg atgacg 16

<210> 18
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> 在該等位置處之鹼基為RNA

<400> 18
tgaatuggag caggta 16

<210> 19
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 19
tgaattggag caggta 16

<210> 20
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 20
cggtgtcaag ttttgc 16

<210> 21
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 21
gttgggtaga ctctgt 16

<210> 22
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 22
gttggaattc tttttg 16

<210> 23
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 23
gttaagctgt tgggta 16

<210> 24
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> 在該等位置處之鹼基為RNA

<400> 24

tgaautggag caggta

16

<210> 25

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 25

ttgcaggttc agctcg

16

<210> 26

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 26

ggtagactct gtgggc

16

<210> 27

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 27

gttggaattc tttttg

16

<210> 28

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 28

cacaaacaag ctggtcggtt

20

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由14至30個連接之核苷組成且具有包含SEQ ID NO: 12-15之核鹼基序列中之任一者之至少14個、至少15個或至少16個鄰接核鹼基的核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【請求項2】

一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由14至30個連接之核苷組成且具有包含至少14個、至少15個或至少16個與以下互補之鄰接核鹼基之核鹼基序列：

SEQ ID NO: 1之核鹼基2046-2061之等長部分；

SEQ ID NO: 1之核鹼基2271-2286之等長部分；

SEQ ID NO: 1之核鹼基2272-2287之等長部分；

其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【請求項3】

一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由16個連接之核苷組成且具有包含SEQ ID NO: 12之核鹼基序列之核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【請求項4】

一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由16個連接之核苷組成且具有包含SEQ ID NO: 13之核鹼基序列之核鹼基序

列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【請求項5】

一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由16個連接之核苷組成且具有包含SEQ ID NO: 14之核鹼基序列之核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【請求項6】

一種寡聚化合物，其包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸由16個連接之核苷組成且具有包含SEQ ID NO: 15之核鹼基序列之核鹼基序列，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種選自經修飾之糖部分及經修飾之核苷間鍵聯的修飾。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之寡聚化合物，其中當在該經修飾之寡核苷酸之整個核鹼基序列上量測時，該經修飾之寡核苷酸具有與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2中之任一者之核鹼基序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%互補之核鹼基序列。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個雙環糖部分。

【請求項9】

如請求項8之寡聚化合物，其中該雙環糖部分具有4'-2'橋，其中該4'-2'橋選自-CH₂-O-及-CH(CH₃)-O-。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個非雙環之經修飾糖部分。

【請求項11】

如請求項10之寡聚化合物，其中該非雙環之經修飾糖部分為2'-MOE糖部分或2'-OMe糖部分。

【請求項12】

如請求項1至11中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一種糖替代物。

【請求項13】

如請求項12之寡聚化合物，其中該糖替代物為嗎啉基、經修飾之嗎啉基、PNA、THP及F-HNA中之任一者。

【請求項14】

如請求項1至13中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸為間隙聚體。

【請求項15】

如請求項14之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有包含以下之糖模體：

5'區，其由1-6個連接之5'區核苷組成；

中央區，其由6-10個連接之中央區核苷組成；及

3'區，其由1-6個連接之3'區核苷組成；其中

該等5'區核苷中之每一者及該等3'區核苷中之每一者包含經修飾之糖部分，且該等中央區核苷中之至少6者包含2'-β-D-去氧核糖基糖部分。

【請求項16】

如請求項14之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有包含以下之糖模體：

5'區，其由1-6個連接之5'區核苷組成；

中央區，其由6-10個連接之中央區核苷組成；及

3'區，其由1-6個連接之3'區核苷組成；其中

該等5'區核苷中之每一者及該等3'區核苷中之每一者包含經修飾之糖部分，且該等中央區核苷中之每一者包含2'-去氧核糖基糖部分。

【請求項17】

如請求項14之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有包含以下之糖模體：

5'區，其由3個連接之5'區核苷組成；

中央區，其由10個連接之中央區核苷組成；及

3'區，其由3個連接之3'區核苷組成；其中

該等5'區核苷中之每一者及該等3'區核苷中之每一者包含經2'-MOE修飾之糖部分或經cEt修飾之糖部分，且該等中央區核苷中之每一者包含2'-β-D-去氧核糖基糖部分。

【請求項18】

如請求項14之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有包含以下之糖模體：

5'區，其由3個連接之5'區核苷組成；

中央區，其由10個連接之中央區核苷組成；及

3'區，其由43個連接之3'區核苷組成；其中

該等5'區核苷中之每一者及該等3'區核苷中之每一者包含經2'-MOE修飾之糖部分或經cEt修飾之糖部分，且該等中央區核苷中之

至少6者包含2'- β -D-去氧核糖基糖部分。

【請求項19】

如請求項1至18中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有選自以下之糖模體(5'至3')：eekddddddddkkke、ekkddddddddkke、kkkdyddddddkkk、kkkddyddddddkkk、kkkddyddddddkkk、kkkddddddddkkk或eeeeeeeeeeee；其中『e』表示2'-MOE糖部分，『k』表示cEt糖部分，『d』表示2'- β -D-去氧核糖基糖部分，且『y』表示2'-OMe糖部分。

【請求項20】

如請求項1至19中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核苷間鍵聯。

【請求項21】

如請求項20之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸之每一核苷間鍵聯為經修飾之核苷間鍵聯。

【請求項22】

如請求項20或21之寡聚化合物，其中至少一個核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【請求項23】

如請求項20及22中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個磷酸二酯核苷間鍵聯。

【請求項24】

如請求項20、22及23中任一項之寡聚化合物，其中每一核苷間鍵聯為磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【請求項25】

如請求項21之寡聚化合物，其中每一核苷間鍵聯為硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【請求項26】

如請求項1至20或22至24中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有soosssssssssos之核苷間鍵聯模體；其中，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【請求項27】

如請求項1至26中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核鹼基。

【請求項28】

如請求項27之寡聚化合物，其中該經修飾之核鹼基為5-甲基胞嘧啶。

【請求項29】

如請求項1至28中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸由14-30個、14-22個、14-20個、14-18個、14-20個、15-17個、15-25個或16-20個連接之核苷組成。

【請求項30】

如請求項1至28中任一項之寡聚化合物，其中該經修飾之寡核苷酸由16個連接之核苷組成。

【請求項31】

如請求項1至30中任一項之寡聚化合物，其包含結合基團。

【請求項32】

如請求項31之寡聚化合物，其中該結合基團包含含有1-3個GalNAc配位體之GalNAc簇。

【請求項33】

如請求項31及32中任一項之寡聚化合物，其中該結合基團包含由單鍵組成之結合連接體。

【請求項34】

如請求項31至33中任一項之寡聚化合物，其中該結合基團包含可裂解連接體。

【請求項35】

如請求項31至34中任一項之寡聚化合物，其中該結合基團包含含有1-3個連接體核苷之結合連接體。

【請求項36】

如請求項31至35中任一項之寡聚化合物，其中該結合基團在該經修飾之寡核苷酸的5'-核苷處連接至該經修飾之寡核苷酸。

【請求項37】

如請求項31至35中任一項之寡聚化合物，其中該結合基團在該經修飾之寡核苷酸的3'-核苷處連接至該經修飾之寡核苷酸。

【請求項38】

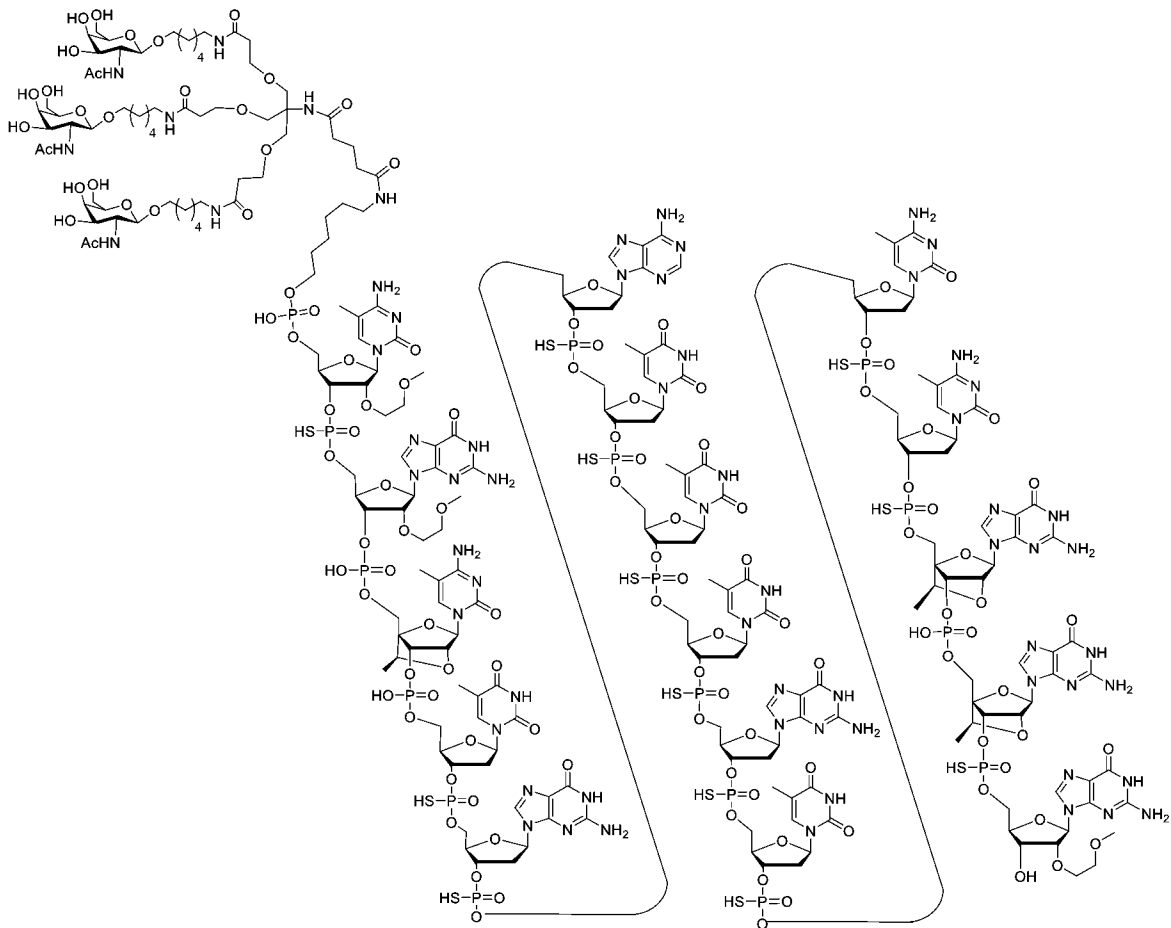
如請求項1至37中任一項之寡聚化合物，其中該寡聚化合物為單股寡聚化合物。

【請求項39】

如請求項1至30中任一項之寡聚化合物，其由該經修飾之寡核苷酸組成。

【請求項40】

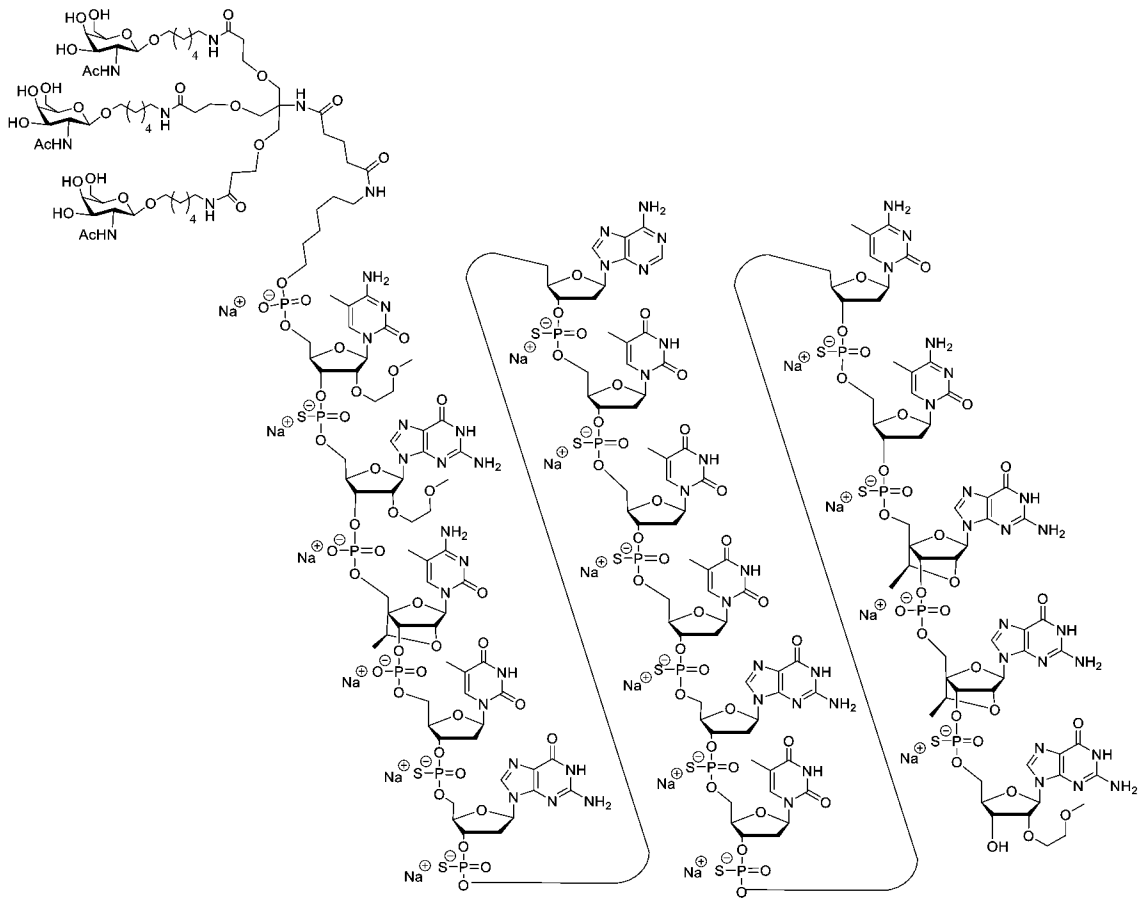
一種根據以下化學結構之寡聚化合物或其鹽，



(SEQ ID NO: 12)。

【請求項41】

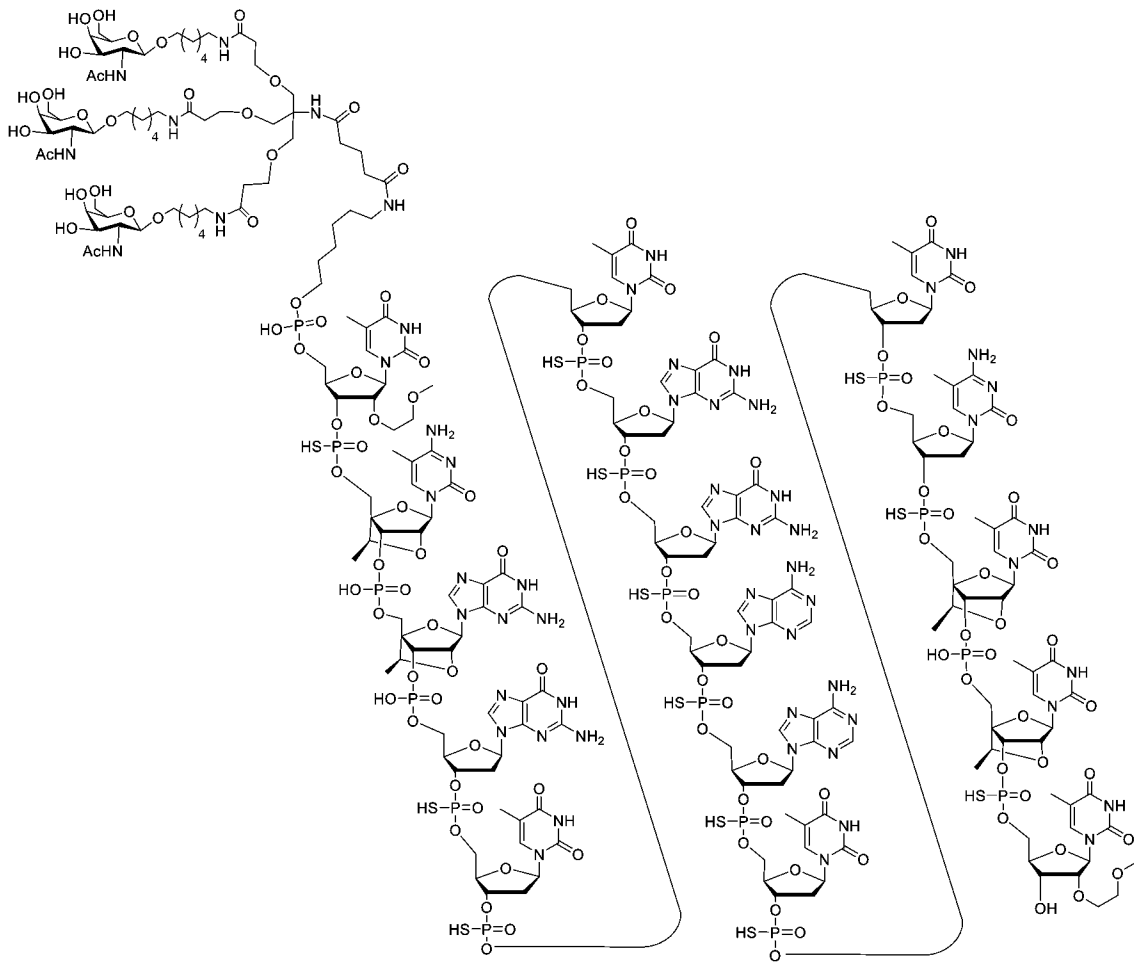
一種根據以下化學結構之寡聚化合物，



(SEQ ID NO: 12)。

【請求項42】

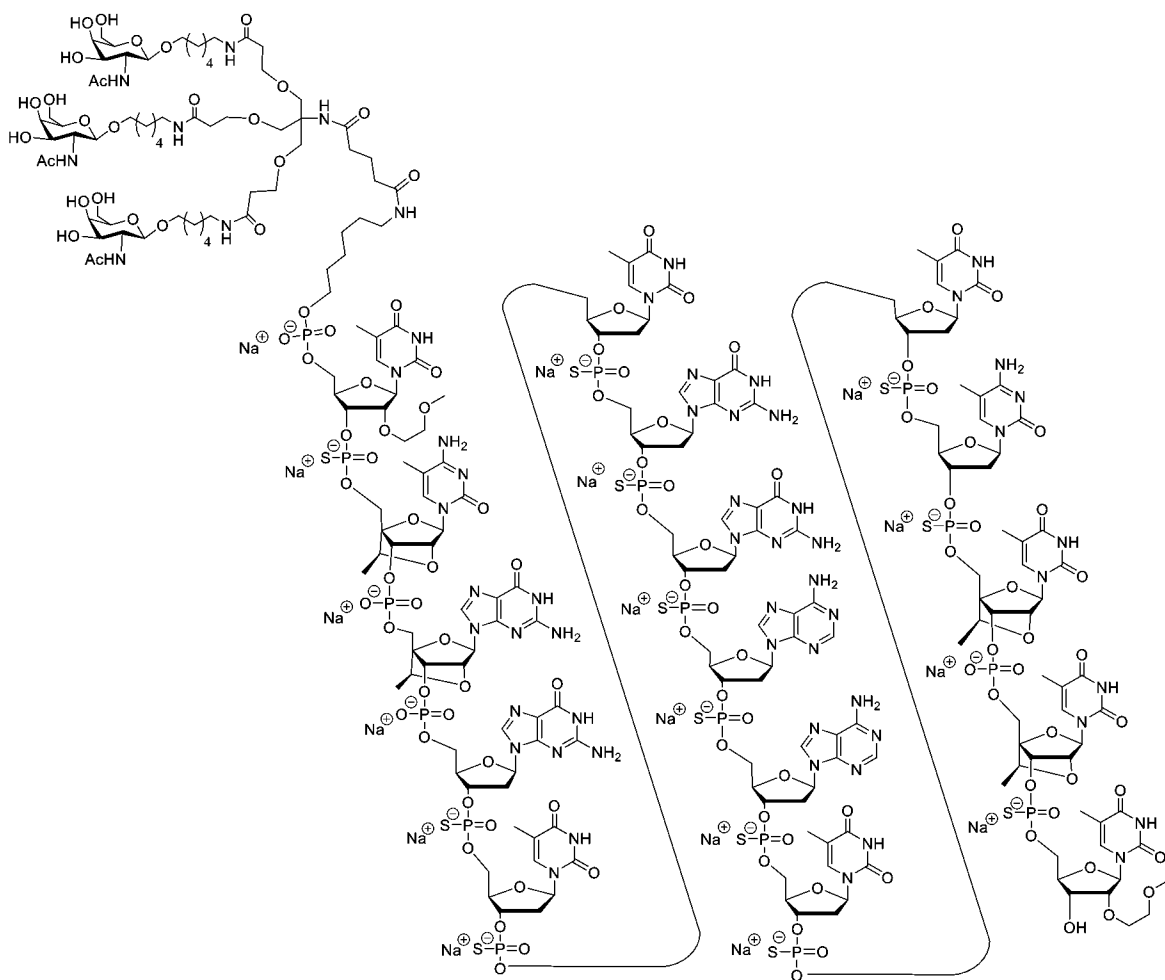
一種根據以下化學結構之寡聚化合物或其鹽，



(SEQ ID NO: 13)。

【請求項43】

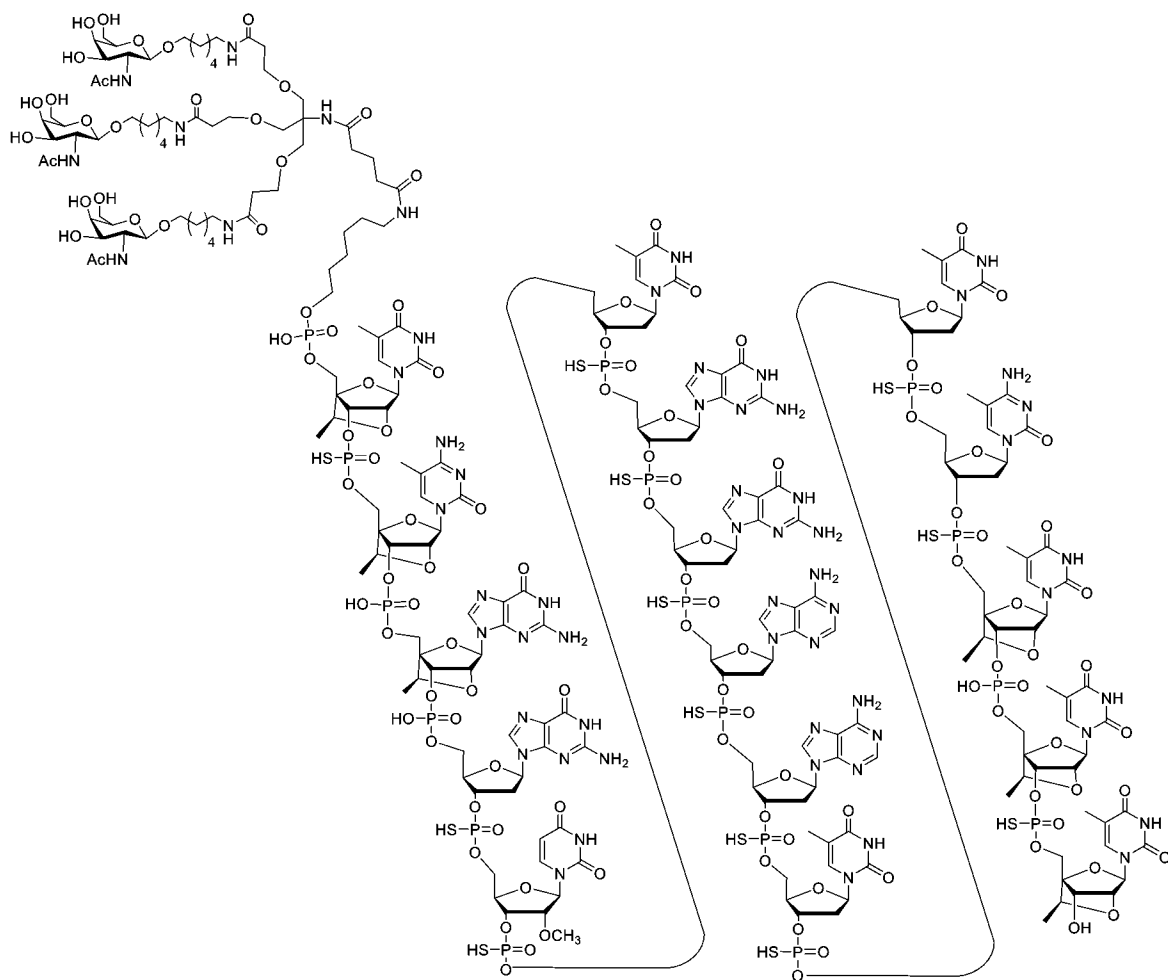
一種根據以下化學結構之寡聚化合物，



(SEQ ID NO: 13)。

【請求項44】

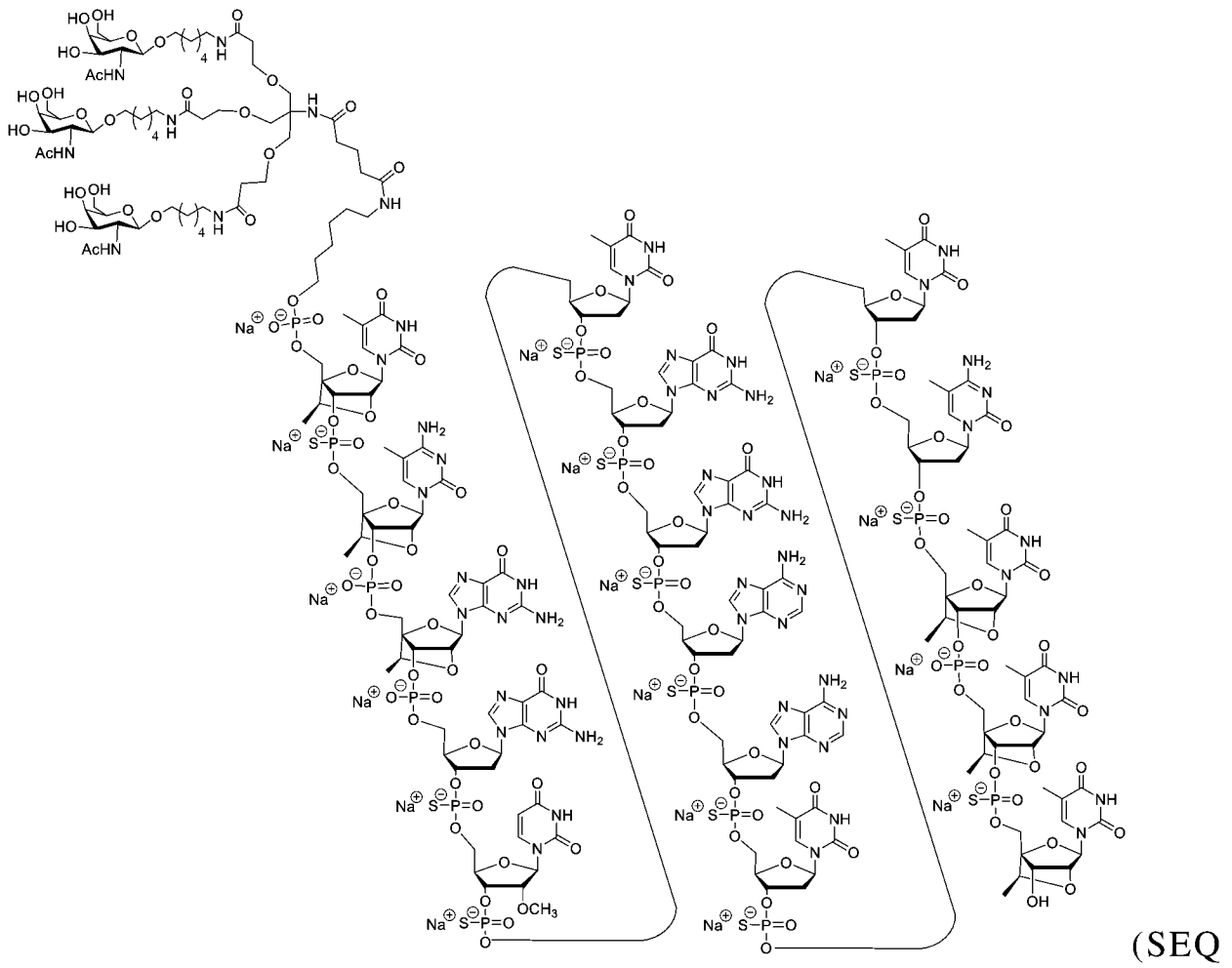
一種根據以下化學結構之寡聚化合物或其鹽，



(SEQ ID NO: 14)。

【請求項45】

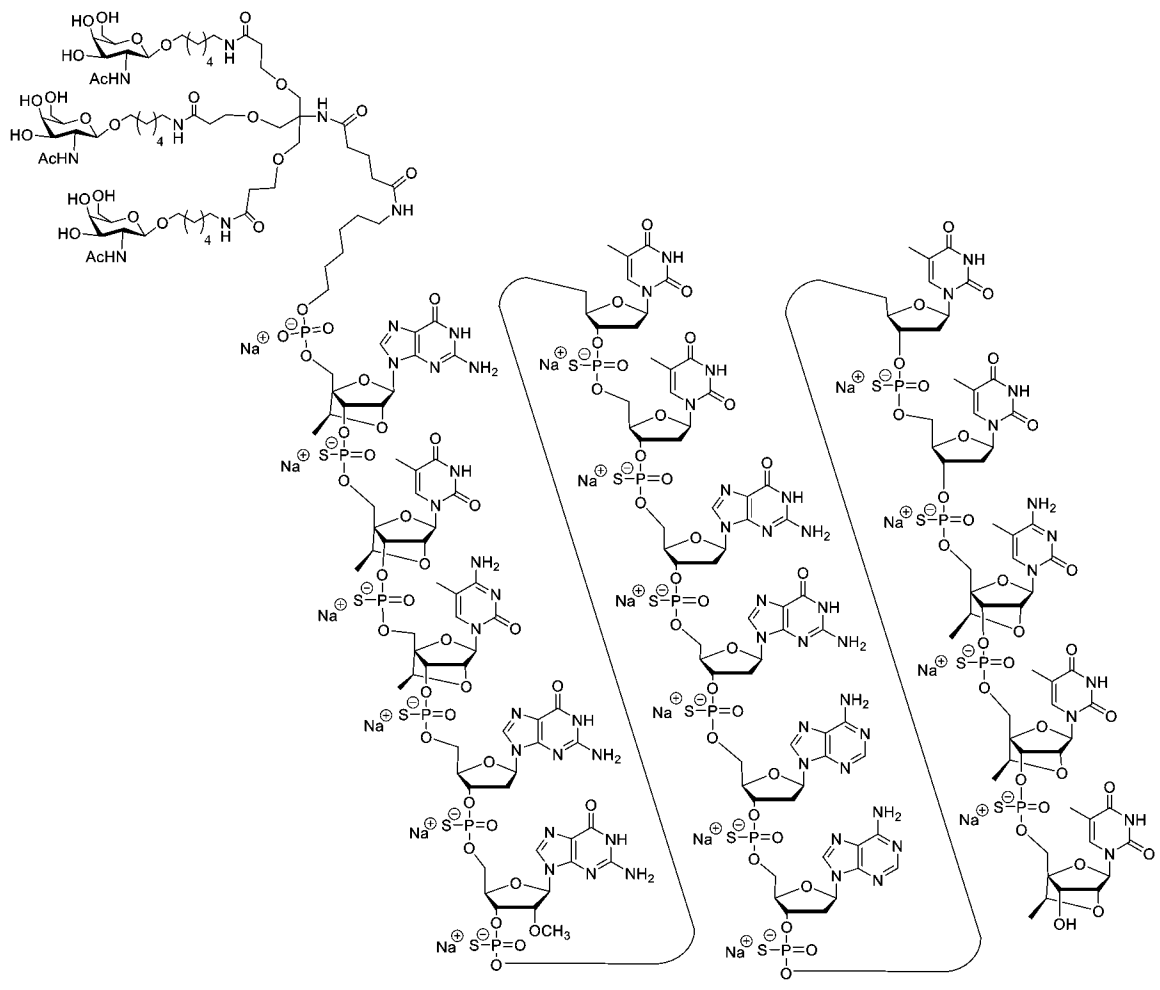
一種根據以下化學結構之寡聚化合物，



ID NO: 14)。

【請求項46】

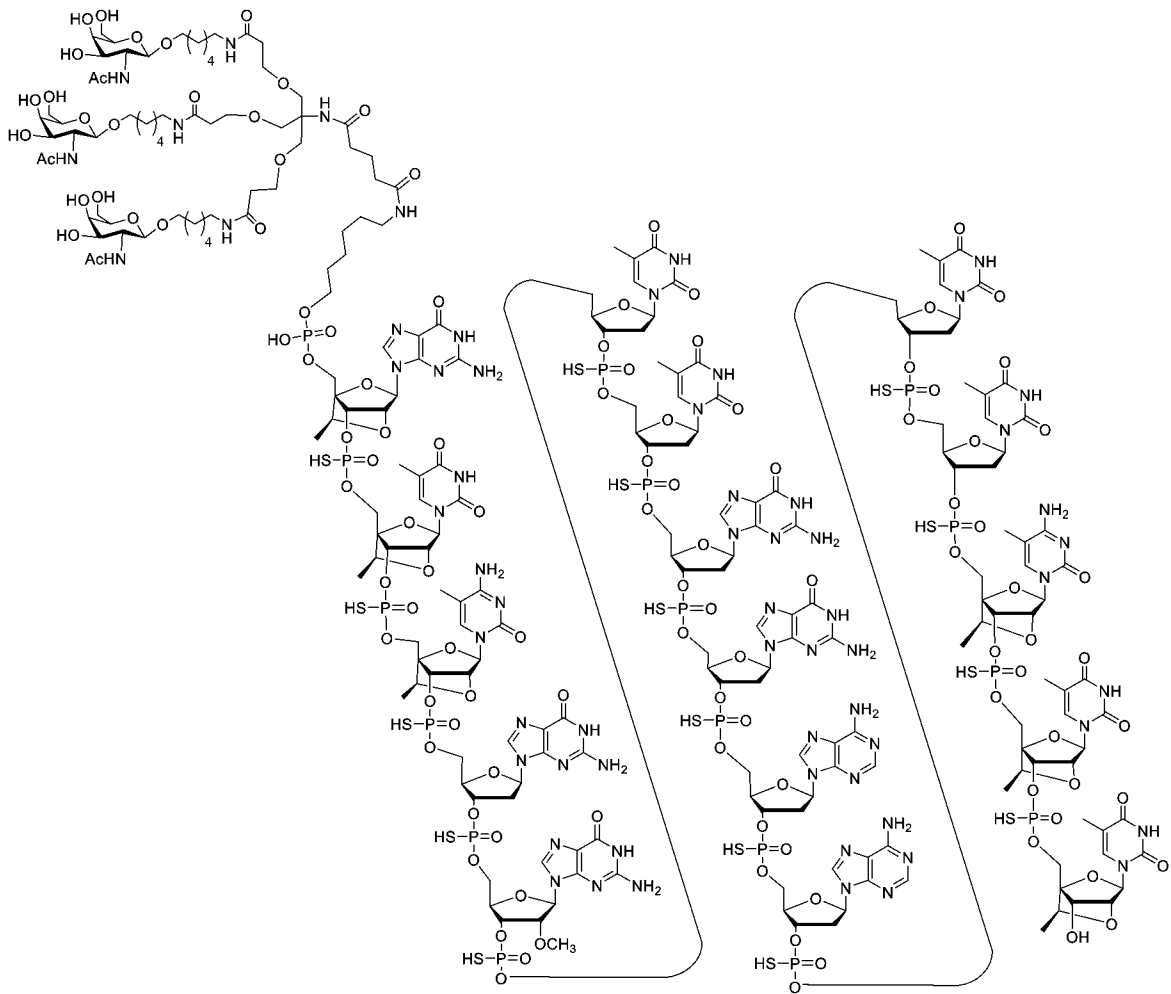
一種根據以下化學結構之寡聚化合物或其鹽，



ID NO: 15)。

【請求項47】

一種根據以下化學結構之寡聚化合物，



(SEQ ID NO: 15)。

【請求項48】

如請求項40、42、44及47中任一項之寡聚化合物，其為鈉鹽或鉀鹽。

【請求項49】

一種寡聚化合物，其包含根據以下化學記法之經修飾之寡核苷酸：

${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{G}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{ko}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ko}}\text{G}_{\text{ks}}\text{G}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO: 12)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

${}^m\text{C}$ = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

e = 2'-β-D-MOE糖部分，

k = cEt糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【請求項50】

一種寡聚化合物，其包含根據以下化學記法之經修飾之寡核苷酸：

$T_{es} {}^mC_{ko} G_{ko} G_{ds} T_{ds} T_{ds} G_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} T_{ds} {}^mC_{ds} T_{ko} T_{ks} T_e$ (SEQ ID NO: 13)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

e = 2'-β-D-MOE糖部分，

k = cEt糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【請求項51】

一種寡聚化合物，其包含根據以下化學記法之經修飾之寡核苷酸：

$G_{ks} T_{ks} {}^mC_{ks} G_{ds} G_{ys} T_{ds} T_{ds} G_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} T_{ds} {}^mC_{ks} T_{ks} T_k$ (SEQ ID NO: 15)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

mC = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

k = cEt糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

y = 2'-OMe核糖部分，且

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【請求項52】

一種寡聚化合物，其包含根據以下化學記法之經修飾之寡核苷酸：

$T_{ks}^m C_{ko} G_{ko} G_{ds} U_{ys} T_{ds} G_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} T_{ko} T_{ks} T_k$ (SEQ ID NO: 14)，其中：

A = 腺嘌呤核鹼基，

$^m C$ = 5-甲基胞嘧啶核鹼基，

G = 鳥嘌呤核鹼基，

T = 胸腺嘧啶核鹼基，

U = 尿嘧啶核鹼基，

k = cEt糖部分，

d = 2'-β-D-去氧核糖基糖部分，

y = 2'-OMe核糖部分，

s = 硫代磷酸酯核苷間鍵聯，且

o = 磷酸二酯核苷間鍵聯。

【請求項53】

如請求項49至52中任一項之寡聚化合物，其包含共價連接至結合基團之該經修飾之寡核苷酸。

【請求項54】

一種寡聚雙鏈體，其包含如請求項1至53中任一項之寡聚化合物。

【請求項55】

一種反義化合物，其包含如請求項1至53中任一項之寡聚化合物或如請求項54之寡聚雙鏈體，或由其組成。

【請求項56】

一種如請求項40至53中任一項之寡聚化合物之掌性富集群體，其中該群體富集包含至少一個具有特定立體化學組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯之化合物。

【請求項57】

如請求項56之掌性富集群體，其中該群體富集包含至少一個具有(Sp)組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯之化合物。

【請求項58】

如請求項56之掌性富集群體，其中該群體富集包含至少一個具有(Rp)組態之特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯之化合物。

【請求項59】

如請求項56之掌性富集群體，其中該群體富集在每一硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有特定獨立選擇之立體化學組態之化合物。

【請求項60】

如請求項56之掌性富集群體，其中該群體富集在每一硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有(Sp)組態之化合物或在每一硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有(Rp)組態之經修飾之寡核苷酸。

【請求項61】

如請求項56之掌性富集群體，其中該群體富集在一個特定硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有(Rp)組態且在每一其餘硫代磷酸酯核苷間鍵聯處具有

(Sp)組態之化合物。

【請求項62】

如請求項56之掌性富集群體，其中該群體富集沿5'至3'方向具有至少3個呈Sp、Sp及Rp組態之鄰接硫代磷酸酯核苷間鍵聯之化合物。

【請求項63】

一種如請求項40至53中任一項之寡聚化合物之群體，其中該寡聚化合物之所有硫代磷酸酯核苷間鍵聯均為立體隨機的。

【請求項64】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至53中任一項之寡聚化合物、如請求項54之寡聚雙鏈體、如請求項55之反義化合物或如請求項56至63中任一項之群體以及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【請求項65】

一種方法，其包括向個體投與如請求項64之醫藥組合物。

【請求項66】

一種治療與RAAS路徑相關之疾病的方法，其包括向患有與RAAS路徑相關之疾病或處於患有該疾病風險下之個體投與治療有效量之如請求項64之醫藥組合物，藉此治療該與RAAS路徑相關之疾病。

【請求項67】

如請求項66之方法，其中該疾病為心血管疾病。

【請求項68】

如請求項66及67中任一項之方法，其中該疾病選自高血壓、頑固性高血壓、馬凡氏症候群(Marfan syndrome)、心臟衰竭、腎病、肥胖、代謝症候群、NASH及NAFLD。

【請求項69】

如請求項66至68中任一項之方法，其中該疾病之至少一種症狀或標誌得以改善。

【請求項70】

如請求項69之方法，其中該症狀或標誌係以下中之任一者：高血壓、高血壓急症(亦即惡性高血壓)、中風、子癇前症、血管動脈瘤、腹部動脈瘤、外周動脈疾病、器官損傷或肺動脈高血壓。

【請求項71】

如請求項65至70中任一項之方法，其中全身投與該醫藥組合物。

【請求項72】

如請求項65至71中任一項之方法，其中皮下或肌內投與該醫藥組合物。

【請求項73】

一種如請求項1至53中任一項之寡聚化合物、如請求項54之寡聚雙鏈體、如請求項55之反義化合物或如請求項56至63中任一項之群體之用途，其用於減少細胞中之AGT表現。

【請求項74】

如請求項73之用途，其中AGT RNA之水準降低。

【請求項75】

如請求項73之用途，其中AGT蛋白之水準降低。