



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201446791 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 12 月 16 日

(21)申請案號：103115662

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 04 月 30 日

(51)Int. Cl.：

C07H21/00 (2006.01)

A61K31/7125 (2006.01)

A61K47/48 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

(30)優先權：2013/05/01 美國

61/818,432

2013/05/10 美國

61/822,112

2013/06/26 美國

61/839,550

2013/10/25 美國

61/895,784

2013/11/01 美國

61/898,704

2014/01/15 美國

61/927,897

(71)申請人：雷格勒斯治療公司 (美國) REGULUS THERAPEUTICS INC. (US)

美國

(72)發明人：巴特 巴克里辛 BHAT, BALKRISHEN (IN)；霍根 丹尼爾 HOGAN, DANIEL (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：114 項 圖式數：9 共 180 頁

(54)名稱

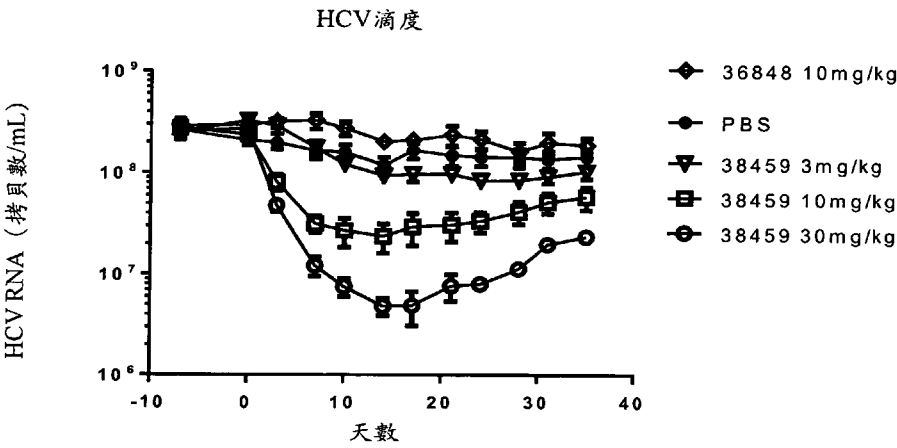
用於調節 MIR-122 之微小 RNA 化合物及方法

MICRORNA COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATING MIR-122

(57)摘要

在此描述了用於抑制 miR-122 活性之組合物和方法。該等組合物具有產生 miR-122 活性有效抑制劑的某些核苷修飾。該等化合物可以包含共軛物以促進向肝臟遞送。可以向被丙型肝炎病毒感染的受試者給藥該等組合物作為用於丙型肝炎病毒和相關病狀之治療。

A



B

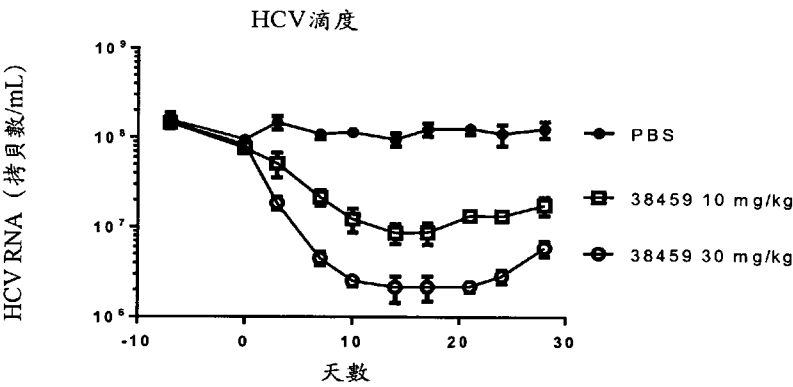


圖5



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201446791 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 12 月 16 日

(21)申請案號：103115662

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 04 月 30 日

(51)Int. Cl.：

C07H21/00 (2006.01)

A61K31/7125 (2006.01)

A61K47/48 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

(30)優先權：2013/05/01 美國

61/818,432

2013/05/10 美國

61/822,112

2013/06/26 美國

61/839,550

2013/10/25 美國

61/895,784

2013/11/01 美國

61/898,704

2014/01/15 美國

61/927,897

(71)申請人：雷格勒斯治療公司 (美國) REGULUS THERAPEUTICS INC. (US)

美國

(72)發明人：巴特 巴克里辛 BHAT, BALKRISHEN (IN)；霍根 丹尼爾 HOGAN, DANIEL (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：114 項 圖式數：9 共 180 頁

(54)名稱

用於調節 MIR-122 之微小 RNA 化合物及方法

MICRORNA COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATING MIR-122

(57)摘要

在此描述了用於抑制 miR-122 活性之組合物和方法。該等組合物具有產生 miR-122 活性有效抑制劑的某些核苷修飾。該等化合物可以包含共軛物以促進向肝臟遞送。可以向被丙型肝炎病毒感染的受試者給藥該等組合物作為用於丙型肝炎病毒和相關病狀之治療。

發明摘要

※ 申請案號：103115662

※ 申請日：103 4 20

C07H21/00 (2006.01)
※IPC分類：A61K31/215 (2006.01)
A61K47/48 (2006.01)
A61P31/14 (2006.01)

【發明名稱】

用於調節MIR-122之微小RNA化合物及方法

MICRORNA COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATING MIR-122

【中文】

在此描述了用於抑制miR-122活性之組合物和方法。該等組合物具有產生miR-122活性有效抑制劑的某些核苷修飾。該等化合物可以包含共軛物以促進向肝臟遞送。可以向被丙型肝炎病毒感染的受試者給藥該等組合物作為用於丙型肝炎病毒和相關病狀之治療。

【英文】

Described herein are compositions and methods for the inhibition of miR-122 activity. The compositions have certain nucleoside modifications that yield potent inhibitors of miR-122 activity. The compounds may comprise conjugates to facilitate delivery to the liver. The compositions may be administered to subjects infected with hepatitis C virus, as a treatment for hepatitis C virus and related conditions.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第 (5) 圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

(無元件符號說明)

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

(無)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

用於調節 MIR-122 之微小 RNA 化合物及方法

MICRORNA COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATING MIR-122

【技術領域】

在此提供了用於調節 miR-122 的活性之化合物和方法。此類方法包括治療與 miR-122 活性相關之疾病，如 HCV 感染。

【先前技術】

微小 RNA (MicroRNA 或 microRNA) 又稱為“成熟微小 RNA”，係為在植物和動物的基因組中編碼之小型 (長度為大約 18 至 24 個核苷酸) 非編碼 RNA 分子。在某些情況下，高度保守的、內源性表現之微小 RNA 藉由結合特定 mRNA 的 3'-非翻譯區 (3'-UTR) 來調節基因之表現。已在植物和動物中鑒定出了多於 1000 種不同的微小 RNA。某些成熟微小 RNA 似乎起源於長的內源性初級微小 RNA 轉錄物 (又稱為初級微小 RNA、pri-mir、pri-miR 或初級先質微小 RNA)，該等長的內源性初級微小 RNA 轉錄物通常長度為數百個核苷酸 (李 (Lee) 等人，歐洲分子生物學雜誌 (EMBO J.)，2002，21(17)，4663-4670)。

miR-122 係一種在肝臟中豐富並且特異性表現之微小 RNA，它係丙型肝炎病毒積聚的關鍵宿主因數 (喬普林 (Jopling) 等人，科學雜誌 (Science.) 2005，309(5740)，1577-81)。miR-122 藉由結合 HCV 基因組的 5'非編碼區

中的兩個緊密間隔的種子序列位點與 HCV 相互作用，從而引起 HCV 基因組的穩定化，支持複製和轉錄（詹格拉（Jangra）等人，病毒學雜誌（J Virol.），2010，84：6615-6625；Machlin 等人，2011）。重要的是，miR-122 結合位點在所有基因型和亞型之 HCV 基因組中是完全保守的（威爾遜（Wilson）等人，病毒學雜誌，2011，85：2342-2350）。用抗 miR 抑制 miR-122 引起小鼠和食蟹猴體內的總循環膽固醇水平降低以及參與膽固醇體內平衡、脂肪酸和脂質代謝的基因的表現變化（以撒（Esau）等人，2006，細胞代謝（Cell Metabolism），3：87-98）。在慢性 HCV 感染的黑猩猩中，每週靜脈內給藥抗 miR 來長久和可逆性地壓制 HCV RNA 水平並且降低總血清膽固醇（蘭德福（Lanford）等人，2010，科學雜誌，327：198-201）。在慢性治療原生 HCV 感染之患者中，抗 miR-122 治療導致血清 HCV RNA 降低，因此證明了臨床概念驗證（proof-of-concept）。

丙型肝炎（HCV）係黃病毒科中的一嗜肝性 RNA 病毒，並且除了引起 HCV 感染以外，還是慢性肝病和肝細胞癌的主要病因。目前的標準護理治療（聚乙二醇化干擾素與病毒唑組合）對於許多患者耐受不良，並且在一些患者中可以具有低達 50% 之反應率。當前已有若干種直接作用型抗病毒 NS3 蛋白酶抑制劑被批准用於 HCV 感染患者，然而在 HCV 中出現抗性突變需要使用另外的藥劑進行治療。正在開發的療法包括 NS3/4A 蛋白酶抑制劑、NS5A 蛋白抑制劑、核苷/核苷酸 NS5B 聚合酶抑制劑以及非核苷 NS5B 抑制劑。然而，仍需要另外的療法來治療感染個體，該等感染個體對目前的治療沒有反

應、在成功治療之後復發或對一種或多種目前使用的藥物具有低耐受性。對抗病毒療法的抗性係與 HCV 的高突變率相關之主要問題，並且甚至在用藉由多種機制起作用的藥物的組合時也可見到。因此，靶向保守的、突變抗性病毒宿主因數（如 miR-122）之療法代表了實現更高和更持久的治癒速率之機會。

【發明內容】

在此提供了包含經修飾之寡核苷酸之化合物，該經修飾之寡核苷酸由 16 至 22 個連接之核苷組成，其中該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與 miR-122（SEQ ID NO: 1）互補並且其中該經修飾之寡核苷酸包含以 5'至 3'方向具有以下核苷型態 I 之至少 16 個連續核苷：



其中每個 R 獨立地是非雙環核苷或雙環核苷；

X 係 4 至 10；

每個 N^B 獨立地是雙環核苷；

每個 N^Q 獨立地是非雙環核苷；

Y 係 0 或 1；並且

N^Z 係經修飾核苷或未經修飾核苷。

在某些實施方式中，在此提供的化合物包含經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸包含具有核苷型態 I 之至少 16 個、至少 17 個、至少 18 個、至少 19 個、至少 20 個、至少 21 個或 22 個連續核苷。

在某些實施方式中，每個雙環核苷獨立地選自 LNA 核苷、cEt 核苷和 ENA 核苷。在某些實施方式中，至少兩個雙環核苷彼此不同。在某些實施方式中，所有雙環核苷具有與另一個雙環核苷相同的糖部分。在某些實施方式中，每個雙環核苷係 cEt 核苷。在某些實施方式中，cEt 核苷係 S-cEt 核苷。在某些實施方式中，cEt 核苷係 R-cEt 核苷。在某些實施方式中，每個雙環核苷係 LNA 核苷。

在某些實施方式中，至少兩個非雙環核苷包含彼此不同的糖部分。在某些實施方式中，每個非雙環核苷具有相同類型的糖部分。在某些實施方式中，每個非雙環核苷獨立地選自 β -D-去氧核糖核苷、 β -D-核糖核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-甲氧基乙基核苷以及 2'-氟核苷。在某些實施方式中，每個非雙環核苷獨立地選自 β -D-去氧核糖核苷和 2'-O-甲氧基乙基核苷。在某些實施方式中，每個非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。在某些實施方式中，每個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷。在某些實施方式中，不多於兩個非雙環核苷是 2'-MOE 核苷，其中每個其他非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。在某些實施方式中，最 5'端和最 3'端的非雙環核苷係 2'-MOE 核苷，並且每個其他非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。在某些實施方式中，兩個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷，並且每個其他非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。

在某些實施方式中，每個 R 係 2'-MOE 核苷。在某些實施方式中，X 係 4、5、6、7、8、9 或 10。在某些實施方式中，Y 係 0。在某些實施方式中，Y 係 1。

在某些實施方式中，X 係 7，每個 R 係 2'-O-甲氧基乙基核苷，每個 N^B 係 S-cEt 核苷，每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷，並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，X 係 4； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ，其中每個 N^{R1} 和 N^{R3} 係 S-cEt 核苷並且每個 N^{R2} 和 N^{R4} 係 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1；並且 N^Z 係 β -D-去氧核糖核苷。

在某些實施方式中，X 係 4； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ，其中 N^{R1} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷並且每個 N^{R2} 和 N^{R3} 係 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1；並且 N^Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷。

在某些實施方式中，X 係 7； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 和 N^{R4} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R5} 和 N^{R7} 各自是 β -D-去氧核糖核苷，並且 N^{R6} 係 S-cEt 核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，X 係 7； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 和 N^{R5} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R6} 係 S-cEt 核苷，並且 N^{R7} 係 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，X 係 7； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷，並且 N^{R7} 係

β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，X 係 10； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}-N^{R8}-N^{R9}-N^{R10}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R7} 和 N^{R9} 各自是 S-cEt 核苷； N^{R8} 和 N^{R10} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，X 係 10； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}-N^{R8}-N^{R9}-N^{R10}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R7} 和 N^{R9} 各自是 S-cEt 核苷；並且 N^{R8} 和 N^{R10} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1 並且 N_Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷。

在某些實施方式中，X 係 4； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ，其中 N^{R1} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷，並且 N^{R2} 和 N^{R3} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1 並且 N^Z 係 β -D-去氧核糖核苷。

在某些實施方式中，X 係 4； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ，其中 N^{R1} 係 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R2} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷，並且 N^{R3} 係 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1 並且 N^Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷。

在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與 miR-122 之核鹼基序列 (SEQ ID NO: 1) 至少 90%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至

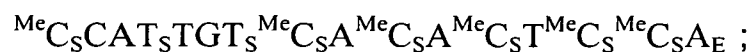
少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%互補。

在某些實施方式中，其中至少一個核苷間鍵聯係經修飾之核苷間鍵聯，或其中每個核苷間鍵聯係經修飾之核苷間鍵聯，並且可隨意地，其中該經修飾核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列選自 SEQ ID NO: 3 至 SEQ ID NO: 6，其中每個 T 獨立地選自 T 和 U。

在某些實施方式中，相對於 miR-122 的核鹼基序列，該經修飾之寡核苷酸具有 0、1、2 或 3 個錯配。

在某些實施方式中，一種化合物具有以下結構：



其中上標“Me”表明 5-甲基胞嘧啶；後面沒有下標的核苷係 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“E”的核苷係 2'-MOE 核苷；後面有下標“S”的核苷係 S-cEt

核苷；並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

在一些實施方式中，一種化合物具有以下結構：



其中後面沒有下標的核苷係 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“S”的核苷係 S-cEt 核苷；並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在一些此類實施方式中，該化合物係化合物 38591、38633、38998 或 38634。

在此提供的任何該等化合物都可以包含連接至該經修飾之寡核苷酸 5' 末端或 3' 末端上之共軛部分。在某些實施方式中，該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸的 3' 末端上之共軛部分。在某些實施方式中，該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸的 5' 末端上之共軛部分。在某些實施方式中，該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸的 3' 末端上的第一共軛部分和連接至該經修飾之寡核苷酸的 5' 末端上之第二共軛部分。在某些實施方式中，該共軛部分包含選自以下之至少一個配位基：碳水化合物、膽固醇、脂質、磷脂、抗體、脂蛋白、激素、肽、維生素、類固醇以及陽離子性脂質。

在某些實施方式中，一化合物具有結構 L_n -接頭-MO，其中每個 L 獨立地是配位基，並且 n 係從 1 至 10；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中，一化合物具有結構 L_n -接頭-X-MO，其中每個 L 獨立地是配位基，並且 n 係從 1 至 10；X 係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

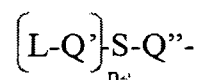
在某些實施方式中，一化合物具有結構 L_n -接頭- X_1 - N_m - X_2 -MO，其中每

個 L 獨立地是配位基，並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；X₁ 和 X₂ 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中，一化合物具有結構 L_n-接頭-X-N_m-Y-MO，其中每個 L 獨立地是配位基，並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；X 係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中，一化合物具有結構 L_n-接頭-Y-N_m-Y-MO，其中每個 L 獨立地是配位基，並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；每個 Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中，如果 n 大於 1，則 L_n-接頭具有以下結構：

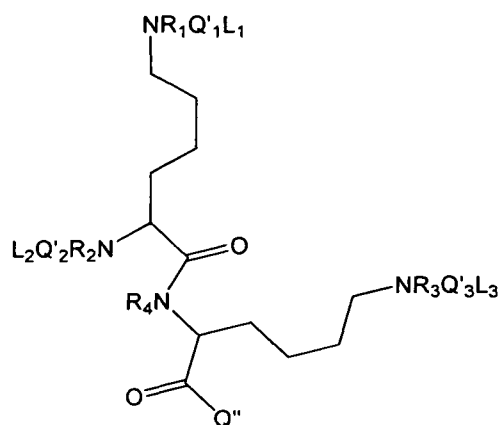


其中每個 L 獨立地是配位基；n 係從 1 至 10；S 係骨架；並且 Q' 和 Q'' 獨立地是連接基團。

在某些實施方式中，Q' 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、C₁-C₂₀ 烷基、取代的 C₁-C₂₀ 烷基、C₂-C₂₀ 烯基、取代的 C₂-C₂₀ 烯基、C₂-C₂₀ 炔基、取代的 C₂-C₂₀ 炔基、C₁-C₂₀ 烷氧基、取代的 C₁-C₂₀ 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。

在某些實施方式中，一骨架將 2、3、4 或 5 個配位基連接至經修飾之寡核苷酸上。在某些實施方式中，一骨架將 3 個配位基連接至經修飾之寡核苷酸上。

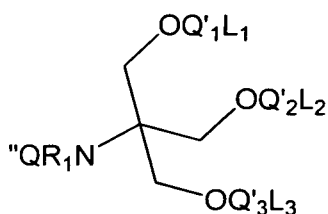
非限制性之示例性結構 E 係結構 E(i)：



其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自選自 H 和甲基。

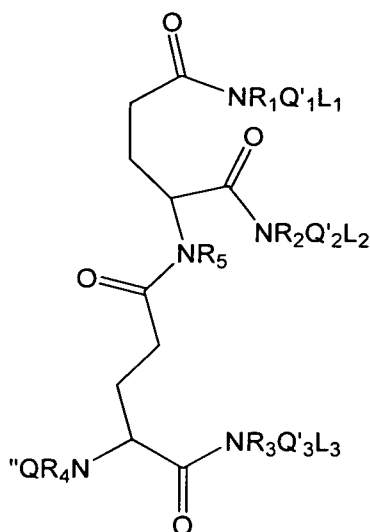
另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(ii)：



其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 係 H 或甲基。

另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(iii)：

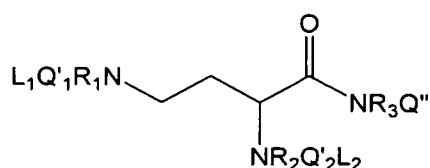


其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_5 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的

C₁-C₆ 烷基。

在一些實施方式中，Q'₁、Q'₂、Q'₃ 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、C₁-C₂₀ 烷基、取代的 C₁-C₂₀ 烷基、C₂-C₂₀ 烯基、取代的 C₂-C₂₀ 烯基、C₂-C₂₀ 炔基、取代的 C₂-C₂₀ 炔基、C₁-C₂₀ 烷氧基、取代的 C₁-C₂₀ 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中，R₁、R₂、R₃、R₄ 和 R₅ 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中，R₁、R₂、R₃、R₄ 和 R₅ 各自選自 H 和甲基。

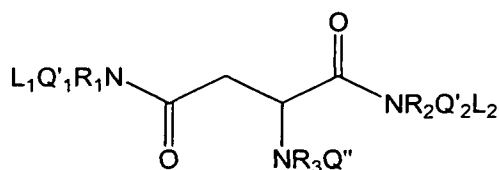
另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(iv)：



其中 L₁ 和 L₂ 各自獨立地是配位基；Q'₁、Q'₂ 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R₁、R₂ 和 R₃ 各自獨立地選自 H、C₁-C₆ 烷基和取代的 C₁-C₆ 烷基。

在一些實施方式中，Q'₁、Q'₂ 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、C₁-C₂₀ 烷基、取代的 C₁-C₂₀ 烷基、C₂-C₂₀ 烯基、取代的 C₂-C₂₀ 烯基、C₂-C₂₀ 炔基、取代的 C₂-C₂₀ 炔基、C₁-C₂₀ 烷氧基、取代的 C₁-C₂₀ 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中，R₁、R₂ 和 R₃ 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中，R₁、R₂ 和 R₃ 各自選自 H 和甲基。

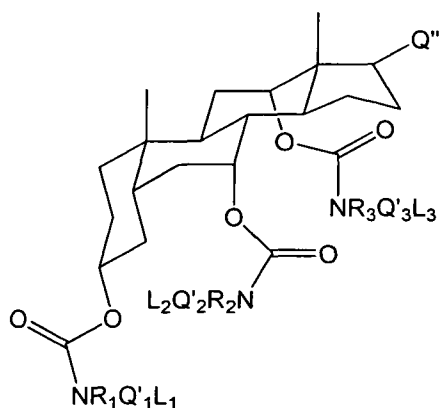
另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(v)：



其中 L_1 和 L_2 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自選自 H 和甲基。

另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(vi)：

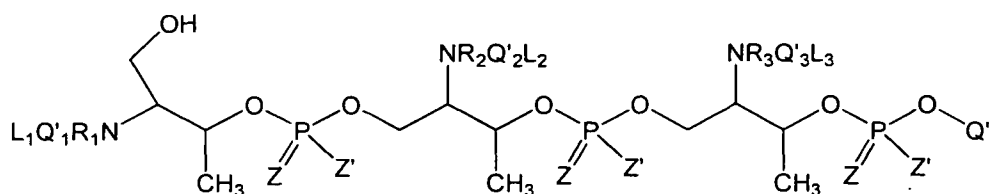


其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷

基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自選自 H 和甲基。

另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(vii)：

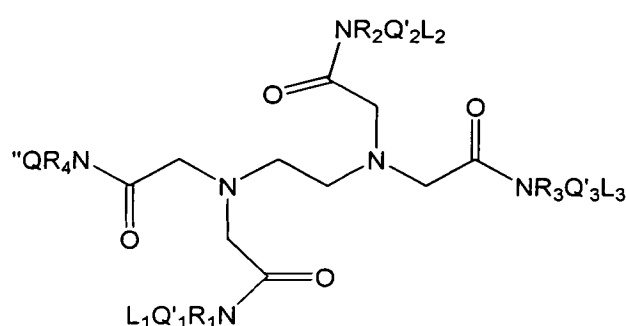


其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基；並且 Z 和 Z' 各自獨立地選自 O 和 S。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。

基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自選自 H 和甲基。在一些實施方式中，在至少一個 P 原子上的 Z 或 Z' 係 S，並且另一個 Z 或 Z' 係 O (即，硫代磷酸酯鍵)。在一些實施方式中，每個-OP(Z)(Z')O-都是硫代磷酸酯鍵。在一些實施方式中，在至少一個 P 原子上的 Z 和 Z' 均是 O (即，磷酸二酯鍵)。在一些實施方式中，每個-OP(Z)(Z')O-都是磷酸二酯鍵。

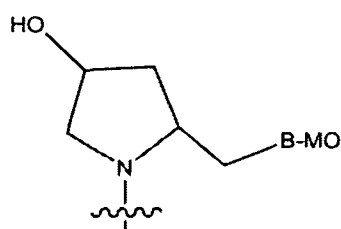
另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(viii)：



其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自選自 H 和甲基。

例如 PCT 公開號 WO 2013/033230；美國專利號 8,106,022 B2；美國公開號 2012/0157509 A1；美國專利號 5,994,517；美國專利號 7,491,805 B2；美國專利號 8,313,772 B2；馬諾哈蘭馬 (Manoharan, M.)，第 16 章，反義藥物技術 (Antisense Drug Technology)，斯汀克魯克 (Crooke, S.T.)、馬塞爾德克爾 (Marcel Dekker) 公司，2001，391-469 描述了非限制性之示例性骨架和/或包含骨架之接頭及其合成。



在某些實施方式中，一化合物具有以下結構：

其中：

B 選自 -O-、-S-、-N(R^N)-、-Z-P(Z')(Z'')O-、-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X- 以及 -Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-；

MO 係經修飾之寡核苷酸；

R^N 選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基以及苯甲基；

Z、Z' 和 Z'' 各自獨立地選自 O 和 S；

每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷；

m 係從 1 至 5；

X 選自磷酸二酯鍵和硫代磷酸酯鍵；

Y 係磷酸二酯鍵；並且

波形線表明連接至這個或該等接頭和配位基的其餘部分。

在某些實施方式中，X 係磷酸二酯鍵。

在某些實施方式中，n 係從 1 至 5、1 至 4、1 至 3、或 1 至 2。在某些實施方式中，n 係 3。

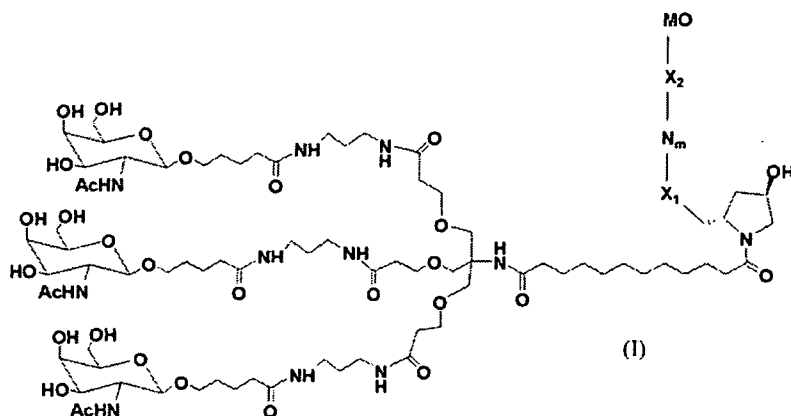
在某些實施方式中，至少一個配位基係碳水化合物。

在某些實施方式中，至少一個配位基選自：甘露糖、葡萄糖、半乳糖、核糖、阿拉伯糖、果糖、岩藻糖、木糖、D-甘露糖、L-甘露糖、D-半乳糖、L-半乳糖、D-葡萄糖、L-葡萄糖、D-核糖、L-核糖、D-阿拉伯糖、L-阿拉伯糖、D-果糖、L-果糖、D-岩藻糖、L-岩藻糖、D-木糖、L-木糖、 α -D-呋喃甘露糖、 β -D-呋喃甘露糖、 α -D-呋喃葡萄糖、 β -D-呋喃葡萄糖、 α -D-呋喃半乳糖、 β -D-呋喃半乳糖、 α -D-呋喃核糖、 β -D-呋喃核糖、 α -D-呋喃果糖、 β -D-呋喃果糖、葡萄糖胺、半乳糖胺、唾液酸、N-乙酰基半乳糖胺。

在某些實施方式中，至少一個配位基選自：N-乙酰基半乳糖胺、半乳糖、半乳糖胺、N-甲基半乳糖胺、N-丙基半乳糖胺、N-正丁基半乳糖胺以及 N-異丁基半乳糖胺。

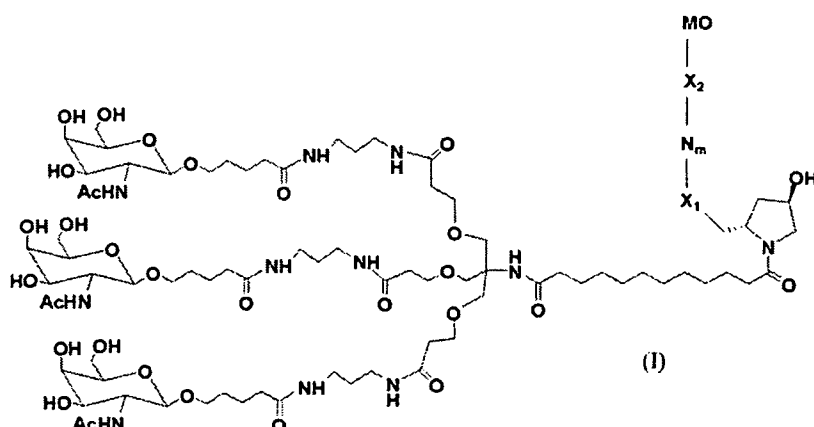
在某些實施方式中，每個配位基都是 N-乙酰基半乳糖胺。

在某些實施方式中，一化合物具有以下結構：



其中每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5； X_1 和 X_2 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中，在此提供之化合物包含經修飾之核苷酸和共軛部分，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $C_L C_{A_L} T T G_L T_L C A C_L A C_L T C_L C_L$ ，其中下標“L”表明 LNA 並且後面沒有下標的核苷係 β -D-去氧核糖核苷，並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯，並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸 3' 末端上並且具有以下結構：



其中每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5； X_1 和 X_2 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中， X_1 和 X_2 中的至少一個係磷酸二酯鍵。在某些實施方

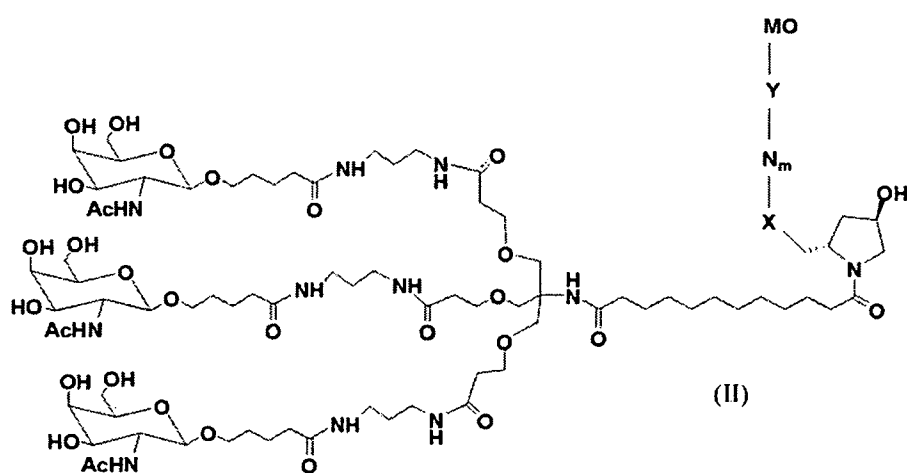
式中， X_1 和 X_2 各自是磷酸二酯鍵。在某些實施方式中， m 係 1。在某些實施方式中， m 係 2、3、4 或 5。

在某些實施方式中， N_m 係 N'_pN'' ，其中每個 N' 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 p 係從 0 至 4；並且 N'' 係包含未經修飾之糖部分的核苷。在某些實施方式中， p 係 0。在某些實施方式中， p 係 1、2、3 或 4。

在某些實施方式中，每個 N' 包含未經修飾之糖部分。在某些實施方式中，每個未經修飾之糖部分獨立地是 β -D-核糖或 β -D-去氧核糖。在某些實施方式中， N'' 包含嘌呤核鹼基。在某些實施方式中， N'' 包含嘧啶核鹼基。在某些實施方式中，至少一個 N' 包含嘌呤核鹼基。在某些實施方式中，每個嘌呤核鹼基獨立地選自：腺嘌呤、鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤以及 7-甲基鳥嘌呤。在某些實施方式中， N'' 係 β -D-去氧核糖腺苷或 β -D-去氧核糖鳥苷。在某些實施方式中，至少一個 N' 包含嘧啶核鹼基。在某些實施方式中，每個嘧啶核鹼基獨立地選自：胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶以及 5,6-二氫尿嘧啶。

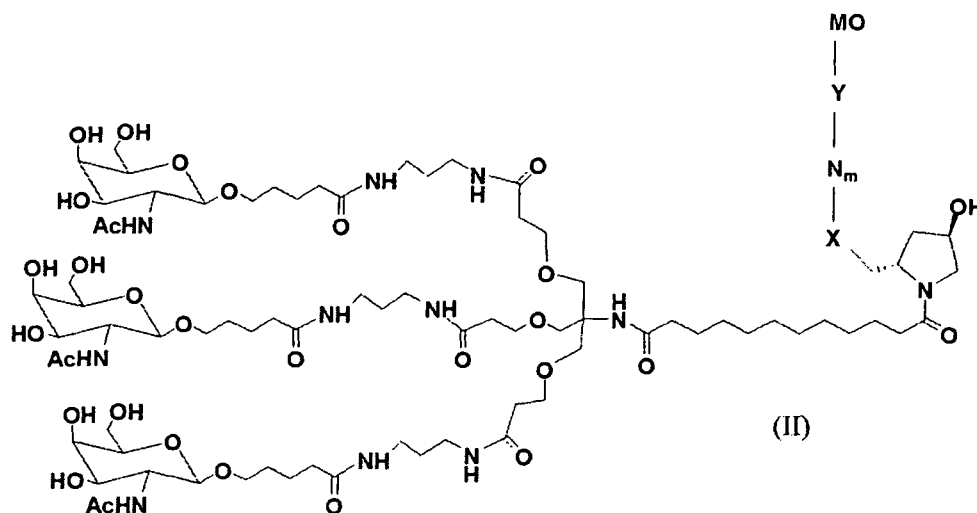
在此描述的任何該等實施方式中，每個 N 之糖部分獨立地選自： β -D-核糖、 β -D-去氧核糖、2'-O-甲氧基糖、2'-O-甲基糖、2'-氟糖以及雙環糖部分。在某些實施方式中，每個雙環糖部分獨立地選自 cEt 糖部分、LNA 糖部分以及 ENA 糖部分。在某些實施方式中，cEt 糖部分係 S-cEt 糖部分。在某些實施方式中，cEt 糖部分係 R-cEt 糖部分。在此描述的任何實施方式中，每個 N 之糖部分可以獨立地選自 β -D-核糖、 β -D-去氧核糖以及 2'-氟糖。

在此提供了包含修飾的核苷酸和共軛部分之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $A_E^{Me}C_EA_E^{Me}C_E^{Me}C_EA_ET_E TGU_S C_S A C_S A C_S T C_S C_S$ ，其中後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷，後面有下標“E”之核苷係 2'-MOE 核苷，後面有下標“S”之核苷係 S-cEt 核苷，並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯；並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸的 3' 末端上並且具有以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N 係 β -D-去氧核糖腺苷；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在此提供了包含經修飾之核苷酸和共軛部分之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $C_L C A_L T T G_L T_L C A C_L A C_L T C_L C_L$ ，其中下標“L”表明 LNA 並且後面沒有下標的核苷係 β -D-去氧核糖核苷，並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯，並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸之 3' 末端上並且具有以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N 係 β -D-去氧核糖腺苷；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。在一些實施方式中，所有 C_L 核苷都是 $^{Me}C_L$ 核苷，其中上標“Me”表明 5-甲基胞嘧啶。

在此提供了抑制細胞中 miR-122 的活性之方法，該等方法包括使細胞與在此提供的任何化合物相接觸。在某些實施方式中，細胞係在體內之細胞。在某些實施方式中，細胞係在體外。

在此提供了向 HCV 感染的受試者給藥在此提供的任何化合物之方法。在某些實施方式中，該給藥減少了 HCV 感染的症狀。在某些實施方式中，該給藥防止了血清 HCV RNA 的回升。在某些實施方式中，該給藥延緩了血清 HCV RNA 之回升。在某些實施方式中，選擇具有 HCV 感染之受試者用於使用在此提供的化合物進行治療。在某些實施方式中，HCV 感染的受試者被選自以下的一種或多種 HCV 基因型感染：基因型 1、基因型 2、基因型 3、基因型 4、基因型 5 以及基因型 6。在某些實施方式中，在給藥在此提供之化合物之前，確定該受試者被選自以下的一種或多種 HCV 基因型感染：基因型

1、基因型 2、基因型 3、基因型 4、基因型 5 以及基因型 6。在某些實施方式中，該 HCV 基因型選自：基因型 1a、基因型 1b、基因型 2a、基因型 2b、基因型 2c、基因型 2d、基因型 3a、基因型 3b、基因型 3c、基因型 3d、基因型 3e、基因型 3f、基因型 4a、基因型 4b、基因型 4c、基因型 4d、基因型 4e、基因型 4f、基因型 4g、基因型 4h、基因型 4i、基因型 4j、基因型 5a 以及基因型 6a。在某些實施方式中，該 HCV 基因型選自基因型 1a、基因型 1b 和基因型 2。

這裡提供的任何方法都可以包括給藥至少一種另外的治療劑。在某些實施方式中，該至少一種治療劑選自：蛋白酶抑制劑、聚合酶抑制劑、輔助因數抑制劑、RNA 聚合酶抑制劑、結構蛋白抑制劑、非結構蛋白抑制劑、親環蛋白抑制劑、進入抑制劑、TLR7 激動劑以及干擾素。在某些實施方式中，該至少一種治療劑選自：蛋白酶抑制劑、NS5A 抑制劑、NS3/4A 抑制劑、核苷 NS5B 抑制劑、核苷酸 NS5B 抑制劑、非核苷 NS5B 抑制劑、親環蛋白抑制劑以及干擾素。在某些實施方式中，該至少一種治療劑選自：干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、干擾素 alfacon-1、聚乙二醇干擾素 α -2b、聚乙二醇干擾素 α -2a、緩釋型干擾素 α -2b、干擾素 λ 、索非布韋 (sofosbuvir)、利巴韋林 (ribavirin)、特拉普韋 (telaprevir)、波普瑞韋 (boceprevir)、伐尼普韋 (vaniprevir)、阿森那普韋 (asunaprevir)、利托那韋 (ritonavir)、斯約伯韋 (setrobuvir)、迪卡拉斯他韋 (daclastavir)、斯密普韋 (simeprevir)、阿拉泊韋 (alisporivir)、麥瑞斯他濱 (mericitabine)、替格布韋

(tegobuvir)、丹諾普韋 (danoprevir)、索伐普韋 (sovalprevir) 以及尼塞普韋 (neceprevir)。在某些實施方式中，該至少一種治療劑選自：干擾素、利巴韋林和特拉普韋。

在某些實施方式中，受試者被對至少一種治療劑有抗性之 HCV 變體感染。在某些實施方式中，受試者被對直接作用型抗病毒劑有抗性之 HCV 變體感染。在某些實施方式中，受試者被對選自以下的至少一種治療劑有抗性之 HCV 變體感染：蛋白酶抑制劑、聚合酶抑制劑、輔助因數抑制劑、RNA 聚合酶抑制劑、結構蛋白抑制劑、非結構蛋白抑制劑以及親環蛋白抑制劑。在某些實施方式中，受試者被對選自以下的至少一種治療劑有抗性之 HCV 變體感染：蛋白酶抑制劑、NS5A 抑制劑、NS3/4A 抑制劑、核苷 NS5B 抑制劑、核苷酸 NS5B 抑制劑、非核苷 NS5B 抑制劑以及親環蛋白抑制劑。在某些實施方式中，受試者被對選自以下的至少一種治療劑有抗性的 HCV 變體感染：索非布韋、利巴韋林、特拉普韋、波普瑞韋、伐尼普韋、阿森那普韋、利托那韋、斯約伯韋、迪卡拉斯他韋、斯密普韋、阿拉泊韋、麥瑞斯他濱、替格布韋、丹諾普韋、索伐普韋以及尼塞普韋。

在某些實施方式中，HCV 感染之受試者係對至少一種治療劑無反應者。在某些實施方式中，HCV 感染之受試者係干擾素無反應者。在某些實施方式中，HCV 感染之受試者係直接作用型抗病毒性無反應者。

在此提供之任何該等方法都可以包括選擇具有每毫升血清大於 350,000 個拷貝的 HCV RNA 水平的受試者。在某些實施方式中，受試者具有每毫升

血清在 350,000 個與 3,500,000 個拷貝之間之 HCV RNA 水平。在某些實施方式中，受試者具有每毫升血清大於 3,500,000 個拷貝之 HCV RNA 水平。

在某些實施方式中，HCV 感染之受試者具有 HCV 相關性疾病。在某些實施方式中，HCV 相關性疾病係肝硬化、肝纖維化、脂肪性肝炎、脂肪變性或肝細胞癌。

在某些實施方式中，HCV 感染之受試者具有不是 HCV 相關性疾病的一種或多種疾病。在某些實施方式中，HCV 感染的受試者被一種或多種除 HCV 以外的病毒感染。在某些實施方式中，HCV 感染之受試者被人免疫缺陷病毒（HIV）感染。在某些實施方式中，在此提供的該等方法包括給藥另外的治療劑，該另外的治療劑係在治療 HIV 感染中使用之抗病毒劑。在某些實施方式中，另外的治療劑係非核苷逆轉錄酶抑制劑（NNRTIs）。在某些實施方式中，另外的治療劑係核苷逆轉錄酶抑制劑（NRTIs）。在某些實施方式中，另外的治療劑係蛋白酶抑制劑。在某些實施方式中，另外的治療劑係進入抑制劑或融合抑制劑。在某些實施方式中，另外的治療劑係整合酶抑制劑。在某些實施方式中，另外的治療劑選自：依法韋侖（efavirenz）、依曲韋林（etravirine）、奈韋拉平（nevirapine）、阿巴卡韋（abacavir）、恩曲他濱（emtricitabine）、替諾福韋（tenofovir）、拉米夫定（lamivudine）、齊多夫定（zidovudine）、阿紮那韋（atazanavir）、地瑞那韋（darunavir）、福沙那韋（fosamprenavir）、利托那韋、恩夫韋地（enfuvirtide）、馬拉威諾（maraviroc）以及雷特格韋（raltegravir）。

在此提供的任何該等方法都可以包括給藥足以降低 HCV RNA 水平之劑量之化合物。在某些實施方式中，該給藥劑量之化合物使 HCV RNA 水平降低至每毫升血清 40 個拷貝以下。在某些實施方式中，該給藥劑量的化合物實現 HCV RNA 水平降低至少 2 個對數。在某些實施方式中，給藥在此提供的化合物實現了持續的病毒反應。在某些實施方式中，該給藥劑量的化合物足以實現 HCV RNA 水平降低至少 0.5 倍、至少 1.0 倍、至少 1.5 倍、至少 2.0 倍或至少 2.5 倍。在某些實施方式中，在第一次給藥該化合物兩週、三週、四週、五週或六週之後實現 HCV RNA 水平降低。在某些實施方式中，每週一次、每兩週一次、每三週一次、每四週一次或每月一次給藥在此提供的化合物。在某些實施方式中，每兩個月一次或每三個月一次給藥在此提供的化合物。在一些實施方式中，每四週一次給藥在此提供之化合物。

在某些實施方式中，所給藥化合物的劑量係小於或等於每週 5 mg/kg、小於或等於 5 mg/kg、小於或等於 4.5 mg/kg、小於或等於 4.0 mg/kg、小於或等於 3.5 mg/kg、小於或等於 3.0 mg/kg、小於或等於 2.5 mg/kg、小於或等於 2.0 mg/kg、小於或等於 1.5 mg/kg、或小於或等於 1.0 mg/kg。在某些實施方式中，化合物的給藥劑量在 1 mg/kg 至 5 mg/kg、或 1 mg/kg 至 4 mg/kg、或 2 mg/kg 至 5 mg/kg、或 2 mg/kg 至 4 mg/kg 範圍內。在某些實施方式中，所給藥化合物的劑量係小於或等於 10 mg/kg、小於或等於 7.5 mg/kg、小於或等於每週 10 mg/kg、或小於或等於每週 7.5 mg/kg。

在某些實施方案中，給藥在此提供之化合物使肝酶水平正常化，其中該

肝酶可隨意地是丙胺酸轉胺酶。

在此提供之任何該等實施方式中，該化合物存在於藥物組合物中。

在此提供了用於治療 HCV-感染之受試者之化合物。

在某些實施方式中，受試者係人。

【圖式簡單說明】

圖 1A 和 1B. 抗 miR-122 修飾之寡核苷酸之體內效力。(A) 在指定劑量下單次給藥化合物之後抗 miR-122 作用之起效和持續時間。(B) 在指定劑量下單次劑量之抗 miR-122 化合物七天后 ALDOA 之去阻抑。

圖 2. 包含三個 GalNAc 配位基的共軛部分之結構。

圖 3A、3B 和 3C. 共軛的經修飾之寡核苷酸結構。

圖 4A、4B 和 4C. GalNAc 共軛的抗 miR-122 修飾之寡核苷酸之體內效力。

圖 5A 和 5B. 反義抑制 miR-122 減小了 HCV 滴度。

圖 6A 和 6B. GalNAc 共軛的抗 miR-122 修飾之寡核苷酸之體內效力。

圖 7A 和 7B. GalNAc 共軛的抗 miR-122 修飾之寡核苷酸之體內效力。

圖 8A 和 8B. GalNAc 共軛的抗 miR-122 修飾之寡核苷酸之體內效力。

圖 9A 和 9B. 抗 miR-122 化合物之藥物動力學。

【實施方式】

除非以另外方式定義，否則在此使用的所有技術和科學術語具有與本發

明所屬的領域之普通技術人員通常理解相同之含義。除非提供了具體定義，否則與在此描述的分析化學、合成有機化學以及醫學和藥物化學結合使用之術語以及其程序和技術係本領域中熟知並且通常使用的。針對在此之術語存在多個定義情況下，此部分中之定義優先。化學合成、化學分析、藥物製備、配製和遞送以及治療受試者可以使用標準技術。某些此類技術和程序可以例如在桑薇 (Sangvi) 和科克 (Cook) 編輯的“反義研究中的碳水化合物修飾 (Carbohydrate Modifications in Antisense Research) ”，美國化學學會 (American Chemical Society)，華盛頓哥倫比亞特區 (Washington D.C.)，1994；和“雷明頓的藥物科學 (Remington's Pharmaceutical Sciences)”，麥克出版有限公司 (Mack Publishing Co.)，伊斯頓 (Easton)，賓夕法尼亞州 (Pa.)，第 18 版，1990 中找到；並且出於任何目的，該等參考文件特此藉由引用結合。在允許的情況下，貫穿在此的整個揭露內容所涉及的所有的專利、專利申請、公佈的申請案及出版物、GENBANK 序列、網站以及其他公開的材料，除非另外指出，否則藉由引用以其全部內容結合。應當理解，在提及 URL 或其他此類識別符或位址的情況下，此類識別符會變化，並且網際網路上之具體資訊也會變化，但是等效資訊可以藉由搜索網際網路來找到。如此提及證明了此種資訊的可用性和公眾傳播。

在揭露及描述本發明之該等組合物和方法之前，應當理解在此使用之術語僅是出於描述具體實施方式之目的而不欲具有限制性。必須指出，如在說明書和所附申請專利範圍中所使用，單數形式“一/一個/一種 (a/an)”和“該

(the) ”包括複數個指示物，除非上下文另外清楚地指明。

定義

“HCV 感染”意指被丙型肝炎病毒的一種或多種基因型感染。

“HCV 感染的受試者”意指已被丙型肝炎病毒的一種或多種基因型感染之受試者。HCV 感染的受試者可能或可能不展現出 HCV 感染之症狀。HCV 感染之受試者包括已被 HCV 的一種或多種基因型感染之受試者，但是該受試者的血液中之 HCV RNA 係在可檢測水平以下。

“HCV 相關性疾病”意指由 HCV 感染所介導的病理性過程。HCV 相關性疾病包括但不限於肝硬化、肝纖維化、脂肪性肝炎以及肝細胞癌。

“血液 HCV RNA”意指存在於 HCV 感染之受試者血液中之丙型肝炎病毒 RNA。血液包括全血和血清。

“血清 HCV RNA 回升”意指在先前 HCV RNA 水平降低之後之 HCV RNA 水平增加。

“HCV RNA 水平”意指在給定體積之受試者血液中之 HCV RNA 之量。HCV RNA 水平可以表達為每毫升之 RNA 拷貝數。“HCV RNA 水平”也可以稱為“HCV 病毒載量”或“HCV RNA 滴度”。

“持續之病毒反應”意指在治療之整個過程結束時和在另外六個月後受試者血液中之丙型肝炎病毒 RNA 不可檢測。在某些實施方式中，HCV RNA 在每毫升血液 40 個拷貝以下被認為是不可檢測的。

“無反應者”意指已接受治療但是沒有經歷疾病標誌或症狀上的臨床上可

接受的改善之受試者。

“干擾素無反應者”意指已接受用干擾素治療但是沒有經歷 HCV RNA 水平上的臨床上可接受的降低的 HCV 感染之受試者。

“直接作用型抗病毒劑”意指抑制 HCV 酶之活性之藥劑。

“直接作用型抗病毒性無反應者”意指已接受用直接作用型抗病毒劑治療但是沒有經歷 HCV RNA 水平上之臨床上可接受的降低的 HCV 感染之受試者。在某些實施方式中，病毒已發展出對該直接作用型抗病毒劑之抗性。

“miR-122 相關性病狀”意指可以藉由調節 miR-122 來治療、預防或改善的任何疾病、病症或病狀。miR-122 相關性疾病不需要特徵在於過量的 miR-122。miR-122 相關性疾病包括但不限於 HCV 感染、膽固醇升高和鐵負載過高病症。

“鐵負載過高病症”意指特徵在於身體內的鐵過量之任何疾病、病症或病狀。“受試者”意指選擇用於治療或療法之人或非人動物。

“有需要之受試者”意指被鑒定為有療法或治療需要之受試者。

“疑似患有之受試者”意指展現出疾病的一個或多個臨床指標之受試者。

“給藥”意指向受試者提供藥劑或組合物，並且包括但不限於由醫學專家給藥和自給藥。

“腸胃外給藥”意指藉由注射或輸注給藥。腸胃外給藥包括但不限於皮下給藥、靜脈內給藥和肌肉內給藥。

“皮下給藥”意指在皮膚下方給藥。

“靜脈內給藥”意指給藥進入靜脈中。

“同時給藥”係指以任何方式向受試者共同給藥兩種或更多種藥劑，其中每種藥劑的藥理學作用都存在於受試者體內。同時給藥不要求以單一的藥物組合物、以相同劑型或藉由相同的給藥途徑來給藥兩種藥劑。這兩種藥劑的作用不需要同時存在。該等作用僅需要一段時間重疊並且不需要共延。

“持續時間”意指活性或事件持續的一段時間。在某些實施方式中，治療持續時間係給藥多個劑量的藥劑或藥物組合物的一段時間。

“療法”意指疾病治療方法。在某些實施方式中，療法包括但不限於化學療法、放射療法或給藥藥劑。

“治療”意指施加用於治癒或改善疾病的一種或多種特定程序。在某些實施方式中，該特定程序係給藥一種或多種藥劑。

“改善”意指減輕病狀或疾病的至少一個指標之嚴重性。在某些實施方式中，改善包括延緩或減慢病狀或疾病的一個或多個指標之進展。可以藉由熟習該項技術者已知的主觀測量或客觀測量來確定指標之嚴重性。

“處於發展之風險”意指受試者易於發展病狀或疾病之狀態。在某些實施方式中，處於發展病狀或疾病的風險的受試者展現出該病狀或疾病的一種或多種症狀，但是沒有展現出診斷患有該病狀或疾病的足夠數量之症狀。在某些實施方式中，處於發展病狀或疾病的風險的一受試者展現出該病狀或疾病的或多種症狀，但達到診斷該病狀或疾病所要求的更小程度。

“預防發作”意指在處於發展該疾病或病狀的風險的一受試者中預防病狀

或疾病之發展。在某些實施方式中，處於發展該疾病或病狀的風險的受試者接受與已經患有該疾病或病狀的受試者所接受的治療類似的治療。

“延緩發作”意指在處於發展該疾病或病狀的風險的受試者中延緩病狀或疾病之發展。在某些實施方式中，處於發展該疾病或病狀的風險之受試者接受與已經患有該疾病或病狀的受試者所接受的治療類似之治療。

“治療劑”意指用於治癒、改善或預防疾病之藥劑。

“劑量”意指在單次給藥中提供的藥劑之指定量。在某些實施方式中，劑量可以兩個或更多個大丸劑、片劑或注射劑形式給藥。例如，在某些實施方式中，在希望皮下給藥的情況下，所希望的劑量要求不是藉由單次注射容易地提供之體積。在此類實施方式中，可以使用兩次或更多次注射達到所希望之劑量。在某些實施方式中，劑量可以兩次或更多次注射給藥以使個體體內之注射部位反應減到最小。在某些實施方式中，劑量藉由緩慢輸注給藥。

“劑量單位”意指提供藥劑的形式。在某些實施方式中，劑量單位係含有凍乾寡核苷酸之小瓶。在某些實施方式中，劑量單位係含有復原寡核苷酸之小瓶。

“治療有效量”係指對動物提供治療益處之藥劑之量。

“藥物組合物”意指包括藥劑的適合用於向個體給藥的物質之混合物。例如，藥物組合物可以包含無菌水溶液。

“藥劑”意指當向受試者給藥時提供治療作用之物質。

“活性藥物成分”意指藥物組合物中提供希望的作用之物質。

“改善的器官功能”意指趨向于正常限制之器官功能變化。在某些實施方式中，藉由測量存在於受試者的血液或尿液中的分子來評價器官功能。例如，在某些實施方式中，藉由血液肝轉胺酶水平降低來測量改善之肝功能。在某些實施方式中，藉由血液尿素氮減少、蛋白尿減少、清蛋白尿減少等來測量改善之腎功能。

“可接受的安全性特徵”意指處於臨床上可接受的限制之內的副作用之型態。

“副作用”意指除希望之作用以外的可歸因於治療之生理反應。在某些實施方式中，副作用包括但不限於：注射部位反應、肝功能測試異常、腎功能異常、肝毒性、腎毒性、中樞神經系統異常以及肌病。此類副作用可以被直接或間接檢測。例如，血清中的轉胺酶水平增加可以表明肝毒性或肝功能異常。例如，膽紅素增加可以表明肝毒性或肝功能異常。

“注射部位反應”意指在個體注射部位處之皮膚之炎症或異常發紅。

“受試者依從性”意指受試者對建議或規定的療法之順從性。

“遵從”意指受試者對建議之療法順從。

“建議之療法”意指醫學專家建議的治療、改善、延緩或預防疾病之治療。

“miR-122”意指具有核鹼基序列 UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG (SEQ ID NO: 1) 的微小 RNA。

“miR-122 莖環”意指具有核鹼基序列

CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUAAACUA
 UCAAACGCCAUUAUCACACUAAAUAGCUACUGCUAGGC (SEQ ID NO:
 2) 之微小 RNA 先質。

“抗 miR”意指具有與微小 RNA 互補之核鹼基序列之寡核苷酸。在某些實施方式中，抗 miR 係經修飾之寡核苷酸。

“抗 miR-122”意指具有與 miR-122 互補之核鹼基序列之寡核苷酸。在某些實施方式中，抗 miR-122 與 miR-122 完全互補（即，100%互補）。在某些實施方式中，抗 miR-122 係至少 90%、至少 93%、至少 94%、至少 95%或 100%互補。在某些實施方式中，抗 miR-122 係經修飾之寡核苷酸。

“靶核酸”意指低聚化合物被設計與其進行雜交之核酸。

“靶向”意指將與靶核酸雜交的核鹼基序列的設計和選擇過程。

“對.....靶向”意指具有將允許與靶核酸雜交的核鹼基序列。

“調節”意指干擾功能、量或活性。在某些實施方式中，調節意指功能、量或活性增加。在某些實施方式中，調節意指功能、量或活性減少。

“表現”意指基因之編碼資訊轉變成存在於細胞中並且在細胞中起作用之結構所借助之任何功能和步驟。

“5' 靶位點”意指與特定寡核苷酸之最 3'端核鹼基互補的靶核酸之核鹼基。

“3' 靶位點”意指與特定寡核苷酸之最 5'端核鹼基互補的靶核酸之核鹼基。

“區”意指核酸內的連接的核苷的一部分。在某些實施方式中，寡核苷酸

具有與靶核酸的區互補的核鹼基序列。例如，在某些此類實施方式中，寡核苷酸與微小 RNA 序列的區互補。在某些此類實施方式中，寡核苷酸與微小 RNA 的區完全互補。

“區段”意指區的較小或子部分。

“核鹼基序列”意指無關任何糖、鍵聯和/或核鹼基修飾，典型地以 5' 至 3' 方向列出的低聚化合物或核酸中的連續核鹼基之順序。

“連續核鹼基”意指在核酸中彼此緊鄰之核鹼基。

“核鹼基互補性”意指兩個核鹼基經由氫鍵結非共價配對之能力。

“互補”意指一個核酸能夠與另一個核酸或寡核苷酸雜交。在某些實施方式中，互補係指寡核苷酸能夠與靶核酸雜交。

“完全互補”意指寡核苷酸的每個核鹼基能夠與靶核酸中的每個對應位置上之核鹼基配對。在某些實施方式中，寡核苷酸與微小 RNA 完全互補，即，該寡核苷酸的每個核鹼基與該微小 RNA 中的對應位置上的核鹼基互補。在某些實施方式中，其中每個核鹼基與微小 RNA 序列的區內的核鹼基互補之寡核苷酸與該微小 RNA 序列完全互補。

“互補性百分比”意指寡核苷酸中與靶核酸的等長部分互補之核鹼基百分比。藉由將該寡核苷酸中與該靶核酸中的對應位置上之核鹼基互補之核鹼基數除以該寡核苷酸中的核鹼基總數來計算互補性百分比。

“同一性百分比”意指第一核酸中與第二核酸中的對應位置上的核鹼基相同的核鹼基數除以該第一核酸中的核鹼基總數。在某些實施方式中，該第一

核酸係微小 RNA 並且該第二核酸係微小 RNA。在某些實施方式中，該第一核酸係寡核苷酸並且該第二核酸係寡核苷酸。

“雜交”意指藉由核鹼基互補性發生的互補核酸之退火。

“錯配”意指第一核酸中不能夠與第二核酸的對應位置上之核鹼基發生沃森-克里克 (Watson-Crick) 配對之鹼基。

在核鹼基序列背景下的“相同”意指無關糖、鍵聯和/或核鹼基修飾和無關存在的任何嘧啶之甲基狀態，具有相同核鹼基序列。

“微小 RNA”意指長度介於 18 與 25 個之間的核鹼基之內源性非編碼 RNA，該內源性非編碼 RNA 係由酶 Dicer 裂解先質微小 RNA 的產物。成熟的微小 RNA 的實例可在稱為 miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/>) 的微小 RNA 數據庫中找到。在某些實施方式中，微小 RNA 縮寫為“微小 RNA”或“miR”。

“先質微小 RNA”或“先質 miR”意指具有髮夾結構之非編碼 RNA，該非編碼 RNA 係由稱為 Drosha 的雙股 RNA 特異性核糖核酸酶裂解先質 miR 之產物。

“莖環序列”意指具有髮夾結構並且含有成熟微小 RNA 序列之 RNA。先質微小 RNA 序列和莖環序列可以重疊。莖環序列的實例可在稱為 miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/>) 的微小 RNA 數據庫中找到。

“初級微小 RNA”或“初級 miR”意指具有髮夾結構的非編碼 RNA，該非編碼 RNA 係雙股 RNA 特異性核糖核酸酶 Drosha 的底物。

“微小 RNA 先質”意指起源于基因組 DNA 並且包含含有一個或多個微小 RNA 序列非編碼結構 RNA 之轉錄物。例如，在某些實施方式中，微小 RNA 先質係先質微小 RNA。在某些實施方式中，微小 RNA 先質係初級微小 RNA。

“微小 RNA 調節的轉錄物”意指由微小 RNA 調節之轉錄物。

“單順反子轉錄物”意指含有單個微小 RNA 序列之微小 RNA 先質。

“多順反子轉錄物”意指含有兩個或更多個微小 RNA 序列之微小 RNA 先質。

“種子序列”意指包含成熟微小 RNA 序列之 5'-末端之核鹼基 1 至 9 之 6 至 8 個連續核鹼基的核鹼基序列。

“種子匹配序列”意指與種子序列互補並且長度與該種子序列相同之核鹼基序列。

“低聚化合物”意指包含多個連接的單體亞單元之化合物。低聚化合物包括寡核苷酸。

“寡核苷酸”意指包含多個連接的核苷的化合物，該等連接之核苷可以各自獨立地是經修飾或未經修飾的。

“天然存在的核苷間鍵聯”意指核苷之間的 3'至 5'磷酸二酯鍵。

“天然糖”意指在 DNA (2'-H) 或 RNA (2'-OH) 中發現之糖。

“核苷間鍵聯”意指相鄰核苷之間之共價鍵。

“連接的核苷”意指藉由共價鍵聯接之核苷。

“核鹼基”意指能夠與另一個核鹼基非共價配對的雜環部分。

“核苷”意指連接至糖部分之核鹼基。

“核苷酸”意指具有共價連接至核苷的糖部分的磷酸酯基團之核苷。

“包含由許多連接的核苷組成的經修飾之寡核苷酸之化合物”意指包括具有指定數目的連接的核苷的經修飾之寡核苷酸之化合物。因此，該化合物可以包括另外的取代基或共軛物。除非另外指明，否則該化合物不包括超出該經修飾之寡核苷酸之核苷之任何另外的核苷。

“經修飾之寡核苷酸”意指相對於天然存在的末端、糖、核鹼基和/或核苷間鍵聯具有一個或多個經修飾之寡核苷酸。經修飾之寡核苷酸可以包含未修飾的核苷。

“單股經修飾之寡核苷酸”意指不與互補股雜交的經修飾之寡核苷酸。

“修飾的核苷”意指與天然存在的核苷相比具有任何變化的核苷。修飾的核苷可以具有經修飾之糖和未經修飾之核鹼基。經修飾之核苷可以具有經修飾之糖和經修飾之核鹼基。經修飾之核苷可以具有天然糖和經修飾之核鹼基。在某些實施方式中，經修飾之核苷係雙環核苷。在某些實施方式中，經修飾之核苷係非雙環核苷。

“2'-修飾之核苷”意指當位置係在 2-去氧核糖或核糖中編號時，包含在等效於呋喃糖基環的 2' 位置之位置上具有任何經修飾之糖之核苷。應當理解，2'-修飾的核苷包括但不限於包含雙環糖部分的核苷。

“經修飾之核苷間鍵聯”意指與天然存在的核苷間鍵聯相比的任何變化。

“硫代磷酸酯核苷間鍵聯”意指其中非橋聯原子之一係硫原子之核苷之間的鍵聯。“硫代磷酸酯鍵”意指具有與硫代磷酸酯核苷間鍵聯例如-OP(O)(S)O-相同結構的兩個化學部分之間之鍵聯。

“磷酸二酯鍵”意指具有與磷酸二酯核苷間鍵聯例如-OP(O)₂O-相同結構的兩個化學部分之間之鍵聯。

“未經修飾之核鹼基”意指 RNA 或 DNA 的天然存在的雜環鹼基：嘌呤鹼基腺嘌呤 (A) 和鳥嘌呤 (G)；以及嘧啶鹼基胸腺嘧啶 (T)、胞嘧啶 (C) (包括 5-甲基胞嘧啶) 和尿嘧啶 (U)。

“5-甲基胞嘧啶”意指包含連接至 5 位置上的甲基之胞嘧啶。

“非甲基化的胞嘧啶”意指不具有連接至 5 位置上的甲基之胞嘧啶。

“經修飾之核鹼基”意指不是未經修飾之核鹼基之任何核鹼基。

“呋喃糖基”意指包含由四個碳原子和一個氧原子組成的 5 員環之結構。

“天然存在的呋喃糖基”意指如在天然存在的 RNA 中發現的呋喃核糖基或如在天然存在的 DNA 中發現的呋喃去氧核糖基。

“糖部分”意指天然存在的呋喃糖基或經修飾之糖部分。

“經修飾之糖部分”意指取代的糖部分或糖替代物。

“取代的糖部分”意指不是天然存在的呋喃糖基之呋喃糖基。取代的糖部分包括但不限於在天然存在的呋喃糖基的 2'-位置、5'-位置和/或 4'-位置上包含修飾的糖部分。某些取代的糖部分係雙環糖部分。

“糖替代物”意指不包含呋喃糖基並且能夠替代核苷的天然存在的呋喃糖

基之結構，這樣使得所得到的核苷能夠 (1) 結合到寡核苷酸中並且 (2) 與互補核苷進行雜交。此類結構包括該呋喃糖基相對簡單之變化，如環包含不同的原子數（例如，4 員環、6 員環或 7 員環）；該呋喃糖基的氧置換為非氧原子（例如，碳、硫或氮）；或原子數和氧置換這兩種變化。此類結構還可以包含與針對取代的糖部分所描述的那些取代相對應之取代（例如，6 元碳環雙環糖替代物可隨意地包含另外的取代基）。糖替代物還包括更複雜之糖置換（例如，肽核酸的非環體系）。糖替代物包括但不限於咪啉化合物、環己烯化合物和環己六醇化合物。

“ β -D-去氧核糖”意指天然存在的 DNA 糖部分。

“ β -D-核糖”意指天然存在的 RNA 糖部分。

“2'-O-甲基糖”或“2'-OMe 糖”意指在 2' 位置上具有 O-甲基修飾的糖。

“2'-O-甲氧基乙基糖”或“2'-MOE 糖”意指在 2' 位置上具有 O-甲氧基乙基修飾的糖。

“2'-O-氟基”或“2'-F”意指在 2' 位置上具有氟基修飾的糖。

“雙環糖部分”意指包含 4 至 7 員環的經修飾之糖部分（包括但不限於呋喃糖基），該經修飾之糖部分包含連接該 4 至 7 員環的兩個原子之橋聯以形成第二環，從而產生雙環結構。在某些實施方式中，該 4 至 7 員環係糖環。在某些實施方式中，該 4 至 7 員環係呋喃糖基。在某些此類實施方式中，該橋聯連接該呋喃糖基的 2'-碳和 4'-碳。非限制的示例性雙環糖部分包括 LNA、ENA、cEt、S-cEt 和 R-cEt。

“鎖核酸 (LNA) 糖部分”意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含 $(\text{CH}_2)\text{-O}$ 橋聯的取代的糖部分。

“ENA 糖部分”意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含 $(\text{CH}_2)_2\text{-O}$ 橋聯的取代的糖部分。

“約束乙基 (cEt) 糖部分”意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯之取代的糖部分。在某些實施方式中，該 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯約束為 S 方向。在某些實施方式中，該 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯約束為 R 方向。

“S-cEt 糖部分”意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含 S-約束的 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯之取代的糖部分。

“R-cEt 糖部分”意指在 4'呋喃糖環原子與 2'呋喃糖環原子之間包含 R-約束的 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$ 橋聯之取代的糖部分。

“2'-O-甲基核苷”意指具有 2'-O-甲基糖修飾的經修飾之核苷。

“2'-O-甲氧基乙基核苷”意指具有 2'-O-甲氧基乙基糖修飾的經修飾之核苷。2'-O-甲氧基乙基核苷可以包含經修飾或未經修飾之核鹼基。

“2'-氟核苷”意指具有 2'-氟基糖修飾的經修飾之核苷。2'-氟核苷可以包含經修飾或未經修飾之核鹼基。

“雙環核苷”意指具有雙環糖部分的經修飾之核苷。雙環核苷可以具有經修飾或未經修飾之核鹼基。

“cEt 核苷”意指包含 cEt 糖部分之核苷。cEt 核苷可以包含經修飾或未經修飾之核鹼基。

“S-cEt 核苷”意指包含 S-cEt 糖部分之核苷。

“R-cEt 核苷”意指包含 R-cEt 糖部分之核苷。

“非雙環核苷”意指具有除雙環糖以外的糖之核苷。在某些實施方式中，非雙環核苷包含天然存在的糖。在某些實施方式中，非雙環核苷包含經修飾之糖。在某些實施方式中，非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。在某些實施方式中，非雙環核苷係 2'-O-甲氧基乙基核苷。

“ β -D-去氧核糖核苷”意指天然存在的 DNA 核苷。

“ β -D-核糖核苷”意指天然存在的 RNA 核苷。

“LNA 核苷”意指包含 LNA 糖部分的核苷。

“ENA 核苷”意指包含 ENA 糖部分的核苷。

“基序”意指寡核苷酸中的經修飾和/或未經修飾的核鹼基、糖和/或核苷間鍵聯之型態。在某些實施方式中，基序係核苷型態。

“核苷型態”意指在經修飾之寡核苷酸或其區中的核苷修飾之型態。核苷型態係描述核苷修飾在寡核苷酸中的排列之基序。

“完全經修飾之寡核苷酸”意指每個核鹼基、每種糖和/或每個核苷間鍵聯都被修飾。

“均一經修飾之寡核苷酸”意指每個核鹼基、每種糖和/或每個核苷間鍵聯在整個該經修飾之寡核苷酸中具有相同修飾。

“穩定性修飾”意指在核酸酶存在下，相對於藉由由磷酸二酯核苷間鍵聯連接的 2'-去氧核苷提供之穩定性，為經修飾之寡核苷酸提供增強的穩定性的

對核苷之修飾。例如，在某些實施方式中，穩定性修飾係穩定性核苷修飾。

在某些實施方式中，穩定性修飾係核苷間鍵聯修飾。

“穩定性核苷”意指相對於 2'-去氧核苷提供之核酸酶穩定性，被修飾以對寡核苷酸提供增強的核酸酶穩定性之核苷。在一個實施方式中，穩定性核苷係 2'-修飾之核苷。

“穩定性核苷間鍵聯”意指相對於磷酸二酯核苷間鍵聯提供之核苷酶穩定性，為寡核苷酸提供提高的核酸酶穩定性之核苷間鍵聯。在一個實施方式中，穩定性核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

如在此所使用的“連接基團”係指經由一個或多個共價鍵將第一化學實體連接至第二化學實體的原子或原子團。

如在此所使用的“接頭”係指經由一個或多個共價鍵將一個或多個配位基連接至經修飾或未經修飾之核苷的原子或原子團。該經修飾或未經修飾之核苷可以是如在此所描述的經修飾之寡核苷酸之部分，或可以藉由磷酸二酯或硫代磷酸酯鍵連接至經修飾之寡核苷酸。在一些實施方式中，該接頭將一個或多個配位基連接至經修飾之寡核苷酸之 3'末端。在一些實施方式中，該接頭將一個或多個配位基連接至經修飾之寡核苷酸之 5'末端。在一些實施方式中，該接頭將一個或多個配位基連接至經修飾或未經修飾之核苷，該經修飾或未經修飾之核苷被連接至經修飾之寡核苷酸之 3'末端。在一些實施方式中，該接頭將一個或多個配位基連接至經修飾或未經修飾之核苷，該經修飾或未經修飾之核苷被連接至經修飾之寡核苷酸之 5'末端。當該接頭將一個或

多個配位基連接至經修飾之寡核苷酸之 3' 末端或被連接至經修飾之寡核苷酸之 3' 末端的經修飾或未經修飾之核苷時，在一些實施方式中，該接頭的連接點可以是修飾或未經修飾之糖部分之 3' 碳。當該接頭將一個或多個配位基連接至經修飾之寡核苷酸之 5' 末端或被連接至經修飾之寡核苷酸之 5' 末端的經修飾或未經修飾之核苷時，在一些實施方式中，該接頭的連接點可以是修飾或未經修飾之糖部分之 5' 碳。

綜述

為了鑒定 miR-122 之有效抑制劑，設計並且合成了許多抗 miR-122 化合物。該等化合物包含長度以及雙環核苷和非雙環核苷之數目、位置以及特性不同的經修飾之寡核苷酸。在體外螢光素酶測定中測試一系列初始化合物，該體外螢光素酶測定將一個子集的化合物鑒定為體外活性化合物。然後在體內測定中測試該等體外活性化合物以鑒定作為體內 miR-122 的有效抑制劑的那些化合物。藉由初始的體外和體內篩選，某些化合物被選擇為用於設計另外的化合物之基礎。實驗觀察到的結構與活性之間的相關性（在體外和在體內兩者中）用來為該等另外化合物的設計提供資訊，其中另外在長度和雙環與非雙環核苷的選擇和安排方面有所變化。對該等另外化合物重複進行該等體外和體內篩選測定。還測試了某些化合物的其他特性，例如對核酸外切酶活性的敏感性、組織積累和組織半衰期。

在這個過程中體外篩選的超過 400 種化合物中，大約 150 種化合物被鑒定為在體外螢光素酶測定中具有活性。進一步評估大約 70 種該等化合物之體

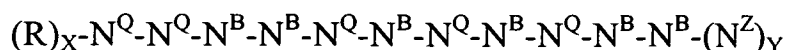
內效力和安全性。藉由設計和篩選化合物的這種反復過程，觀察到某些化合物（未共軛的抗 miR-122 修飾之寡核苷酸和共軛的抗 miR-122 修飾之寡核苷酸兩者）係體內 miR-122 的有效抑制劑。因此，該等化合物適用於調節由 miR-122 的活性促進之細胞過程。另外，此類化合物適用於治療、預防和/或延緩與 miR-122 相關的疾病發作。此類疾病包括但不限於 HCV 感染和 HCV 相關性併發症，如肝硬化、肝纖維化、脂肪性肝炎、脂肪變性以及肝細胞瘤。

某些抗 miR-122 化合物

在此提供了具有雙環和非雙環核苷的某些型態之經修飾之寡核苷酸。具有在此鑒定的該等型態的經修飾之寡核苷酸係 miR-122 活性之有效抑制劑。

在此說明的該等核苷型態各自以 5' 至 3' 方向示出。

在某些實施方式中，在此提供了包含由 16 至 22 個連接的核苷組成的經修飾之寡核苷酸的化合物，其中該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與 miR-122 (SEQ ID NO: 1) 互補，並且其中該經修飾之寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含具有以下核苷型態 I 之至少 16 個連續核苷：



其中每個 R 獨立地是非雙環核苷或雙環核苷；

X 係從 4 至 10；

每個 N^B 獨立地是雙環核苷；

每個 N^Q 獨立地是非雙環核苷；

Y 係 0 或 1；並且

N²係經修飾之核苷或未經修飾之核苷、非雙環核苷或雙環核苷。

在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸包含具有核苷型態 I 之至少 16 個、至少 17 個、至少 18 個、至少 19 個、至少 20 個、至少 21 個或 22 個連續核苷。

在某些實施方式中，每個雙環核苷獨立地選自 LNA 核苷、cEt 核苷和 ENA 核苷。

在某些實施方式中，至少兩個雙環核苷彼此不同。

在某些實施方式中，所有雙環核苷具有相同類型之糖部分。

在某些實施方式中，每個雙環核苷係 cEt 核苷。在某些實施方式中，該 cEt 核苷係 S-cEt 核苷。在某些實施方式中，該 cEt 核苷係 R-cEt 核苷。

在某些實施方式中，每個雙環核苷係 LNA 核苷。

在某些實施方式中，至少兩個非雙環核苷包含彼此不同之糖部分。在某些實施方式中，每個非雙環核苷具有相同類型之糖部分。

在某些實施方式中，每個非雙環核苷獨立地選自 β -D-去氧核糖核苷、 β -D-核糖核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-甲氧基乙基核苷以及 2'-氟核苷。在某些實施方式中，每個非雙環核苷獨立地選自 β -D-去氧核糖核苷和 2'-O-甲氧基乙基核苷。在某些實施方式中，每個非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。在某些實施方式中，每個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷。

在某些實施方式中，不多於兩個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷。在某些實施方式中，不多於兩個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷，並且每個其他非雙環核

苷係 β -D-去氧核糖核苷。

在某些實施方式中，5'-末端和 3'-末端的非雙環核苷係 2'-MOE 核苷，並且每個其他非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。

在某些實施方式中，兩個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷，並且每個其他非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。

在某些實施方式中，R 的每個核苷係 2'-MOE 核苷。

在某些實施方式中，X 係 4、5、6、7、8、9 或 10。

在某些實施方式中，Y 係 0。在某些實施方式中，Y 係 1。

在某些實施方式中，R 由七個連接之核苷組成，其中每個核苷係 2'-O-甲氧基乙基核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，R 由四個連接的核苷 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 組成，其中 N^{R1} 和 N^{R3} 各自是 S-cEt 核苷並且 N^{R2} 和 N^{R4} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1；並且 N^Z 係 β -D-去氧核糖核苷。

在某些實施方式中，R 由四個連接之核苷 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 組成，其中 N^{R1} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷並且 N^{R2} 和 N^{R3} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1；並且 N^Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷。

在某些實施方式中，R 由七個連接之核苷 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ 組

成，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 和 N^{R4} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R5} 和 N^{R7} 各自是 β -D-去氧核糖核苷，並且 N^{R6} 係 S-cEt 核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，R 由七個連接之核苷 N^{R1} - N^{R2} - N^{R3} - N^{R4} - N^{R5} - N^{R6} - N^{R7} 組成，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 和 N^{R5} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R6} 係 S-cEt 核苷，並且 N^{R7} 係 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，R 由七個連接之核苷 N^{R1} - N^{R2} - N^{R3} - N^{R4} - N^{R5} - N^{R6} - N^{R7} 組成，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷，並且 N^{R7} 係 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

在某些實施方式中，R 由十個連接之核苷 N^{R1} - N^{R2} - N^{R3} - N^{R4} - N^{R5} - N^{R6} - N^{R7} - N^{R8} - N^{R9} - N^{R10} 組成，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R7} 和 N^{R9} 各自是 S-cEt 核苷； N^{R8} 和 N^{R10} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0。

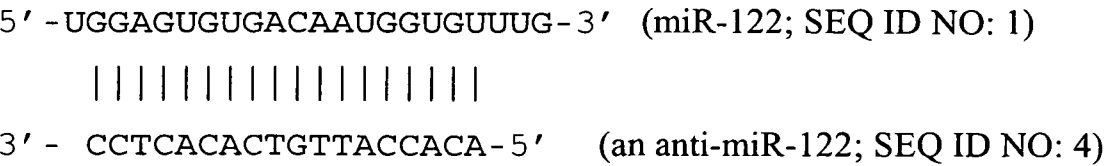
在某些實施方式中，R 由十個連接之核苷 N^{R1} - N^{R2} - N^{R3} - N^{R4} - N^{R5} - N^{R6} - N^{R7} - N^{R8} - N^{R9} - N^{R10} 組成，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R7} 和 N^{R9} 各自是 S-cEt 核苷；並且 N^{R8} 和 N^{R10} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1 並且 N_Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷。

在某些實施方式中，R 由四個連接之核苷 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 組成，其中 N^{R1} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷，並且 N^{R1} 和 N^{R3} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1 並且 N^Z 係 β -D-去氧核糖核苷。

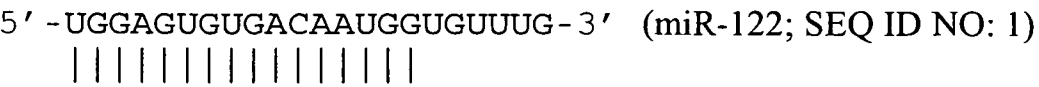
在某些實施方式中，R 由四個連接之核苷 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 組成，其中 N^{R1} 係 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R2} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷，並且 N^{R3} 係 β -D-去氧核糖核苷；每個 N^B 係 S-cEt 核苷；每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；Y 係 1 並且 N^Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷。

在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與 miR-122 的核鹼基序列 (SEQ ID NO: 1) 至少 90%、至少 93%、至少 94%、至少 95%或 100%互補。

在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與 miR-122 互補，這樣使得 SEQ ID NO: 1 的位置 2 與該寡核苷酸的 3'-末端核鹼基配對。例如：



在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與 miR-122 互補，這樣使得 SEQ ID NO: 1 的位置 1 與該寡核苷酸之 3'-末端核鹼基配對。例如：



3' -ACCTCACACTGTTACC-5' (an anti-miR-122; SEQ ID NO: 3); 以及

5' -UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG-3' (miR-122; SEQ ID NO: 1)

|||||

3' -TCCTCACACTGTTACCACAAAC-5' (an anti-miR-122; SEQ ID NO: 6)

在某些實施方式中，至少一個核苷間鍵聯係修飾之核苷間鍵聯。在某些實施方式中，每個核苷間鍵聯都是經修飾之核苷間鍵聯。在某些實施方式中，經修飾之核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸的至少一個嘧啶包含 5-甲基基團。在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸的至少一個胞嘧啶係 5-甲基胞嘧啶。在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸的每個胞嘧啶都是 5-甲基胞嘧啶。在某些實施方式中，包含胞嘧啶的每個修飾的核苷酸都包含 5-甲基胞嘧啶。在某些實施方式中，包含胞嘧啶的每個 2'-O-甲氧基乙基核苷都包含 5-甲基胞嘧啶。

在某些實施方式中，該經修飾之寡核苷酸的核鹼基序列選自 SEQ ID NO: 3 至 SEQ ID NO: 6，其中每個 T 獨立地選自 T 和 U。

在某些實施方式中，相對於 miR-122 之核鹼基序列，該經修飾之寡核苷酸具有 0、1、2 或 3 個錯配。在某些實施方式中，相對於 miR-122 之核鹼基序列，該經修飾之寡核苷酸具有 0 個錯配。在某些實施方式中，相對於 miR-122 之核鹼基序列，該經修飾之寡核苷酸具有 1 個錯配。在某些實施方式中，相對於 miR-122 之核鹼基序列，該經修飾之寡核苷酸具有 2 個錯配。

在在有些實施方式中，經修飾之寡核苷酸由多於 22 個連接之核苷組成，並且包含具有核苷型態 I 的至少 8 個連接之核苷。除了由核苷型態 I 描述的該等核苷以外的存在的核苷係經修飾或未經修飾的。

在有些實施方式中，經修飾之寡核苷酸由少於 16 個連接的核苷組成，並且包含具有核苷型態 I 的至少 8 個連接的核苷。

在有些實施方式中，經修飾之寡核苷酸具有如在表 1 中所示的核鹼基序列和修飾。核苷酸和核鹼基指明如下：上標“Me”表明 5-甲基胞嘧啶；後面沒有下標之核苷係 β-D-去氧核糖核苷；後面有下標“E”之核苷係 2’-MOE 核苷；後面有下標“S”之核苷係 S-cEt 核苷；並且每個核苷間鍵聯都是硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

表 1：抗 miR-122 化合物

化合物#	序列和修飾	SEQ ID NO
38649	A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E T _E TGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	4
38012	C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S A	3
38016	^{Me} C _S CAT _S TGT _S ^{Me} C _S A ^{Me} C _S A ^{Me} C _S T ^{Me} C _S ^{Me} C _S A _E	3
38646	A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E C ^{Me} _E CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	4
38647	A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E C ^{Me} _E A _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	4
38648	A ^{Me} _E C ^{Me} _E A ^{Me} _E C ^{Me} _E A _E TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	4
38652	^{Me} C _E A _E A _E A _E ^{Me} C _E A _E C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	5
38659	C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S T _E	3
38660	^{Me} C _E A _E A _E A _E ^{Me} C _E A _E C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S T _E	6
38872	C _S CAU _S TGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S A	3
38910	^{Me} C _E C _S AU _S TGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S A _E	3

在一些實施方式中，經修飾之寡核苷酸具有如下所示之核鹼基序列和修飾：

U_STGU_SC_SAC_SAC_STC_SC_SA_S；或



其中後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“S”之核苷係 S-cEt 核苷；並且每個核苷間鍵聯都是硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在一些此類實施方式中，化合物係 38591、38633、38998 或 38634。

包含共軛物的抗 *miR-122* 化合物

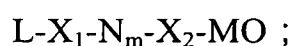
在某些實施方式中，在此提供的化合物包含共軛至一個或多個部分之經修飾之寡核苷酸，該一個或多個部分增強該寡核苷酸的活性、細胞分佈和/或細胞攝取。例如，可以藉由使用作為細胞表面受體的配位基的共軛物來實現化合物的細胞攝取增加。共軛至外源分子（例如，藥物）之配位基與它的細胞表面受體結合導致該共軛的分子內化，從而增強該外源分子的跨膜轉運。在此提供的任何該等抗 *miR-122* 修飾之寡核苷酸可以連接至一個或多個部分以形成包含共軛的抗 *miR-122* 修飾之寡核苷酸之化合物。

在某些實施方式中，在此提供的化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸之 5'末端或 3'末端之共軛部分。在某些實施方式中，該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸之 3'末端之共軛部分。在某些實施方式中，該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸之 5'末端之共軛部分。在某些實施方式中，該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸之 3'末端之第一共軛部分和連接至該經修飾之寡核苷酸的 5'末端之第二共軛部分。

在某些實施方式中，共軛部分包含選自以下的至少一個配位基：碳水化合物、膽固醇、脂質、磷脂、抗體、脂蛋白、激素、肽、維生素、類固醇或陽離子性脂質。

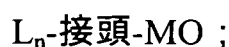
配位基可以藉由任何適合的接頭共價連接至經修飾之寡核苷酸上。各種接頭係本領域中已知的，並且例如在 PCT 公開號 WO 2013/033230 和美國專利號 8,106,022 B2 中描述了某些非限制的示例性接頭。在一些實施方式中，可以選擇在體內對酶裂解有抗性的接頭。在一些實施方式中，可以選擇在體內對水解裂解有抗性的接頭。在一些實施方式中，可以選擇將在體內經受酶裂解的接頭。在一些實施方式中，可以選擇將在體內經受水解裂解的接頭。

在某些實施方式中，包含在此描述的共軛的經修飾之寡核苷酸的化合物具有以下結構：



其中每個 L 係配位基；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5； X_1 和 X_2 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。在某些實施方式中，m 係 1。在某些實施方式中，m 係 2。在某些實施方式中，m 係 2、3、4 或 5。在某些實施方式中，m 係 3、4 或 5。在某些實施方式中，當 m 大於 1 時， N_m 的每個經修飾或未經修飾之核苷可以藉由磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接至 N_m 的相鄰的經修飾或未經修飾之核苷上。在某些實施方式中，m 係 1 並且 X_1 和 X_2 各自是磷酸二酯。

在某些實施方式中，包含在此描述的共軛的經修飾之寡核苷酸之化合物具有結構 A：



其中每個 L 獨立地是配位基並且 n 係從 1 至 10；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中，包含在此描述的共軛的經修飾之寡核苷酸之化合物具有結構 B：



其中每個 L 獨立地是配位基並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；X₁ 和 X₂ 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。在某些實施方式中，m 係 1。在某些實施方式中，m 係 2。在某些實施方式中，m 係 2、3、4 或 5。在某些實施方式中，m 係 3、4 或 5。在某些實施方式中，當 m 大於 1 時，N_m 的每個經修飾或未經修飾之核苷可以藉由磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接至 N_m 的相鄰的經修飾或未經修飾之核苷上。

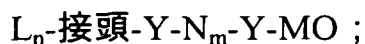
在某些實施方式中，包含在此描述的共軛的經修飾之寡核苷酸的化合物具有結構 C：



其中每個 L 獨立地是配位基並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；X 係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。在某些實施方式中，m 係 1。在某些實施方式中，m 係 2。在某些實施方式中，m 係 2、3、4 或 5。在某些實施方式中，m 係 3、4 或 5。在某些實施方式中，當 m 大於 1 時，N_m 的每個經修

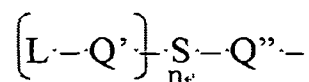
飾或未經修飾之核苷可以藉由磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接至 N_m 的相鄰的經修飾或未經修飾之核苷上。

在某些實施方式中，包含在此描述的共軛的經修飾之寡核苷酸的化合物具有結構 D：



其中每個 L 獨立地是配位基並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；每個 Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。在某些實施方式中，m 係 1。在一些實施方式中，m 係 2。在某些實施方式中，m 係 3、4 或 5。在某些實施方式中，m 係 2、3、4 或 5。在某些實施方式中，當 m 大於 1 時， N_m 的每個經修飾或未經修飾之核苷可以藉由磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接至 N_m 的相鄰的經修飾或未經修飾之核苷上。

在某些實施方式中，當 n 大於 1 時，該接頭包含能夠將多於一個 L 連接至該化合物的其餘部分上（即，連接至該經修飾之寡核苷酸（MO）上、連接至 $X_1\text{-N}_m\text{-X}_2\text{-MO}$ 上、連接至 $X\text{-N}_m\text{-Y-MO}$ 上，等等）之骨架。在一些此類實施方式中，該化合物（如結構 A、結構 B、結構 C 或結構 D 的化合物）的 L_n -接頭部分包含結構 E：

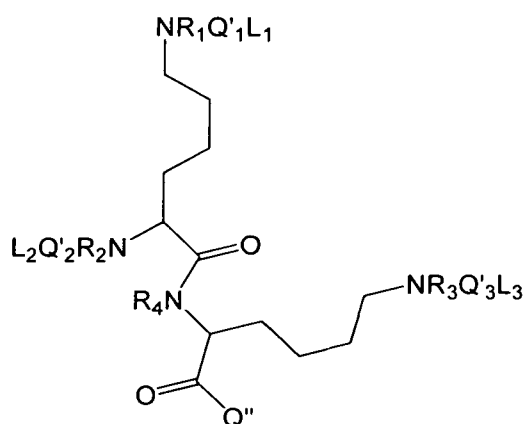


其中每個 L 獨立地是配位基；n 係從 1 至 10；S 係骨架；並且 Q' 和 Q'' 獨立地是連接基團。

在某些實施方式中，每個 Q' 和 Q'' 獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。

在某些實施方式中，骨架將 2、3、4 或 5 個配位基連接至經修飾之寡核苷酸上。在某些實施方式中，骨架將 3 個配位基連接至經修飾之寡核苷酸上。

一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(i)：

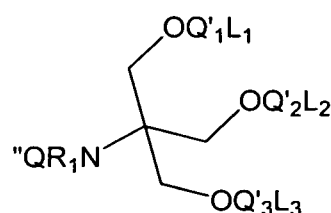


其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。

基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自選自 H 和甲基。

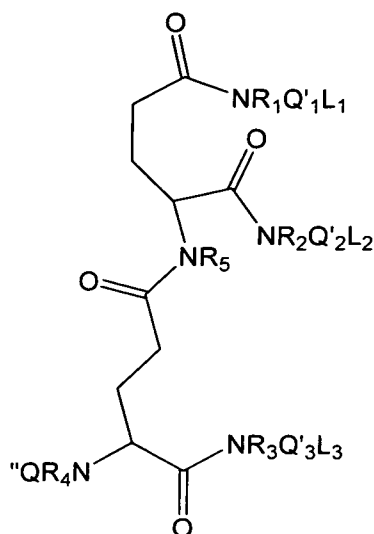
另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(ii)：



其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 係 H 或甲基。

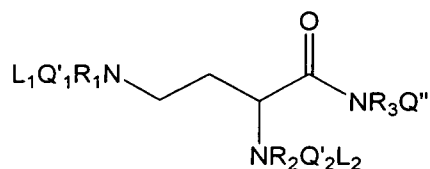
另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(iii)：



其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_5 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_5 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_5 各自選自 H 和甲基。

另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(iv)：

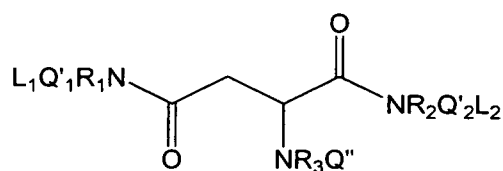


其中 L_1 和 L_2 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；

並且 R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自選自 H 和甲基。

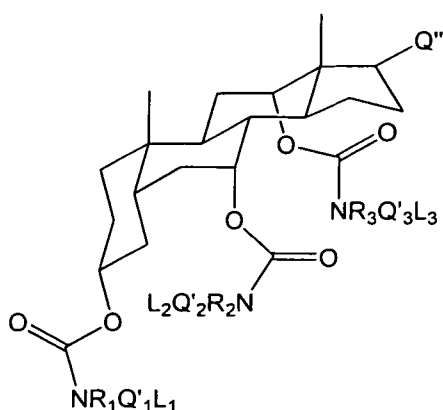
另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(v)：



其中 L_1 和 L_2 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自選自 H 和甲基。

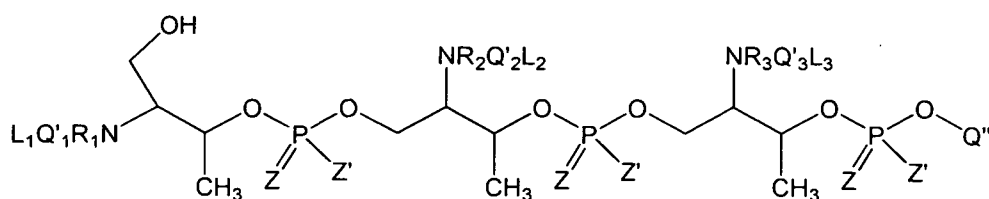
另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(vi)：



其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自選自 H 和甲基。

另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(vii)：

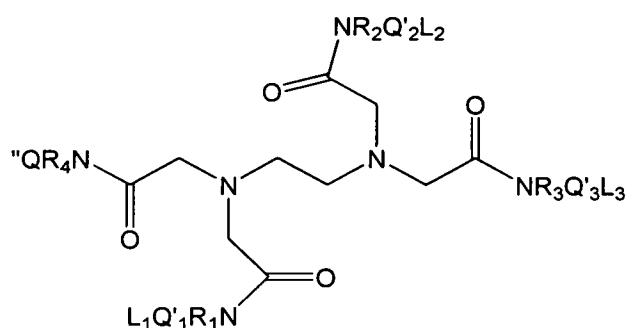


其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連

接基團；並且 R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6 烷基；並且 Z 和 Z' 各自獨立地選自 O 和 S。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 和 R_3 各自選自 H 和甲基。在一些實施方式中，至少一個 P 原子上的 Z 或 Z' 係 S，並且另一個 Z 或 Z' 係 O (即，硫代磷酸酯鍵)。在一些實施方式中，每個 -OP(Z)(Z')O- 都是硫代磷酸酯鍵。在一些實施方式中，至少一個 P 原子上的 Z 和 Z' 均是 O (即，磷酸二酯鍵)。在一些實施方式中，每個 -OP(Z)(Z')O- 都是磷酸二酯鍵。

另一種非限制性之示例性結構 E 係結構 E(viii)：



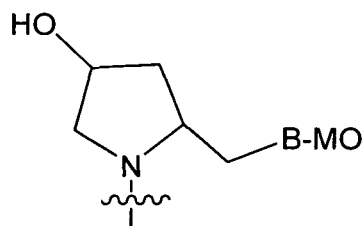
其中 L_1 、 L_2 和 L_3 各自獨立地是配位基； Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地是連接基團；並且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基和取代的 C_1 - C_6

烷基。

在一些實施方式中， Q'_1 、 Q'_2 、 Q'_3 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自獨立地選自：H、甲基、乙基、丙基、異丙基以及丁基。在一些實施方式中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自選自 H 和甲基。

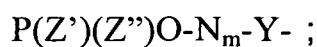
例如 PCT 公開號 WO 2013/033230；美國專利號 8,106,022 B2；美國公開號 2012/0157509 A1；美國專利號 5,994,517；美國專利號 7,491,805 B2；美國專利號 8,313,772 B2；馬諾哈蘭馬 (Manoharan, M.)，第 16 章，反義藥物技術 (Antisense Drug Technology)，斯汀克魯克 (Crooke, S.T.)、馬塞爾德克爾 (Marcel Dekker) 公司，2001，391-469 描述了非限制性的示例性骨架和/或包含骨架的接頭及其合成。

在某些實施方式中，該化合物的 L_n -接頭部分包含結構 F：



其中：

B 選自 -O-、-S-、-N(R^N)-、-Z-P(Z')(Z'')O-、-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X- 以及 -Z-



MO 係經修飾之寡核苷酸；

R^N選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基以及苯甲基；

Z 、 Z' 和 Z'' 各自獨立地選自 O 和 S ：

每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷：

m 係從 1 至 5 ;

X 選自磷酸二酯鍵和硫代磷酸酯鍵：

Y 係磷酸二酯鍵；並且

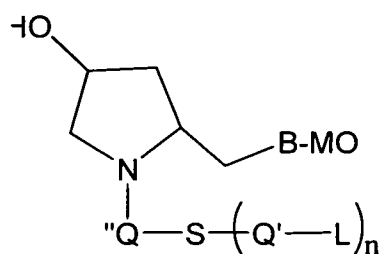
波形線表明連接至這個或該等接頭和配位基的其餘部分。

在某些實施方式中，波形線表明連接至以上結構 E。

在某些實施方式中，n 係從 1 至 5、1 至 4、1 至 3、或 1 至 2。在某些實施方式中，n 係 1。在某些實施方式中，n 係 2。在某些實施方式中，n 係 3。

在某些實施方式中，n 係 4。在某些實施方式中，n 係 5。

在某些實施方式中，該化合物的 L_n -接頭部分包含結構 G：



其中：

B 選自 -O-、-S-、-N(R^N)-、-Z-P(Z')(Z'')O-、-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X- 以及 -Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-；

MO 係經修飾之寡核苷酸；

R^N 選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基以及苯甲基；

Z、Z' 和 Z'' 各自獨立地選自 O 和 S；

每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷；

m 係從 1 至 5；

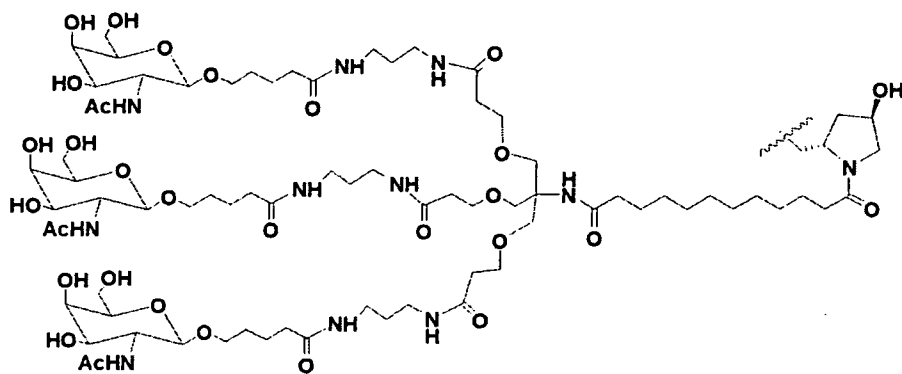
X 選自磷酸二酯鍵和硫代磷酸酯鍵；

Y 係磷酸二酯鍵；

每個 L 獨立地是配位基；n 係從 1 至 10；S 係骨架；並且 Q' 和 Q'' 獨立地是連接基團。

在某些實施方式中，每個 Q' 和 Q'' 獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。

化合物的一非限制的示例性 L_n -接頭部分 (例如，具有結構 F 或結構 G) 在以下結構 H 中示出：



其中波形線表明連接至該經修飾之寡核苷酸 (MO) 上、例如結構 B 中的 X_1 上或例如結構 C 或結構 D 中的 X 或 Y 上。

在某些實施方式中，每個配位基都是碳水化合物。當被細胞表面凝集素識別時，包含碳水化合物共軛的經修飾之寡核苷酸的化合物轉運穿過細胞膜進入細胞中。在某些實施方式中，細胞表面凝集素係 C 型凝集素。在某些實施方式中，該 C 型凝集素存在於枯否細胞 (Kuppfer cell) 上。在某些實施方式中，C 型凝集素存在於巨噬細胞上。在某些實施方式中，C 型凝集素存在於內皮細胞上。在某些實施方式中，C 型凝集素存在於單核細胞上。在某些實施方式中，C 型凝集素存在於白細胞上。在某些實施方式中，C 型凝集素存在於樹突狀細胞上。在某些實施方式中，C 型凝集素存在於 B 細胞上。共軛物可以促進抗 miR-122 化合物攝取到表現 C-型凝集素的任何細胞類型中。

在某些實施方式中，C 型凝集素係無唾液酸糖蛋白受體 (ASGPR)。在某些實施方式中，共軛物包含對該 ASGPR 具有親和性的一個或多個配位基，包括但不限於半乳糖或半乳糖衍生物。在某些實施方式中，對該 ASGPR 具有親和性的配位基係 N-乙醯基半乳糖胺、半乳糖、半乳糖胺、N-甲醯基半乳糖

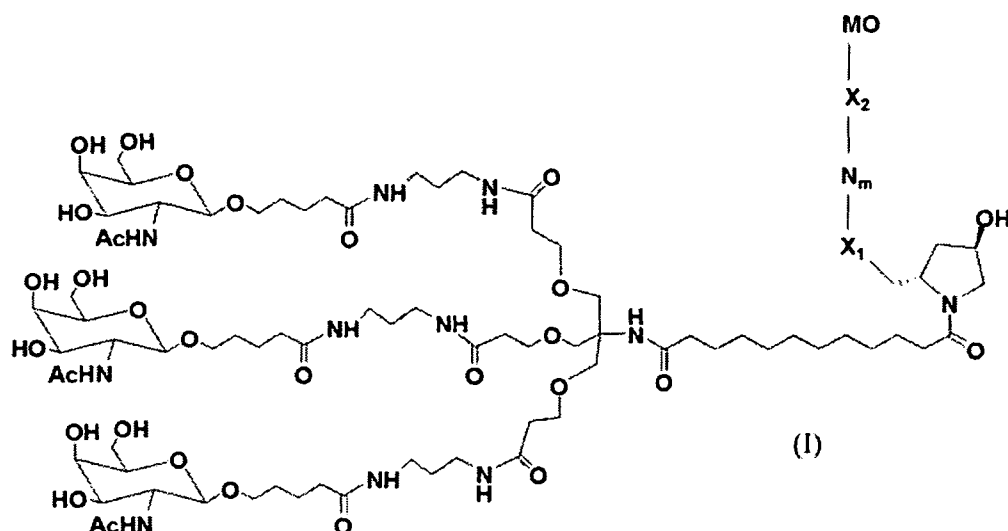
胺、N-丙醯基-半乳糖胺、N-正丁醯基半乳糖胺或 N-異丁醯基半乳糖胺。此類共軛物促進化合物攝取到表現該 ASGPR 的細胞中，例如肝細胞和樹突狀細胞。

在某些實施方式中，配位基係選自以下的碳水化合物：甘露糖、葡萄糖、半乳糖、核糖、阿拉伯糖、果糖、岩藻糖、木糖、D-甘露糖、L-甘露糖、D-半乳糖、L-半乳糖、D-葡萄糖、L-葡萄糖、D-核糖、L-核糖、D-阿拉伯糖、L-阿拉伯糖、D-果糖、L-果糖、D-岩藻糖、L-岩藻糖、D-木糖、L-木糖、 α -D-呋喃甘露糖、 β -D-呋喃甘露糖、 α -D-吡喃甘露糖、 β -D-吡喃甘露糖、 α -D-呋喃葡萄糖、 β -D-呋喃葡萄糖、 α -D-吡喃葡萄糖、 β -D-吡喃葡萄糖、 α -D-呋喃半乳糖、 β -D-呋喃半乳糖、 α -D-吡喃半乳糖、 β -D-吡喃半乳糖、 α -D-呋喃核糖、 β -D-呋喃核糖、 α -D-吡喃核糖、 β -D-吡喃核糖、 α -D-呋喃果糖、 α -D-吡喃果糖、葡糖胺、半乳糖胺、唾液酸以及 N-乙醯基半乳糖胺。

在某些實施方式中，配位基選自：N-乙醯基半乳糖胺、半乳糖、半乳糖胺、N-甲醯基半乳糖胺、N-丙醯基-半乳糖胺、N-正丁醯基半乳糖胺以及 N-異丁醯基-半乳糖胺。

在某些實施方式中，配位基係 N-乙醯基半乳糖胺。

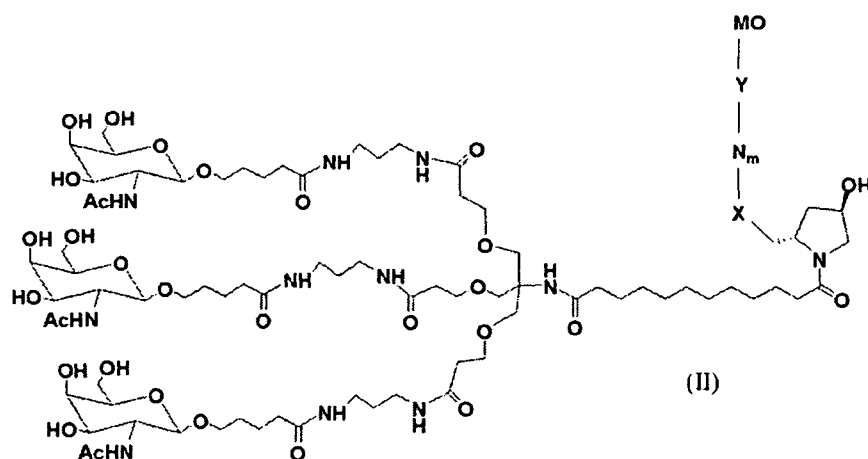
在某些實施方式中，化合物包含以下結構：



其中每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5； X_1 和 X_2 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中， m 係 1。在某些實施方式中， m 係 2。在某些實施方式中， m 係 3、4 或 5。在某些實施方式中， m 係 2、3、4 或 5。在某些實施方式中，當 m 大於 1 時， N_m 的每個經修飾或未經修飾之核苷可以藉由磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接至 N_m 的相鄰的經修飾或未經修飾之核苷上。

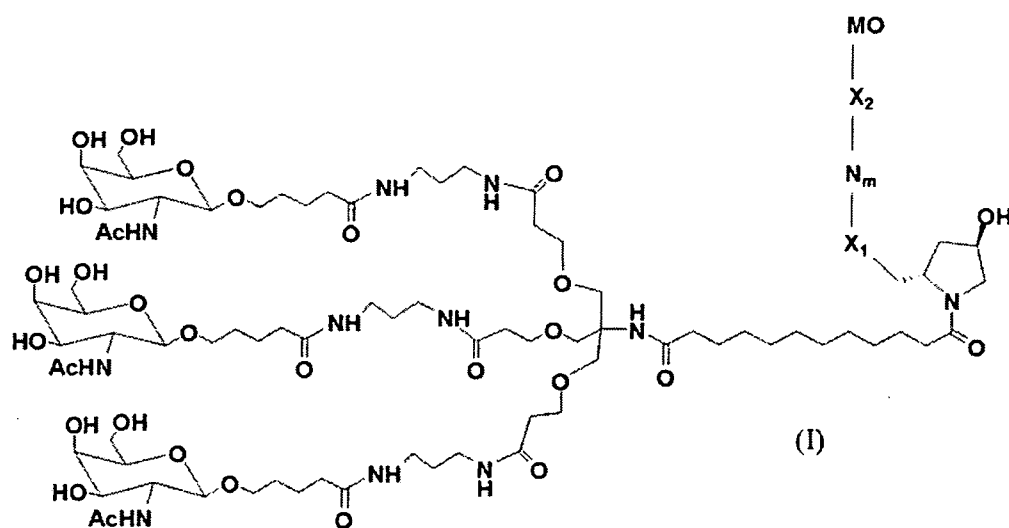
在某些實施方式中，化合物包含以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之

核苷，並且 m 係從 1 至 5； Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。在某些實施方式中， m 係 1。在某些實施方式中， m 係 2。在某些實施方式中， m 係 2、3、4 或 5。在某些實施方式中， m 係 3、4 或 5。在某些實施方式中，當 m 大於 1 時， N_m 的每個經修飾或未經修飾之核苷可以藉由磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接至 N_m 的相鄰的經修飾或未經修飾之核苷上。

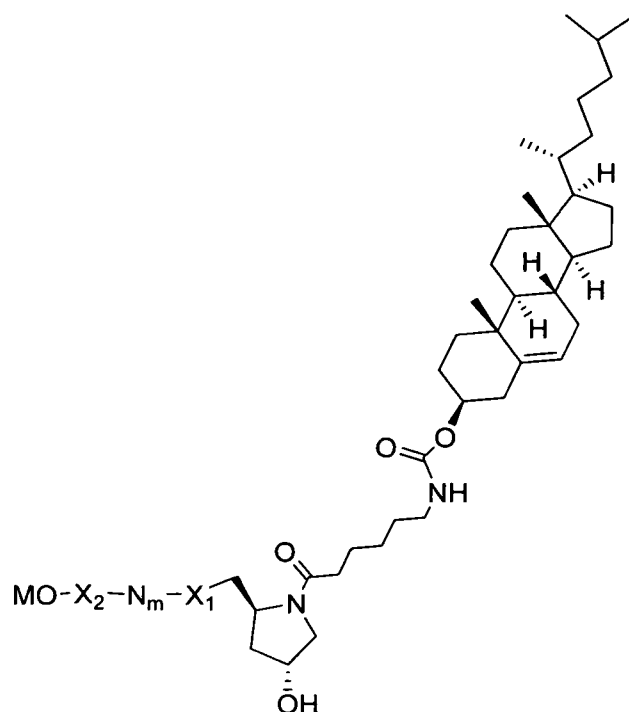
在某些實施方式中，化合物包含修飾的核苷酸和共軛部分，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $C_L C_A L T T G_L T_L C A C_L A C_L T C_L C_L$ ，其中下標“L”表明 LNA 並且後面沒有下標的核苷係 β -D-去氧核糖核苷，並且每個核苷間鍵聯都是硫代磷酸酯核苷間鍵聯，並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸的 3' 末端並且具有以下結構：



其中每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5； X_1 和 X_2 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。在一些實施方式中，所有 C_L 核苷都是 $^{Me}C_L$ 核苷，其中上標“Me”表明 5-甲基

胞嘧啶。

在一些實施方式中，化合物具有以下結構：



其中每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5； X_1 和 X_2 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中， X_1 和 X_2 中的至少一個係磷酸二酯鍵。在某些實施方式中， X_1 和 X_2 各自是磷酸二酯鍵。

在某些實施方式中，m 係 1。在某些實施方式中，m 係 2。在某些實施方式中，m 係 3、4 或 5。在某些實施方式中，m 係 2、3、4 或 5。在某些實施方式中，當 m 大於 1 時， N_m 的每個經修飾或未經修飾之核苷可以藉由磷酸二酯核苷間鍵聯或硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接至 N_m 的相鄰的經修飾或未經修飾之核苷上。

在此描述的任何該等實施方式中， N_m 可以是 N'_pN'' ，其中每個 N' 獨立地

是經修飾或未經修飾之核苷，並且 p 係從 0 至 4；並且 N'' 係包含未經修飾之糖部分的核苷。

在某些實施方式中， p 係 0。在某些實施方式中， p 係 1、2、3 或 4。在某些實施方式中，當 p 係 1、2、3 或 4 時，每個 N' 包含未經修飾之糖部分。

在某些實施方式中，未經修飾之糖部分係 β -D-核糖或 β -D-去氧核糖。

在某些實施方式中，在 p 係 1、2、3 或 4 的情況下， N' 包含嘌呤核鹼基。在某些實施方式中， N'' 包含嘌呤核鹼基。在某些實施方式中，嘌呤核鹼基選自：腺嘌呤、鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤以及 7-甲基鳥嘌呤。在某些實施方式中， N' 係 β -D-去氧核糖腺苷或 β -D-去氧核糖鳥苷。在某些實施方式中， N'' 係 β -D-去氧核糖腺苷或 β -D-去氧核糖鳥苷。

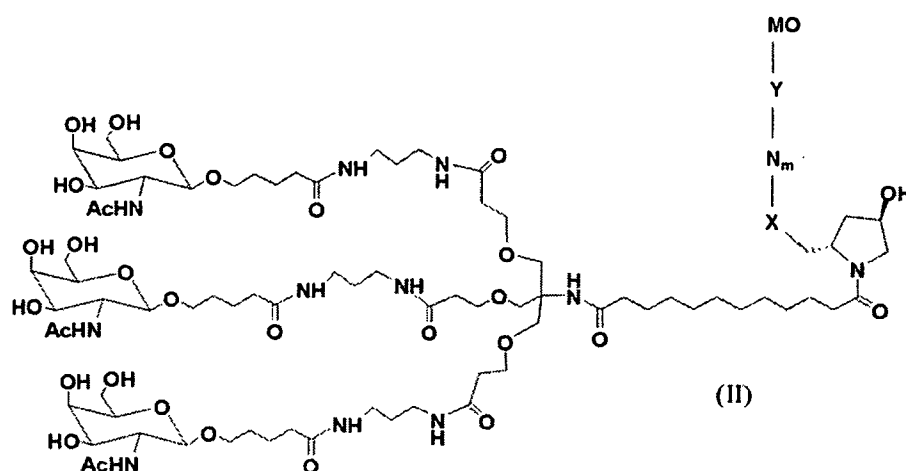
在某些實施方式中， p 係 1， N' 和 N'' 各自是 β -D-去氧核糖腺苷，並且 N' 和 N'' 藉由磷酸二酯核苷間鍵聯連接。在某些實施方式中， p 係 1， N' 和 N'' 各自是 β -D-去氧核糖腺苷，並且 N' 和 N'' 藉由磷酸二酯核苷間鍵聯連接。在某些實施方式中， p 係 1， N' 和 N'' 各自是 β -D-去氧核糖腺苷，並且 N' 和 N'' 藉由硫代磷酸酯核苷間鍵聯連接。

在某些實施方式中，在 p 係 1、2、3 或 4 的情況下， N' 包含嘧啶核鹼基。在某些實施方式中， N'' 包含嘧啶核鹼基。在某些實施方式中，嘧啶核鹼基選自：胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶以及 5,6-二氫尿嘧啶。

在某些實施方式中，每個 N 的糖部分獨立地選自： β -D-核糖、 β -D-去氧核糖、2'-O-甲氧基糖、2'-O-甲基糖、2'-氟糖以及雙環糖部分。在某些實施方

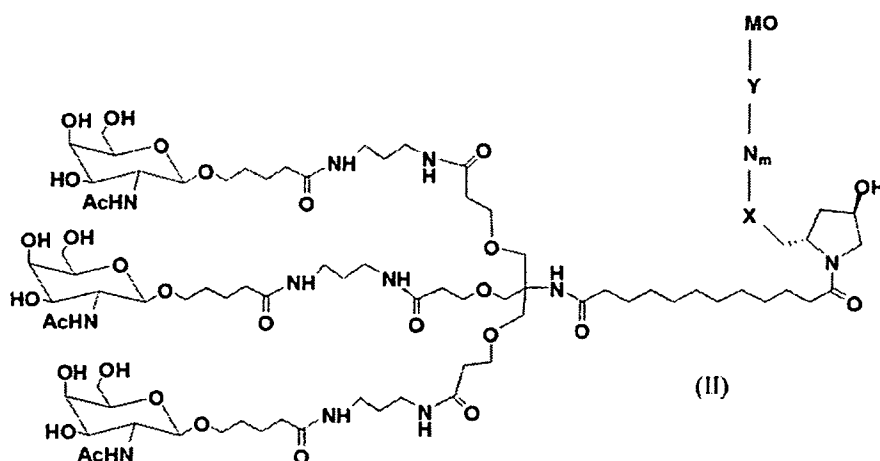
式中，每個雙環糖部分獨立地選自 cEt 糖部分、LNA 糖部分以及 ENA 糖部分。在某些實施方式中，該 cEt 糖部分係 S-cEt 糖部分。在某些實施方式中，該 cEt 糖部分係 R-cEt 糖部分。

在某些實施方式中，化合物包含以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N 係 β -D-去氧核糖腺苷；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

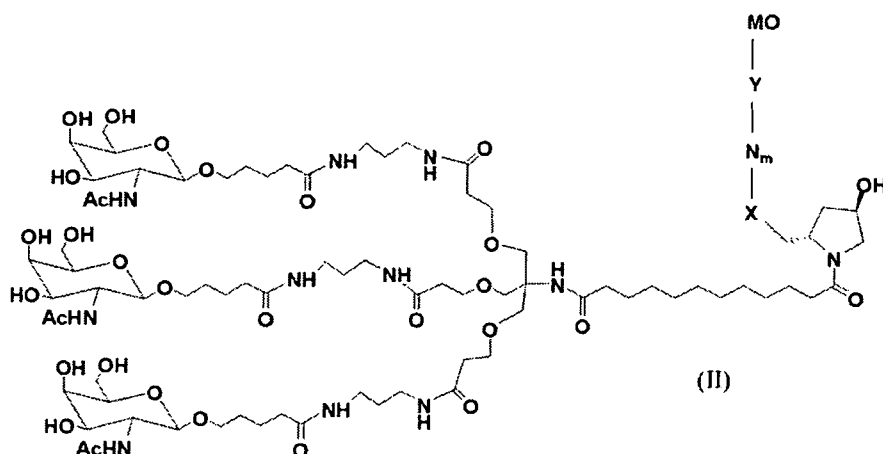
在某些實施方式中，化合物包含以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵；m 係 2；每個 N 係 β -D-去氧核糖腺苷；N 的核苷藉由磷酸二酯核苷間鍵聯連接；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

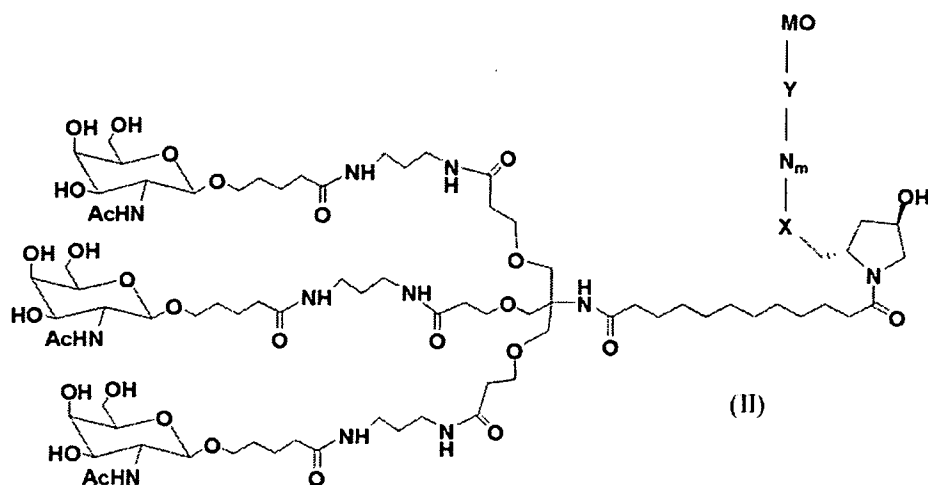
酸。

在某些實施方式中，化合物包含修飾的核苷酸和共軛部分，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $A_E^{Me}C_EA_E^{Me}C_E^{Me}C_EA_ET_E TGU_S C_S AC_S AC_S TC_S C_S$ ，其中後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“E”之核苷係 2'-MOE 核苷；後面有下標“S”之核苷係 S-cEt 核苷；並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯；並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸之 3' 末端並且具有以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N 係 β -D-去氧核糖腺苷；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中，化合物包含修飾的核苷酸和共軛部分，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $C_LCA_LTTG_LT_LCAC_LAC_LTC_LC_L$ ，其中下標“L”表明 LNA 並且後面沒有下標的核苷係 β -D-去氧核糖核苷，並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯，並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸的 3' 末端並且具有以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N 係 β -D-去氧核糖腺苷；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。在一些實施方式中，所有 C_L 核苷都是 $^{Me}C_L$ 核苷，其中上標“Me”表明 5-甲基胞嘧啶。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸具有如在表 2 中所示之核鹼基序列和修飾。核苷酸和核鹼基指明如下：上標“Me”表明 5-甲基胞嘧啶；後面沒有下標的核苷係 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“E”的核苷係 2'-MOE 核苷；後面有下標“S”的核苷係 S-cEt 核苷；並且每個核苷間鍵聯都是硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

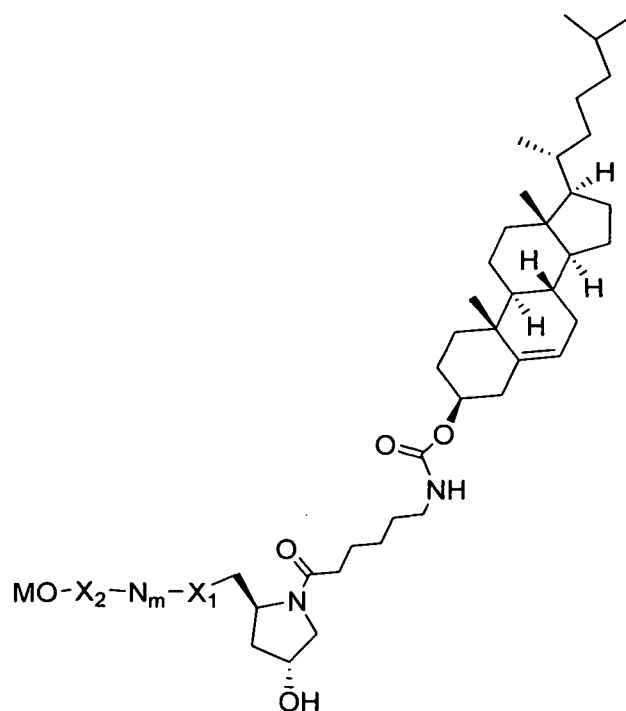
表 2：共軛的經修飾之寡核苷酸

化合物#	序列 (5'到 3') 和修飾													與 GalNAc 結構之鍵聯
38368	A _E	MeC _E	A _E	MeC _E	MeC _E	A _E	MeC _E	A _E	C _S	A	C _S	A	C _S	C _S
														圖 3C 之結構 III，其中 X 係磷酸二酯鍵並且 MO 係化合物 38649
38371	A _E	MeC _E	A _E	MeC _E	MeC _E	A _E	MeC _E	A _E	C _S	A	C _S	A	C _S	C _S
														圖 3C 之結構 III，其中 X 係硫代磷酸酯鍵並且 MO 係化合物 38649
38458	A _E	MeC _E	A _E	MeC _E	MeC _E	A _E	MeC _E	A _E	C _S	A	C _S	A	C _S	C _S
														圖 3C 之結構 I，其中 X ₂ 係硫代磷酸酯鍵，m 係 1，N _m 係 β-D-去氧核苷 (dA)，X ₁ 係硫代磷酸酯

1

—

在某些實施方式中，在此提供的化合物包含經修飾之核苷酸和共軛部分，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $C_5A_5C_5A_5C_5U_5C_5C_5$ ，其中下標“S”表明 S-cEt 並且後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷，並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯，並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸的 3' 末端並且具有以下結構：



其中 X_1 和 X_2 係磷酸二酯鍵； m 係 1； N 係 β -D-去氧核糖腺苷；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

用於共軛至經修飾之寡核苷酸的另外的部分包括吩嗪、菲啉、蔥醌、吡啉、螢光素、繞單寧 (rhodamine)、香豆素以及染料。在某些實施方式中，共軛基團係直接連接至經修飾之寡核苷酸上。

某些代謝產物

當在體外或體內暴露於核酸外切酶和/或核酸內切酶時，化合物可以經受

在整個化合物的不同位置上之裂解。此種裂解的產物可以保留一定程度的母體化合物之活性，並且因此被認為是活性代謝物。因此，化合物的代謝產物可以用於在此描述的該等方法中。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸（未共軛或共軛的）經受 5'末端和/或 3'末端上之裂解，從而產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 5'末端和/或 3'末端上少 1 個、2 個或 3 個核苷酸之代謝產物。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸經受 5'末端上之裂解，釋放 5'-末端的核苷酸並且產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 5'末端上少 1 個核苷酸之代謝產物。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸經受 5'末端上之裂解，釋放兩個 5'-末端的核苷酸並且產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 5'末端上少兩個核苷酸之代謝產物。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸經受 3'末端上之裂解，釋放 3'-末端的核苷酸並且產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 3'末端上少一個核苷酸的代謝產物。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸經受 3'末端上之裂解，釋放兩個 3'-末端的核苷酸並且產生相對於母體經修飾之寡核苷酸在 3'末端上少兩個核苷酸之代謝產物。

包含連接至共軛部分的經修飾之寡核苷酸的化合物還可以經受該經修飾之寡核苷酸與配位基之間的接頭內的一位點上之裂解。在某些實施方式中，裂解產生包含一部分共軛部分的母體經修飾之寡核苷酸。在某些實施方式中，裂解產生在經修飾之寡核苷酸與配位基之間包含接頭的一個或多個亞單位的母體經修飾之寡核苷酸。例如，在化合物具有結構 L_n -接頭- N_m -P-MO 的情況下，在一些實施方式中，裂解產生包含 N_m 的一個或多個核苷酸的母體經

修飾之寡核苷酸。在一些實施方式中，共軛的經修飾之寡核苷酸的裂解產生母體經修飾之寡核苷酸。在一些此類實施方式中，例如，在化合物具有結構 L_n -接頭- N_m -P-MO 的情況下，在一些實施方式中，裂解產生不包含 N_m 的任何核苷酸的母體經修飾之寡核苷酸。

某些核鹼基序列

成熟 miR-122 之核鹼基序列和它的對應莖環序列可在 miRBase (在 microrna.sanger.ac.uk 中找到的微小 RNA 序列和注釋之可線上搜索數據庫) 中找到。該 miRBase 序列數據庫中的條目代表微小 RNA 轉錄物的預測的髮夾部分 (莖環)，具有成熟微小 RNA 序列的位置和序列方面的資訊。該數據庫中的該等微小 RNA 莖環序列不是嚴格地先質微小 RNA (先質微小 RNA)，並且在一些情況下可以包括先質微小 RNA 和來自假定的初級轉錄物的一些側翼序列。在此描述的該等微小 RNA 核鹼基序列涵蓋任何型式的微小 RNA，包括在 miRBase 序列數據庫的發佈版 15.0 中描述之序列和在 miRBase 序列數據庫的任何早期發佈版中描述之序列。一序列數據庫發佈版可能引起某些微小 RNA 重新命名。本發明涵蓋與在此描述的該等微小 RNA 的任何核鹼基序列型式互補的經修飾之寡核苷酸。

在某些實施方式中，靶向 miR-122 的經修飾之寡核苷酸的每個核鹼基都能夠經受與 miR-122 或其先質的核鹼基序列中的對應位置上的核鹼基進行鹼基配對。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的核鹼基序列可以相對於它的靶微小 RNA 或先質序列具有一個或多個錯配之鹼基對，並且仍保持能夠與

它的靶序列雜交。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸具有與 miR-122 先質之核鹼基序列（如 miR-122 莖環序列）互補之核鹼基序列。當 miR-122 被包含在 miR-122 先質序列內時，具有與 miR-122 互補的核鹼基序列的經修飾之寡核苷酸也與 miR-122 先質之區互補。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸具有與 SEQ ID NO: 1 之核鹼基 1 至 16、1 至 17、1 至 18、1 至 19、1 至 20、1 至 21 或 1 至 22 互補之核鹼基序列。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸具有與 SEQ ID NO: 1 之核鹼基 2 至 16、2 至 17、2 至 18、2 至 19、2 至 20、2 至 21 或 2 至 22 互補之核鹼基序列。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸具有與 SEQ ID NO: 1 之核鹼基 3 至 17、3 至 18、3 至 19、3 至 20、3 至 21 或 3 至 22 互補之核鹼基序列。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的連接的核苷數小於該 miR-122 或其先質之長度。在某些此類實施方式中，寡核苷酸具有與 miR-122 或其先質的區互補之核鹼基序列。具有小於 miR-122 長度的連接的核苷數之經修飾之寡核苷酸（其中經修飾之寡核苷酸的每個核鹼基與 miR-122 核鹼基序列中的對應位置上的每個核鹼基互補）被認為是具有與 miR-122 完全互補的核鹼基序列的經修飾之寡核苷酸。例如，由 19 個連接的核苷組成的經修飾之寡核苷酸（其中核苷 1 至 19 之核鹼基各自與 miR-122 之對應位置互補，其中 miR-

122 長度為 22 個核鹼基) 與 miR-122 的 19 個連續核鹼基完全互補。這種經修飾之寡核苷酸具有與 miR-122 的核鹼基序列 100%互補之核鹼基序列。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的連接之核苷數比 miR-122 的長度小 1。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸在 5'末端上少一個核苷。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸在 3'末端上少一個核苷。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸在 5'末端上少兩個核苷。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸在 3'末端上少兩個核苷。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的 15 個連續核鹼基各自與 miR-122 的 15 個連續核鹼基互補。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的 16 個連續核鹼基各自與 miR-122 的 16 個連續核鹼基互補。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的 17 個連續核鹼基各自與 miR-122 的 17 個連續核鹼基互補。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的 18 個連續核鹼基各自與 miR-122 的 18 個連續核鹼基互補。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的 19 個連續核鹼基各自與 miR-122 的 19 個連續核鹼基互補。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的 20 個連續核鹼基各自與 miR-122 的 20 個連續核鹼基互補。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的 21 個連續核鹼基各自與 miR-122 的 21 個連續核鹼基互補。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的 22 個連續核鹼基各自與 miR-122 的 22 個連續核鹼基互補。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸包含與種子序列互補之核鹼基序列，即經修飾之寡核苷酸包含種子匹配序列。在某些實施方式中，種子序列

係六聚體種子序列。在某些此類實施方式中，種子序列係 miR-122 的核鹼基 1-6。在某些此類實施方式中，種子序列係 miR-122 的核鹼基 2-7。在某些此類實施方式中，種子序列係 miR-122 的核鹼基 3-8。在某些實施方式中，種子序列係七聚體種子序列。在某些此類實施方式中，七聚體種子序列係 miR-122 的核鹼基 1-7。在某些此類實施方式中，七聚體種子序列係 miR-122 的核鹼基 2-8。在某些實施方式中，該種子序列係八聚體種子序列。在某些此類實施方式中，八聚體種子序列係 miR-122 的核鹼基 1-8。在某些實施方式中，八聚體種子序列係 miR-122 的核鹼基 2-9。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的連接之核苷數大於 miR-122 序列的長度。在某些此類實施方式中，另外的核苷之核鹼基與 miR-122 莖環序列之核鹼基互補。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的連接之核苷數比 miR-122 的長度大 1。在某些此類實施方式中，該另外的核苷係處於經修飾之寡核苷酸之 5'末端上。在某些此類實施方式中，該另外的核苷係處於經修飾之寡核苷酸之 3'末端上。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的連接之核苷數比 miR-122 的長度大 2。在某些此類實施方式中，這兩個另外的核苷係處於經修飾之寡核苷酸之 5'末端上。在某些此類實施方式中，這兩個另外的核苷係處於經修飾之寡核苷酸之 3'末端上。在某些此類實施方式中，一個另外的核苷位於經修飾之寡核苷酸之 5'末端上並且一個另外的核苷位於經修飾之寡核苷酸之 3'末端上。在某些實施方式中，寡核苷酸的區可以與 miR-122 之核鹼基序列完全互補，但是整個經修飾之寡核苷酸不與 miR-122 完全互補。

例如，由 23 個連接的核苷組成之經修飾之寡核苷酸（其中核苷 1 至 22 的核鹼基各自與長度為 22 個核鹼基的 miR-122 的對應位置互補）具有與 miR-122 的核鹼基序列完全互補的 22 個核苷部分。

在某些實施方式中，化合物包含藉由包含一個或多個核苷的接頭連接至配位基的經修飾之寡核苷酸。出於計算互補性百分比的目的，該接頭的任何另外的核苷都被認為是該接頭的部分而不是該經修飾之寡核苷酸的部分。因此，共軛化合物的經修飾之寡核苷酸的核鹼基序列可以仍然與 miR-122 100% 互補，甚至在該接頭包含不與 miR-122 互補的一個或多個核苷的情況下。

在此列出的該等 miR-122 核鹼基序列（包括但不限於在實例中和在序列表中找到的那些）與對核酸的任何修飾無關。因此，由 SEQ ID NO 定義的核酸可以獨立地包含對一個或多個糖部分、對一個或多個核苷間鍵聯和/或對一個或多個核鹼基的一個或多個修飾。

雖然本文件所附序列表將每個核鹼基序列根據需要鑒定為“RNA”或“DNA”，但實際上那些序列可以用化學修飾的任何組合進行修飾。熟習該項技術者將易於領會，如“RNA”或“DNA”這樣的名稱描述經修飾之寡核苷酸在一定程序上是任意的。例如，包含含有 2'-OH 糖部分和胸腺嘧啶鹼基的核苷的經修飾之寡核苷酸可以被描述為具有修飾的糖（針對 DNA 的天然 2'-H 為 2'-OH）之 DNA 或具有修飾的鹼基（針對 RNA 的天然尿嘧啶為胸腺嘧啶（甲基化尿嘧啶））之 RNA。

因此，在此提供的核酸序列（包括但不限於序列表中的那些）旨在涵蓋

含有天然或修飾的RNA和/或DNA的任何組合之核酸，包括但不限於具有經修飾之核鹼基的此類核酸。作為實例而不是限制，具有核鹼基序列“ATCGATCG”的經修飾之寡核苷酸涵蓋具有此種核鹼基序列的任何寡核苷酸，無論是經修飾的或未經修飾的，包括但不限於包含RNA鹼基的此類化合物，如具有序列“AUCGAUCG”的那些化合物和具有一些DNA鹼基和一些RNA鹼基如“AUCGATCG”的那些化合物以及具有其他修飾之鹼基如“AT^mC GAUCG”之寡核苷酸，其中^mC表明5-甲基胞嘧啶。類似地，具有核鹼基序列“AUCGAUCG”的經修飾之寡核苷酸涵蓋具有此種核鹼基序列的任何寡核苷酸，無論是經修飾的或未經修飾的，包括但不限於包含DNA鹼基的此類化合物，如具有序列“ATCGATCG”的那些化合物和具有一些DNA鹼基和一些RNA鹼基如“AUCGATCG”的那些化合物以及具有其他經修飾的鹼基如“AT^mC GAUCG”之寡核苷酸，其中^mC表明5-甲基胞嘧啶。

miR-122 組合物的某些用途

微小 RNA miR-122 係肝臟表現的微小 RNA，該微小 RNA 係用於 HCV 複製的關鍵內源性“宿主因數”，並且靶向 miR-122 的寡核苷酸阻斷 HCV 複製（喬普林等人（2005）科學雜誌 309，1577-81）。在被丙型肝炎病毒慢性感染的黑猩猩中抑制 miR-122 降低了 HCV RNA 水平。在 HCV 感染的患者中，抑制 miR-122 引起 5 個每週劑量抗 miR-122 化合物之後 HCV RNA 水平降低平均 2 個對數。在此描述的該等化合物係 miR-122 活性之有效抑制劑。因此，這裡提供了用於治療 HCV 感染之方法，該等方法包括向 HCV 感染的受

試者給藥在此提供之化合物。

在此提供了用於治療 HCV 感染的受試者之方法，該等方法包括向該受試者給藥在此提供之化合物。在某些實施方式中，在此提供之該等方法包括選擇 HCV 感染的受試者。在某些實施方式中，該受試者係人。

在某些實施方式中，該給藥減少了 HCV 感染的症狀。HCV 感染的症狀包括但不限於肝臟疼痛、黃疸、噁心、食欲不振以及疲勞。

在 HCV 治療方案之後，HCV 感染之受試者可能經歷 HCV RNA 水平降低，接著是 HCV RNA 水平增加，該後續增加稱為 HCV RNA 水平回升。在某些實施方式中，在此提供之該等化合物和方法預防 HCV RNA 水平回升。在某些實施方式中，在此提供之該等化合物和方法延緩 HCV RNA 水平回升。

HCV RNA 水平可以用來診斷 HCV 感染，監測疾病活性並且監測受試者對治療的反應。在某些實施方式中，給藥在此提供的化合物降低了 HCV RNA 水平。在某些實施方式中，以足以降低 HCV RNA 水平之劑量給藥在此的化合物。在某些實施方式中，在此提供的該等方法包括選擇具有每毫升血清大於 350,000 個拷貝、每毫升血清在 350,000 個與 3,500,000 個拷貝之間或每毫升血清大於 3,500,000 個拷貝的 HCV RNA 水平的受試者。在某些實施方式中，在此提供的該等方法包括降低 HCV RNA 水平。在某些實施方式中，在此提供的該等方法包括將 HCV RNA 水平降低至每毫升血清 200 個拷貝以下、每毫升血清 100 個拷貝以下或每毫升血清 40 個拷貝以下。HCV RNA 水

平可以稱為“病毒載量”或“HCV RNA 滴度”。

HCV RNA 水平的變化可以被描述為對數變化。例如，從 60,000 下降至 600 將是 HCV RNA 水平下降 2 個對數。在某些實施方式中，在此提供的該等方法實現了大於或等於 2 個對數之 HCV RNA 水平降低。在某些實施方式中，在此提供之該等方法實現了 HCV RNA 水平降低至少 0.5 倍、至少 1.0 倍、至少 1.5 倍、至少 2.0 倍或至少 2.5 倍。

在某些實施方式中，在此提供的該等方法包括實現持續之病毒反應。

HCV 感染之受試者可能發展 HCV 相關性疾病。HCV 感染的主要肝臟病學後果係肝硬化及其併發症，包括出血、肝功能不全和肝細胞癌。另外的併發症係纖維化，該纖維化係引起細胞外基質組分沈積的慢性炎症的結果，這導致肝架構變形並且阻斷微循環和肝功能。隨著肝硬化進展和纖維化組織形成，接著發生嚴重的壞死性炎症活性並且脂肪變性開始。脂肪變性導致肝外病變，包括糖尿病、蛋白質營養不良、高血壓、細胞毒素、肥胖以及缺氧。隨著纖維化和脂肪變性變得嚴重，肝將最終衰竭並且需要肝移植。HCV 感染的受試者還可能發展肝細胞癌。在某些實施方式中，HCV 感染的受試者具有 HCV 相關性疾病。在某些實施方式中，該 HCV 相關性疾病係肝硬化、纖維化、脂肪性肝炎、脂肪變性和/或肝細胞癌。

在某些實施方式中，HCV 感染的受試者具有一種或多種疾病。在某些實施方式中，HCV 感染的受試者被除 HCV 以外的一種或多種病毒感染。在某些實施方式中，HCV 感染的受試者被人免疫缺陷病毒 (HIV) 感染。

在此提供的該等化合物可以與一種或多種另外的治療劑同時給藥。在某些實施方式中，該一種或多種另外的治療劑包括：免疫療法、免疫調節劑、治療性疫苗、抗纖維化劑、抗炎劑、支氣管擴張劑、粘液溶解劑、抗毒蕈鹼劑、抗白三烯劑、細胞粘附抑制劑、抗氧化劑、細胞因數激動劑、細胞因數拮抗劑、肺表面活性劑、抗微生物劑、抗病毒劑、抗 HCV 劑、抗癌劑、抗 miR-122 化合物、RNAi 劑或親環蛋白抑制劑。

在某些實施方式中，該一種或多種另外的治療劑可以選自：蛋白酶抑制劑、聚合酶抑制劑、輔助因數抑制劑、RNA 聚合酶抑制劑、結構蛋白抑制劑、非結構蛋白抑制劑、親環蛋白抑制劑、進入抑制劑、TLR7 激動劑以及干擾素。

在某些實施方式中，該另外的治療劑係具有結構 $C_LCA_LTTG_LT_LCAC_LAC_LTC_LC_L$ 之經修飾之寡核苷酸，其中後面沒有下標的核苷表明 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“L”的核苷表明 LNA 核苷；並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在某些實施方式中，治療劑係 GalNAc 共軛的 $C_LCA_LTTG_LT_LCAC_LAC_LTC_LC_L$ 。在一些實施方式中，所有該等 C_L 核苷都是 $^{Me}C_L$ 核苷，其中上標“Me”表明 5-甲基胞嘧啶。

在某些實施方式中，該另外的治療劑選自：蛋白酶抑制劑、NS5A 抑制劑、NS3/4A 抑制劑、核苷 NS5B 抑制劑、核苷酸 NS5B 抑制劑、非核苷 NS5B 抑制劑、親環蛋白抑制劑以及干擾素。

在某些實施方式中，該另外的治療劑選自：干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、

干擾素 α con-1、聚乙二醇干擾素 α -2b、聚乙二醇干擾素 α -2a、緩釋的干擾素- α -2b、干擾素 λ 、索菲布韋、利巴韋林、特拉普韋、波普瑞韋、伐尼普韋、阿森那普韋、利托那韋、斯約伯韋、迪卡拉斯他韋、斯密普韋、阿拉泊韋、麥瑞斯他濱、替格布韋、丹諾普韋、索伐普韋以及尼塞普韋。在某些實施方式中，該另外的治療劑選自帕拉德福韋 (faldaprevir)、ABT-450、MK-5172、麥瑞斯他濱、雷迪帕韋 (ledipasvir)、歐姆比斯他韋 (ombitasvir)、GS-5816、MK-8742、達撒布韋 (dasabuvir)、BMS-791325 以及 ABT-072。

在某些實施方式中，該另外的治療劑選自：干擾素、利巴韋林和特拉普韋。在某些實施方式中，該干擾素選自：干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、干擾素 α con-1、聚乙二醇干擾素 α -2b 以及聚乙二醇干擾素 α -2a。

在某些實施方式中，該另外的治療劑包括聚乙二醇干擾素 α -2b 和利巴韋林。例如，受試者可以接受包含在此提供的化合物、聚乙二醇干擾素 α -2b 和利巴韋林的療法。在某些實施方式中，該至少一種另外的治療劑包括聚乙二醇干擾素 α -2a 和利巴韋林。例如，受試者可以接受包含在此提供之化合物、聚乙二醇干擾素 α -2a 和利巴韋林的療法。在某些實施方式中，該等另外的治療劑係歐姆比斯他韋和 ABT-450。在某些實施方式中，該等另外的治療劑係阿森那普韋、迪卡拉斯他韋和 BMS-791325。在某些實施方式中，該等另外的治療劑係索菲布韋和雷迪帕韋。在某些實施方式中，該等另外的治療劑係 MK-8742 和 MK-5172。

接受特定療法 (例如干擾素或利巴韋林療法) 的某些受試者可能不經歷

顯著的或治療上有益的 HCV RNA 水平降低。此類受試者可以獲益於給藥一種或多種另外的治療劑。在某些實施方式中，在此提供的該等方法的受試者係無反應者。在某些實施方式中，受試者係干擾素無反應者。在某些實施方式中，受試者係直接作用型抗病毒性無反應者。

在某些實施方式中，另外的治療劑係在治療 HIV 感染中使用之抗病毒劑。在某些實施方式中，另外的治療劑係非核苷逆轉錄酶抑制劑 (NNRTI)。在某些實施方式中，另外的治療劑係核苷逆轉錄酶抑制劑 (NRTI)。在某些實施方式中，另外的治療劑係蛋白酶抑制劑。在某些實施方式中，另外的治療劑係進入抑制劑或融合抑制劑。在某些實施方式中，另外的治療劑係整合酶抑制劑。在某些實施方式中，另外的治療劑選自：依法韋侖、依曲韋林、奈韋拉平、阿巴卡韋、恩曲他濱、替諾福韋、拉米夫定、齊多夫定、阿紮那韋、地瑞那韋、福沙那韋、利托那韋、恩夫韋地、馬拉威諾以及雷特格韋。

被 HCV 感染的受試者可能經歷異常肝功能，該異常肝功能藉由測量膽紅素、白蛋白和凝血酶原時間中的一種或多種來評價。進行該等肝酶 (丙胺酸轉胺酶 (ALT) 和天冬胺酸轉胺酶 (AST)) 之測量來評價肝臟炎症。該等標記物的一種或多種異常水平可以表明異常肝功能。在某些實施方式中，在此提供的該等方法包括使肝功能正常化。在某些實施方式中，在此提供的該等方法包括使肝酶水平正常化。

在此提供的任何該等方法中，化合物可以存在於藥物組合物中。

在此提供的該等化合物可以用於療法。在某些實施方式中，化合物用於治療 HCV 感染的受試者。在某些實施方式中，受試者係人。在某些實施方式中，用於治療 HCV 感染的受試者之化合物可以用於在此描述的任何治療方法。

在此提供了包括向患有 miR-122 相關性病狀的受試者給藥在此提供的化合物之方法。在某些實施方式中，miR-122 相關性病狀係 HCV 感染。

在某些實施方式中，miR-122 相關性病狀係膽固醇升高。在某些實施方式中，向受試者給藥抗 miR-122 化合物引起血清膽固醇降低。因此，在某些實施方式中，在此提供了降低受試者的膽固醇之方法，該等方法包括向受試者給藥在此提供的化合物。在某些實施方式中，膽固醇水平可以單獨地或結合另一種效力指示劑（例如，HCV RNA 水平降低）用作評價在此提供之抗 miR-122 化合物的活性之生物標記物。因此，在此提供了包含向受試者給藥在此提供之化合物、從該受試者收集血液樣品並且測量來自該受試者的血液樣品中的膽固醇之方法。膽固醇之水平可以用作該受試者體內的抗 miR-122 化合物活性之指示劑。

在某些實施方式中，miR-122 相關性病狀係脂肪變性。因此，在某些實施方式中，在此提供了減少受試者的脂肪變性之方法，該等方法包括向該受試者給藥在此提供之化合物。

在某些實施方式中，miR-122 相關性病狀係鐵負載過高病症。鐵負載過高病症可以因為引起身體吸收過量鐵的基因突變而發生。鐵負載過高病症還

可以具有非基因病因，包括但不限於長期輸血、慢性肝炎或攝入過量鐵。在某些實施方式中，鐵負載過高病症選自輸血鐵負載過高、膳食鐵負載過高、遺傳性血色病、鐮形細胞貧血病、地中海貧血、伴 X 染色體的鐵粒幼紅細胞性貧血、丙酮酸激酶缺乏症以及葡萄糖-6-磷酸鹽脫氫酶缺乏症。在某些實施方式中，鐵負載過高病症係選自以下的遺傳性血色病：1 型血色病、2A 型血色病、2B 型血色病、3 型血色病、4 型血色病（或膜鐵轉運蛋白疾病）、亞洲血色病、新生兒血色病、遺傳性銅藍蛋白缺乏症以及缺轉鐵蛋白血。在某些實施方式中，向患有鐵負載過高病症的受試者給藥在此提供的化合物引起該受試者身體體內的過量鐵減少。

某些修飾

經修飾之寡核苷酸可以包含對核鹼基、糖和/或核苷間鍵聯的一種或多種修飾。可以因為希望的特性（例如像細胞攝取增強、對其他寡核苷酸或核酸靶標的親和性增強以及在核酸酶存在下的穩定性增加）選擇修飾之核鹼基、糖和/或核苷間鍵聯優先於未修飾之形式。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸包含一種或多種修飾的核苷。在某些實施方式中，經修飾之核苷係穩定性核苷。穩定性核苷的一個實例係 2'-修飾的核苷。

在某些實施方式中，經修飾之核苷包含經修飾之糖部分。在某些實施方式中，包含經修飾之糖部分之經修飾之核苷包含未經修飾之核鹼基。在某些實施方式中，經修飾之糖包含經修飾之核鹼基。在某些實施方式中，經修飾

之核苷係 2'-修飾之核苷。

在某些實施方式中，2'-修飾之核苷包含雙環糖部分。在某些此類實施方式中，該雙環糖部分係呈 α 構型之 D 糖。在某些此類實施方式中，該雙環糖部分係呈 β 構型之 D 糖。在某些此類實施方式中，該雙環糖部分係呈 α 構型之 L 糖。在某些此類實施方式中，該雙環糖部分係呈 β 構型之 L 糖。

在某些實施方式中，該雙環糖部分在 2' 碳原子與 4' 碳原子之間包含橋聯基團。在某些此類實施方式中，該橋聯基團包含 1 至 8 個連接的雙基團。在某些實施方式中，該雙環糖部分包含 1 至 4 個連接的雙基團。在某些實施方式中，該雙環糖部分包含 2 個或 3 個連接之雙基團。在某些實施方式中，該雙環糖部分包含 2 個連接之雙基團。此類 4' 至 2' 糖取代基的實例包括但不限於： $-\text{C}(\text{R}_a)(\text{R}_b)]_n-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a)(\text{R}_b)]_n-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a\text{R}_b)-\text{N}(\text{R})-\text{O}-$ 或 $-\text{C}(\text{R}_a\text{R}_b)-\text{O}-\text{N}(\text{R})-$ ； $4'-\text{CH}_2-2'$ 、 $4'-(\text{CH}_2)_2-2'$ 、 $4'-(\text{CH}_2)_3-2'$ ； $4'-(\text{CH}_2)-\text{O}-2'$ (LNA)； $4'-(\text{CH}_2)-\text{S}-2'$ ； $4'-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-2'$ (ENA)； $4'-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-2'$ (cEt) 和 $4'-\text{C}-\text{H}(\text{CH}_2\text{OCH}_3)-\text{O}-2'$ 及其類似物 (參見，例如於 2008 年 7 月 15 日頒予的美國專利 7,399,845)； $4'-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_3)-\text{O}-2'$ 及其類似物 (參見，例如於 2009 年 1 月 8 日公佈的 WO 2009/006478)； $4'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{OCH}_3)-2'$ 及其類似物 (參見，例如於 2008 年 12 月 11 日公佈的 WO 2008/150729)； $4'-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-2'$ (參見，例如於 2004 年 9 月 2 日公佈的 US 2004/0171570)； $4'-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{R})-2$ 和 $4'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R})-\text{O}-2'$ ，其中每個 R 獨立地是 H、保護基團或 C_1-C_{12} 烷基； $4'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R})-\text{O}-2'$ ，其中 R 係 H、 C_1-C_{12} 烷基或保護基團 (參見，於 2008 年 9 月 23 日頒予的美國專利

7,427,672) ; 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (參見 , 例如查多帕迪亞亞 (Chattopadhyaya) 等人 , 有機化學雜誌 (*J. Org. Chem.*) , 2009 , 74 , 118-134) ; 以及 4'-CH₂-C(=CH₂)-2'及其類似物 (參見 , 於 2008 年 12 月 8 日公佈的公佈 PCT 國際申請 WO 2008/154401) 。

在某些實施方式中 , 此類 4'至 2'橋聯獨立地包含 1 個或 2 至 4 個連接的基團 , 該等連接的基團獨立地選自-[C(R_a)(R_b)]_n-、-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-以及-N(R_a)- ;

其中 :

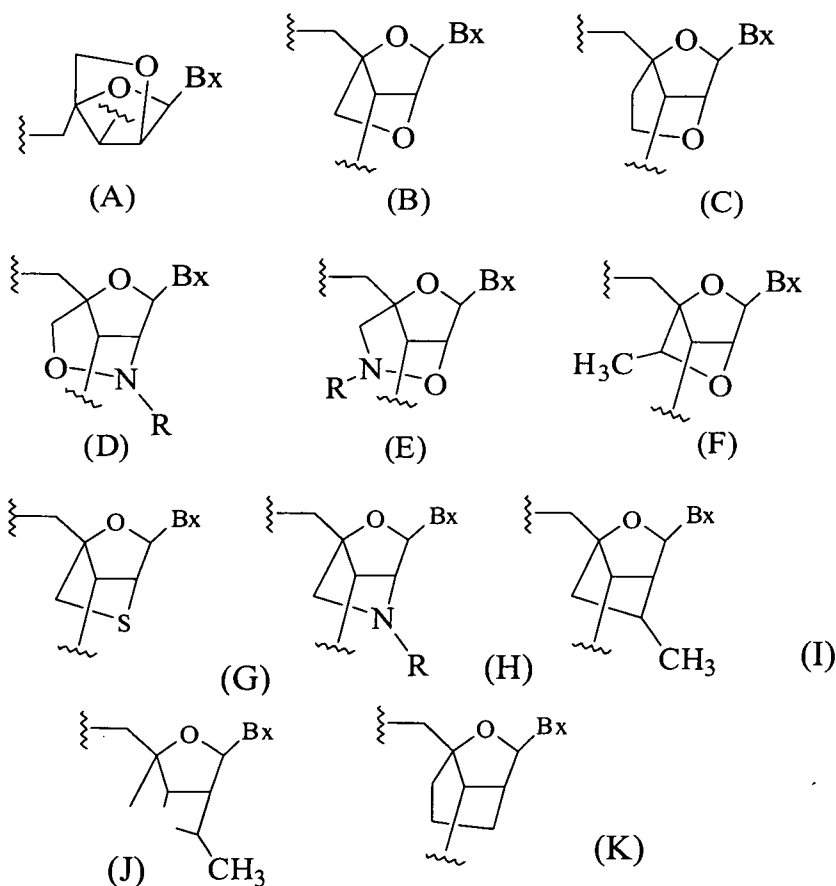
X 係 0、1 或 2 ;

n 係 1、2、3 或 4 ;

每個 R_a 和 R_b 獨立地是 H、保護基團、羥基、C₁-C₁₂ 烷基、取代的 C₁-C₁₂ 烷基、C₂-C₁₂ 烯基、取代的 C₂-C₁₂ 烯基、C₂-C₁₂ 炔基、取代的 C₂-C₁₂ 炔基、C₅-C₂₀ 芳基、取代的 C₅-C₂₀ 芳基、雜環基、取代的雜環基、雜芳基、取代的雜芳基、C₅-C₇ 脂環基、取代的 C₅-C₇ 脂環基、鹵素、OJ₁、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、COOJ₁、醯基 (C(=O)-H) 、取代的醯基、CN、磺醯基 (S(=O)₂-J₁) 或亞磺醯基 (S(=O)-J₁) ; 並且

每個 J₁ 和 J₂ 獨立地是 H、C₁-C₁₂ 烷基、取代的 C₁-C₁₂ 烷基、C₂-C₁₂ 烯基、取代的 C₂-C₁₂ 烯基、C₂-C₁₂ 炔基、取代的 C₂-C₁₂ 炔基、C₅-C₂₀ 芳基、取代的 C₅-C₂₀ 芳基、醯基 (C(=O)-H) 、取代的醯基、雜環基、取代的雜環基、C₁-C₁₂ 胺基烷基、取代的 C₁-C₁₂ 胺基烷基、或保護基團。

包含雙環糖部分之核苷稱為雙環核苷或 BNA。在某些實施方式中，雙環核苷包括但不限於如下所描繪的 (A) α -L-亞甲基氧基(4'-CH₂-O-2') BNA；(B) β -D-亞甲基氧基(4'-CH₂-O-2') BNA；(C) 伸乙基氧基(4'-(CH₂)₂-O-2') BNA；(D) 胺基氧基(4'-CH₂-O-N(R)-2') BNA；(E) 氧基胺基(4'-CH₂-N(R)-O-2') BNA；(F) 甲基(亞甲基氧基) (4'-CH(CH₃)-O-2') BNA (又稱為約束的乙基或 cEt)；(G) 亞甲基硫代(4'-CH₂-S-2') BNA；(H) 亞甲基-胺基(4'-CH₂-N(R)-2') BNA；(I) 甲基碳環(4'-CH₂-CH(CH₃)-2') BNA；(J) c-MOE (4'-CH₂-OMe-2') BNA 以及 (K)、伸丙基碳環(4'-(CH₂)₃-2') BNA。



其中 Bx 係核鹼基部分，並且 R 獨立地是 H、保護基團或 C₁-C₁₂ 烷基。

在某些實施方式中，2'-修飾的核苷包含選自以下的 2'-取代基：鹵基、烯

丙基、胺基、疊氮基、SH、CN、OCN、CF₃、OCF₃、O-、S-或 N(R_m)-烷基；O-、S-或 N(R_m)-烯基；O-、S-或 N(R_m)-炔基；O-亞烷基-O-烷基、炔基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基、O-芳烷基、O(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)或 O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n)，其中每個 R_m 和 R_n 獨立地是 H、胺基保護基團或取代或未取代的 C₁-C₁₀ 烷基。該等 2'-取代基可以進一步被獨立地選自以下的一個或多個取代基取代：羥基、胺基、烷氧基、羰基、苯甲基、苯基、硝基 (NO₂)、硫醇基、硫代烷氧基 (S-烷基)、鹵素、烷基、芳基、烯基以及炔基。

在某些實施方式中，2'-修飾之核苷包含選自以下的 2'-取代基：F、NH₂、N₃、OCF₃、O-CH₃、O(CH₂)₃NH₂、CH₂-CH=CH₂、O-CH₂-CH=CH₂、OCH₂CH₂OCH₃、O(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)、O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ 以及 N-取代的乙醯胺 (O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n))，其中每個 R_m 和 R_n 獨立地是 H、胺基保護基團或取代或未取代的 C₁-C₁₀ 烷基。

在某些實施方式中，2'-修飾之核苷包含選自以下的 2'-取代基：F、OCF₃、O-CH₃、OCH₂CH₂OCH₃、2'-O(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(CH₃)₂、O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ 以及 O-CH₂-C(=O)-N(H)CH₃。

在某些實施方式中，2'-修飾之核苷包含選自以下的 2'-取代基：F、O-CH₃ 和 OCH₂CH₂OCH₃。

在某些實施方式中，2'-修飾之核苷係 4'-硫代修飾之核苷。在某些實施方

式中，2'-修飾之核苷係 4'-硫代-2'-修飾之核苷。4'-硫代修飾之核苷具有 β -D-核糖核苷，其中 4'-O 被 4'-S 替代。4'-硫代-2'-修飾之核苷係 2'-OH 置換為 2'-取代基的 4'-硫代修飾之核苷。適合的 2'-取代基包括 2'-OCH₃、2'-O-(CH₂)₂-OCH₃ 和 2'-F。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸包含一種或多種核苷間修飾。在某些此類實施方式中，經修飾之寡核苷酸的每個核苷間鍵聯係修飾的核苷間鍵聯。在某些實施方式中，經修飾之核苷間鍵聯包含磷原子。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸包含至少一個硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸的每個核苷間鍵聯都是硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

在某些實施方式中，經修飾之核苷間鍵聯不包含磷原子。在某些此類實施方式中，核苷間鍵聯由短鏈烷基核苷間鍵聯形成。在某些此類實施方式中，核苷間鍵聯由環烷基核苷間鍵聯形成。在某些此類實施方式中，核苷間鍵聯由混合的雜原子與烷基核苷間鍵聯形成。在某些此類實施方式中，核苷間鍵聯由混合的雜原子與環烷基核苷間鍵聯形成。在某些此類實施方式中，核苷間鍵聯由一個或多個短鏈雜原子核苷間鍵聯形成。在某些此類實施方式中，核苷間鍵聯由一個或多個雜環核苷間鍵聯形成。在某些此類實施方式中，核苷間鍵聯具有醯胺骨架。在某些此類實施方式中，核苷間鍵聯具有混合的 N、O、S 和 CH₂ 組分部分。

在某些實施方式中，經修飾之寡核苷酸包含一個或多個經修飾之核鹼

基。在某些實施方式中，經修飾之核鹼基選自 7-脫氮鳥嘌呤、7-脫氮腺嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、2-氨基吡啶以及 2-吡啶酮。在某些實施方式中，經修飾之核鹼基選自：5-取代的嘧啶、6-氮雜嘧啶以及 N-2、N-6 和 O-6 取代的嘌呤，包括 2 氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶和 5-丙炔基胞嘧啶。

在某些實施方式中，經修飾之核鹼基包含多環雜環。在某些實施方式中，經修飾之核鹼基包含三環雜環。在某些實施方式中，經修飾之核鹼基包含吩吡啉衍生物。在某些實施方式中，該吩吡啉可以進一步被修飾以形成本領域中稱為 G-夾之核鹼基。

在某些此類實施方式中，該化合物包含具有一個或多個穩定性基團的經修飾之寡核苷酸，該一個或多個穩定性基團連接至經修飾之寡核苷酸的一個或兩個末端以增強例如像核酸酶穩定性的特性。穩定性基團中包括帽結構。該等末端修飾保護經修飾之寡核苷酸免受核酸外切酶降解，並且可以幫助遞送和/或定位在細胞內。該帽可以存在於 5'-末端（5'-帽）或 3'-末端（3'-帽），或可以存在於這兩個末端上。帽結構包括例如反向去氧無鹼基帽。

適合之帽結構包括：4',5'-亞甲基核苷酸、1-(β-D-赤呋喃糖基)核苷酸、4'-硫代核苷酸、碳環核苷酸、1,5-脫水己糖醇核苷酸、L-核苷酸、α-核苷酸、修飾的鹼基核苷酸、二硫代磷酸酯鍵、蘇式呋喃戊糖基核苷酸、無環 3',4'-開環核苷酸、無環 3,4-二羥基丁基核苷酸、無環 3,5-二羥基戊基核苷酸、3'-3'-反向核苷酸部分、3'-3'-反向無鹼基部分、3'-2'-反向核苷酸部分、3'-2'-反向無鹼基

部分、1,4-丁二醇磷酸酯、3'-胺基磷酸酯、己基磷酸酯、胺基己基磷酸酯、3'-磷酸酯、3'-硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、橋聯之甲基磷酸酯部分和非橋聯之甲基磷酸酯部分 5'-胺基-烷基磷酸酯、1,3-二胺基-2-丙基磷酸酯、3-胺基丙基磷酸酯、6-胺基己基磷酸酯、1,2-胺基十二烷基磷酸酯、羥基丙基磷酸酯、5'-5'-反向核苷酸部分、5'-5'-反向無鹼基部分、5'-胺基磷酸酯、5'-硫代磷酸酯、5'-胺基、橋聯和未橋聯的 5'-胺基磷酸酯、硫代磷酸酯以及 5'-巰基部分。

某些合成方法

可以使用本領域中已知的自動化固相合成方法來制得經修飾之寡核苷酸。在固相合成過程中，亞磷醯胺單體依次與共價連接至固體載體上的核苷偶聯。此核苷係該經修飾之寡核苷酸的 3' 末端核苷。典型地，該偶聯循環包括四步：脫三苯甲基（用酸去除 5'-羥基保護基團）、偶聯（將活化的亞磷醯胺連接至載體結合的核苷或寡核苷酸）、氧化或硫化（用氧化劑或硫化劑轉化新形成之亞磷酸三酯），並且加帽（乙醯化未反應之 5'-羥基）。在最後的偶聯循環之後，使該固體載體結合的寡核苷酸經受脫三苯甲基步驟，接著是裂解和去保護步驟，該裂解和去保護步驟同時使寡核苷酸從固體載體上釋放並且使保護基團從鹼基上去除。藉由過濾去除固體載體，濃縮濾液並且測試所得到的溶液的特性和純度。然後例如使用填充有陰離子交換樹脂的柱來純化寡核苷酸。

可以使用與產生未共軛的寡核苷酸的固相合成類似的自動固相合成來制得 GalNAc 共軛的經修飾之寡核苷酸。在合成 GalNAc 共軛的寡核苷酸過程

中，該等亞磷醯胺單體依次與共價連接至固體載體上的 GalNAc 共軛物偶聯。GalNAc 共軛物和 GalNAc 共軛物固體載體的合成例如在美國專利號 8,106,022 和國際申請公開號 WO 2013/033230 中描述，為了描述含碳水化合物之共軛物（包括包含一個或多個 GalNAc 部分的共軛物）的合成和共價連接至固體載體上的共軛物的合成，每個該等參考文件藉由引用以其全部內容結合在此。

某些藥物組合物

在此提供的任何該等化合物都可以製備成藥物組合物。在某些實施方式中，以劑量單位（例如，片劑、膠囊、大丸劑等等）的形式給藥藥物組合物。在一些實施方式中，藥物組合物包含選自以下範圍內之劑量之在此提供之化合物：25 mg 至 800 mg、25 mg 至 700 mg、25 mg 至 600 mg、25 mg 至 500 mg、25 mg 至 400 mg、25 mg 至 300 mg、25 mg 至 200 mg、25 mg 至 100 mg、100 mg 至 800 mg、200 mg 至 800 mg、300 mg 至 800 mg、400 mg 至 800 mg、500 mg 至 800 mg、600 mg 至 800 mg、100 mg 至 700 mg、150 mg 至 650 mg、200 mg 至 600 mg、250 mg 至 550 mg、300 mg 至 500 mg、300 mg 至 400 mg 以及 400 mg 至 600 mg。在某些實施方式中，此類藥物組合物包含以選自以下的劑量存在的在此提供之化合物：25 mg、30 mg、35 mg、40 mg、45 mg、50 mg、55 mg、60 mg、65 mg、70 mg、75 mg、80 mg、85 mg、90 mg、95 mg、100 mg、105 mg、110 mg、115 mg、120 mg、125 mg、130 mg、135 mg、140 mg、145 mg、150 mg、155 mg、160 mg、165 mg、170 mg、175 mg、180 mg、185 mg、190 mg、195 mg、200 mg、205 mg、210

mg、215 mg、220 mg、225 mg、230 mg、235 mg、240 mg、245 mg、250 mg、255 mg、260 mg、265 mg、270 mg、270 mg、280 mg、285 mg、290 mg、295 mg、300 mg、305 mg、310 mg、315 mg、320 mg、325 mg、330 mg、335 mg、340 mg、345 mg、350 mg、355 mg、360 mg、365 mg、370 mg、375 mg、380 mg、385 mg、390 mg、395 mg、400 mg、405 mg、410 mg、415 mg、420 mg、425 mg、430 mg、435 mg、440 mg、445 mg、450 mg、455 mg、460 mg、465 mg、470 mg、475 mg、480 mg、485 mg、490 mg、495 mg、500 mg、505 mg、510 mg、515 mg、520 mg、525 mg、530 mg、535 mg、540 mg、545 mg、550 mg、555 mg、560 mg、565 mg、570 mg、575 mg、580 mg、585 mg、590 mg、595 mg、600 mg、605 mg、610 mg、615 mg、620 mg、625 mg、630 mg、635 mg、640 mg、645 mg、650 mg、655 mg、660 mg、665 mg、670 mg、675 mg、680 mg、685 mg、690 mg、695 mg、700 mg、705 mg、710 mg、715 mg、720 mg、725 mg、730 mg、735 mg、740 mg、745 mg、750 mg、755 mg、760 mg、765 mg、770 mg、775 mg、780 mg、785 mg、790 mg、795 mg 以及 800 mg。在某些此類實施方式中，藥物組合物包含選自以下的劑量的在此提供之化合物：25 mg、50 mg、75 mg、100 mg、150 mg、200 mg、250 mg、300 mg、350 mg、400 mg、500 mg、600 mg、700 mg 以及 800 mg。

在某些實施方式中，藥物組合物包含在以下劑量下給藥的在此提供之化合物：10 mg/kg 或更少、9 mg/kg 或更少、8 mg/kg 或更少、7.5 mg/kg 或更

少、7 mg/kg 或更少、6.5 mg/kg 或更少、6 mg/kg 或更少、5.5 mg/kg 或更少、5 mg/kg 或更少、4.5 mg/kg 或更少、4 mg/kg 或更少、3.5 mg/kg 或更少、3 mg/kg 或更少、2.5 mg/kg 或更少、2 mg/kg 或更少、1.5 mg/kg 或更少、1 mg/kg 或更少、0.75 mg/kg 或更少、0.5 mg/kg 或更少、或 0.25 mg/kg 或更少。

在某些實施方式中，藥劑係用適合的稀釋劑（例如，注射用無菌水或注射用無菌鹽水）復原的無菌凍乾化合物。在稀釋到鹽水中之後，復原的產品以皮下注射或靜脈內輸注形式給藥。凍乾之藥物產品由化合物組成，該化合物已在注射用水中或在注射用鹽水中製備，在製備過程中用酸或鹼調節至 pH 7.0-9.0，並且然後凍乾。凍乾之化合物可以是 25 mg 至 800 mg 的寡核苷酸。應當理解，這涵蓋了 25 mg、50 mg、75 mg、100 mg、125 mg、150 mg、175 mg、200 mg、225 mg、250 mg、275 mg、300 mg、325 mg、350 mg、375 mg、425 mg、450 mg、475 mg、500 mg、525 mg、550 mg、575 mg、600 mg、625 mg、650 mg、675 mg、700 mg、725 mg、750 mg、775 mg 以及 800 mg 的經修飾之凍乾寡核苷酸。此外，在一些實施方式中，凍乾之化合物以在以下範圍內之量存在：25 mg 至 800 mg、25 mg 至 700 mg、25 mg 至 600 mg、25 mg 至 500 mg、25 mg 至 400 mg、25 mg 至 300 mg、25 mg 至 200 mg、25 mg 至 100 mg、100 mg 至 800 mg、200 mg 至 800 mg、300 mg 至 800 mg、400 mg 至 800 mg、500 mg 至 800 mg、600 mg 至 800 mg、100 mg 至 700 mg、150 mg 至 650 mg、200 mg 至 600 mg、250 mg 至 550 mg、300 mg 至 500 mg、300 mg 至 400 mg、或 400 mg 至 600 mg。凍乾的藥物產品可以被包裝在

2 mL I 型透明玻璃小瓶（經過硫酸銨處理的）中，用溴丁基橡膠封閉件塞住並且用鋁 FLIP-OFF®密封件密封。

在某些實施方式中，在此提供的藥物組合物包含治療有效量之化合物。在某些實施方式中，該治療有效量足以預防、緩解或改善疾病的症狀或延長正治療的受試者之存活期。確定治療有效量完全處於熟習該項技術者之能力之內。

在某些實施方式中，在此提供的該等藥物組合物可以另外包含其他本領域熟知用量的在藥物組合物中常規存在之輔助組分。因此，例如該等組合物可以包含另外的、可相容的藥物活性材料，例如像止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或抗炎劑，或可以包含對物理配製本發明該等組合物之各種劑型有用的另外的材料，如染料、芳香劑、防腐劑、抗氧化劑、遮光劑、增稠劑和穩定劑。然而，當添加此類材料時，它們不應當過度干擾本發明的該等組合物的組分的生物活性。可以對該等配製品進行滅菌並且必要時與助劑例如潤滑劑、防腐劑、穩定劑、濕潤劑、乳化劑、用於影響滲透壓的鹽、緩衝劑、著色物質、芳香物質和/或芬芳物質等進行混合，該等助劑不與該配製品中的這個或該等寡核苷酸發生有害的相互作用。

脂質部分已用於各種方法中的核酸療法中。在一方法中，核酸被引入到預形成的脂質體或由陽離子性脂質與中性脂質之混合物製成的脂質複合物中。在另一個方法中，在沒有中性脂質存在的情況下形成與單陽離子性脂質或聚陽離子性脂質的 DNA 複合物。在某些實施方式中，選擇脂質部分來增加

藥劑向特定細胞或組織之分佈。在某些實施方式中，選擇脂質部分來增加藥劑向脂肪組織之分佈。在某些實施方式中，選擇脂質部分來增加藥劑向肌肉組織之分佈。

在某些實施方式中，使用英脫利匹特 (INTRALIPID) 來製備包含寡核苷酸的藥物組合物。英脫利匹特係製備用於靜脈內給藥之脂肪乳液。它由 10% 大豆油、1.2% 蛋黃磷脂、2.25% 甘油以及注射用水組成。另外，添加氫氧化鈉以調節 pH 使得最終產品 pH 範圍係 6 至 8.9。

在某些實施方式中，在此提供的藥物組合物包含聚胺化合物或與核酸複合的脂質部分。此類製備描述在 PCT 公佈 WO/2008/042973 中，為了揭露脂質製備該文獻藉由引用以其全部內容結合在此。某些另外的製備描述在埃克裡克 (Akinc) 等人，自然生物技術 (*Nature Biotechnology*) 26，561-569 (2008 年 5 月 1 日) 中，為了揭露脂質製備，該參考文件藉由引用以其全部內容結合在此。

在某些實施方式中，在此提供之多種藥物組合物包含一種或多種化合物和一種或多種賦形劑。在某些此類實施方式中，賦形劑選自：水、鹽溶液、醇、聚乙二醇、明膠、乳糖、澱粉酶、硬脂酸鎂、滑石、矽酸、粘性石蠟、羥甲基纖維素以及聚乙烯吡咯啉酮。

在某些實施方式中，在此提供之藥物組合物使用已知的技術，包括但不限於混合、溶解、造粒、制糖丸、粉碎、乳化、囊封、截留或壓片工藝來製備。

在某些實施方式中，在此提供之藥物組合物係液體（例如，混懸液、酏劑和/或溶液）。在某些此類實施方式中，液體藥物組合物使用本領域已知的成分，包括但不限於水、二醇、油、醇、芳香劑、防腐劑以及著色劑來製備。

在某些實施方式中，在此提供之藥物組合物係固體（例如，散劑、片劑和/或膠囊）。在某些此類實施方式中，包含一種或多種寡核苷酸的固體藥物組合物使用本領域已知的成分，包括但不限於澱粉、糖、稀釋劑、粒化劑、潤滑劑、粘合劑以及崩解劑來製備。

在某些實施方式中，在此提供之藥物組合物被配製成儲積型（depot）製劑。某些此類儲積型製劑典型地比非儲積型製劑作用更長。在某些實施方式中，此類製劑藉由植入（例如，皮下或肌肉內）或藉由肌肉內注射來給藥。在某些實施方式中，儲積型製劑使用適合的聚合材料或疏水材料（例如，可接受的油中的乳液）或離子交換樹脂或作為微溶性衍生物（例如作為微溶性鹽）來製備。

在某些實施方式中，在此提供的藥物組合物包含遞送系統。遞送系統的實例包括但不限於脂質體和乳液。某些遞送系統適用於製備某些藥物組合物，包括包含疏水化合物的那些組合物。在某些實施方式中，使用了某些有機溶劑，如二甲亞碸。

在某些實施方式中，在此提供的藥物組合物包含被設計成將在此提供的一種或多種化合物遞送至特定組織或細胞類型的一種或多種組織特異性遞送

分子。例如，在某些實施方式中，藥物組合物包括塗有組織特異性抗體的脂質體。

在某些實施方式中，在此提供的藥物組合物包含共溶劑系統。某些此類共溶劑系統包含例如苯甲醇、非極性表面活性劑、水不可混溶的有機聚合物以及水相。在某些實施方式中，此類共溶劑系統用於疏水化合物。這種共溶劑系統的一個非限制性實例係 VPD 共溶劑系統，該 VPD 共溶劑系統係包含 3% w/v 苯甲醇、8% w/v 非極性表面活性劑聚山梨醇酯 80™和 65% w/v 聚乙二醇 300 的無水乙醇溶液。此類共溶劑系統中的比例可以在不顯著改變它們溶解性和毒性特徵情況下大幅度改變。此外，共溶劑組分之特性可以改變：例如，可以使用其他表面活性劑代替聚山梨醇酯 80™；聚乙二醇的部分大小可以改變；其他生物可相容聚合物可以代替聚乙二醇，例如聚乙烯吡咯酮；並且其他糖或多糖可以取代葡萄糖。

在某些實施方式中，在此提供的藥物組合物包含持續釋放系統。這種持續釋放系統的一非限制性實例係固體疏水聚合物之半滲透基質。在某些實施方式中，持續釋放系統可以取決於它們化學性質在數小時、數天、數週或數月的時間裡釋放藥劑。

在某些實施方式中，在此提供的藥物組合物被製備用於口服給藥。在某些此類實施方式中，藥物組合物藉由將包含經修飾之寡核苷酸的一種或多種化合物與一種或多種藥學上可接受的載劑組合來配製。某些此類載劑能夠使藥物組合物配製成用於由受試者口服攝入的片劑、大丸劑、糖衣丸、膠囊、

液體、凝膠、糖漿、漿料、混懸劑等。在某些實施方式中，用於口服使用的藥物組合物藉由將寡核苷酸與一種或多種固體賦形劑混合來獲得。適合的賦形劑包括但不限於：填充劑，如糖，包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇；纖維素製劑，例如像玉米澱粉、小麥澱粉、米澱粉、土豆澱粉、明膠、黃蓍膠、甲基纖維素、羥丙甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉和/或聚乙烯吡咯啉酮（PVP）。在某些實施方式中，可隨意地研磨這種混合物並且可隨意地添加助劑。在某些實施方式中，使藥物組合物成形以獲得片劑或糖衣丸芯。在某些實施方式中，添加崩解劑（例如，交聯聚乙烯吡咯啉酮、瓊脂或海藻酸或其鹽，如海藻酸鈉）。

在某些實施方式中，糖衣丸芯具有塗層。在某些此類實施方式中，可以使用濃縮的糖溶液，該等濃縮的糖溶液可以可隨意地包含阿拉伯膠、滑石、聚乙烯吡咯啉酮、卡波姆凝膠、聚乙二醇和/或二氧化鈦、漆溶液以及適合的有機溶劑或溶劑混合物。可以將染料或顏料添加至片劑或糖衣丸塗層中。

在某些實施方式中，用於口服給藥的藥物組合物係由明膠製成的推入配合膠囊。某些此類推入配合膠囊包含與一種或多種填充劑如乳糖、粘合劑如澱粉和/或乳化劑如滑石或硬脂酸鎂以及可隨意地穩定劑相混合的本發明的一種或多種藥劑。在某些實施方式中，用於口服給藥的藥物組合物係由明膠和增塑劑（如甘油或山梨醇）製成的軟密封膠囊。在某些軟膠囊中，本發明的一種或多種藥劑被溶解或懸浮在適合的液體中，如脂肪油、液體石蠟或液體聚乙二醇。另外，可以添加穩定劑。

在某些實施方式中，藥物組合物被製備用於經頰給藥。某些此類藥物組合物係以常規方式配製的片劑或錠劑。

在某些實施方式中，藥物組合物被製備用於藉由注射（例如，靜脈內、皮下、肌肉內等）來給藥。在某些此類實施方式中，藥物組合物包含載劑並且被配製在水溶液中，如水或生理上相容的緩衝液如漢克斯溶液（Hanks's solution）、林格氏溶液（Ringer's solution）或生理鹽水緩衝液。在某些實施方式中，包括其他成分（例如，幫助溶解或充當防腐劑的成分）。在某些實施方式中，使用適當的液體載劑、懸浮劑等來製備可注射混懸液。某些注射用藥物組合物以單位劑型存在，例如在安瓿中或在多劑量容器中。某些注射用藥物組合物係油性或水性媒介物中的混懸液、溶液或乳液，並且可以包含配製劑，如懸浮劑、穩定劑和/或分散劑。適合用於注射用藥物組合物的某些溶劑包括但不限於：親脂性溶劑和脂肪油，如芝麻油；合成脂肪酸酯，如油酸乙酯或甘油三酯；以及脂質體。水性注射混懸液可以包含增加該混懸液的粘度的物質，如羧甲基纖維素鈉、山梨醇或葡聚糖。可隨意地，此類混懸液還可以包含適合的穩定劑或增加藥劑溶解性以允許製備高濃度溶液的試劑。

在某些實施方式中，藥物組合物被製備用於透粘膜給藥。在某些此類實施方式中，在配製品中使用了適合於透過屏障的滲透劑。此類滲透劑通常是本領域中已知的。

在某些實施方式中，在此提供的一種或多種經修飾之寡核苷酸以前藥形式給藥。在某些實施方式中，當體內給藥時，前藥以化學或酶促方式轉化為

寡核苷酸的生物學上、藥學上或治療上更有活性之形式。在某些實施方式中，前藥係有用的，因為它們比對應的活性形式更容易給藥。例如，在某些情況下，前藥可以是比對應的活性形式更具有可生物利用性（例如，藉由口服給藥）。在某些實施方式中，前藥具有優良的跨細胞膜傳輸。在某些實施方式中，前藥有利於經修飾之寡核苷酸遞送至所希望之細胞類型、組織或器官。在某些實施方式中，前藥係包含共軛的經修飾之寡核苷酸的化合物。在某些實施方式中，與對應活性形式相比，前藥可以具有提高的溶解性。在某些實施方式中，前藥比對應的活性形式的水溶性小。在某些實施方式中，前藥係酯。在某些此類實施方式中，當給藥時，該酯被代謝水解成羧酸。在某些情況下，含有羧酸的化合物係對應的活性形式。在某些實施方式中，前藥包含結合至酸基團之短肽（聚胺基酸）。在某些此類實施方式中，當給藥時，該肽裂解以形成對應的活性形式。在某些實施方式中，藉由修飾藥物活性化合物以使得該活性化合物在體內給藥時將再生來產生前藥。該前藥可以被設計成改變藥物的代謝穩定性或運輸特徵，掩蔽副作用或毒性，改進藥物的香味或改變藥物的其他特徵或特性。憑藉體內的藥物動力學過程和藥物代謝的知識，熟習該項技術者一旦已知藥物活性化合物，就可以設計該化合物的前藥（參見，例如諾甘地（Nogrady）（1985）藥物化學 A 生物化學方法（Medicinal Chemistry A Biochemical Approach），牛津大學出版，紐約，第388-392頁）。

某些給藥途徑

在某些實施方式中，向受試者給藥包括腸胃外給藥。在某些實施方式中，向受試者給藥包括靜脈內給藥。在某些實施方式中，向受試者給藥包括皮下給藥。

在某些實施方式中，向受試者給藥包括動脈內、肺部、口服、直腸、透粘膜、腸內、小腸內、局部、透皮、栓劑、鞘內、心室內、腹膜內、鼻內、眼內、肌肉內、髓內以及瘤內給藥。

某些 miR-122 試劑盒

本發明還提供了試劑盒。在一些實施方式中，試劑盒包含在此提供的一種或多種化合物。在一些實施方式中，在此提供的化合物存在於小瓶內。在例如分配包裝中可以存在多個小瓶，如 10 個。在一些實施方式中，小瓶製造成注射器可接近。試劑盒還可以包含在此提供的該等化合物的使用說明書。

在一些實施方式中，該等試劑盒可以用於向受試者給藥在此提供的化合物。在此類情況下，除了包含在此提供的至少一種化合物以外，該試劑盒可以進一步包括以下中的一個或多個：注射器、酒精棉簽、棉球和/或紗布墊。在一些實施方式中，與 miR-122 互補的該等化合物可以存在於預填充注射器（如具有例如帶針保護器的 27 號、 $\frac{1}{2}$ 英吋針頭之單劑量注射器）中，而不是小瓶中。在例如分配包裝中可以存在多個預填充注射器，如 10 個。試劑盒還可以包含在此提供的化合物的給藥說明書。

某些實驗模型

在某些實施方式中，本發明提供了在實驗模型中使用和/或測試在此提供

的化合物之方法。熟習該項技術者能夠選擇和修改用於該等實驗模型的方案以評估在此提供之化合物。

在給藥抗 miR 化合物之後反義抑制微小 RNA 之作用可以藉由本領域已知的各種方法來評價。在某些實施方式中，該等方法用來定量體外或體內細胞或組織中之微小 RNA 水平。在某些實施方式中，藉由微陣列分析來測量微小 RNA 水平之變化。在某些實施方式中，藉由若干商業上可獲得的 PCR 測定之一如 TaqMan® 微小 RNA 測定（應用生物系統，生命科技品牌）來測量微小 RNA 水平之變化。

可以使用螢光素酶細胞培養測定來評價抗 miR 化合物之體外活性。在這個測定中，微小 RNA 螢光素酶感測器構建體被工程改造成包含融合至螢光素酶基因的相關微小 RNA 的一個或多個結合位點。當微小 RNA 結合該螢光素酶感測器構建體中它的同源位點時，螢光素酶表現被壓制。當將適當的抗 miR 引入到細胞中時，它結合靶微小 RNA 並且解除螢光素酶表現的壓制。因此，在這個測定中，作為相關微小 RNA 的有效抑制劑的抗 miR 將引起螢光素酶表現增加。

可以藉由測量微小 RNA 的靶標的 mRNA 和/或蛋白質水平來評價抗 miR 化合物之活性。微小 RNA 結合一個或多個靶 RNA 內的互補位點，導致靶 RNA 被壓制，因此抑制微小 RNA 引起該微小 RNA 的靶標的 mRNA 和/或蛋白質之水平增加（即，去阻抑）。可以在體內或體外測量一個或多個靶 RNA 之去阻抑。例如，miR-122 的靶標係醛縮酶 A（ALDOA）。抑制 miR-122 引

起 ALDOA mRNA 之水平增加，因此 ALDOA mRNA 水平可以用來評估抗 miR-122 化合物之抑制活性。

可以在 HCV 複製子測定中測量抗 miR-122 化合物對 HCV 複製之作用。在這個測定中，化合物被引入到細胞系（例如，人肝細胞癌細胞系）中，該細胞系包含具有穩定的螢光素酶報導體和三個細胞培養適應突變（luc-ubi-neo/ET）的 HCV 的亞基因組複製子。該螢光素酶報導體用作 HCV 複製的間接指標。所使用的複製子可以是親本 HCV 基因型或具有賦予抗病毒劑抗性的突變之 HCV 基因型。可以單獨地或與用於治療 HCV 感染的其他藥劑組合來評估抗 miR-122 化合物。在一些實施方式中，可以在體內或體外測定中測試經修飾之寡核苷酸，並且隨後共軛以形成用於在此描述的該等方法中使用的化合物。

實例

提出以下實例以便更完全地說明本發明的一些實施方式。然而，該等實例決不應當解釋為對本發明寬泛範圍之限制。

熟習該項技術者將易於在不背離本發明精神情況下，採用本發現的基本原理來設計各種化合物。

實例 1：抗 miR-122 化合物的設計和評估

為了鑒定 miR-122 的有效抑制劑，設計和合成了許多抗 miR-122 修飾之寡核苷酸。該等經修飾之寡核苷酸在長度以及在雙環核苷和非雙環核苷的數目、位置以及特性上不同。在許多測定中評估該等化合物以鑒定出作為適用

於治療 HCV 感染的治療劑之抗 miR。以反復的方式進行該等化合物的評估，其中藉由設計變化進一步優化高度活性之化合物，並且接著使得到的化合物受到另外的篩選。化合物評估過程包括評價效力、安全性以及物理化學特徵。

在第一螢光素酶細胞培養活性測定中，總共設計和測試了超過 400 種抗 miR-122 修飾之寡核苷酸。在另一個螢光素酶測定之後並且為了測量某些化合物的代謝穩定性，選擇大約 70 種該等化合物用於進一步體內測試。這 70 種化合物中大約有 10 種化合物被鑒定為具有適合之體內效力（例如，小於 5 mg/kg 的 ED_{50} ）。該等化合物的一子集被鑒定為在齧齒動物和非人靈長類動物中具有特定安全性特徵。因此，篩選的數百種化合物中，僅初始超過 400 種化合物中的一小子集滿足某些效力、安全性以及物理化學標準。

某些抗 miR-122 化合物在表 A 中示出。“miR-122 上之位置”係從 5' 末端 SEQ ID NO: 1 計數，在該列中的核苷與 SEQ ID NO: 1 互補之位置。

表 A：某些抗 miR-122 化合物

化合物#	序列 (5'到 3') 和修飾																						SEQ ID NO
miR-122 上的位置	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
38011							Cs	C	A	Us	T	Gs	Us	C	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		A 3
38012							Cs	C	As	T	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		A 3
38013							Cs	C	A	Us	T	Gs	T	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		A 3
38014							Cs	C	A	Us	T	Gs	Us	C	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		AE 3
38015							MeCs	C	A	Ts	T	Gs	Ts	C	A	MeCs	A	MeCs	T	MeCs	MeCs		AE 3
38016							MeCs	C	A	Ts	T	G	Ts	MeCs	A	MeCs	A	MeCs	T	MeCs	MeCs		AE 3
38021							CL	C	A	TL	T	G	TL	CL	A	CL	A	CL	T	CL	CL		4
38646				AE	MeCE	AE	MeCE	C	As	T	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		4
38647				AE	MeCE	AE	MeCE	MeCE	As	T	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		4
38648				AE	MeCE	AE	MeCE	MeCE	AE	T	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		4
38649				AE	MeCE	AE	MeCE	MeCE	AE	TE	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		4
38650				AE	MeCE	AE	MeCE	MeCE	AE	TE	TE	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		4
38651				AE	MeCE	AE	MeCE	MeCE	AE	TE	TE	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		4
38652	MeCE	AE	AE	AE	MeCE	AE	Cs	C	As	T	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		5
38660	MeCE	AE	AE	AE	MeCE	AE	Cs	C	As	T	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs		6
38872							Cs	C	A	Us	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs	TE	A 3
38910							MeCE	Cs	A	Us	T	G	Us	Cs	A	Cs	A	Cs	T	Cs	Cs	AE	3



糖部分指明如下：後面沒有下標的核苷表明 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“E”的核苷表明 2'-MOE 核苷；後面有下標“S”的核苷表明 S-cEt 核苷；後面有下標“L”的核苷表明 LNA 核苷。每個核苷間鍵聯都是硫代磷酸酯核苷間鍵聯。上標“Me”表明在核苷的鹼基上的 5-甲基基團。

效力

體外和體內效力

使用體外螢光素酶測定來測量每種化合物抑制細胞培養物中的 miR-122 的活性的能力。在這個測定中，對微小 RNA 螢光素酶感測器構建體進行工程改造以包含融合至螢光素酶基因的多個 miR-122 結合位點。當 miR-122 結合該螢光素酶感測器構建體中它的靶位點時，螢光素酶表現被壓制。當將活性抗 miR-122 化合物引入到細胞中時，它結合 miR-122 並且解除螢光素酶表現的壓制。因此，在這個測定中，作為 miR-122 的有效抑制劑的抗 miR-122 化合物將引起螢光素酶表現增加。

將螢光素酶感測器構建體和表現 miR-122 的第二構建體引入到海拉細胞 (Hela cell) 中。將若干不同濃度的抗 miR-122 化合物轉染到細胞中。使具有小於 100 nM 的 EC_{50} 之化合物經受另一個螢光素酶測定 (抗 miR 濃度的範圍比初始螢光素酶測定寬) 來證實活性。如在表 B 中所指明，在兩個分開的實驗中測試化合物。每種化合物的平均 EC_{50} 在表 B 中示出。結果證明了糖部分或核鹼基的改變可以影響抗 miR-122 化合物的體外效力。

表 B:螢光素酶細胞培養測定中的平均 EC₅₀

化 合 物#	序列和化學性質	實 驗 #	螢光 素酶 平均 EC ₅₀
38011	C _S CAU _S TG _S U _S CAC _S AC _S TC _S C _S A	1	38.45
38012	C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S A	1	43.78
38013	C _S CAU _S TG _S TC _S AC _S AC _S TC _S C _S A	1	53.27
38014	C _S CAU _S TG _S U _S CAC _S AC _S TC _S C _S A _E	1	42.71
38015	^{Me} C _S CAT _S TG _S T _S CA ^{Me} C _S A ^{Me} C _S T ^{Me} C _S ^{Me} C _S A _E	1	42.40
38016	^{Me} C _S CAT _S TGT _S ^{Me} C _S A ^{Me} C _S A ^{Me} C _S T ^{Me} C _S ^{Me} C _S A _E	1	14.07
38021	^{Me} C _L CAT _L TGT _L ^{Me} C _L A ^{Me} C _L A ^{Me} C _L T ^{Me} C _L ^{Me} C _L A _E	1	11.18
38872	C _S CAU _S TGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S A	2	18.3
38910	^{Me} CC _S AU _S TGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S A _E	未測試	
38646	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	2	77.15
38647	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	2	57.44
38648	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	2	97.68
38649	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E T _E TGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	2	46.76
38650	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E T _E T _E GU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	2	28.16
38651	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E T _E T _E G _E U _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	2	26.12
38652	^{Me} C _E A _E A _E A _E ^{Me} C _E A _E CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S	2	31.86
38659	C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S T _E	2	130.01
38660	^{Me} C _E A _E A _E A _E ^{Me} C _E A _E CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S T _E	2	17.02

為了確定體內效力，評估某些化合物使通常受到 miR-122 活性壓制的基因肝臟醛縮酶 A (ALDOA) 表現去阻抑的能力。抑制 miR-122 導致 ALDOA 表現增加，因此 ALDOA mRNA 水平可以用來測量體內的 miR-122 抑制活性。在表 C 指明的量下以單次劑量向小鼠給藥化合物，並且在研究終止 7 天后，藉由定量 PCR 測量從肝臟分離的 RNA 中之 ALDOA mRNA 水平。除了

化合物 38910 以外，在同一研究中測試表 C 中的每種化合物。相對於鹽水，計算 ALDOA mRNA 的倍數變化以確定體內效力（“ND”表明“未確定”）。

表 C：抗 miR-122 化合物結構和效力的比較

化合物#	序列和化學性質	相對於鹽水 ALDOA 的倍數變化		
		1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg
38011	C ₅ CAU ₅ TG ₅ U ₅ CAC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ A	1.47	2.10	3.89
38012	C ₅ CA ₅ TTGU ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ A	1.79	4.69	4.57
38013	C ₅ CAU ₅ TG ₅ TC ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ A	1.31	1.61	2.55
38014	C ₅ CAU ₅ TG ₅ U ₅ CAC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ A _E	1.16	1.82	2.94
38015	^{Me} C ₅ CAT ₅ TG ₅ T ₅ CA ^{Me} C ₅ A ^{Me} C ₅ T ^{Me} C ₅ ^{Me} C ₅ A _E	1.43	1.64	1.82
38016	^{Me} C ₅ CAT ₅ TGT ₅ ^{Me} C ₅ A ^{Me} C ₅ A ^{Me} C ₅ T ^{Me} C ₅ ^{Me} C ₅ A _E	1.43	2.34	4.18
38021	^{Me} C _L CAT _L TGT _L ^{Me} C _L A ^{Me} C _L A ^{Me} C _L T ^{Me} C _L ^{Me} C _L A _E	1.46	3.01	3.91
38872	C ₅ CAU ₅ TGU ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ A	1.80	4.04	4.89
38910	^{Me} CC ₅ AU ₅ TGU ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ A _E	ND	2.35	3.26

如在表 C 中可以看出，糖部分或核鹼基的位置的單一變化可以對體內效力具有影響。例如，38872 與 38011 之間僅有的差異係 cEt 糖部分的位置，然而 0011 的體內效力顯著低於 38872 的體內效力，其中相當水平的 ALDOA 去阻抑僅在 38011 的較高劑量 10 mg/kg 下達到，相比之下化合物 38872 的劑量為 3 mg/kg。相對於 38016，化合物 38021 具有 LNA 代替 cEt 糖部分，並且具有與 38016 類似的效力，因此這種差異不影響效力。在這組化合物中，化合物 38012、38016、38021 和 38872 被鑒定為活性化合物。

進行另外的研究以評估某些另外的抗 miR-122 化合物。該等研究的結果

在表 D 中示出。在一個體內研究中一同測試了化合物 38646、38647、38648、38649、38650、38651 和 38652，並且在另一個體內研究中一同測試了化合物 38659 和 38660。

表 D：抗 miR-122 化合物結構和效力的比較

化合物#	序列和結構	螢光素酶平均 EC ₅₀	相對於鹽水 ALDOA 之倍數變化	
			3 mg/kg	10 mg/kg
38646	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S --	77.15	ND	ND
38647	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S --	57.44	2.61	4.81
38648	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S --	97.68	3.28	4.36
38649	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E T _E TGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S --	46.76	2.84	4.46
38650	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E T _E T _E GU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S --	28.16	1.51	2.03
38651	A _E ^{Me} C _E A _E ^{Me} C _E ^{Me} C _E A _E T _E T _E G _E U _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S --	26.12	1.26	1.46
38652	^{Me} C _E A _E A _E A _E ^{Me} C _E A _E C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S --	31.86	1.86	4.27
38659	C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S T _E	130.01	4.44	4.82
38660	^{Me} C _E A _E A _E A _E ^{Me} C _E A _E C _S CA _S TTGU _S C _S AC _S AC _S TC _S C _S T _E	17.02	3.84	4.44

如上，該等數據說明了糖部分的位置的單一變化可以對體內效力具有相當大的影響。此外，表明體外和體內效力不一定相關。例如，化合物 38659 具有低體外效力，但確是體內 miR-122 的非常有效的抑制劑。

抗 miR-122 化合物結構和體內效力的比較揭示與一組活性抗 miR-122 共有的 11 個核苷的核心序列。這個核心序列（其中 B-D-去氧糖部分和雙環糖部分位於抗 miR-122 核苷酸序列上的相同位置）在表 D-2 中突出顯示。具有該

11 個核苷核心的核鹼基序列與 miR-122 (SEQ ID NO: 1) 之核鹼基 2 至 12 互補。

表 D-2：具有共有核心序列之有效抗 miR-122 修飾之寡核苷酸

化合物 #	序列 (5'到 3') 和結構																						SEQ ID NO
miR-122 上的位置	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
38012							C _S	C	A _S	T	T·	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S	A	3
38016							MeC _S	C	A	T _S	T	G	T _S	MeC _S	A	MeC _S	A	MeC _S	T	MeC _S	MeC _S	A _E	3
38021							C _L	C	A	T _L	T	G	T _L	C _L	A	C _L	A	C _L	T	C _L	C _L		4
38646				A _E	MeC _E	A _E	MeC _E	C	A _S	T	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S		4
38647				A _E	MeC _E	A _E	MeC _E	MeC _E	A _S	T	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S		4
38648				A _E	MeC _E	A _E	MeC _E	MeC _E	A _E	T	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S		4
38649				A _E	MeC _E	A _E	MeC _E	MeC _E	A _E	T _E	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S		4
38652	MeC _E	A _E	A _E	A _E	MeC _E	A _E	C _S	C	A _S	T	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S		5
38659							C _S	C	A _S	T	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S	T _E	3
38660	MeC _E	A _E	A _E	A _E	MeC _E	A _E	C _S	C	A _S	T	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S	T _E	6
38872							C _S	C	A	U _S	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S	A	3
38910							MeC _E	C _S	A	U _S	T	G	U _S	C _S	A	C _S	A	C _S	T	C _S	C _S	A _E	3



該等數據說明了產生體內 miR-122 的有效抑制劑的某一核心核苷型態之發現。

HCV 複製子研究

使用 HCV 複製子測定來確定抗 miR-122 化合物抑制 HCV (包括親本 HCV 基因型和具有賦予抗病毒劑抗性的突變的 HCV 基因型) 複製能力。在這個測定中測試化合物 38649 以確定它抑制基因型 1a (H77 病毒株)、基因型 1b 以及基因型 1b 的若干變體 (A156T、A156S、D168a 和 V36M) 的 HCV 亞基因組複製子複製能力。

針對這個測定，使用的細胞系係細胞系 ET，一包含具有穩定的螢光素酶報導體和三個細胞培養適應性突變的 HCV 之亞基因組複製子 (luc-ubi-neo/ET) 的 Huh7 人肝細胞癌細胞系。螢光素酶報導體用作 HCV 複製之間接指標。HCV 複製子抗病毒評估測定檢驗處於每種化合物 6 次半對數濃度的化合物之作用。納入干擾素 α -2b 作為陽性對照化合物。將 ET 系的亞融合培養物鋪放到 96 孔板中，並且第二天用陽離子性脂質將抗 miR-122 化合物轉染到細胞中。72 小時後在該等細胞仍然是亞融合時對細胞進行處理。HCV 複製子水平被評價為 HCV RNA 複製子產生的螢光素酶活性。計算每種 HCV 基因型的 EC_{50} (觀察到 50% 抑制時的濃度)，並且在表 E 中示出。還計算了選擇性指數 (SI_{50} ，病毒複製的 EC_{50} 與固有細胞毒性的 EC_{50} 的比率) 並且在表 E 中示出。

表 E：化合物 38649 之抗病毒活性

HCV 基因型	抗病毒活性 EC ₅₀ (nM)	選擇性指數 SI ₅₀
HCV 基因型 1b	57.8 nM	4.0
HCV 基因型 1b 變體 V36M	139.6 nM	> 2.0
HCV 突變體 A156S	45.9 nM	5.7
HCV 突變體 A156T	26.7 nM	10.0
HCV 突變體 D168A	16.2 nM	12.0
HCV 基因型 1a (H77 病毒株)	14.1 nM	15.0

來自該複製子測定的結果證明了化合物 38649 針對多種 HCV 基因型的抗病毒活性。該抗病毒活性持續該測定進行的時間段 (18 天)。化合物 38649 的活性針對包含已知對治療 HCV 感染開處的某些蛋白酶抑制劑有抗性的突變之 HCV 複製子同樣有效。

抗 miR-122 的單一劑量研究

在小鼠中，在單一劑量研究中測試化合物 38649 以確定在 0.3 mg/kg 至 30 mg/kg 範圍內的劑量下的作用起效、最大靶標去阻抑以及作用持續時間。也從這個研究中計算出 ED₅₀。

向每組 5 只小鼠腹膜內給藥 0.3 mg/kg、1.0 mg/kg、3.0 mg/kg、10 mg/kg 和 30 mg/kg 劑量的抗 miR 化合物。針對 0.3 mg/kg 和 1.0 mg/kg 劑量，各組動物在第 3 天、第 7 天和第 28 天處死。針對 3.0 mg/kg、10 mg/kg 和 30 mg/kg 劑量，各組動物在第 3 天、第 5 天、第 7 天、第 14 天、第 21 天和第 28 天處

死。藉由定量 PCR 來測量肝臟中之 ALDOA mRNA 水平，並且與鹽水處理過的小鼠的肝臟中的 ALDOA mRNA 水平進行比較來計算 ALDOA 表現之倍數變化。

如在圖 1A 中所示，早在第 3 天就觀察到 ALDOA 去阻抑，並且在給予化合物 38649 之後維持多於 28 天。最大靶標去阻抑在 10 mg/kg 下達成。從第 7 天的數據計算出 6.7 mg/kg 的 ED_{50} (圖 1B)。

物理化學特徵

物理化學特徵的評估可以包括：測量粘度，確定抗 miR 的溶液是否適合用於經由某些類型的腸胃外給藥來進行給藥，例如皮下給藥；計算肝臟中的抗 miR 半衰期，以便估計在人受試者中可以給藥抗 miR-122 化合物的頻率；以及代謝穩定性測定，以鑒定可能易受核酸酶裂解之化合物。

藉由將抗 miR-122 化合物與非人靈長類動物肝臟溶胞產物一起孵育來評估代謝穩定性。藉由使用參比寡核苷酸來證實肝臟組織勻漿中的核酸酶活性，該等參比寡核苷酸包括對核酸酶活性具有已知抗性之化合物，易受 3'-核酸外切酶活性影響的化合物以及易受核酸內切酶活性影響之化合物。使用內標物化合物來控制萃取效率。在 0 小時和 24 小時時間點，對每個樣品進行高效液相層析法-飛行時間質譜法 (HPLC-TOF MS) 以測量寡核苷酸長度和量。藉由在 0 小時和 24 小時時間點比較全長化合物的量來確定損失百分比。化合物 38646、38647、38648、38649、38650、38651、38652、38659 和 38660 在 24 小時時間點展示出 10% 或更少的損失百分比。化合物 38012 在 24

小時時間點展現出大約 50%之損失百分比。

在小鼠中進行另一個單一劑量研究來估計化合物 38649 的半衰期。估計肝臟中的半衰期為至少兩週。

安全性

為了評價各種安全性參數，針對某些在此描述的化合物在齧齒動物體內進行體內研究來評估該等化合物引發促炎性反應的潛力。評價的參數包括：器官重量變化，如脾重量和肝重量；和肝臟中的干擾素誘導基因的表現，如 IFIT 和 OASL。還評估了血清化學性質。另外，針對某些化合物，在非人靈長類動物中評估了安全性參數，並且包括血液學端點、血清化學性質、器官重量、凝結、補體啟動、細胞因數/趨化因數變化以及促炎性基因表現。

雖然該等測試的化合物在評估的該等安全性參數之中展現出一些可變性，但是發現若干化合物（包括化合物 38649）具有特別適合之安全性特徵。

實例 2：共軛的抗 miR-122 修飾之寡核苷酸

將抗 miR-122 修飾之寡核苷酸共軛至含 GalNAc 的部分上，以確定該共軛是否將提高該等寡核苷酸的效力。

藉由將圖 2 中的結構共軛至 38649 修飾之寡核苷酸之 3'末端上來形成含 GalNAc 之化合物。該含 GalNAc 的部分與 38649 之 3'-末端之間的鍵聯有所不同，如在表 F-1 中所示。例如，在化合物 38368 中，該含 GalNAc 的部分藉由磷酸二酯鍵直接連接至 38649 之 3'-末端核苷上，如在圖 3C 中所示，其中 X 係磷酸二酯鍵並且 MO 係化合物 38649。在化合物 38458 中，該含 GalNAc 的

部分藉由 β -D-去氧核苷連接至 38649 之 3'-末端核苷上，其中在 38649 之 3'-末端核苷之間具有硫代磷酸酯鍵並且在該 β -D-去氧核苷與該含 GalNAc 的部分之間具有磷酸二酯鍵，如在圖 3A 中所示，其中 X_2 係硫代磷酸酯鍵， m 係 1， N_m 係 β -D-去氧核苷， X_1 係磷酸二酯鍵，並且 MO 係化合物 38649。

表 F-1：含 GalNAc 的化合物

化合物#	化合物結構
38368	圖 3C 之結構 III，其中 X 係磷酸二酯鍵並且 MO 係化合物 38649
38371	圖 3C 之結構 III，其中 X 係硫代磷酸酯鍵並且 MO 係化合物 38649
38458	圖 3A 之結構 I，其中 X_2 係硫代磷酸酯鍵， m 係 1， N_m 係 β -D-去氧核苷， X_1 係磷酸二酯鍵，並且 MO 係化合物 38649
38459	圖 3A 之結構 I，其中 X_2 係磷酸二酯鍵， m 係 1， N_m 係 β -D-去氧核苷 (dA)， X_1 係磷酸二酯鍵，並且 MO 係化合物 38649
38597	圖 3A 之結構 I，其中 X_2 係硫代磷酸酯鍵， m 係 1， N_m 係 2'-O-甲氧基乙基核苷， X_1 係磷酸二酯鍵，並且 MO 係化合物 38649
38598	圖 3A 之結構 I，其中 X_2 係硫代磷酸酯鍵， m 係 1， N_m 係 2'-糖修飾的連接基團， X_1 係磷酸二酯鍵，並且 MO 係化合物 38649

評價 GalNAc 共軛的經修飾之寡核苷酸之體內效力，未共軛的經修飾之寡核苷酸從該 GalNAc 共軛的經修飾之寡核苷酸的釋放以及肝臟和組織濃度。

根據以上描述的用來評估該等未共軛的經修飾之寡核苷酸之方案來進行

效力研究。將化合物注射到小鼠體內，並且在第 7 天藉由測量 ALDOA 的去阻抑來評價體內效力。共軛化合物的劑量表明所給藥的經修飾之寡核苷酸的劑量。

如在圖 4 中所示，測試的這三種 GalNAc 共軛的經修飾之寡核苷酸中的每一種都比未共軛的經修飾之寡核苷酸更有效。相對於未共軛之 38649，化合物 38368 和 38371 展現出效力增加大約 3 倍（圖 4A）。化合物 38458 和 38459（每種化合物均具有 β -D-去氧核糖核苷連接基團）展現出效力增加至少 10 倍（圖 4B）。化合物 38597 和 38598（每種化合物均具有 2'-糖修飾的連接基團）也展現出效力增加至少 10 倍（圖 4C）。在另外的研究中，針對化合物 38459、38458、38597 和 38598，已觀察到效力增加高達 20 倍。

進行另一個實驗以包括更寬範圍的化合物 38459 之劑量。向小鼠給藥化合物 38459（ $n = 6$ ）或化合物 38649（ $n = 3$ ），並且七天后測量肝臟中的 ALDOA 水平和血液中之膽固醇水平。計算平均 ALDOA 和膽固醇水平並且在表 F-2 中示出。如在表 F-2 中所示，關於增加 ALDOA 水平和降低膽固醇水平，化合物 38459 的單次皮下劑量展示出相對於未共軛的化合物 38649 效力有所增加。在這個實驗中，化合物 38459 的計算 ED_{50} 係 0.19 mg/kg，並且化合物 38649 的計算 ED_{50} 係 3.5 mg/kg（效力相差 18 倍）。

表 F-2：共軛的抗 miR-122 化合物之效力增加

化合物	劑量	ALDOA 倍數變化	膽固醇 mg/dL
38649（未共軛）	1.0 mg/kg	1.2	100.2
	3.0 mg/kg	2.2	81.2

	10 mg/kg	3.3	73.4
38459 (GalNAc 共 軛)	0.03 mg/kg	1.1	95.4
	0.1 mg/kg	1.7	84.4
	0.3 mg/kg	2.8	74
	1 mg/kg	3.5	59.2
	3 mg/kg	3.8	61.8
	10 mg/kg	3.8	61.4

還測量了在 1 mg/kg 和 3 mg/kg 劑量下單次皮下給予化合物 38368 和 38371 以及在 0.3 mg/kg、1 mg/kg 和 3 mg/kg 劑量下單次皮下給予化合物 38458 和 38459 第 7 天后的肝臟和腎臟組織中的未共軛的經修飾之寡核苷酸的量。對每個樣品進行高效液相層析法-飛行時間質譜法 (HPLC-TOF MS) 以測量寡核苷酸長度和量。由這種方法定量的下限 (LLOQ) 係 0.2 µg/g 至 1.0 µg/g。

發現該等 GalNAc 共軛的經修飾之寡核苷酸具有不同的未共軛的經修飾之寡核苷酸之形成速率。例如，在給藥化合物 38368 之後，在肝臟中檢測到小於 10% 的化合物 38649 (一種未共軛的經修飾之寡核苷酸)。在給藥化合物 38371 之後，在化合物 38371 的任一劑量下，在肝臟中都檢測不到化合物 38649。相反地，在皮下給藥化合物 38459 七天后，僅檢測到的未共軛的經修飾之寡核苷酸種類係未共軛的 38649；未檢測到母體化合物 38459。在給藥化合物 38458 之後，檢測到兩種形式的未共軛的經修飾之寡核苷酸：38649 以及 38649-PO-A (化合物 38458 的一種代謝物)。在高於未共軛的 38649 的水平處檢測到這種代謝物。

還測量了在 0.3 mg/kg、1 mg/kg 和 3 mg/kg 劑量下單次皮下給予化合物

38458 和 38459 之後 24 小時肝臟中的未共軛的經修飾之寡核苷酸的量。藉由 LC-TOF 測量抗 miR 水平。由這種方法定量的下限 (LLOQ) 係 0.2 $\mu\text{g/g}$ 至 1.0 $\mu\text{g/g}$ 。觀察到在給藥化合物 38459 之後，存在於肝臟中的總化合物的 90% 係未共軛的化合物 38649。在給藥 38458 之後，存在於肝臟中的總化合物的大約 46% 係未共軛的化合物 38649。因此，未共軛的化合物 38649 從化合物 38459 之釋放從化合物 38458 之釋放快。該等數據表明共軛的化合物的代謝作用受接頭與經修飾之寡核苷酸之間之連接影響。

寡核苷酸一般在腎臟組織中的積累水平最高，接著是肝臟組織。關於未共軛的化合物，為了確定 GalNAc 共軛物相比於腎臟組織是否改變了化合物在肝臟組織中的積累，還測量了腎臟組織中未共軛的 38649 的量。如上所述，在給藥化合物 38459 之後，在肝臟中發現的總化合物的 100% 都是未共軛的 38649，這表明 38649 從該 GalNAc 共軛的化合物 38459 中完全釋放。在給藥化合物 38459 之後，關於給藥化合物 38649 之後化合物 38649 的積累，與肝臟相比化合物 38649 在腎臟中積累較少 (即展現出較低的腎臟：肝臟比率)。因此，與未共軛的 38649 相比，38459 可以優先將化合物 38649 遞送至肝臟，同時使向腎臟的遞送減至最少。

在體內研究中評估了化合物 38459 的作用的起效和持續時間。給予各組小鼠 0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、1 mg/kg 和 3 mg/kg 的化合物 38459 的單次皮下 (SC) 劑量。對另一組小鼠給藥 10 mg/kg 劑量的化合物 38649。來自每種治療的一組動物在第 1 天、第 2 天、第 3 天、第 4 天、第 5 天、第 6 天、第 14

天、第 21 天、第 28 天和第 56 天的每一天處死。從肝臟中分離出 RNA，並且藉由即時 PCR 測量 ALDOA mRNA 水平。計算每組的平均 ALDOA 水平。相對於對照組（PBS 處理過的）之倍數變化在表 G 中示出。

表 G：化合物 38459 的作用之起效和持續時間

單次 SC 劑 量後之 天數	ALDOA 倍數變化				
	38459 3 mg/kg	38459 1 mg/kg	38459 0.3 mg/kg	38459 0.1 mg/kg	38649 10 mg/kg
1	4.9	3.6	1.7	1.4	2.2
2	4.2	3.2	2.4	1.4	4.7
3	4.4	4.6	3.5	1.6	3.4
4	5.1	4.9	3.3	2.2	4.6
5	5.9	4.9	3.9	2.1	4.5
6	5.1	4.5	3.2	2.2	3.6
14	4.8	4.3	3.4	1.7	3.1
21	5.9	4.9	4.0	2.2	3.6
28	4.8	4.7	2.9	2.0	4.2
56	5.6	4.6	2.6	1.7	3.2

表 G 中的數據證明化合物 38459 以及化合物 38649 具有快速的作用起效，如藉由早在單次給予化合物 1 天后的 ALDOA 去阻抑所證實。另外，在單次給予化合物之後，ALDOA 去阻抑維持至少 8 週。

該等數據證明：效力比未共軛的 38649 化合物高至少 10 倍的 GalNAc 共軛的化合物 38459 在顯著更低的肝臟組織濃度下即可實現這種效力，其中優先遞送至肝臟組織。另外，化合物 38459 展現出快速的作用起效和至少 8 週之作用持續時間。

還測試了在表 H 中示出的含 LNA 的未共軛和共軛的經修飾之寡核苷酸。

表 H：含 LNA 之化合物

化合物#	序列 (5'到 3') 和修飾	結構
36848	$C_LCA_LTTG_LT_LCAC_LAC_LTC_LC_L$,	未共軛
36852	$C_LCA_LTTG_LT_LCAC_LAC_LTC_LC_L$	如以圖 3C 之結構 III 共軛，其中 X 係 PO 並且 MO 係 36848
36632	$C_LCA_LTTG_LT_LCAC_LAC_LTC_LC_L$	以圖 3A 之結構 I 共軛，其中 X_2 係磷酸二酯鍵，m 係 1， N_m 係 β -D-去氧核苷 (dA)， X_1 係磷酸二酯鍵，並且 MO 係化合物 36848

糖和鍵聯部分指明如下：其中後面沒有下標之核苷表明 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“L”之核苷表明 LNA 核苷；並且每個核苷間鍵聯係一種硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

根據與以上所述相同的方案測試化合物 36848 和 36852 的體內效力，以評估該等化合物抑制 miR-122 活性和增加 ALDOA 表現之能力。雖然每種化合物均是 miR-122 的有效抑制劑，但是 GalNAc 共軛的化合物 36852 展現出比未共軛的化合物 36848 高的效力 (大約高 3 倍)。

根據與以上所述類似的方案，在 0.03 mg/kg、0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、1.0

mg/kg、3.0 mg/kg 和 10.0 mg/kg 的劑量下，在單一劑量給藥研究中還測試了化合物 36632 的體內效力。相對於 PBS 處理過的對照，化合物 36632 證明 ALDOA 表現分別增加 1.6、2.7、3.7、4.3、4.7、6.0 倍。在 1.0 mg/kg、3.0 mg/kg 和 10 mg/kg 的劑量下，化合物 36848 引起 ALDOA 表現分別增加 1.6、2.5 和 5.3 倍。相對於未共軛的化合物，對於共軛的化合物而言，化合物 36632 與化合物 36848 的比較揭示效力增加大約 30 倍。

實例 3：HCV 感染之小鼠模型

由於宿主病原體特異性，HCV 僅可以感染人和黑猩猩。因此，典型地用於體內研究實驗的較小物種（如小鼠）不能被 HCV 感染用來測試用於治療 HCV 感染的候選藥劑。為了解決這個問題，可以使用人肝臟嵌合小鼠模型（參見，例如畢思吉（Bissig）等人，美國科學院院報（*Proc Natl Acad Sci US A*），2007，104：20507-20511；畢思吉等人，臨床研究雜誌（*J Clin Invest.*），2010，120：924-930）。在這個模型中，用人肝細胞重新填充免疫缺陷的小鼠之肝臟，產生大多數肝細胞係人肝細胞的嵌合肝臟。然後用 HCV 感染該小鼠並且用抗 HCV 劑治療。這個小鼠模型可以從例如 PhoenixBio 商購獲得。

在具有已被感染 HCV 的人嵌合肝臟的小鼠中測試抗 miR-122 化合物。各組動物（ $n = 5-10$ ）接受一個或多個劑量的抗 miR-122 化合物，例如在由治療方案研究確定劑量下。為了藥物動力學分析和測量 HCV RNA 水平，在不同時間點收集血漿。當研究終止時，收集肝臟組織。

在一些實施方式中，藉由測量人 ALDOA mRNA 水平來證實 miR-122 的抑制。預料到，給藥抗 miR-122 化合物降低小鼠血清中的 HCV RNA 水平。

實例 4：響應於 miR-122 抑制之 HCV RNA 水平降低

使用人嵌合小鼠肝臟模型來評估 miR-122 抑制對 miR-122 靶基因表現和 HCV 病毒滴度的影響。

人嵌合肝臟小鼠

在不具有 HCV 感染的人嵌合肝臟小鼠中評估 miR-122 抑制對靶基因表現的影響。用單次劑量的 PBS、0.3 mg/kg、1.0 mg/kg、3.0 mg/kg 或 10 mg/kg 的化合物 38459 處理各組小鼠 (n = 6)。處理七天后，終止研究並且收集肝臟組織用於測量 ALDOA 表現和化合物組織濃度。相對於 PBS 處理過的小鼠中的 ALDOA mRNA 水平，ALDOA mRNA 水平有所增加，然而，ALDOA 表現之去阻抑比在野生型小鼠中觀察到的 ALDOA 表現之去阻抑低 3 倍至 5 倍。相對於野生型小鼠中的濃度，嵌合肝臟小鼠中的化合物 38459 水平低 3 倍。相對於野生型小鼠，該等觀察與人嵌合肝臟小鼠中去唾液酸糖蛋白受體 (ASGPR) 的表現減少一致。因為化合物在肝臟細胞中的積累係取決於 ASGPR 的攝取，所以 ASGPR 的表現減少預料將引起 GalNAc 共軛的經修飾之寡核苷酸積累減少和因此對化合物 38459 去阻抑 miR-122 的內源性靶標 (如 ALDOA) 的能力之敏感性降低。因此，該人嵌合肝臟小鼠模型可能低估 ASGPR 表現得到維持的受試者體內化合物 38459 之活性。初步數據表明：相對於未受 HCV 感染的受試者的肝臟，HCV 感染的患者的肝臟中 ASGPR 表現

維持在類似水平。

HCV 感染的人嵌合肝臟小鼠之處理

在 HCV 感染的人嵌合肝臟小鼠模型中測試抗 miR-122 化合物。用人肝細胞重新填充免疫缺陷的小鼠的肝臟，產生大多數肝細胞係人肝細胞的嵌合肝臟。在用 HCV 基因型 1a 接種之後大約 3.5 週，選擇 HCV RNA 水平 $> 1 \times 10^6$ 個拷貝/毫升的小鼠用於包括在本研究中（第 -7 天）。

針對單週研究，在第 0 天用單次 10 mg/kg 劑量的 38459 處理一組 3 只動物。在第 -7 天、第 0 天、第 3 天和第 7 天收集血液。當除了血液以外還收集肝臟組織和腎臟組織時，在第 7 天終止該研究。在這個研究中，HCV RNA 水平在第 3 天和第 7 天降低。

針對多週研究，每組 5 只動物如下處理：PBS (n = 5)；3 mg/kg 38459 (n = 5)；10 mg/kg 38459 (n = 4-5)；或 30 mg/kg 38459 (n = 4-5)。用 10 mg/kg 未共軛化合物 36848 處理另一組動物 (n = 5)。在第 0 天給藥單次皮下注射處理。在第 -7 天、第 0 天、第 3 天、第 7 天、第 10 天、第 14 天、第 17 天、第 21 天、第 24 天、第 28 天和第 35 天收集血液。根據常規方法藉由即時 PCR 來測量血液中的 HCV RNA 水平，並且在表 I 中示出。除非另外指明，否則每個治療組包含 5 只動物。如在表 I 中所示，早在第 3 天，在用 10 mg/kg 或 30 mg/kg 化合物 38459 處理之組中，HCV RNA 水平顯著降低，該降低持續直到至少第 35 天。藉由歸一化為 PBS 處理的動物中的平均 HCV RNA 水平的化合物處理的動物中的平均 HCV RNA 水平的雙向 ANOVA 分析來計

算統計顯著性。在本研究中，未共軛的化合物 36848 沒有降低 HCV RNA 水平。該等結果還以圖形形式在圖 5A 中圖示。

表 I : GalNAc 共軛的抗 miR-122 減小 HCV 滴度

天數	PBS 平均值	36848 10 mg/kg	38459 3 mg/kg	38459 10 mg/kg	38459 30 mg/kg
-7	2.66E + 08	2.90E + 08	2.54E + 08	2.76E + 08	2.60E + 08
0	2.08E + 08	2.92E + 08	3.26E + 08	2.38E + 08	2.70E + 08
3	1.97E + 08	3.20E + 08	2.90E + 08	8.10E + 07*	4.76E + 07****
7	1.65E + 08	3.26E + 08	1.76E + 08	3.16E + 07****	1.22E + 07****
10	1.59E + 08	2.74E + 08	1.21E + 08	2.70E + 07****	7.52E + 06****
14	1.19E + 08	2.02E + 08	9.34E + 07	2.37E + 07****	4.82E + 06****
17	1.67E + 08	2.10E + 08	9.68E + 07	2.94E + 07****	4.89E + 06****
21	1.49E + 08	2.36E + 08	9.72E + 07	3.06E + 07****	7.65E + 06**** (n = 4)
24	1.43E + 08	2.14E + 08	8.46E + 07	3.35E + 07****	7.95E + 06**** (n = 4)
28	1.43E + 08	1.63E + 08	8.48E + 07	4.16E + 07***	1.13E + 07**** (n = 4)
31	1.37E + 08	1.99E + 08	9.22E + 07	5.18E + 07* (n = 4)	1.98E + 07**** (n = 4)
35	1.44E + 08	1.88E + 08	1.03E + 08	5.80E + 07* (n = 4)	2.35E + 07**** (n = 4)

****p < .0001 ; ***p < 0.0005 ; *p < 0.05

該等結果證明：單次給藥 GalNAc 共軛的經修飾之寡核苷酸 38459 之後，在 HCV 感染的動物中 HCV 病毒滴度顯著降低，而作用起效早和作用持續時間延長。

進行另一個研究來評估化合物 38459 在 HCV 感染的人嵌合肝臟小鼠模型中的作用，其中該等小鼠被 HCV 基因型 3a 感染。每組 5 只動物處理如下：PBS (n = 4) ； 10 mg/kg 38459 (n = 5) ；或 30 mg/kg 38459 (n = 5) 。用 HCV 基因型 3a 接種小鼠。在處理前七天，從小鼠中收集血液用於測量病毒滴

度。在第 0 天給藥單次皮下注射處理。在處理後第 0 天、第 3 天、第 7 天、第 10 天、第 14 天、第 17 天、第 21 天、第 24 天和第 28 天收集血液。根據常規方法藉由即時 PCR 來測量血液中的 HCV RNA 水平。如在圖 5B 中所示，早在第 3 天，在用 10 mg/kg 或 30 mg/kg 化合物 38459 處理之組中 HCV RNA 水平顯著降低，並且這種降低維持直到至少第 28 天。

還觀察到在用化合物 38459 處理的小鼠的肝臟中脂肪變性實質性減少。在被 HCV 感染的小鼠中和在未感染的小鼠中觀察到脂肪變性減少，表明抑制 miR-122 可以減少存在和不存在 HCV 感染這兩種情況下的脂肪變性。

實例 5：共軛的較短修飾寡核苷酸

藉由將圖 3 中的結構共軛至表 J 中示出的經修飾之寡核苷酸的 3' 末端來形成含 GalNAc 的化合物。糖部分、核苷間鍵聯以及核鹼基指明如下：後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“S”之核苷係 S-cEt 核苷；並且每個核苷間鍵聯都是硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

表 J：未共軛和共軛的經修飾之寡核苷酸

	序列和修飾	結構
38591	U ₅ TGU ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ A ₅	未共軛
38633	U ₅ TGU ₅ C ₅ AC ₅ AC ₅ TC ₅ C ₅ A ₅	圖 3A 之結構 I，其中 X ₂ 係磷酸二酯鍵，m 係 1，N _m 係 β-D-去氧核苷 (dA)，X ₁ 係磷酸二酯鍵
38998	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅	未共軛
38634	C ₅ A ₅ C ₅ A ₅ C ₅ U ₅ C ₅ C ₅	圖 3A 之結構 I，其中 X ₂ 係磷酸二酯鍵，m 係 1，N _m 係 β-D-去氧核苷 (dA)，X ₁ 係磷酸二酯鍵

為了確定體內效力，評估該等化合物使肝臟醛縮酶 A (ALDOA) 的表現去阻抑之能力。向小鼠給藥化合物，並且藉由定量 PCR 測量從肝臟中分離出的 RNA 中的 ALDOA mRNA 水平。相對於鹽水，計算 ALDOA mRNA 的倍數變化以確定體內效力 (圖 6A 和 6B 以及圖 7A 和 7B)。從那些實驗結果計算的 ED50 (ALDOA 去阻抑是最大值的 50% 時之化合物濃度) 和 ED90 (ALDOA 去阻抑係最大值的 90% 時之化合物濃度) 在表 K 和表 L 中示出。

表 K：共軛和未共軛的抗 miR-122 化合物之體內效力

化合物	ED50 (mg/kg)	倍數變化	ED90 (mg/kg)	倍數變化
實驗 1 (圖 6A)				
38634	0.03	456	0.3	212
38998	13.7		63.8	
實驗 2 (圖 6B)				
38634	0.04	290	0.43	99.3
38998	11.6		42.7	

表 L：共軛和未共軛的抗 miR-122 化合物之體內效力

化合物	ED50 (mg/kg)	倍數變化	ED90 (mg/kg)	倍數變化
實驗 1 (圖 7A)				
38633	0.08	27	0.25	26
38591	2.2		6.62	
實驗 2 (圖 7B)				
38633	0.15	20	0.94	10
38591	3.0		8.9	

如在表 K 中所示，根據本發明之 GalNAc 共軛使 8 聚體抗 miR-122 化合物的 ED₅₀ 和 ED₉₀ 提高至少 100 倍。如在表 L 中所示，根據本發明之 GalNAc 共軛使 13 聚體抗 miR-122 化合物的 ED₅₀ 和 ED₉₀ 提高至少 10 倍。

還確定了化合物 38634 和 38998 對另一種 miR-122 靶基因 CD320 之去阻抑。結果類似於針對在表 K 中示出的 ALDOA 所獲得的結果：根據本發明之 GalNAc 共軛分別使實驗 1 和實驗 2 中的 ED₅₀ 提高 343 倍和 272 倍，並且分別使實驗 1 和實驗 2 中之 ED₉₀ 提高 492 倍和 545 倍。

在此描述的 GalNAc 共軛還提高了針對包含 GalNAc 的該等化合物所觀察到的膽固醇下降效力。來自實驗 1 的示例性結果在圖 8A 和 8B 中示出。作為 GalNAc 共軛物的化合物 38633 和 38634 比缺乏 GalNAc 的化合物 38591 和 38998 更有效。針對實驗 2 獲得類似結果（數據未示出）。

實例 6：抗 miR-122 化合物在非人靈長類動物中之藥效學活性

在正常的非人靈長類動物（食蟹猴）中測試了抗 miR-122 化合物。皮下給藥單次劑量的 GalNAc 共軛的化合物 38459 或未共軛的化合物 38649（對於每種化合物，n = 3）。給藥 PBS 作為對照處理（n = 5）。在給藥化合物後第

4 天和第 8 天，收集肝臟組織，並且分離 RNA 用於測量 ALDOA 水平。在第 8 天測量血液中的總膽固醇。如在表 L 中所示，在每種劑量的化合物 38459（包括最低劑量 1 mg/kg）下，在第 4 天和第 8 天觀察到 ALDOA 去阻抑。使用最低劑量的化合物 38459 也觀察到膽固醇下降。因此，相對於未共軛的化合物 38649，GalNAc 共軛的化合物 38459 在非人靈長類動物中顯著更有效。另外，在非人靈長類動物中單次劑量之後，這兩種化合物均具有至少一週的作用持續時間。

表 L：非人靈長類動物中的 miR-122 之抑制

處理	ALDOA (第 4 天) 倍數變化	ALDOA (第 8 天) 倍數變化	膽固醇 (第 8 天) mg/dL
PBS	1.0		95.3
38649 , 100 mg/kg	3.4	4.0	67.0
38459 , 1 mg/kg	5.0	3.9	64.3
38459 , 10 mg/kg	3.0	3.6	66.7
38459 , 100 mg/kg	4.0	4.1	65.3

實例 7：共軛的抗 miR-122 化合物的藥物動力學活性

在小鼠和非人靈長類動物中評估抗 miR-122 化合物的血漿和組織藥物動力學。

向 CD-1 小鼠給藥單次皮下劑量之化合物 38649 或 GalNAc 共軛的化合物 38459。在給藥之後，持續 24 小時時間段在多個時間點收集血液，並且藉由基於雜交的 ELISA 測量該血液中的化合物之總量。

向非人靈長類動物給藥單次皮下劑量的化合物 38649 或 GalNAc 共軛的化合物 38459。在給藥之後，持續 24 小時時間段在多個時間點收集血液，並且藉由 LC-MS 測量該血液中的化合物之總量。

如在圖 9 中所示，在小鼠（圖 9A）和非人靈長類動物（圖 9B）中，與未共軛的化合物 38649 相比，GalNAc 共軛的化合物 38459 更快速地從血漿中清除。在給藥 GalNAc 共軛的化合物 38459 之後，沒有檢測到未共軛的化合物 38649，表明共軛的化合物 38459 在血液中沒有代謝（數據未示出）。

在本研究中，還在小鼠（表 M）和非人靈長類動物（表 N）的肝臟和腎臟中測量了化合物的組織水平。

表 M：單次劑量後 24 小時小鼠體內之化合物組織水平

給藥之化合物：		38459 (+GalNAc)			38649		
組織：		腎臟	肝臟	K/L	腎臟	肝臟	K/L
劑量	檢測的化合物	平均值 (µg/g)	平均值 (µg/g)	比率	平均值 (µg/g)	平均值 (µg/g)	比率
1 mg/kg	38649	1.1	5.7	0.19	18.4	4	4.6
	總化合物	1.1	7.4	0.15			
3 mg/kg	38649	8.2	15.8	0.52	83.9	10.8	7.6
	總化合物	16.8	27.7	0.61			

表 N：單次劑量後 72 小時非人靈長類動物體內之化合物組織水平

給藥的化合物：		38459 (+GalNAc)			38649		
組織：		腎臟	肝臟	K/L	腎臟	肝臟	K/L
劑量	檢測的化合物	平均值 (µg/g)	平均值 (µg/g)	比率	平均值 (µg/g)	平均值 (µg/g)	比率
1 mg/kg	38649	5.6	27.2	0.21			
	總化合物	31.3	34	0.92			

10 mg/kg	38649	124	148	0.84	283.3	61.2	4.6
	總化合物	513.5	186.3	2.7			
100 mg/kg	38649	374.1	418.8	0.89	1430	242.3	5.9
	總化合物	2129.1	547.2	3.9			

在給藥之後，化合物 38459 在肝臟和腎臟中快速地代謝成未共軛的化合物 38649。另外，與來自以上描述的小鼠研究的數據一致，化合物 38459 的腎臟與肝臟比率顯著低於化合物 38649 的腎臟與肝臟比率。

基於給藥後 24 小時肝臟中的化合物的濃度，估計大約 6 $\mu\text{g/g}$ 的 GalNAc 共軛的化合物 38459 和大約 30 $\mu\text{g/g}$ 的未共軛的化合物 38459 在第 7 天產生 90% 的最大效力（如藉由 ALDOA 去阻抑所測量）。因此，相對於未共軛的化合物 38649，化合物 38459 在更低的肝臟組織濃度下產生更大的效力。

該等數據證明在非人靈長類動物和小鼠中，共軛至含 GalNAc 部分使得經修飾之寡核苷酸向肝臟的遞送顯著增強。此外，低 ED_{50} 結合較低腎臟與肝臟比率表明 GalNAc 共軛的化合物 38459 可以具有高治療指數。

實例 8：抗 miR-122 化合物的毒理學和安全性研究

在小鼠、齧齒動物和非人靈長類動物中進行多個研究以評估 GalNAc 共軛的化合物 38459 的安全性和耐受性。

例如，在大鼠中，在促炎性研究中評估化合物 38459。對雄性斯普拉道來大鼠（Sprague Dawley rat）給藥單次皮下劑量的化合物 38459。在給藥後第 14 天，在肝臟中測量 ALDOA 和 CXCL13（一種干擾素誘導性基因）之表現。

如在表 O 中所示，在高達 100 mg/kg 的劑量下沒有檢測到 CXCL13 表現增加，而在 1 mg/kg 劑量下 ALDOA 水平開始上升。還測試了一種已知的炎性抗 miR-122 化合物，並且在 10 mg/kg、30 mg/kg 和 100 mg/kg 劑量下引起 CXCL13 水平增加 2 倍至 2.5 倍。

表 O：化合物 38459 不增加促炎性基因表現

化合物 38459 之劑量	ALDOA 倍數變化	CXCL13 倍數變化
0.1 mg/kg	1.2	1.4
0.3 mg/kg	1.6	1.6
1 mg/kg	2.5	1.5
3 mg/kg	2.9	0.8
10 mg/kg	2.8	0.6
30 mg/kg	3.2	0.8
100 mg/kg	3.4	0.7

在小鼠和非人靈長類動物（食蟹猴）中進行另外的毒理學研究，並且在治療相關的劑量下沒有觀察到顯著不良作用。

實例 9：共軛的較短修飾寡核苷酸

藉由將膽固醇共軛至在表 P 中示出的經修飾之寡核苷酸之 3' 末端來形成含膽固醇之化合物。糖部分、核苷間鍵聯以及核鹼基指明如下：後面沒有下標的核苷係 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“S”之核苷係 S-cEt 核苷；並且每個核苷間鍵聯都是硫代磷酸酯核苷間鍵聯，除了由下標 (O) 指示的核苷間鍵聯以外，該等核苷間鍵聯係磷酸二酯鍵。

表 P：未共軛和共軛的經修飾之寡核苷酸

	序列和修飾	結構
38998	C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S	未共軛
38070	C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S (O) _A (_O)-膽固醇	 MO 係 C _S A _S C _S A _S C _S U _S C _S C _S

為了確定體內效力，評估該等化合物使肝臟醛縮酶 A (ALDOA) 之表現去阻抑之能力。向小鼠給藥化合物，並且藉由定量 PCR 測量從肝臟中分離出的 RNA 中之 ALDOA mRNA 水平。相對於鹽水，計算 ALDOA mRNA 的倍數變化以確定體內效力。從那些實驗的結果中計算的 ED50 (ALDOA 去阻抑係最大值的 50%時之化合物濃度) 和 ED90 (ALDOA 去阻抑係最大值的 90%時之化合物濃度) 在表 Q 中示出。

表 Q：共軛和未共軛的抗 miR-122 化合物之體內效力

化合物	ED50 (mg/kg)	倍數變化	ED90 (mg/kg)	倍數變化
38070	0.08	78.8	1.27	31.6
38998	6.3		40.1	

如在表 Q 中所示，根據本發明之膽固醇共軛使 8 聚體抗 miR-122 化合物的 ED₅₀ 和 ED₉₀ 提高至少 30 倍。

還確定了化合物 38070 和 38998 對另一種 miR-122 靶基因 CD320 的去抑制。結果類似於針對 ALDOA 所獲得的結果（數據未示出）。

在此描述的膽固醇共軛還提高了膽固醇下降效力。在測試的大多數濃度下，化合物 38070 使膽固醇降低的程度比相同濃度的化合物 38998 大（數據未示出）。

除了在此描述的那些修改之外，本發明的各種修改將因前述說明而對熟習該項技術者變得清楚。意欲此類修改也處於所附申請專利範圍的範圍之內。本申請中引用的每個參考文件（包括，但不限於雜誌文章、美國專利案和非美國專利案、專利申請公佈、國際專利申請公佈、GENBANK®保藏編號等）藉由引用以其全部內容明確結合在此。

【序列表】

<110> 美商雷格勒斯治療公司 (REGULUS THERAPEUTICS INC.)

<120> 用於調節 MIR-122 之微小 RNA 化合物及方法

<130> REGUL-32975/TW-1/ORD

<140> TW 103115662

<141> 2014-04-30

<150> US 61/818,432

<151> 2013-05-01

<150> US 61/822,112

<151> 2013-05-10

<150> US 61/839,550

<151> 2013-06-26

<150> US 61/895,784

<151> 2013-10-25

<150> US 61/898,704

<151> 2013-11-01

<150> US 61/927,897

<151> 2014-01-15

<160> 10

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> RNA

<213> 智人

<400> 1
uggaguguga caaugguguu ug 22

<210> 2
<211> 85
<212> RNA
<213> 智人

<400> 2
ccuuagcaga gcuguggagu gugacaaugg uguuuguguc uaaacuauc aacgccauua 60
ucacacuaaa uagcuacugc uaggc 85

<210> 3
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 3
ccattgtcac actcca 16

<210> 4
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 4
acaccattgt cacactcc 18



<210> 5
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 5
caaacaccat tgtcacactc c

21

<210> 6
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 6
caaacaccat tgtcacactc ct

22

<210> 7
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 7
ccattgtcac actcc

15

<210> 8

<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 8
ttgtcacact cca 13

<210> 9
<211> 8
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 9
cacactcc 8

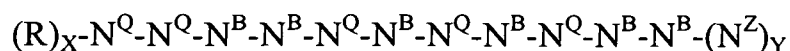
<210> 10
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 10
ccattgtcac actcct 16

申請專利範圍

1. 一種化合物，其包含由 16 至 22 個連接的核苷組成之經修飾之寡核苷酸，其中該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與 miR-122 (SEQ ID NO: 1) 互補並且其中該經修飾之寡核苷酸以 5'至 3'方向包含具有以下核苷型態 I 之至少 16 個連續核苷：



其中每個 R 獨立地是非雙環核苷或雙環核苷；

X 係從 4 至 10；

每個 N^B 獨立地是雙環核苷；

每個 N^Q 獨立地是非雙環核苷；

Y 係 0 或 1；並且

N^Z 係修飾的核苷或未修飾的核苷。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸包含具有核苷型態 I 之至少 16 個、至少 17 個、至少 18 個、至少 19 個、至少 20 個、至少 21 個或 22 個連續核苷。
3. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中每個雙環核苷獨立地選自 LNA 核苷、cEt 核苷和 ENA 核苷。
4. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中至少兩個雙環核苷彼此不同。
5. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項所述之化合物，其中所有雙環核苷

具有彼此相同之糖部分。

6. 如申請專利範圍第 5 項所述之化合物，其中每個雙環核苷係 cEt 核苷。
7. 如申請專利範圍第 6 項所述之化合物，其中該 cEt 核苷係 S-cEt 核苷。
8. 如申請專利範圍第 6 項所述之化合物，其中該 cEt 核苷係 R-cEt 核苷。
9. 如申請專利範圍第 5 項所述之化合物，其中每個雙環核苷係 LNA 核苷。
10. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中至少兩個非雙環核苷包含彼此不同之糖部分。
11. 如申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項所述之化合物，其中每個非雙環核苷具有相同類型之糖部分。
12. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中每個非雙環核苷獨立地選自 β -D-去氧核糖核苷、 β -D-核糖核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-甲氧基乙基核苷以及 2'-氟核苷。
13. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中每個非雙環核苷獨立地選自 β -D-去氧核糖核苷和 2'-O-甲氧基乙基核苷。
14. 如申請專利範圍第 1 至 9 和 11 項中任一項所述之化合物，其中每個非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。
15. 如申請專利範圍第 1 至 9 和 11 項中任一項所述之化合物，其中每個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷。
16. 如申請專利範圍第 1 至 10、12 和 13 項中任一項所述之化合物，其中不多於兩個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷，其中每個其他非雙環核苷係 β -D-

去氧核糖核苷。

17. 如申請專利範圍第 16 項所述之化合物，其中最 5'端和最 3'端的非雙環核苷係 2'-MOE 核苷，並且每個其他非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。
18. 如申請專利範圍第 16 項所述之化合物，其中兩個非雙環核苷係 2'-MOE 核苷，並且每個其他非雙環核苷係 β -D-去氧核糖核苷。
19. 如申請專利範圍第 1 至 13 和 15 至 18 項中任一項所述之化合物，其中每個 R 係 2'-MOE 核苷。
20. 如申請專利範圍第 1 至 19 項中任一項所述之化合物，其中 X 係 4、5、6、7、8、9 或 10。
21. 如申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項所述之化合物，其中 Y 係 0。
22. 如申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項所述之化合物，其中 Y 係 1。
23. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物，其中：
 - a) X 係 7；

每個 R 係 2'-O-甲氧基乙基核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0；
 - b) X 係 4； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ，其中 N^{R1} 和 N^{R3} 各自是 S-cEt 核苷，並且 N^{R2} 和 N^{R4} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；

Y 係 1；並且 N^Z 係 β -D-去氧核糖核苷

- c) X 係 4； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ，其中 N^{R1} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷，並且 N^{R2} 和 N^{R3} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；

Y 係 1；並且 N^Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷

- d) X 係 7； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 和 N^{R4} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R5} 和 N^{R7} 各自是 β -D-去氧核糖核苷，並且 N^{R6} 係 S-cEt 核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0；

- e) X 係 7； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 和 N^{R5} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R6} 係 S-cEt 核苷，並且 N^{R7} 係 β -D-去氧核糖核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0；

- f) X 係 7； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷，並且 N^{R7} 係 β -D-去氧核糖核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0；

- g) X 係 10； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}-N^{R8}-N^{R9}-N^{R10}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R7} 和 N^{R9} 各自是 S-cEt 核苷； N^{R8} 和 N^{R10} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；並且 Y 係 0；

- h) X 係 10； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}-N^{R8}-N^{R9}-N^{R10}$ ，其中 N^{R1} 、 N^{R2} 、 N^{R3} 、 N^{R4} 、 N^{R5} 和 N^{R6} 各自是 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R7} 和 N^{R9} 各自是 S-cEt 核苷；並且 N^{R8} 和 N^{R10} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；

Y 係 1 並且 N_Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷；

- i) X 係 4； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ，其中 N^{R1} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷，並且 N^{R2} 和 N^{R3} 各自是 β -D-去氧核糖核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；

Y 係 1 並且 N^Z 係 β -D-去氧核糖核苷；

- j) X 係 4； $(R)_X$ 係 $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ，其中 N^{R1} 係 2'-O-甲氧基乙基核苷， N^{R2} 和 N^{R4} 各自是 S-cEt 核苷，並且 N^{R3} 係 β -D-去氧核糖核苷；

每個 N^B 係 S-cEt 核苷；

每個 N^Q 係 β -D-去氧核糖核苷；

Y 係 1 並且 N^Z 係 2'-O-甲氧基乙基核苷。

24. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與 miR-122 之核鹼基序列 (SEQ ID NO: 1) 至少 90%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 互補。
25. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中至少一個核苷間鍵聯係經修飾之核苷間鍵聯，或其中每個核苷間鍵聯係經修飾之核苷間鍵聯，並且可隨意地，其中該經修飾之核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。
26. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列係選自 SEQ ID NO: 3 至 SEQ ID NO: 6，其中每個 T 獨立地選自 T 和 U。
27. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸相對於 miR-122 之核鹼基序列具有 0、1、2 或 3 個錯配。
28. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物，具有以下結構：



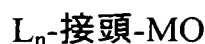
- d) $A_E^{Me}C_EA_E^{Me}C_ECA_STTGU_SC_SAC_SAC_STC_SC_S$;
- e) $A_E^{Me}C_EA_E^{Me}C_E^{Me}C_EA_STTGU_SC_SAC_SAC_STC_SC_S$;
- f) $A_E^{Me}C_EA_E^{Me}C_E^{Me}C_EA_STTGU_SC_SAC_SAC_STC_SC_S$;
- g) $^{Me}C_EA_EA_EA_E^{Me}C_EA_EC_SCA_STTGU_SC_SAC_SAC_STC_SC_S$
- h) $^{Me}C_EA_EA_EA_E^{Me}C_EA_EC_SCA_STTGU_SC_SAC_SAC_STC_SC_ST_E$;
- i) $C_SCA_UTGU_SC_SAC_SAC_STC_SC_SA$; 或
- j) $^{Me}C_EC_SAU_STTGU_SC_SAC_SAC_STC_SC_SA_E$

其中上標“Me”表明 5-甲基胞嘧啶；後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷；後面有下標“E”之核苷係 2'-MOE 核苷；後面有下標“S”之核苷係 S-cEt 核苷；並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

29. 如以上申請專利範圍中任一項所述之化合物，其中該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸之 5'末端或 3'末端之共軛部分。
30. 如申請專利範圍第 29 項所述之化合物，其中該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸之 3'末端之共軛部分。
31. 如申請專利範圍第 29 項所述之化合物，其中該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸之 5'末端之共軛部分。
32. 如申請專利範圍第 29 項所述之化合物，其中該化合物包含連接至該經修飾之寡核苷酸之 3'末端之第一共軛部分和連接至該經修飾之寡核苷酸之 5'末端之第二共軛部分。
33. 如申請專利範圍第 29 至 32 項中任一項所述之化合物，其中該共軛部分包含選自以下的至少一個配位基：碳水化合物、膽固醇、脂質、磷脂、

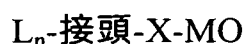
抗體、脂蛋白、激素、肽、維生素、類固醇以及陽離子性脂質。

34. 如申請專利範圍第 29 至 33 項中任一項所述之化合物，其中該化合物具有以下結構：



其中每個 L 獨立地是配位基並且 n 係從 1 至 10；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

35. 如申請專利範圍第 29 至 33 項中任一項所述之化合物，其中該化合物具有以下結構：



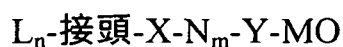
其中每個 L 獨立地是配位基，並且 n 係從 1 至 10；X 係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

36. 如申請專利範圍第 29 至 33 項中任一項所述之化合物，其中該化合物具有以下結構：



其中每個 L 獨立地是配位基並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；X₁ 和 X₂ 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

37. 如申請專利範圍第 29 至 33 項中任一項所述之化合物，其中該化合物具有以下結構：



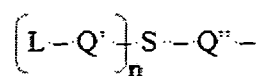
其中每個 L 獨立地是配位基並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；X 係磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

38. 如申請專利範圍第 29 至 33 項中任一項所述之化合物，其中該化合物具有以下結構：



其中每個 L 獨立地是配位基並且 n 係從 1 至 10；每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5；每個 Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

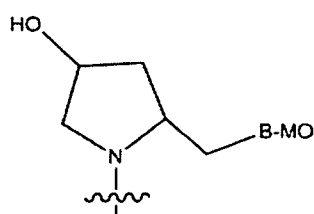
39. 如申請專利範圍第 34 至 38 中任一項所述化合物，其中如果 n 大於 1，則 L_n -接頭具有以下結構：



其中每個 L 獨立地是配位基；n 係從 1 至 10；S 係骨架；並且 Q' 和 Q'' 獨立地是連接基團。

40. 如申請專利範圍第 39 項所述之化合物，其中 Q' 和 Q'' 各自獨立地選自：肽、醚、聚乙二醇、烷基、 C_1 - C_{20} 烷基、取代的 C_1 - C_{20} 烷基、 C_2 - C_{20} 烯基、取代的 C_2 - C_{20} 烯基、 C_2 - C_{20} 炔基、取代的 C_2 - C_{20} 炔基、 C_1 - C_{20} 烷氧基、取代的 C_1 - C_{20} 烷氧基、胺基、醯胺基、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-羧酸琥珀醯亞胺酯以及 6-胺基己酸。

41. 如申請專利範圍第 39 或 40 項所述之化合物，其中該骨架將 2 個、3 個、4 個或 5 個配位基連接至經修飾之寡核苷酸。
42. 如申請專利範圍第 41 項所述之化合物，其中該骨架將 3 個配位基連接至經修飾之寡核苷酸。
43. 如申請專利範圍第 34 至 42 項中任一項所述之化合物，其中該化合物具有以下結構：



其中：

B 選自 -O-、-S-、-N(R^N)-、-Z-P(Z')(Z'')O-、-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X- 以及 -Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-；

MO 係經修飾之寡核苷酸；

R^N 選自 H、甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基以及苯甲基；

Z、Z' 和 Z'' 各自獨立地選自 O 和 S；

每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷；

m 係從 1 至 5；

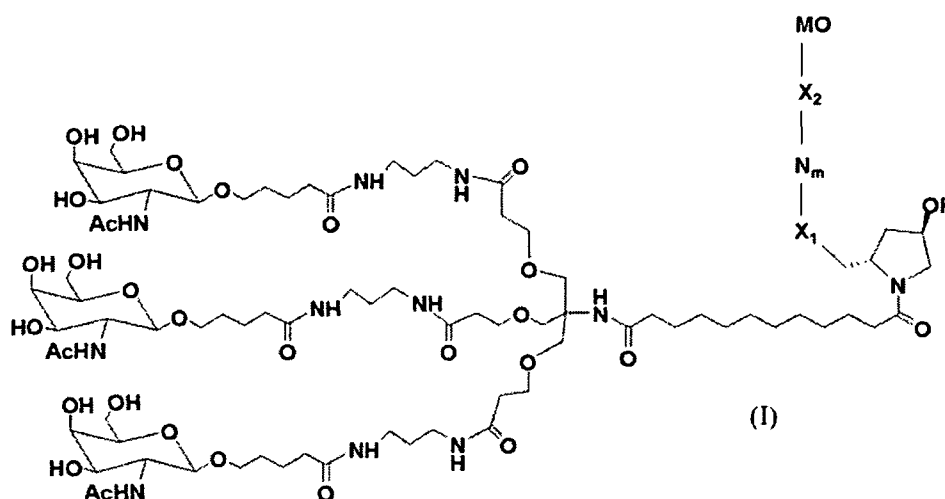
X 選自磷酸二酯鍵和硫代磷酸酯鍵；

Y 係磷酸二酯鍵；並且

波形線表明連接至該或該等接頭和配位基之其餘部分。

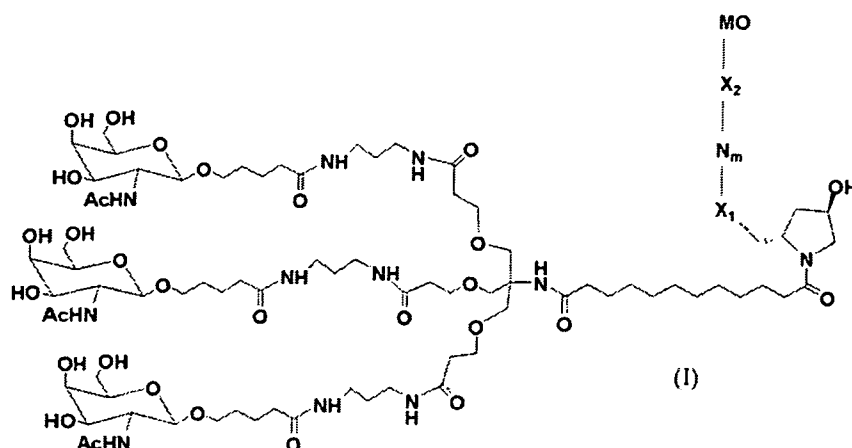
44. 如申請專利範圍第 35、37、39 和 43 項中任一項所述之化合物，其中 X 係磷酸二酯鍵。
45. 如申請專利範圍第 34 至 43 項中任一項所述之化合物，其中 n 係從 1 至 5、1 至 4、1 至 3、或 1 至 2。
46. 如申請專利範圍第 34 至 43 項中任一項所述之化合物，其中 n 係 3。
47. 如申請專利範圍第 34 至 46 項中任一項所述之化合物，其中至少一個配位基係碳水化合物。
48. 如申請專利範圍第 34 至 47 項中任一項所述之化合物，其中至少一個配位基選自：甘露糖、葡萄糖、半乳糖、核糖、阿拉伯糖、果糖、岩藻糖、木糖、D-甘露糖、L-甘露糖、D-半乳糖、L-半乳糖、D-葡萄糖、L-葡萄糖、D-核糖、L-核糖、D-阿拉伯糖、L-阿拉伯糖、D-果糖、L-果糖、D-岩藻糖、L-岩藻糖、D-木糖、L-木糖、 α -D-呋喃甘露糖、 β -D-呋喃甘露糖、 α -D-呋喃葡萄糖、 β -D-呋喃葡萄糖、 α -D-呋喃半乳糖、 β -D-呋喃半乳糖、 α -D-呋喃核糖、 β -D-呋喃核糖、 α -D-呋喃果糖、 β -D-呋喃果糖、葡萄糖胺、半乳糖胺、唾液酸、N-乙醯基半乳糖胺。
49. 如申請專利範圍第 34 至 47 項中任一項所述之化合物，其中至少一個配位基選自 N-乙醯基半乳糖胺、半乳糖、半乳糖胺、N-甲醯基半乳糖胺、N-丙醯基-半乳糖胺、N-正丁醯基半乳糖胺以及 N-異丁醯基-半乳糖胺。

50. 如申請專利範圍第 34 至 47 項中任一項所述之化合物，其中每個配位基係 N-乙醯基半乳糖胺。
51. 如申請專利範圍第 34 至 50 項中任一項所述之化合物，其中該化合物具有以下結構：



其中每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5； X_1 和 X_2 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

52. 一種化合物，其包含經修飾之核苷酸和共軛部分，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $C_L C_{A_L} T T G_L T_L C A C_L A C_L T C_L C_L$ ，其中下標“L”表明 LNA 並且後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷，並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯，並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸之 3' 末端並且具有以下結構：

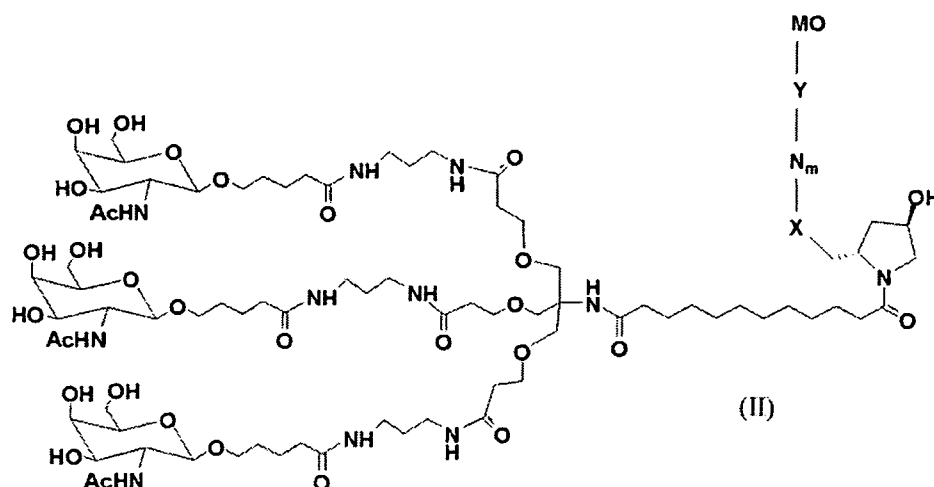


其中每個 N 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 m 係從 1 至 5； X_1 和 X_2 各自獨立地是磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵；並且 MO 係經修飾之寡核苷酸。

53. 如申請專利範圍第 51 項或如申請專利範圍第 52 項所述之化合物，其中 X_1 和 X_2 中的至少一個係磷酸二酯鍵。
54. 如申請專利範圍第 51 至 53 項中任一項所述之化合物，其中 X_1 和 X_2 各自是磷酸二酯鍵。
55. 如申請專利範圍第 35 至 54 項中任一項所述之化合物，其中 m 係 1。
56. 如申請專利範圍第 35 至 54 項中任一項所述之化合物，其中 m 係 2、3、4 或 5。
57. 如申請專利範圍第 35 至 56 項中任一項所述之化合物，其中 N_m 係 N'_pN'' ，其中每個 N' 獨立地是經修飾或未經修飾之核苷，並且 p 係從 0 至 4；並且 N'' 係包含未經修飾之糖部分的核苷。
58. 如申請專利範圍第 57 項所述之化合物，其中 p 係 0。

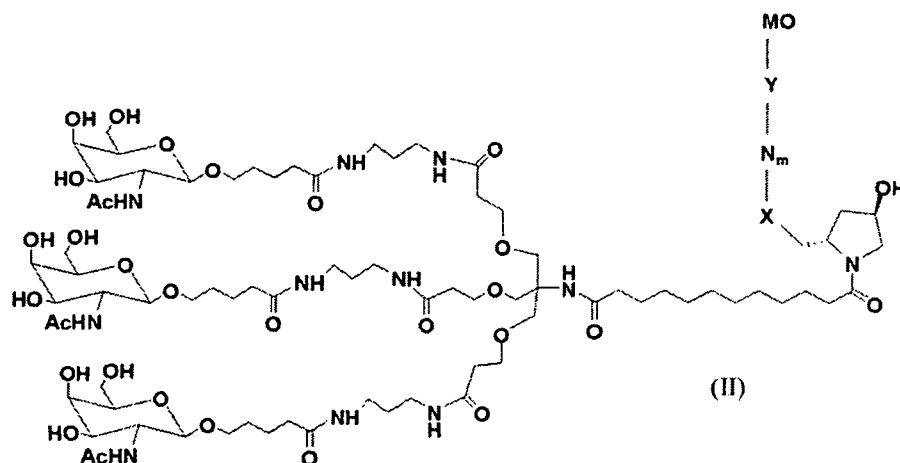
59. 如申請專利範圍第 57 項所述之化合物，其中 p 係 1、2、3 或 4。
60. 如申請專利範圍第 55 至 59 項中任一項所述之化合物，其中每個 N' 包含未經修飾之糖部分。
61. 如申請專利範圍第 57 至 60 項中任一項所述之化合物，其中每個未經修飾之糖部分獨立地是 β -D-核糖或 β -D-去氧核糖。
62. 如申請專利範圍第 57 至 61 項中任一項所述之化合物，其中 N'' 包含嘌呤核鹼基。
63. 如申請專利範圍第 57 至 61 項中任一項所述之化合物，其中 N'' 包含嘧啶核鹼基。
64. 如申請專利範圍第 57 或 59 至 62 項中任一項所述之化合物，其中至少一個 N' 包含嘌呤核鹼基。
65. 如申請專利範圍第 62 或 64 項所述之化合物，其中每個嘌呤核鹼基獨立地選自：腺嘌呤、鳥嘌呤、次黃嘌呤、黃嘌呤以及 7-甲基鳥嘌呤。
66. 如申請專利範圍第 57 至 62、64 和 65 項中任一項所述之化合物，其中 N'' 係 β -D-去氧核糖腺苷或 β -D-去氧核糖鳥苷。
67. 如申請專利範圍第 57 或 59 至 66 項中任一項所述之化合物，其中至少一個 N' 包含嘧啶核鹼基。
68. 如申請專利範圍第 63 或 67 項所述之化合物，其中每個嘧啶核鹼基獨立地選自：胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶以及 5,6-二氫尿嘧啶。

69. 如申請專利範圍第 35 至 68 項中任一項所述之化合物，其中每個 N 的該糖部分獨立地選自： β -D-核糖、 β -D-去氧核糖、2'-O-甲氧基糖、2'-O-甲基糖、2'-氟糖以及雙環糖部分。
70. 如申請專利範圍第 69 項所述之化合物，其中每個雙環糖部分獨立地選自 cEt 糖部分、LNA 糖部分以及 ENA 糖部分。
71. 如申請專利範圍第 70 項所述之化合物，其中該 cEt 糖部分係 S-cEt 糖部分。
72. 如申請專利範圍第 70 項所述之化合物，其中該 cEt 糖部分係 R-cEt 糖部分。
73. 一種化合物，其包含經修飾之核苷酸和共軛部分，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $A_E^{Me}C_E^{Me}A_E^{Me}C_E^{Me}C_E^{Me}T_E TGU_S C_S AC_S AC_S TC_S C_S$ ，其中後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷，後面有下標“E”之核苷係 2'-MOE 核苷，後面有下標“S”之核苷係 S-cEt 核苷，並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯；並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸之 3' 末端並且具有以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N 係 β -D-去氧核糖腺苷；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係該經修飾之寡核苷酸。

74. 一種化合物，其包含經修飾之核苷酸和共軛部分，其中該經修飾之寡核苷酸具有結構 $C_L C A_L T T G_L T_L C A C_L A C_L T C_L C_L$ ，其中下標“L”表明 LNA 並且後面沒有下標之核苷係 β -D-去氧核糖核苷，並且每個核苷間鍵聯係硫代磷酸酯核苷間鍵聯，並且其中該共軛部分連接至該經修飾之寡核苷酸的 3' 末端並且具有以下結構：



其中 X 係磷酸二酯鍵；m 係 1；N 係 β -D-去氧核糖腺苷；Y 係磷酸二酯鍵；並且 MO 係該經修飾之寡核苷酸。

75. 一種抑制細胞中的 miR-122 的活性之方法，該方法包括使細胞與如以上申請專利範圍第 1 至 0 如上項中任一項所述之化合物相接觸。
76. 如以上申請專利範圍第 75 所述之方法，其中該細胞係在體內。
77. 如以上申請專利範圍第 75 所述之方法，其中該細胞係在體外。
78. 一種方法，包括向 HCV 感染的受試者給藥如申請專利範圍第 1 至 74 項中任一項所述之化合物。

79. 如申請專利範圍第 78 項所述之方法，其中該給藥減少 HCV 感染的症狀。
80. 如申請專利範圍第 78 項或如申請專利範圍第 79 項所述之方法，其中該給藥預防血清 HCV RNA 回升。
81. 如申請專利範圍第 78 項或如申請專利範圍第 79 項所述之方法，其中該給藥延緩血清 HCV RNA 回升。
82. 如申請專利範圍第 78 至 81 項中任一項所述之方法，包括選擇患有 HCV 感染的受試者。
83. 如申請專利範圍第 78 至 82 項中任一項所述之方法，其中該受試者被選自以下的一種或多種 HCV 基因型感染：基因型 1、基因型 2、基因型 3、基因型 4、基因型 5 以及基因型 6。
84. 如申請專利範圍第 78 至 83 項中任一項所述之方法，其中在給藥該化合物之前，確定該受試者被選自以下的一種或多種 HCV 基因型感染：基因型 1、基因型 2、基因型 3、基因型 4、基因型 5 以及基因型 6。
85. 如申請專利範圍第 83 項或如申請專利範圍第 84 項所述之方法，其中該 HCV 基因型選自：基因型 1a、基因型 1b、基因型 2a、基因型 2b、基因型 2c、基因型 2d、基因型 3a、基因型 3b、基因型 3c、基因型 3d、基因型 3e、基因型 3f、基因型 4a、基因型 4b、基因型 4c、基因型 4d、基因型 4e、基因型 4f、基因型 4g、基因型 4h、基因型 4i、基因型 4j、基因型 5a 以及基因型 6a。

86. 如申請專利範圍第 83 項或如申請專利範圍第 84 項所述之方法，其中該 HCV 基因型選自：基因型 1a、基因型 1b 以及基因型 2。
87. 如申請專利範圍第 78 至 86 項中任一項所述之方法，包括給藥至少一種另外的治療劑。
88. 如申請專利範圍第 78 至 87 項中任一項所述之方法，其中該受試者被對至少一種治療劑有抗性的 HCV 變體感染。
89. 如申請專利範圍第 87 項或如申請專利範圍第 88 項所述之方法，其中該至少一種治療劑選自：蛋白酶抑制劑、聚合酶抑制劑、輔助因數抑制劑、RNA 聚合酶抑制劑、結構蛋白抑制劑、非結構蛋白抑制劑、親環蛋白抑制劑、進入抑制劑、TLR7 激動劑以及干擾素。
90. 如申請專利範圍第 87 項或如申請專利範圍第 88 項所述之方法，其中該至少一種治療劑選自：蛋白酶抑制劑、NS5A 抑制劑、NS3/4A 抑制劑、核苷 NS5B 抑制劑、核苷酸 NS5B 抑制劑、非核苷 NS5B 抑制劑、親環蛋白抑制劑以及干擾素。
91. 如申請專利範圍第 87 項或如申請專利範圍第 88 項所述之方法，其中該至少一種治療劑選自：干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、干擾素 alfacon-1、聚乙二醇干擾素 α -2b、聚乙二醇干擾素 α -2a、緩釋的干擾素- α -2b、干擾素 λ 、索菲布韋 (sofosbuvir)、利巴韋林 (ribavirin)、特拉普韋 (telaprevir)、波普瑞韋 (boceprevir)、伐尼普韋 (vaniprevir)、阿森那普韋 (asunaprevir)、利托那韋 (ritonavir)、斯約伯韋

(setrobuvir)、迪卡拉斯他韋 (daclastavir)、斯密普韋 (simeprevir)、阿拉泊韋 (alisporivir)、麥瑞斯他濱 (mericitabine)、替格布韋 (tegobuvir)、丹諾普韋 (danoprevir)、索伐普韋 (sovaloprevir) 以及尼塞普韋 (neceprevir)。

92. 如申請專利範圍第 87 項或如申請專利範圍第 88 項所述之方法，其中該至少一種治療劑選自：干擾素、利巴韋林和特拉普韋。
93. 如申請專利範圍第 78 至 92 項中任一項所述之方法，其中該受試者係對至少一種治療劑無反應者。
94. 如申請專利範圍第 93 項所述之方法，其中該受試者係干擾素無反應者。
95. 如申請專利範圍第 93 項或如申請專利範圍第 94 項所述之方法，其中該受試者係直接作用型抗病毒性無反應者。
96. 如申請專利範圍第 78 至 95 項中任一項所述之方法，包括選擇具有每毫升血清大於 350,000 個拷貝的 HCV RNA 水平之受試者。
97. 如申請專利範圍第 78 至 95 項中任一項所述之方法，包括選擇具有每毫升血清在 350,000 個與 3,500,000 個拷貝之間的 HCV RNA 水平之受試者。
98. 如申請專利範圍第 78 至 95 項中任一項所述之方法，包括選擇具有每毫升血清大於 3,500,000 個拷貝的 HCV RNA 水平的受試者。
99. 如申請專利範圍第 78 至 98 項中任一項所述之方法，其中該受試者患有 HCV 相關性疾病。
100. 如申請專利範圍第 99 項所述之方法，其中該 HCV 相關性疾病係肝硬化。

化、肝纖維化、脂肪性肝炎、脂肪變性或肝細胞癌。

101. 如申請專利範圍第 78 至 100 項中任一項所述之方法，包括給藥足以降低 HCV RNA 水平的劑量之該化合物。
102. 如申請專利範圍第 101 項所述之方法，包括給藥使 HCV RNA 水平降低至每毫升血清 40 個拷貝以下的劑量之該化合物。
103. 如申請專利範圍第 101 項所述之方法，包括給藥足以實現 HCV RNA 水平降低至少 2 個對數的劑量之該化合物。
104. 如申請專利範圍第 78 至 103 項中任一項所述之方法，其中該給藥實現了持續的病毒反應。
105. 如申請專利範圍第 78 至 104 項中任一項所述之方法，包括給藥足以實現 HCV RNA 水平降低至少 0.5 倍、至少 1.0 倍、至少 1.5 倍、至少 2.0 倍或至少 2.5 倍的劑量之該化合物。
106. 如申請專利範圍第 105 項所述之方法，其中在第一次給藥該化合物兩週、三週、四週、五週或六週之後實現該 HCV RNA 水平降低。
107. 如申請專利範圍第 78 至 106 項中任一項所述之方法，其中每週一次、每兩週一次、每三週一次、每月一次、每兩月一次或每三月一次給藥該化合物。
108. 如申請專利範圍第 78 至 107 項中任一項所述之方法，其中該化合物之劑量小於或等於 10 mg/kg、小於或等於 7.5 mg/kg、小於或等於每週 5 mg/kg、小於或等於 4.5 mg/kg、小於或等於 4.0 mg/kg、小於或等於 3.5

mg/kg、小於或等於 3.0 mg/kg、小於或等於 2.5 mg/kg、小於或等於 2.0 mg/kg、小於或等於 1.5 mg/kg、或小於或等於 1.0 mg/kg。

109. 如申請專利範圍第 78 至 108 項中任一項所述之方法，其中該給藥使肝酶水平正常化，其中該肝酶可隨意地是丙胺酸轉胺酶。

110. 如申請專利範圍第 78 至 109 項中任一項所述之方法，其中該受試者係人。

111. 如申請專利範圍第 78 至 110 項中任一項所述之方法，其中該化合物存在於藥物組合物中。

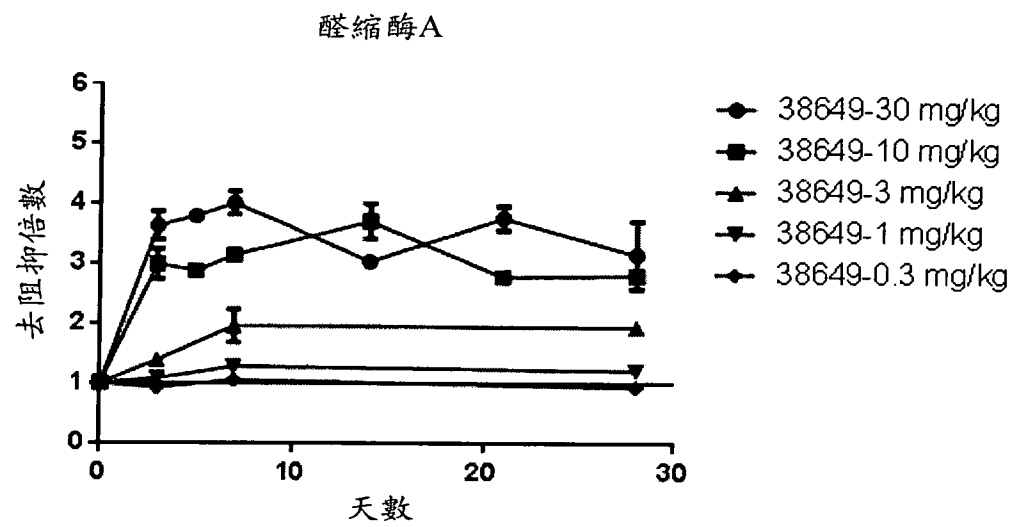
112. 如申請專利範圍第 1 至 74 項中任一項所述之化合物，用於療法中。

113. 如申請專利範圍第 1 至 74 項中任一項所述之化合物，用於治療 HCV 感染的受試者。

114. 一種化合物，用於根據申請專利範圍 113 項所述之用途，其中該受試者係人。

圖式

A



B

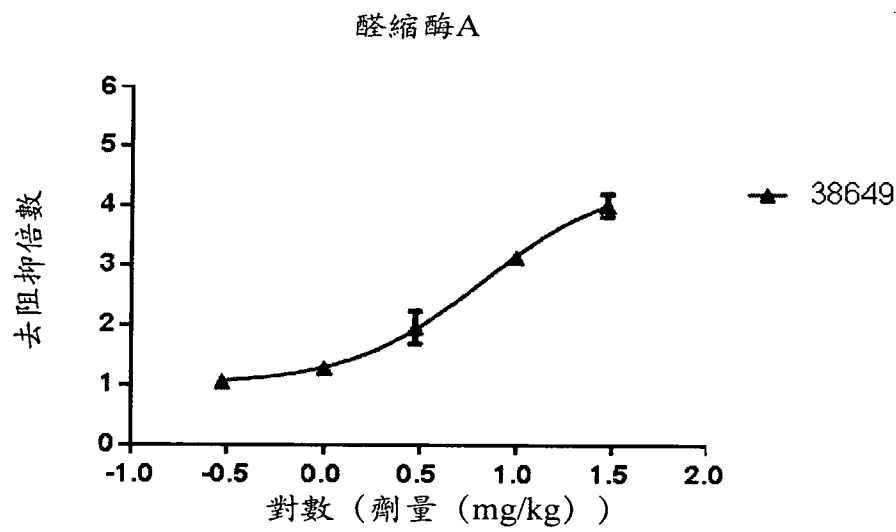


圖1

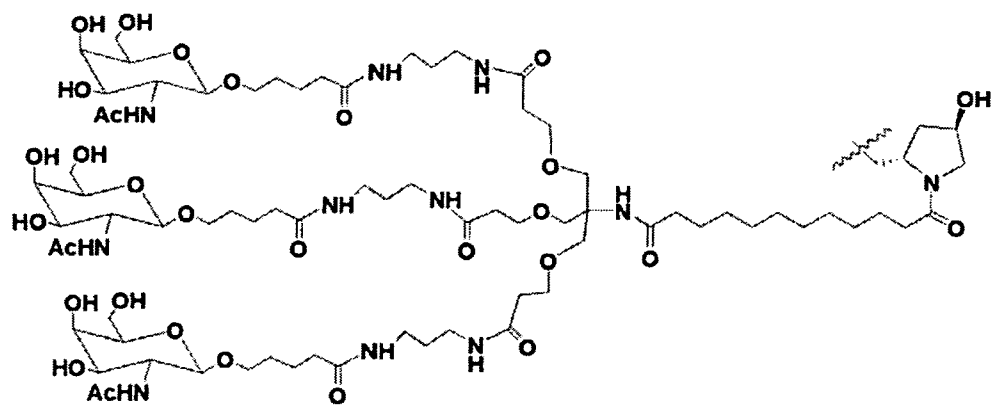
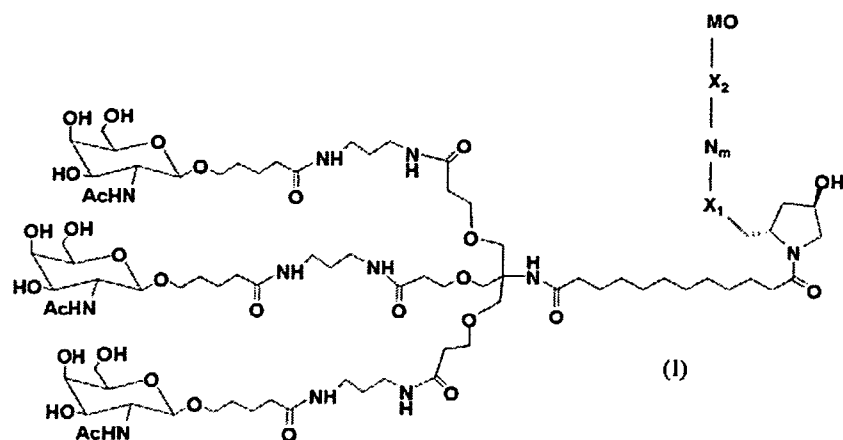
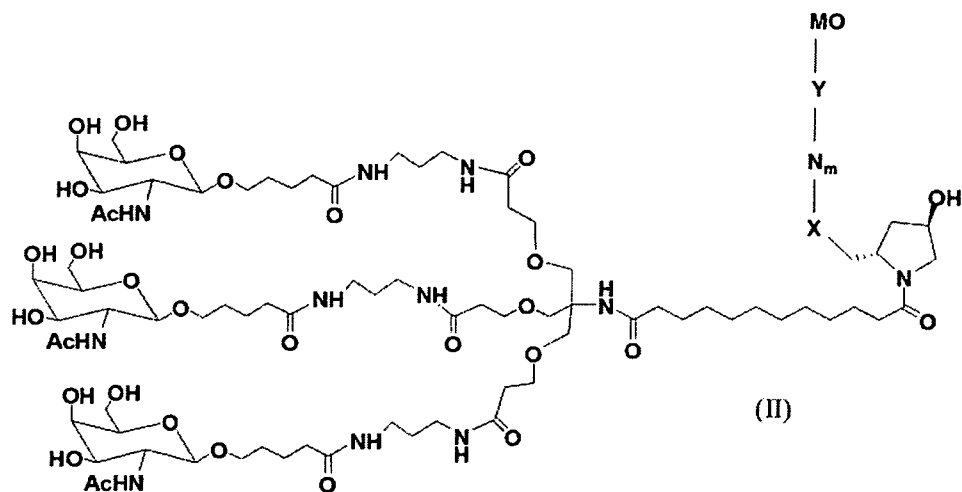


圖 2

A.



B



C

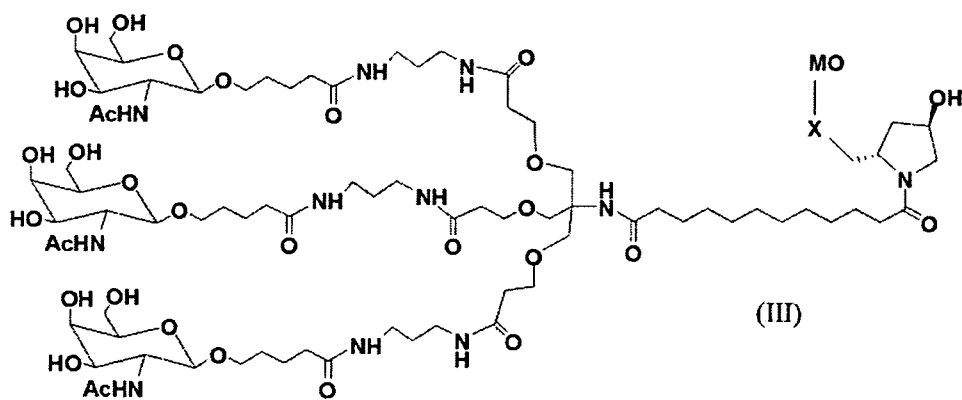
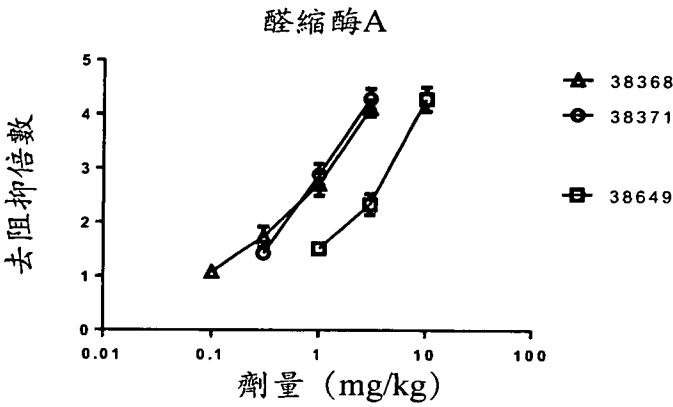
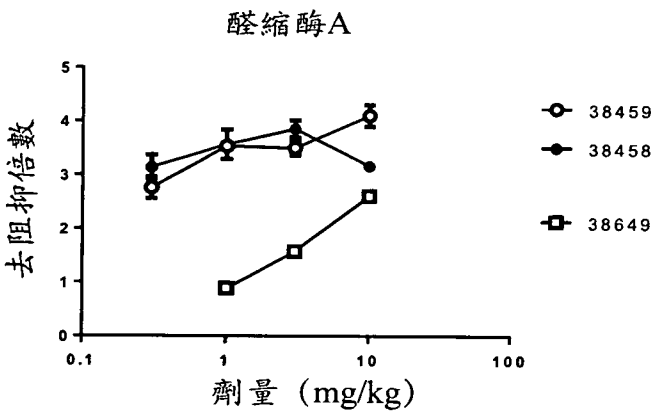


圖 3

A



B



C

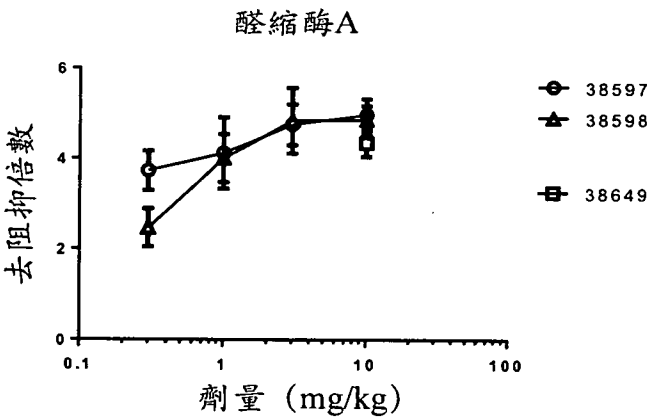
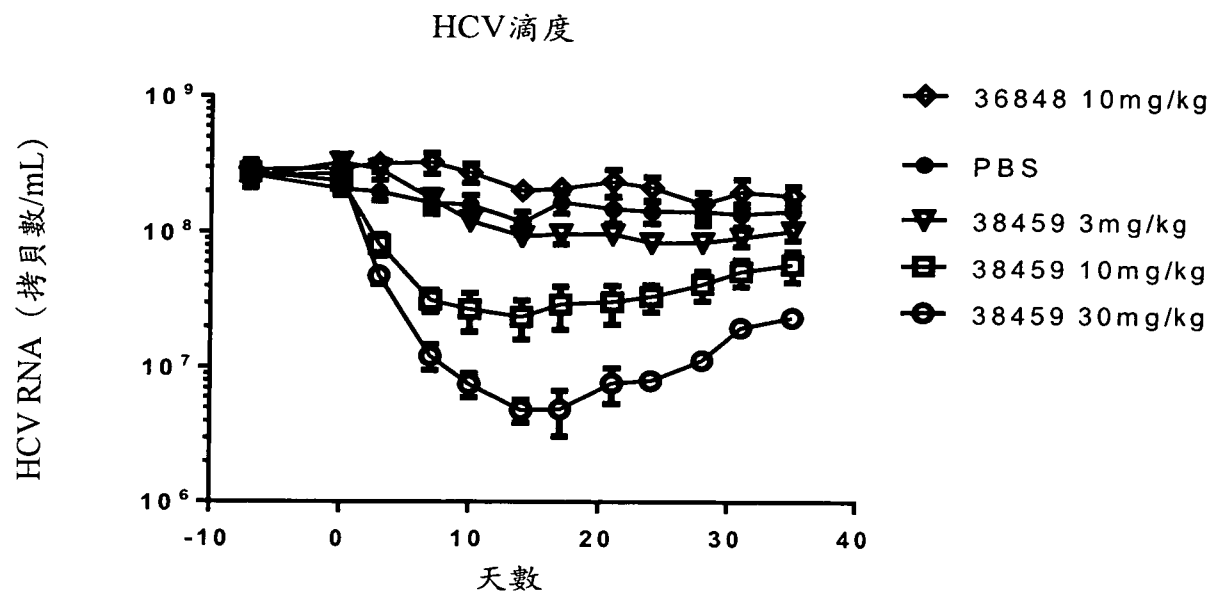


圖4

A



B

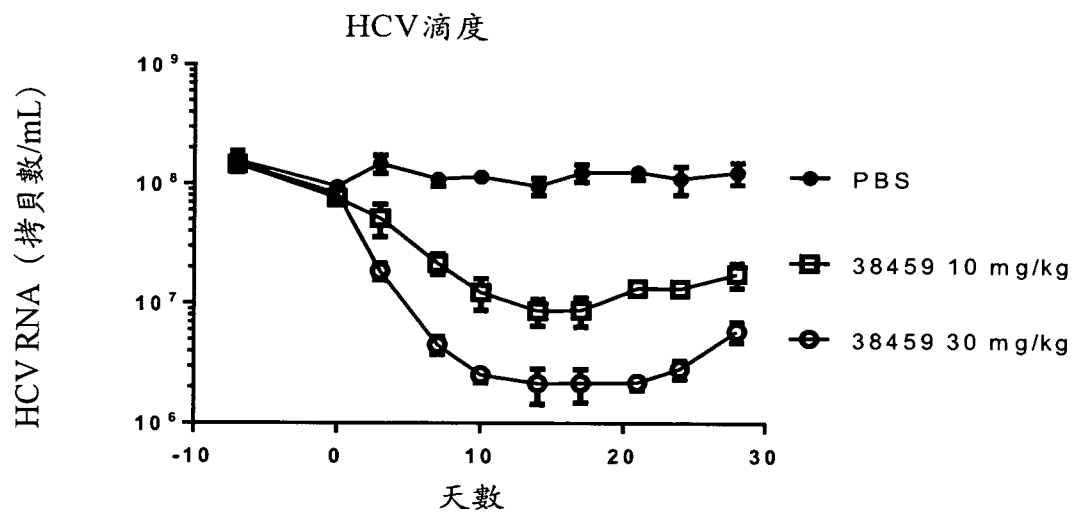
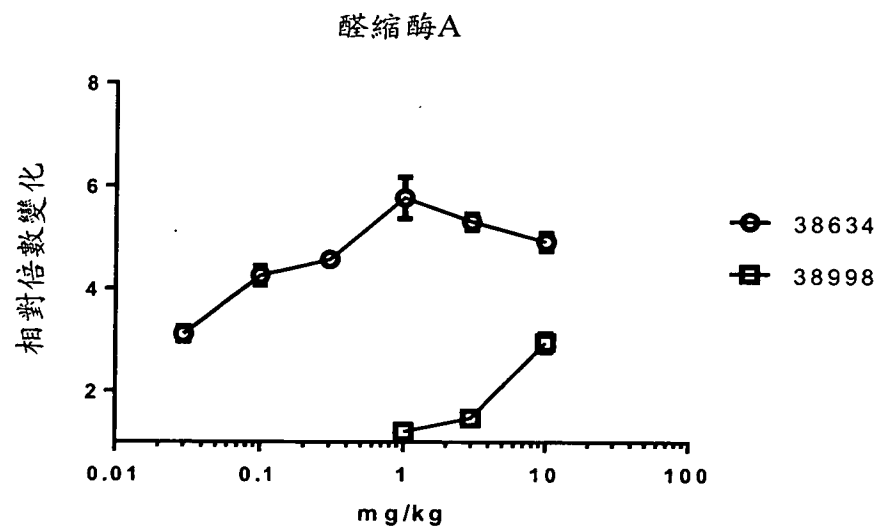


圖5

A



B

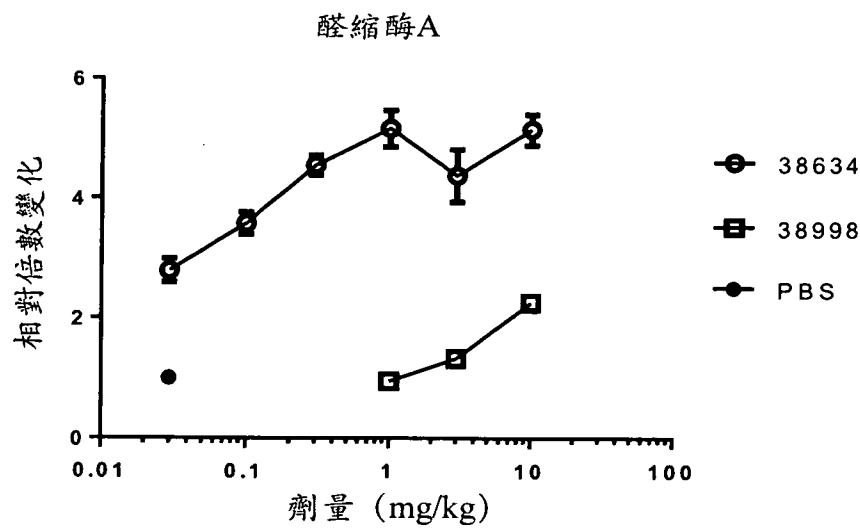
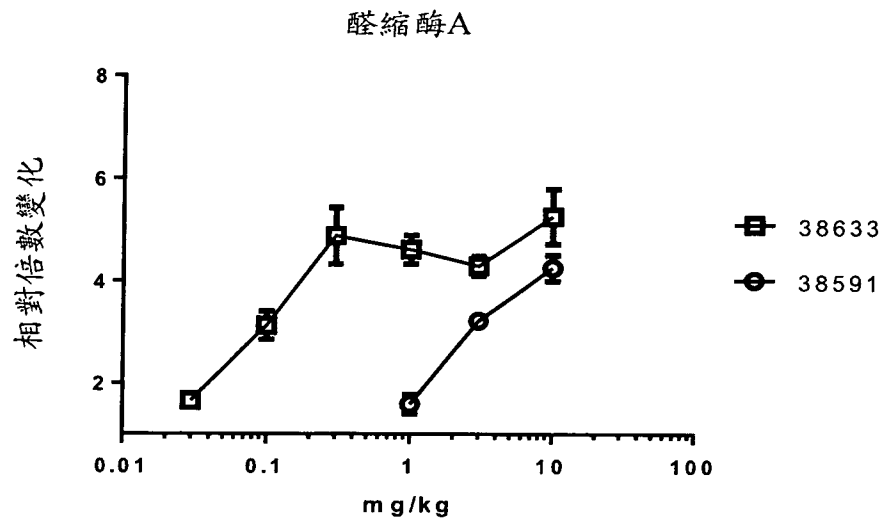


圖6

A



B

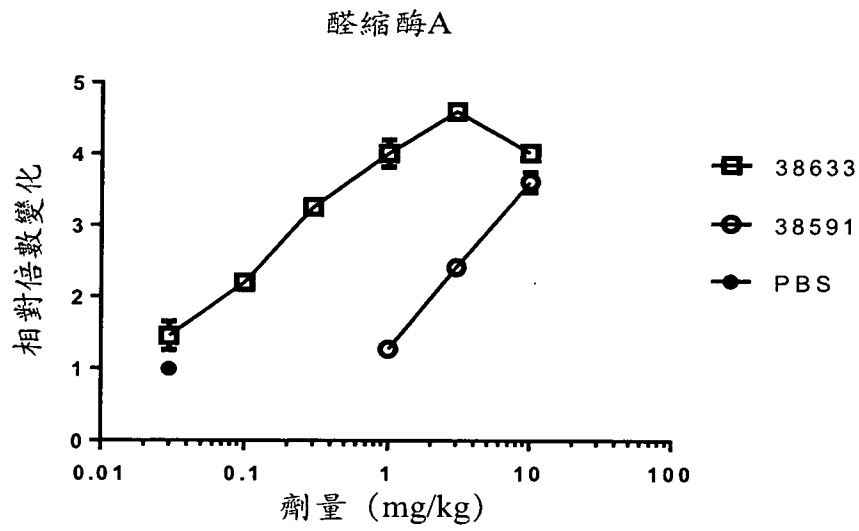
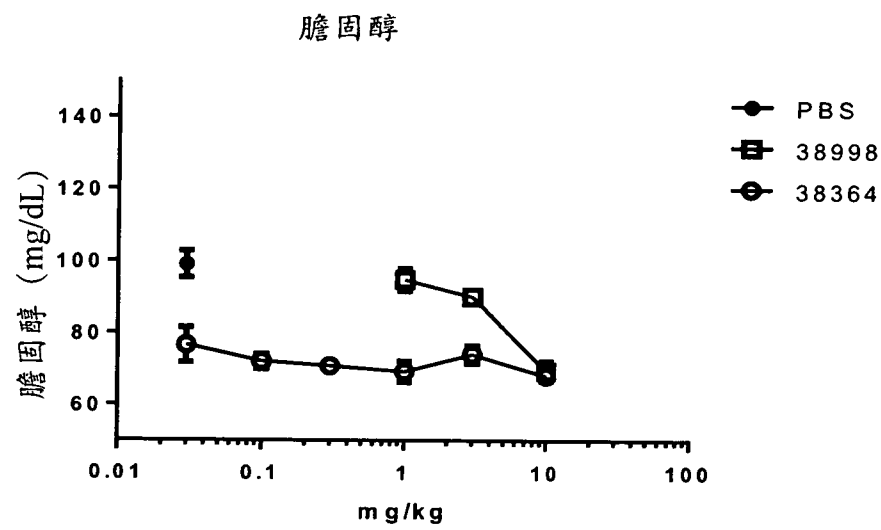


圖7

A



B

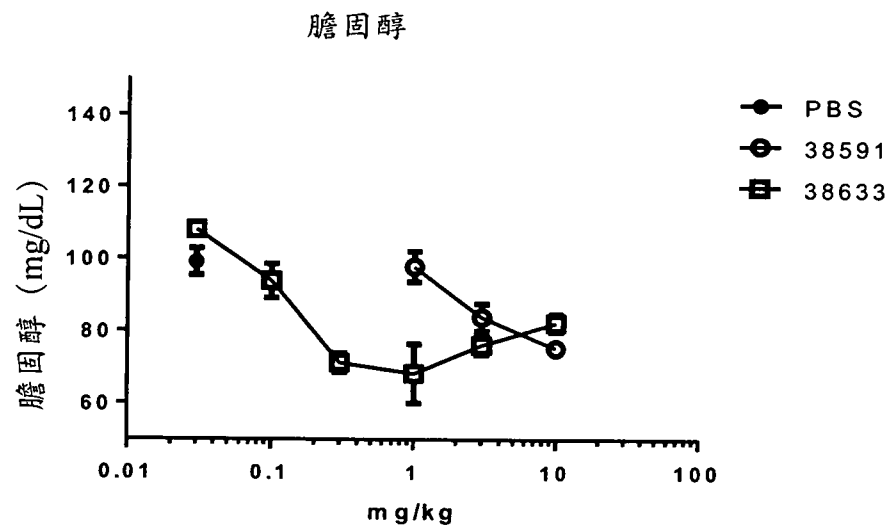
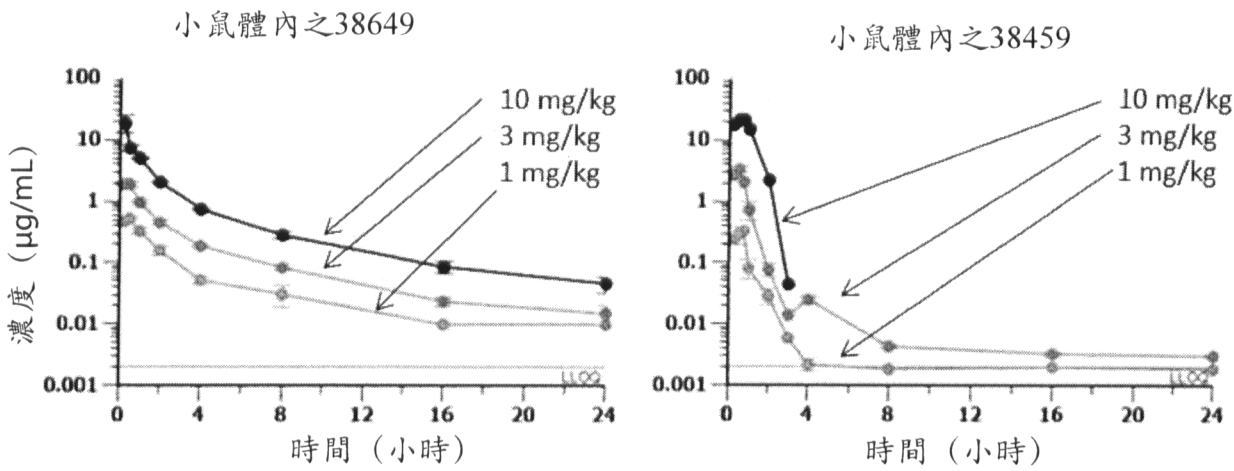


圖8

A



B

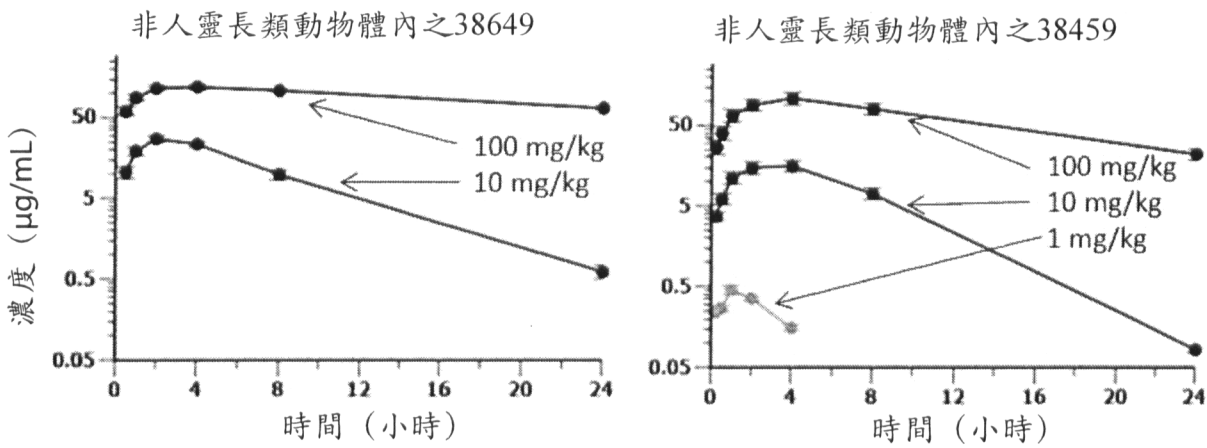


圖9