



등록특허 10-2214740



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월10일

(11) 등록번호 10-2214740

(24) 등록일자 2021년02월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

*C12N 15/113* (2010.01) *A61K 31/7125* (2006.01)

*A61K 31/713* (2006.01)

(52) CPC특허분류

*C12N 15/1131* (2013.01)

*A61K 31/7125* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-7031078

(22) 출원일자(국제) 2014년04월30일

심사청구일자 2019년04월18일

(85) 번역문제출일자 2015년10월28일

(65) 공개번호 10-2016-0002862

(43) 공개일자 2016년01월08일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/036137

(87) 국제공개번호 WO 2014/179446

국제공개일자 2014년11월06일

(30) 우선권주장

61/818,432 2013년05월01일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

KR2020100100774 A\*

WO2012037254 A1\*

WO2008091703 A2

WO2007027775 A2

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 38 항

심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 MIR-122를 조정하기 위한 마이크로RNA 화합물 및 방법

### (57) 요약

miR-122 활성의 저해를 위한 조성물 및 방법이 본원에 기술된다. 조성물은 miR-122 활성의 강력한 저해제를 산출하는 일정한 뉴클레오시드 변형을 가진다. 화합물은 간으로의 전달을 용이하게 하기 위한 접합체를 포함할 수 있다. 조성물은 C형 간염 바이러스 및 관련 병태의 치료로서, C형 간염 바이러스에 감염된 대상체에 투여될 수 있다.

(52) CPC특허분류

**A61K 31/713** (2013.01)  
*C12N 2310/11* (2013.01)  
*C12N 2310/113* (2013.01)  
*C12N 2310/141* (2013.01)  
*C12N 2310/315* (2013.01)  
*C12N 2310/321* (2013.01)  
*C12N 2310/3231* (2013.01)  
*C12N 2310/351* (2013.01)  
*C12N 2310/3515* (2013.01)

---

(30) 우선권주장

61/822,112	2013년05월10일	미국(US)
61/839,550	2013년06월26일	미국(US)
61/895,784	2013년10월25일	미국(US)
61/898,704	2013년11월01일	미국(US)
61/927,897	2014년01월15일	미국(US)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

16 내지 22개의 결합된 뉴클레오시드로 이루어진 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물로서, 상기 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열이 miR-122(서열 번호 1)에 상보적이고, 상기 변형 올리고뉴클레오티드가 하기 구조의 적어도 16개의 연속적인 뉴클레오시드를 포함하는, 화합물:



(여기서, 위첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타내고, 아래첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 아래첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합임).

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 변형 올리고뉴클레오티드가 상기 구조의 적어도 18개의 연속적인 뉴클레오시드를 포함하는, 화합물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,  $A_E^{\text{Me}} C_E A_E^{\text{Me}} C_E^{\text{Me}} C_E A_E T_E T G U_S C_S A C_S A C_S T C_S C_S$ 의 구조를 가지는 화합물.

#### 청구항 4

16개 미만의 결합된 뉴클레오시드로 이루어진 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물로서, 상기 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열이 miR-122(서열 번호 1)의 핵염기 2 내지 9에 상보적인 핵염기 서열을 포함하고, 상기 변형 올리고뉴클레오티드가 하기 구조의 적어도 8개의 연속적인 뉴클레오시드를 포함하는, 화합물:



(여기서, 위첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타내고, 아래첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 아래첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합임).

#### 청구항 5

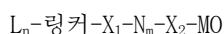
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단 또는 3' 말단에 결합된 접합체 모이어티를 포함하는, 화합물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 접합체 모이어티가 탄수화물, 콜레스테롤, 지질, 인지질, 항체, 지단백질, 호르몬, 펩티드, 비타민, 스테로이드, 및 양이온성 지질로부터 선택된 적어도 하나의 리간드를 포함하는, 화합물.

#### 청구항 7

제5항에 있어서, 하기 구조를 가지는 화합물:

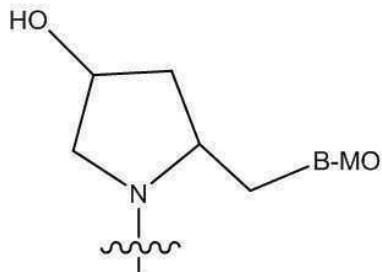


(여기서, 각각의 L은 독립적으로 리간드이고, n은 1 내지 10이고; 각각의 N은 돋립적으로 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고, m은 1 내지 5이고;  $X_1$  및  $X_2$  각각은 돋립적으로 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이

트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드임).

### 청구항 8

제7항에 있어서, 하기 구조를 가지는 화합물:



(여기서:

B는  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-N(R^N)-$ ,  $-Z-P(Z')(Z'')O-$ ,  $-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X-$ , 및  $-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-$ 로부터 선택되고;

MO는 변형 올리고뉴클레오티드이고;

$R^N$ 은 H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 및 벤질로부터 선택되고;

Z, Z', 및 Z'' 각각은 O 및 S로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 N은 독립적으로 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고;

m은 1 내지 5이고;

X는 포스포디에스테르 결합 및 포스포로티오에이트 결합으로부터 선택되고;

Y는 포스포디에스테르 결합이고;

물결선은 나머지의 링커 및 리간드(들)에 대한 연결을 나타냄).

### 청구항 9

제7항에 있어서, n이 3인 화합물.

### 청구항 10

제7항에 있어서, 적어도 하나의 리간드가 탄수화물이고, 상기 탄수화물이 N-아세틸갈락토사민, 갈락토사민, N-포밀갈락토사민, N-프로피오닐-갈락토사민, N-n-부타노일갈락토사민, 및 N-이소-부타노일-갈락토사민으로부터 선택되는, 화합물.

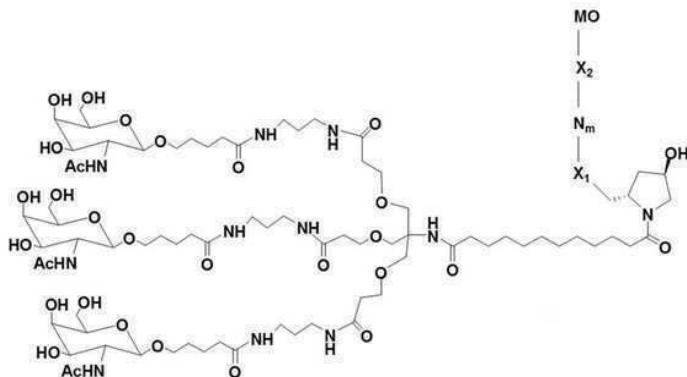
### 청구항 11

제7항에 있어서, 각각의 리간드가 N-아세틸갈락토사민인 화합물.

### 청구항 12

제7항에 있어서, 하기 구조를 가지는 화합물:

[식 I]



(여기서 각각의 N은 독립적으로 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고, m은 1 내지 5이고; X<sub>1</sub> 및 X<sub>2</sub> 각각은 독립적으로 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드임).

### 청구항 13

제12항에 있어서, X<sub>1</sub> 및 X<sub>2</sub> 각각이 포스포디에스테르 결합인 화합물.

### 청구항 14

제12항에 있어서, m이 1인 화합물.

### 청구항 15

제12항에 있어서, 각각의 N이 미변형 당 모이어티를 포함하고, 상기 각각의 미변형 당 모이어티가 독립적으로  $\beta$ -D-리보스 또는  $\beta$ -D-데옥시리보스인, 화합물.

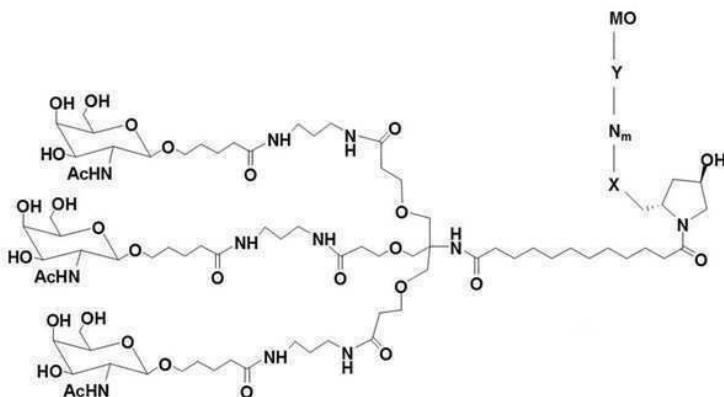
### 청구항 16

제12항에 있어서, 적어도 하나의 N이 퓨린 핵염기를 포함하고, 상기 각각의 퓨린 핵염기가 아데닌, 구아닌, 하이포잔틴, 잔틴, 및 7-메틸구아닌으로부터 독립적으로 선택되는, 화합물.

### 청구항 17

하기 구조의 화합물:

[식 II]



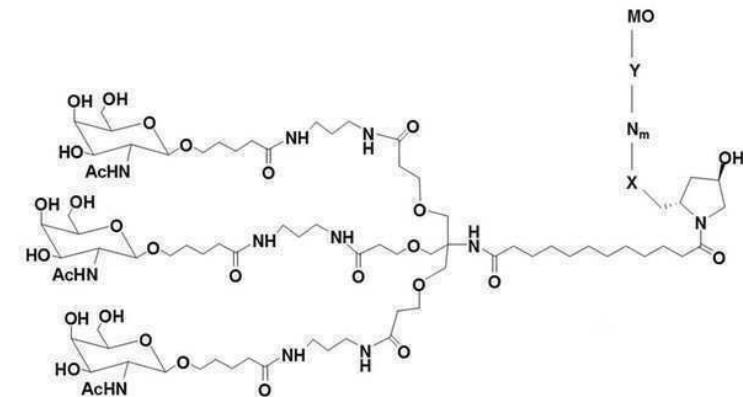
(여기서 X는 포스포디에스테르 결합이고; m은 1이고; N은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 구조  $A_E^{Me} C_E^{Me} C_E^{Me} C_E^{Me} A_E^{Me} T_E^{Me} T_E^{Me} G_U^{Me} S^{Me} C_S^{Me} A_C^{Me} C_S^{Me} T_C^{Me} C_S^{Me}$ (서열 번호 4) (여기서, 위첨자 "Me"는 5-메틸시토신을

나타내고, 아래첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 아래첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합임)를 갖는 변형 올리고뉴클레오티드이고; Y는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합함).

### 청구항 18

하기 구조의 화합물:

[식 II]



(여기서 X는 포스포디에스테르 결합이고; m은 1이고; N은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 16개 미만의 결합된 뉴클레오시드로 이루어진 변형 올리고뉴클레오티드이고, 여기서 상기 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열이 miR-122(서열 번호 1)의 핵염기 2 내지 9에 상보적인 핵염기 서열을 포함하고, 상기 변형 올리고뉴클레오티드가 하기 구조의 적어도 8개의 연속적인 뉴클레오시드를 포함하며,



여기서 위첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타내고, 아래첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 아래첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 아래첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이고; Y는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합함).

### 청구항 19

제1항 내지 제4항, 제17항, 및 제18항 중 어느 한 항의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, HCV 감염 치료용 약학적 조성물.

### 청구항 20

제1항 내지 제4항, 제17항, 및 제18항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하고, 상기 화합물은 HCV에 감염된 인간 대상체에 투여되는, HCV 감염 치료용 약학적 조성물.

### 청구항 21

제20항에 있어서, 투여가 HCV 감염의 증상을 감소시키거나, 혈청 HCV RNA에서의 반등을 예방하거나, 또는 혈청 HCV RNA의 반등을 지연시키는, 약학적 조성물.

### 청구항 22

제20항에 있어서, HCV RNA 수준을 감소시키는 약학적 조성물.

### 청구항 23

제20항에 있어서, 지속된 바이러스 반응을 달성시키는 약학적 조성물.

**청구항 24**

제20항에 있어서, 대상체가 유전형 1, 유전형 2, 유전형 3, 유전형 4, 유전형 5, 및 유전형 6으로부터 선택된 하나 이상의 HCV 유전형에 감염된, 약학적 조성물.

**청구항 25**

제24항에 있어서, HCV 유전형이 유전형 1a, 유전형 1b, 유전형 2a, 유전형 2b, 유전형 2c, 유전형 2d, 유전형 3a, 유전형 3b, 유전형 3c, 유전형 3d, 유전형 3e, 유전형 3f, 유전형 4a, 유전형 4b, 유전형 4c, 유전형 4d, 유전형 4e, 유전형 4f, 유전형 4g, 유전형 4h, 유전형 4i, 유전형 4j, 유전형 5a, 및 유전형 6a로부터 선택되는, 약학적 조성물.

**청구항 26**

제20항에 있어서, 적어도 하나의 추가적인 치료제를 추가로 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 27**

제26항에 있어서, 적어도 하나의 치료제가 프로테아제 저해제, 폴리머라제 저해제, 보조인자 저해제, RNA 폴리머라제 저해제, 구조 단백질 저해제, 비구조 단백질 저해제, 사이클로필린 저해제, 유입 저해제, TLR7 작용제, 및 인터페론으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

**청구항 28**

제26항에 있어서, 적어도 하나의 치료제가 프로테아제 저해제, NS5A 저해제, NS3/4A 저해제, 뉴클레오시드 NS5B 저해제, 뉴클레오티드 NS5B 저해제, 비뉴클레오시드 NS5B 저해제, 사이클로필린 저해제 및 인터페론으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

**청구항 29**

제26항에 있어서, 적어도 하나의 치료제가 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 인터페론 알파콘-1, 페그인터페론 알파-2b, 페그인터페론 알파-2a, 인터페론-알파-2b 연장 방출제, 인터페론 람다, 소포스부비르(sofosbuvir), 레디파스비르(ledipasvir), 리바비린(ribavirin), 텔라프라비르(telaprevir), 보세프레비르(boceprevir), 바니프레비르(vaniprevir), 아수나프레비르(asunaprevir), 리토나비르(ritonavir), 세트로부비르(setrobuvir), 다클라타스비르(daclatasvir), 시메프레비르(simeprevir), 알리스포리비르(alisporivir), 메리시타빈(mericitabine), 테고부비르(tegobuvir), 다노프레비르(danoprevir), 소바프레비어(sovaprevir), 및 네세프레비르(neceprevir)로부터 선택되는, 약학적 조성물.

**청구항 30**

제26항에 있어서, 적어도 하나의 치료제가 소포스부비르(sofosbuvir)인, 약학적 조성물.

**청구항 31**

제26항에 있어서, 적어도 하나의 치료제가 소포스부비르(sofosbuvir) 및 레디파스비르(ledipasvir)인, 약학적 조성물.

**청구항 32**

제26항에 있어서, 적어도 하나의 치료제가 다클라타스비르(daclatasvir)인, 약학적 조성물.

**청구항 33**

제26항에 있어서, 적어도 하나의 치료제가 시메프레비르(simeprevir)인, 약학적 조성물.

**청구항 34**

제20항에 있어서, 대상체가 직접 작용 항바이러스 무반응자인, 약학적 조성물.

**청구항 35**

제20항에 있어서, 대상체가 HCV 관련 질환을 갖는, 약학적 조성물.

**청구항 36**

제35항에 있어서, 상기 HCV 관련 질환이 간경변, 간 섬유증, 지방간염, 지방증, 및 간세포 암종으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

**청구항 37**

제20항에 있어서, 화합물 또는 접합체가 1주 당 1회, 2주 당 1회, 3주 당 1회, 1개월 당 1회, 2개월 당 1회, 또는 3개월 당 1회 투여되는, 약학적 조성물.

**청구항 38**

제20항에 있어서, 화합물 또는 접합체의 용량이 10 mg/kg 이하, 7.5 mg/kg 이하, 1주 당 5 mg/kg 이하, 4.5 mg/kg 이하, 4.0 mg/kg 이하, 3.5 mg/kg 이하, 3.0 mg/kg 이하, 2.5 mg/kg 이하, 2.0 mg/kg 이하, 1.5 mg/kg 이하, 또는 1.0 mg/kg 이하인, 약학적 조성물.

**청구항 39**

삭제

**청구항 40**

삭제

**청구항 41**

삭제

**청구항 42**

삭제

**청구항 43**

삭제

**청구항 44**

삭제

**청구항 45**

삭제

**청구항 46**

삭제

**청구항 47**

삭제

**청구항 48**

삭제

**청구항 49**

삭제

**청구항 50**

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] miR-122의 활성 조절에 사용하기 위한 화합물 및 방법이 본원에 제공된다. 이러한 방법은 HCV 감염과 같은 miR-122 활성에 관련된 질환의 치료를 포함한다.

#### 배경 기술

[0002] “성숙 마이크로RNA”로도 알려진 마이크로RNA(microRNA)는 식물 및 동물의 세포 내에 인코딩된 짧은(길이가 대략 18~24 뉴클레오티드임) 비암호화 RNA 분자이다. 일정한 예시에서, 고도로 보존된 내인성으로 발현되는 마이크로 RNA가 특정 mRNA의 3'-미번역 영역(3'-UTR)에 결합함으로써 유전자의 발현을 조절한다. 1000종이 넘는 상이한 마이크로RNA가 식물 및 동물에서 식별되어 있다. 일정한 성숙 마이크로RNA는 종종 수백 개의 뉴클레오티드 길이인 긴 내인성 일차 마이크로RNA 전사체(또한 프리(pr)–마이크로RNA, 프리-miR, 프리-miR 또는 프리-전구-마이크로RNA로도 알려짐)로부터 유래된 것으로 보인다(Lee, et al., EMBO J., 2002, 21(17), 4663-4670).

[0003] 간에 풍부하게 특이적으로 발현되는 마이크로RNA인 miR-122는 C형 간염 바이러스 축적의 주요한 숙주 인자이다 (Jopling et al., Science. 2005, 309(5740), 1577-81). miR-122는, HCV 세포의 5' 비암호화 영역 내 2개의 가깝게 자리한 시드 서열 자리에 결합함으로써 HCV와 상호작용하여, HCV 세포의 안정화를 초래하고, 복제 및 번역을 지원한다(Jangra et al., J Virol., 2010, 84:6615-6625; Machlin, et al., 2011). 중요하게는, miR-122 결합 자리는 모든 유전자형 및 아형에서 HCV 세포 내에 완전하게 보존된다(Wilson et al., J Virol., 2011, 85: 2342-2350). 항-miR로의 miR-122의 저해는 마우스 및 시노몰구스 원숭이에서 총 순환 콜레스테롤 수준의 감소뿐 아니라 콜레스테롤 항상성, 지방산 및 지질 대사에 관련된 유전자의 발현에 변화를 초래한다(Esau et al., 2006, Cell Metabolism, 3: 87-98). 만성적으로 HCV에 감염된 침팬지에서, HCV RNA 수준의 지속적이고 가역적인 억제 및 감소된 총 혈청 콜레스테롤을 위한 항-miR의 매주 정맥내 투여(Lanford et al., 2010, Science, 327:198-201). 만성 치료 미처리(naive) HCV 감염 환자에서, 항-miR-122 치료는 혈청 HCV RNA의 감소를 야기함으로써, 임상적인 개념의 증명을 입증하였다.

[0004] C형 간염(HCV)은 플라비비리대(Flaviviridae)과의 간친화적 RNA 바이러스로, HCV 감염을 유발하는 것에 더하여 만성 간 질환 및 간세포 암종의 주요한 원인이다. 현재의 치료 기준 치료법인 리바비린(ribavirin)과 조합된 폐길화된 인터페론은 많은 환자에서 불량하게 관용되고, 일부 환자에서는 50%의 낮은 반응률을 가질 수 있다. 몇몇 직접적으로 작용하는 항바이러스 NS3 프로테아제 저해제가 현재 HCV에 감염된 환자에서 사용하기 위한 승인을 받았지만, HCV 중 내성 돌연변이의 출현은 추가적인 제제로의 치료를 요구한다. 개발되고 있는 치료요법은 NS3/4A 프로테아제 저해제, NS5A 단백질 저해제, 뉴클레오시드/티드 NS5B 폴리머라제 저해제 및 비뉴클레오시드 NS5B 저해제를 포함한다. 그러나 현재의 치료에 반응하지 않거나, 성공적인 치료 후 재발되거나, 하나 이상의 현재 사용되는 약물에 낮은 관용성을 가지는 감염된 개체를 치료하기 위한 추가적인 치료요법에 대한 필요성이 여전히 존재한다. 항바이러스 치료요법에 대한 내성은 HCV의 높은 돌연변이률과 연관된 주요한 문제로서, 심지어는 다수의 기전을 통해 작용하는 약물의 조합에서도 나타난다. 따라서, miR-122과 같은 보존적인 돌연변이 내성 바이러스 숙주 인자를 표적으로 하는 치료요법이 더욱 높고 더욱 지속 가능한 치료율을 달성하기 위한 기회를 보여준다.

#### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

#### 과제의 해결 수단

[0005] 16 내지 22개의 결합된 뉴클레오시드로 이루어진 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물이 본원에 제공되며, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은 miR-122(서열 번호 1)에 상보적이고, 변형 올리고뉴클레오티드는 5'에서 3' 방향으로 다음의 뉴클레오시드 패턴 I의 적어도 16개의 연속적인 뉴클레오시드를 포함한다:

[0006]  $(R)_X-N^Q-N^Q-N^B-N^Q-N^B-N^Q-N^B-N^Q-N^B-(N^Z)_Y$

[0007] 여기서, 각각의 R은, 독립적으로, 비이환식 뉴클레오시드 또는 이환식 뉴클레오시드이고;

[0008] X는 4 내지 10이고;

[0009] 각각의  $N^B$ 는, 독립적으로, 이환식 뉴클레오시드이고;

[0010] 각각의  $N^Q$ 는, 독립적으로, 비이환식 뉴클레오시드이고;

[0011] Y는 0 또는 1이고;

[0012]  $N^Z$ 는 변형 뉴클레오시드 또는 미변형 뉴클레오시드이다.

[0013] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 뉴클레오시드 패턴 I의 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 또는 22개의 연속적인 뉴클레오시드를 포함하는 변형 올리고뉴클레오티드를 포함한다.

[0014] 일정한 구현예에서, 각각의 이환식 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드, cEt 뉴클레오시드, 및 ENA 뉴클레오시드로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, 적어도 2개의 이환식 뉴클레오시드는 서로 상이하다. 일정한 구현예에서, 모든 이환식 뉴클레오시드는 서로 같은 당 모이어티를 가진다. 일정한 구현예에서, 각각의 이환식 뉴클레오시드는 cEt 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, cEt 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, cEt 뉴클레오시드는 R-cEt 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 각각의 이환식 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다.

[0015] 일정한 구현예에서, 적어도 2개의 비이환식 뉴클레오시드는 서로 다른 당 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는 동일한 유형의 당 모이어티를 가진다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드,  $\beta$ -D-리보뉴클레오시드, 2'-0-메틸 뉴클레오시드, 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드, 및 2'-플루오로뉴클레오시드로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드, 및 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 2개 이하의 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이되, 각각의 다른 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 5'-가장 끝 및 3'-가장 끝 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 각각의 다른 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 2개의 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고 각각의 다른 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0016] 일정한 구현예에서, 각각의 R은 2'-MOE 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, X는 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다. 일정한 구현예에서, Y는 0이다. 일정한 구현예에서, Y는 1이다.

[0017] 일정한 구현예에서, X는 7이고, 각각의 R은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고, 각각의  $N^B$ 은 S-cEt 뉴클레오시드이고, 각각의  $N^Q$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, Y는 0이다.

[0018] 일정한 구현예에서, X는 4이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 이되,  $N^{R1}$  및  $N^{R3}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고,  $N^{R2}$  및  $N^{R4}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^B$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^Q$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고;  $N^Z$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0019] 일정한 구현예에서, X는 4이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 이되,  $N^{R1}$  및  $N^{R4}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고,  $N^{R2}$  및  $N^{R3}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^B$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^Q$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고;  $N^Z$ 는 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이다.

[0020] 일정한 구현예에서, X는 7이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ 이되,  $N^{R1}$ ,  $N^{R2}$ ,  $N^{R3}$ , 및  $N^{R4}$  각각은 2'-0-메톡시에

틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R5}$  및  $N^{R7}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고,  $N^{R6}$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.

[0021] 일정한 구현예에서, X는 7이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ 이되,  $N^{R1}$ ,  $N^{R2}$ ,  $N^{R3}$ ,  $N^{R4}$ , 및  $N^{R5}$  각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R6}$ 은 S-cEt 뉴클레오시드이고,  $N^{R7}$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.

[0022] 일정한 구현예에서, X는 7이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}$ 이되,  $N^{R1}$ ,  $N^{R2}$ ,  $N^{R3}$ ,  $N^{R4}$ ,  $N^{R5}$ , 및  $N^{R6}$  각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R7}$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.

[0023] 일정한 구현예에서, X는 10이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}-N^{R8}-N^{R9}-N^{R10}$ 이되,  $N^{R1}$ ,  $N^{R2}$ ,  $N^{R3}$ ,  $N^{R4}$ ,  $N^{R5}$ , 및  $N^{R6}$  각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R7}$  및  $N^{R9}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고;  $N^{R8}$  및  $N^{R10}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.

[0024] 일정한 구현예에서, X는 10이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}-N^{R8}-N^{R9}-N^{R10}$ 이되,  $N^{R1}$ ,  $N^{R2}$ ,  $N^{R3}$ ,  $N^{R4}$ ,  $N^{R5}$ , 및  $N^{R6}$  각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R7}$  및  $N^{R9}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고;  $N^{R8}$  및  $N^{R10}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고  $N_z$ 는 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이다.

[0025] 일정한 구현예에서, X는 4이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 이되,  $N^{R1}$  및  $N^{R4}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고,  $N^{R1}$  및  $N^{R3}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고  $N^z$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0026] 일정한 구현예에서, X는 4이고;  $(R)_X$ 는  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 이되,  $N^{R1}$ 은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R2}$  및  $N^{R4}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고,  $N^{R3}$ 은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^0$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고,  $N^z$ 는 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이다.

[0027] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은 miR-122의 핵염기 서열(서열 번호 1)에 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 상보적이다.

[0028] 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 뉴클레오시드 간 결합이 변형 뉴클레오시드 간 결합이거나, 각각의 뉴클레오시드 간 결합이 변형 뉴클레오시드 간 결합이고, 선택적으로, 변형 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.

[0029] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은 서열 번호 3 내지 6으로부터 선택되되, 각각의 T는 T 및 U로부터 독립적으로 선택된다.

[0030] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 miR-122의 핵염기 서열에 대하여 0, 1, 2, 또는 3개의 미스매치를 가진다.

[0031] 일정한 구현예에서, 화합물은 다음의 구조를 가진다:

[0032]  $A_E^{Me} C_E A_E^{Me} C_E^{Me} C_E A_E T_E T G U_S C_S A C_S A C_S T C_S C_S$ (서열 번호 4);

[0033]  $C_S C A_S T T G U_S C_S A C_S A C_S T C_S C_S A$ (서열 번호 3);

[0034]  $\text{Me}_{\text{C}_\text{S}} \text{CAT}_{\text{S}} \text{TGT}_{\text{S}} \text{Me}_{\text{C}_\text{S}} \text{A} \text{Me}_{\text{C}_\text{S}} \text{A} \text{Me}_{\text{C}_\text{S}} \text{T} \text{Me}_{\text{C}_\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{A}_{\text{E}}$ (서열 번호 3);

[0035]  $\text{A}_{\text{E}} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{CA}_{\text{S}} \text{TTGU}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}}$ (서열 번호 4);

[0036]  $\text{A}_{\text{E}} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{C}_\text{E} \text{A} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{TTGU}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}}$ (서열 번호 4);

[0037]  $\text{A}_{\text{E}} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{C}_\text{E} \text{A}_{\text{E}} \text{TTGU}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}}$ (서열 번호 4);

[0038]  $\text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{C}_\text{S} \text{CA}_{\text{S}} \text{TTGU}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}}$ (서열 번호 5);

[0039]  $\text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{C}_\text{S} \text{CA}_{\text{S}} \text{TTGU}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}} \text{T}_{\text{E}}$ (서열 번호 6);

[0040]  $\text{C}_\text{S} \text{CAU}_{\text{S}} \text{TGU}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}} \text{A}$ (서열 번호 3); 또는

[0041]  $\text{Me}_{\text{C}_\text{E}} \text{C}_\text{S} \text{AU}_{\text{S}} \text{TGU}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}} \text{A}_{\text{E}}$ (서열 번호 3);

[0042] 여기서, 첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타내고; 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고; 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.

[0043] 일부 구현예에서, 화합물은 다음의 구조를 가진다:

[0044]  $\text{U}_{\text{S}} \text{TGU}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}} \text{A}_{\text{S}}$ ; 또는

[0045]  $\text{C}_\text{S} \text{A}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{A}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{U}_{\text{S}} \text{C}_\text{S} \text{C}_{\text{S}}$

[0046] 여기서, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다. 이러한 일부 구현예에서, 화합물은 화합물 38591, 38633, 38998, 또는 38634이다.

[0047] 본원에 제공된 임의의 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단 또는 3' 말단에 결합된 접합체 모이어티를 포함할 수 있다. 일정한 구현예에서, 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합된 접합체 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 결합된 접합체 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합된 제1 접합체 모이어티 및 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 결합된 제2 접합체 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 접합체 모이어티는 탄수화물, 콜레스테롤, 지질, 인지질, 항체, 지단백질, 호르몬, 펩티드, 비타민, 스테로이드, 및 양이온성 지질부터 선택된 적어도 하나의 리간드를 포함한다.

[0048] 일정한 구현예에서, 화합물은 구조  $\text{L}_n\text{-링커-X-MO}$ 를 가지되, 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고 n은 1 내지 10이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

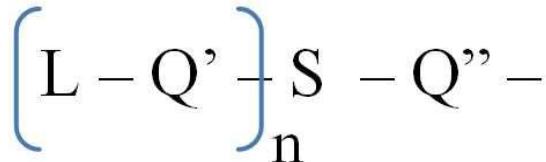
[0049] 일정한 구현예에서, 화합물은 구조  $\text{L}_n\text{-링커-X-MO}$ 를 가지되, 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고 n은 1 내지 10이고; X는 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0050] 일정한 구현예에서, 화합물은 구조  $\text{L}_n\text{-링커-X}_1\text{-N}_m\text{-X}_2\text{-MO}$ 를 가지되, 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고, n은 1 내지 10이고; 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고, m은 1 내지 5이고;  $\text{X}_1$  및  $\text{X}_2$  각각은, 독립적으로, 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0051] 일정한 구현예에서, 화합물은 구조  $\text{L}_n\text{-링커-X-N}_m\text{-Y-MO}$ 를 가지되, 여기서 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고, n은 1 내지 10이고; 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고 m은 1 내지 5이고; X는 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0052] 일정한 구현예에서, 화합물은 구조  $L_n$ -링커-Y- $N_m$ -Y-MO를 가지되, 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고, n은 1 내지 10이고; 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고 m은 1 내지 5이고; 각각의 Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO은 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0053] 일정한 구현예에서, n이 1을 초과하는 경우,  $L_n$ -링커는 다음의 구조를 가진다:



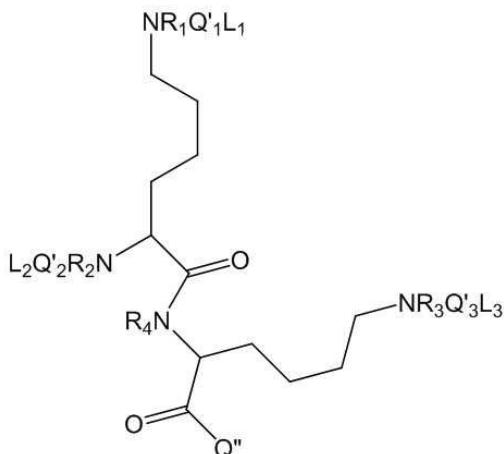
[0054]

[0055] 여기서, 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고; n은 1 내지 10이고; S는 스캐폴드이고; Q' 및 Q''은, 독립적으로, 연결기이다.

[0056] 일정한 구현예에서, Q' 및 Q''은, 각각, 독립적으로 웨터드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1$ - $C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1$ - $C_{20}$  알킬,  $C_2$ - $C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2$ - $C_{20}$  알케닐,  $C_2$ - $C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2$ - $C_{20}$  알키닐,  $C_1$ - $C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1$ - $C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 선택된다.

[0057] 일정한 구현예에서, 스캐폴드는 2, 3, 4, 또는 5개의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드에 결합시킨다. 일정한 구현예에서, 스캐폴드는 3개의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드에 연결한다.

[0058] 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(i)이다:



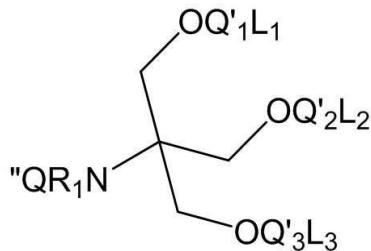
[0059]

[0060] 여기서,  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 은, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, 독립적으로, H,  $C_1$ - $C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1$ - $C_6$  알킬로부터 선택된다.

[0061] 일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은 각각, 독립적으로, 웨터드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1$ - $C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1$ - $C_{20}$  알킬,  $C_2$ - $C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2$ - $C_{20}$  알케닐,  $C_2$ - $C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2$ - $C_{20}$  알키닐,  $C_1$ - $C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1$ - $C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, 독립적으로, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다.

[0062]

추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(ii)이다:



[0063]

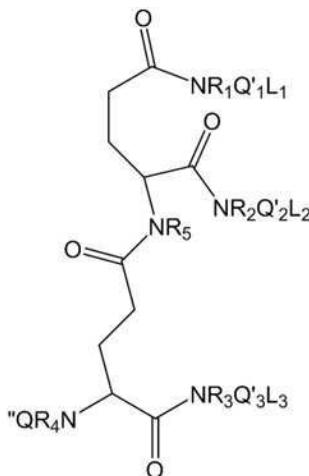
여기서,  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 는, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ 은  $H$ ,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 선택된다.

[0065]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ 은  $H$ , 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ 은  $H$  또는 메틸이다.

[0066]

추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(iii)이다:



[0067]

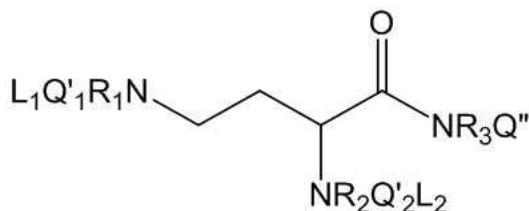
여기서,  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 은, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ , 및  $R_5$ 는 각각, 독립적으로,  $H$ ,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 선택된다.

[0069]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ , 및  $R_5$ 는, 각각, 독립적으로,  $H$ , 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ , 및  $R_5$ 는, 각각  $H$  및 메틸로부터 선택된다.

[0070]

추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(iv)이다:



[0071]

[0072]

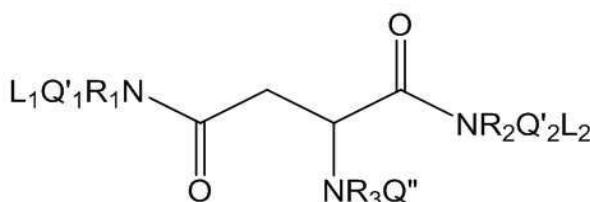
여기서,  $\text{L}_1$  및  $\text{L}_2$ 는, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $\text{Q}'_1$ ,  $\text{Q}'_2$ , 및  $\text{Q}''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ , 및  $\text{R}_3$ 은, 각각, 독립적으로, H,  $\text{C}_1\text{-C}_6$  알킬, 및 치환된  $\text{C}_1\text{-C}_6$  알킬로부터 선택된다.

[0073]

일부 구현예에서,  $\text{Q}'_1$ ,  $\text{Q}'_2$ , 및  $\text{Q}''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  알킬, 치환된  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  알킬,  $\text{C}_2\text{-C}_{20}$  알케닐, 치환된  $\text{C}_2\text{-C}_{20}$  알케닐,  $\text{C}_2\text{-C}_{20}$  알키닐, 치환된  $\text{C}_2\text{-C}_{20}$  알키닐,  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  알콕시, 치환된  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ , 및  $\text{R}_3$ 은, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ , 및  $\text{R}_3$ 은, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다.

[0074]

추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(v)이다:



[0075]

[0076]

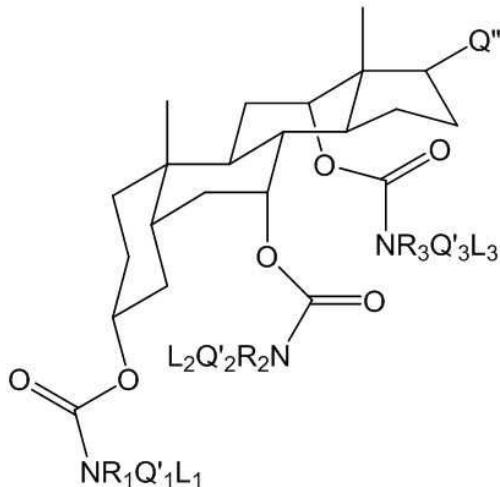
여기서,  $\text{L}_1$  및  $\text{L}_2$ 는, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $\text{Q}'_1$ ,  $\text{Q}'_2$ , 및  $\text{Q}''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ , 및  $\text{R}_3$ 은, 각각, H,  $\text{C}_1\text{-C}_6$  알킬, 및 치환된  $\text{C}_1\text{-C}_6$  알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0077]

일부 구현예에서,  $\text{Q}'_1$ ,  $\text{Q}'_2$ , 및  $\text{Q}''$ 은, 각각, 독립적으로, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  알킬, 치환된  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  알킬,  $\text{C}_2\text{-C}_{20}$  알케닐, 치환된  $\text{C}_2\text{-C}_{20}$  알케닐,  $\text{C}_2\text{-C}_{20}$  알키닐, 치환된  $\text{C}_2\text{-C}_{20}$  알키닐,  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  알콕시, 치환된  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 선택된다. 일부 구현예에서,  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ , 및  $\text{R}_3$ 은, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ , 및  $\text{R}_3$ 은, 각각 H 및 메틸로부터 선택된다.

[0078]

추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(vi)이다:



[0079]

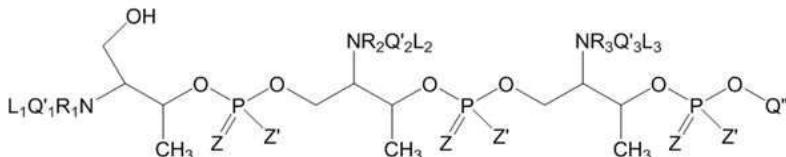
여기서,  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 은, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각, 독립적으로,  $H$ ,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 선택된다.

[0080]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각,  $H$ , 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각,  $H$  및 메틸로부터 선택된다.

[0082]

추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(vii)이다:



[0083]

여기서,  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 은, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각,  $H$ ,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 독립적으로 선택되고;  $Z$  및  $Z'$ 는, 각각, O 및 S로부터 독립적으로 선택된다.

[0084]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는, 각각,  $H$ , 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각,  $H$  및 메틸로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 P 원자 상의 Z 또는  $Z'$ 는 S이고, 다른 Z 또는  $Z'$ 는 O(즉, 포스포로티오에이트 결합)이다. 일부 구현예에서, 각각의  $-OP(Z)(Z')O-$ 는 포스포로티오에이트 결합이다. 일부 구현예에서, Z 및  $Z'$  둘 다는 적어도 하나의 P 원자 상의 O(즉, 포스포디에스테르 결합)이다. 일부 구현예에서, 각각의  $-OP(Z)(Z')O-$ 는 포스포디에스테르 결합이다.

[0086] 추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(viii)이다:



[0087]

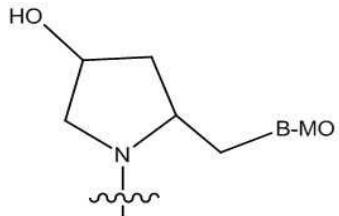
[0088] 여기서,  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 은, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, H,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0089]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다.

[0090]

비제한적인 예시적인 스캐폴드 및/또는 스캐폴드를 포함하는 링커, 및 이의 합성이, 예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2013/033230, 미국 특허 번호 8,106,022 B2, 미국 공개 번호 2012/0157509 A1; 미국 특허 번호 5,994,517; 미국 특허 번호 7,491,805 B2; 미국 특허 번호 8,313,772 B2; Manoharan, M., Chapter 16, Antisense Drug Technology, Crooke, S.T., Marcel Dekker, Inc., 2001, 391-469에 기술되어 있다.



[0091]

[0092] 일정한 구현예에서, 화합물은 다음의 구조를 가진다:

[0093]

여기서:

[0094]

B는  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-N(R^N)-$ ,  $-Z-P(Z')(Z'')O-$ ,  $-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X-$ , 및  $-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-$ 로부터 선택되고;

[0095]

MO는 변형 올리고뉴클레오티드이고;

[0096]

$R^N$ 은 H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 및 벤질로부터 선택되고;

[0097]

$Z$ ,  $Z'$ , 및  $Z''$ 은, 각각, O 및 S로부터 독립적으로 선택되고;

[0098]

각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고;

[0099]

$m$ 은 1 내지 5이고;

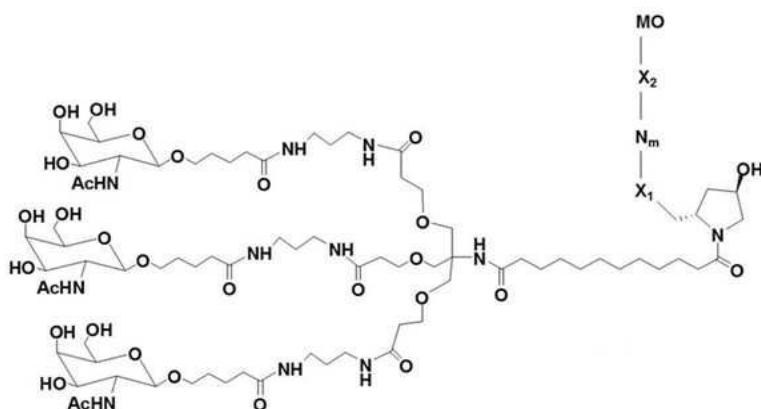
[0100]

X는 포스포디에스테르 결합 및 포스포로티오에이트 결합으로부터 선택되고;

[0101]

Y는 포스포디에스테르 결합이고;

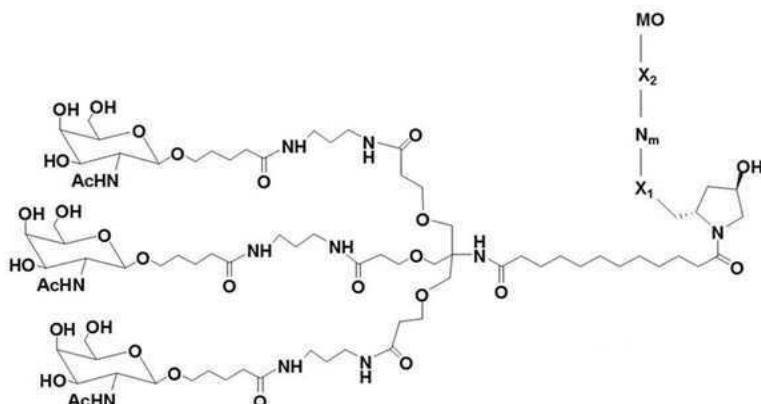
- [0102] 물결 선은 나머지 링커 및 리간드(들)에 대한 연결을 나타낸다.
- [0103] 일정한 구현예에서, X는 포스포디에스테르 결합이다.
- [0104] 일정한 구현예에서, n은 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 일정한 구현예에서, n은 3이다.
- [0105] 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 리간드는 탄수화물이다.
- [0106] 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 리간드는 만노스, 글루코스, 갈락토스, 리보스, 아라비노스, 프룩토스, 푸코스, 자일로스, D-만노스, L-만노스, D-갈락토스, L-갈락토스, D-글루코스, L-글루코스, D-리보스, L-리보스, D-아라비노스, L-아라비노스, D-프룩토스, L-프룩토스, D-푸코스, L-푸코스, D-자일로스, L-자일로스, 알파-D-만노펩라노스, 베타-D-만노펩라노스, 알파-D-만노펩라노스, 베타-D-만노펩라노스, 알파-D-글루코펩라노스, 베타-D-글루코펩라노스, 알파-D-갈락토펩라노스, 베타-D-갈락토펩라노스, 알파-D-갈락토펩라노스, 베타-D-갈락토펩라노스, 알파-D-리보펩라노스, 베타-D-리보펩라노스, 알파-D-리보펩라노스, 글루코사민, 갈락토사민, 시알산, N-아세틸갈락토사민으로부터 선택된다.
- [0107] 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 리간드는 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스, 갈락토사민, N-포밀갈락토사민, N-프로피오닐-갈락토사민, N-n-부타노일갈락토사민, 및 N-이소-부타노일-갈락토사민으로부터 선택된다.
- [0108] 일정한 구현예에서, 각각의 리간드는 N-아세틸갈락토사민이다.
- [0109] 일정한 구현예에서, 화합물은 다음의 구조를 가진다:
- [0110] [식 I]



- [0111] 여기서, 각각의 N은 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고, m은 1 내지 5이고; X<sub>1</sub> 및 X<sub>2</sub>는, 각각, 독립적으로, 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.
- [0112] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 변형 뉴클레오티드 및 접합체 모이어티를 포함하되, 변형 올리고뉴클레오티드는 구조 C<sub>L</sub>CA<sub>L</sub>TTG<sub>L</sub>T<sub>L</sub>CAC<sub>L</sub>AC<sub>L</sub>TC<sub>L</sub>C<sub>L</sub>(서열 번호 7)을 가지되, 첨자 "L"은 LNA를 나타내고, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이되, 접합체 모이어티는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합되고 다음의 구조를 가진다:

[0114]

[식 I]



[0115]

[0116]

여기서, 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고,  $m$ 은 1 내지 5이고;  $X_1$  및  $X_2$ 는, 각각, 독립적으로, 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0117]

일정한 구현예에서,  $X_1$  및  $X_2$  중 적어도 하나는 포스포디에스테르 결합이다. 일정한 구현예에서,  $X_1$  및  $X_2$  각각은 포스포디에스테르 결합이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 1이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0118]

일정한 구현예에서,  $N_m$ 은  $N'pN''$ 으로서, 각각의  $N'$ 은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고,  $p$ 는 0 내지 4이고;  $N''$ 은 미변형 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서,  $p$ 는 0이다. 일정한 구현예에서,  $p$ 는 1, 2, 3, 또는 4이다.

[0119]

일정한 구현예에서, 각각의  $N'$ 은 미변형 당 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 각각의 미변형 당 모이어티는, 독립적으로,  $\beta$ -D-리보스 또는  $\beta$ -D-데옥시리보스이다. 일정한 구현예에서,  $N''$ 은 퓨린 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서,  $N''$ 은 피리미딘 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 적어도 하나의  $N'$ 은 퓨린 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 각각의 퓨린 핵염기는 아데닌, 구아닌, 하이포잔틴, 잔틴, 및 7-메틸구아닌으로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서,  $N''$ 은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신 또는  $\beta$ -D-데옥시리보구아노신이다. 일정한 구현예에서, 적어도 하나의  $N'$ 은 피리미딘 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 각각의 피리미딘 핵염기는 시토신, 5-메틸시토신, 티민, 우라실, 및 5,6-디하이드로우라실로부터 독립적으로 선택된다.

[0120]

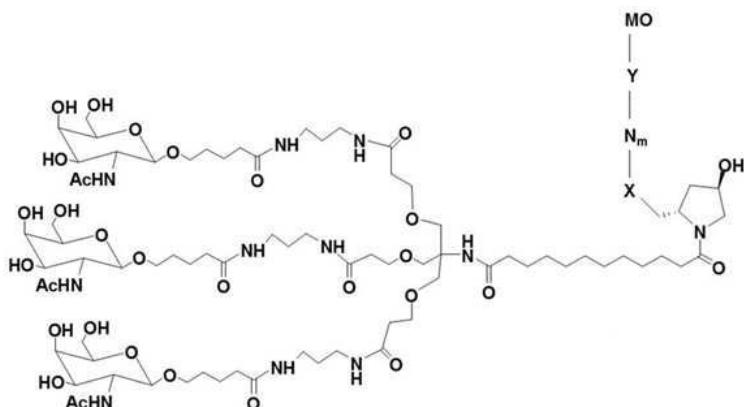
본원에 기술된 임의의 구현예에서, 각각의 N의 당 모이어티는  $\beta$ -D-리보스,  $\beta$ -D-데옥시리보스, 2'-0-메톡시당, 2'-0-메틸당, 2'-플루오로당, 및 이환식 당 모이어티로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, 각각의 이환식 당 모이어티는 cEt 당 모이어티, LNA 당 모이어티, 및 ENA 당 모이어티로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, cEt 당 모이어티는 S-cEt 당 모이어티이다. 일정한 구현예에서, cEt 당 모이어티는 R-cEt 당 모이어티이다. 본원에 기술된 임의의 구현예에서, 각각의 N의 당 모이어티는  $\beta$ -D-리보스,  $\beta$ -D-데옥시리보스, 및 2'-플루오로당으로부터 독립적으로 선택될 수 있다.

[0121]

변형 뉴클레오티드 및 접합체 모이어티를 포함하는 화합물이 본원에 제공되며, 변형 올리고뉴클레오티드는 구조  $A_E^{Me}C_EA_E^{Me}C_E^{Me}C_EA_ET_ETGUC_SAC_SAC_STC_S$  (서열 번호 4)를 가지되, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이고; 접합체 모이어티는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합되고 다음의 구조를 가진다:

[0122]

[식 II]



[0123]

[0124]

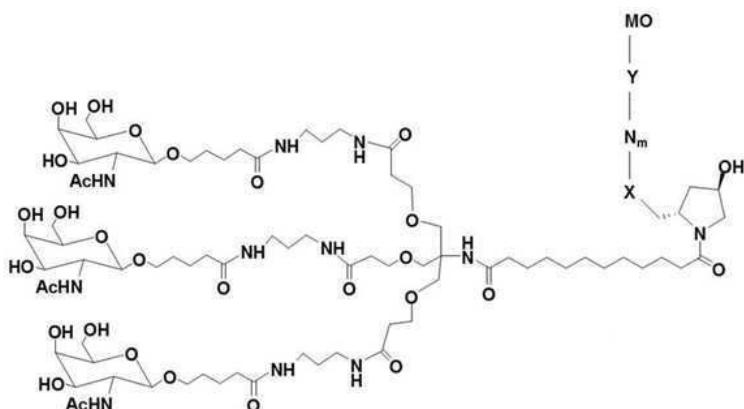
여기서, X는 포스포디에스테르 결합이고; m은 1이고; N은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0125]

변형 뉴클레오티드 및 접합체 모이어티를 포함하는 화합물이 본원에 제공되며, 변형 올리고뉴클레오티드는 구조  $C_LCA_LTTG_LT_LCAC_LAC_LTC_LC_L$  (서열 번호 7)을 가지고, 첨자 "L"은 LNA를 나타내고, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이고, 접합체 모이어티는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합되고, 다음의 구조를 가진다:

[0126]

[식 II]



[0127]

[0128]

여기서, X는 포스포디에스테르 결합이고; m은 1이고; N은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서,  $C_L$  뉴클레오시드 모두는  $^{Me}C_L$  뉴클레오시드이되, 첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타낸다.

[0129]

세포를 본원에 제공된 임의의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하는 세포 내 miR-122 활성을 저해하는 방법이 본원에 제공된다. 일정한 구현예에서, 세포는 생체 내 세포이다. 일정한 구현예에서, 세포는 시험관 내에 존재한다.

[0130]

HCV에 감염된 대상체에 본원에 제공된 임의의 화합물을 투여하는 방법이 제공된다. 일정한 구현예에서, 투여는 HCV 감염의 증상을 감소시킨다. 일정한 구현예에서, 투여는 혈청 내 HCV RNA 반등을 예방한다. 일정한 구현예에서, 투여는 혈청 내 HCV RNA 반등을 지체시킨다. 일정한 구현예에서, HCV 감염을 가지는 대상체가 본원에 제공된 화합물로의 치료를 위해 선택된다. 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 유전형 1, 유전형 2, 유전형 3, 유전형 4, 유전형 5, 및 유전형 6으로부터 선택된 하나 이상의 HCV 유전형으로 감염된다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물의 투여에 앞서, 대상체는 유전형 1, 유전형 2, 유전형 3, 유전형 4, 유전형 5, 및 유전형 6으로부터 선택된 하나 이상의 HCV 유전형으로 감염될 것으로 결정되었다. 일정한 구현예에서, HCV 유전형은 유전형 1a, 유전형 1b, 유전형 2a, 유전형 2b, 유전형 2c, 유전형 2d, 유전형 3a, 유전형 3b, 유전형 3c, 유전형 3d, 유전형 3e, 유전형 3f, 유전형 4a, 유전형 4b, 유전형 4c, 유전형 4d, 유전형 4e, 유전형

4f, 유전형 4g, 유전형 4h, 유전형 4i, 유전형 4j, 유전형 5a, 및 유전형 6a로부터 선택된다. 일정한 구현예에서, HCV 유전형은 유전형 1a, 1b, 및 2로부터 선택된다.

[0131] 본원에 제공된 임의의 방법은 적어도 하나의 추가적인 치료제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 치료제는 프로테아제 저해제, 폴리머라제 저해제, 보조인자 저해제, RNA 폴리머라제 저해제, 구조 단백질 저해제, 비구조 단백질 저해제, 사이클로필린 저해제, 유입 저해제, TLR7 작용제, 및 인터페론으로부터 선택된다. 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 치료제는 프로테아제 저해제, NS5A 저해제, NS3/4A 저해제, 뉴클레오시드 NS5B 저해제, 뉴클레오티드 NS5B 저해제, 비뉴클레오시드 NS5B 저해제, 사이클로필린 저해제 및 인터페론으로부터 선택된다. 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 치료제는 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 인터페론 알파콘(alfacon)-1, 페그인터페론 알파-2b, 페그인터페론 알파-2a, 인터페론-알파-2b 연장 방출제, 인터페론 람다, 소포스부비르(sofosbuvir), 리바비린(ribavirin), 텔라프라비르(telaprevir), 보세프레비르(boceprevir), 바니프레비르(vaniprevir), 아수나프레비르(asunaprevir), 리토나비르(ritonavir), 세트로부비르(setrobuvir), 다클라타스비르(daclatasvir), 시메프레비르(simeprevir), 알리스포리비르(alisporivir), 메리시타빈(mericitabine), 테고부비르(tegobuvir), 다노프레비르(danoprevir), 소바프레비어(sovalprevir), 및 네세프레비르(neceprevir)로부터 선택된다. 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 치료제는 인터페론, 리바비린, 및 텔라프라비르로부터 선택된다.

[0132] 일정한 구현예에서, 대상체는 적어도 하나의 치료제에 대해 내성인 HCV 변이형에 감염된다. 일정한 구현예에서, 대상체는 직접 작용 항바이러스제에 내성인 HCV 변이형에 감염된다. 일정한 구현예에서, 대상체는 프로테아제 저해제, 폴리머라제 저해제, 보조인자 저해제, RNA 폴리머라제 저해제, 구조 단백질 저해제, 비구조 단백질 저해제, 및 사이클로필린 저해제로부터 선택된 적어도 하나의 치료제에 내성인 HCV 변이형에 감염된다. 일정한 구현예에서, 대상체는 프로테아제 저해제, NS5A 저해제, NS3/4A 저해제, 뉴클레오시드 NS5B 저해제, 뉴클레오티드 NS5B 저해제, 비뉴클레오시드 NS5B 저해제, 및 사이클로필린 저해제로부터 선택된 적어도 하나의 치료제에 내성인 HCV 변이형에 감염된다. 일정한 구현예에서, 대상체는 소포스부비르, 리바비린, 텔라프라비르, 보세프레비르, 바니프레비르, 아수나프레비르, 리토나비르, 세트로부비르, 다클라타스비르, 시메프레비르, 알리스포리비르, 메리시타빈, 테고부비르, 다노프레비르, 소바프레비어, 및 네세프레비르로부터 선택된 적어도 하나의 치료제에 내성인 HCV 변이형에 감염된다.

[0133] 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 적어도 하나의 치료제에 대한 무반응자이다. 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 인터페론 무반응자이다. 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 직접 작용 항바이러스 무반응자이다.

[0134] 본원에 제공된 임의의 방법은 밀리리터의 혈청 당 350,000 카페를 초과하는 HCV RNA 수준을 가지는 대상체를 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 일정한 구현예에서, 대상체는 밀리리터의 혈청 당 350,000 내지 3,500,000 카페 사이의 HCV RNA 수준을 가진다. 일정한 구현예에서, 대상체는 밀리리터의 혈청 당 3,500,000 카페를 초과하는 HCV RNA 수준을 가진다.

[0135] 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 HCV 관련 질환을 가진다. 일정한 구현예에서, HCV 관련 질환은 간경변, 간 섬유증, 지방간염, 지방증 또는 간세포 암종을 포함한다.

[0136] 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 HCV 관련 질환이 아닌 하나 이상의 질환을 가진다. 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 HCV가 아닌 하나 이상의 바이러스에 감염된다. 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 인간 면역결핍 바이러스(HIV)에 감염된다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 HIV 감염의 치료에 사용되는 항바이러스제인 추가적인 치료제를 투여하는 단계를 포함한다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 비뉴클레오시드 역전사효소 저해제(NNRTI)이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 뉴클레오시드 역전사효소 저해제(NRTI)이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 프로테아제 저해제이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 유입 저해제 또는 융합 저해제이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 인테그라제 저해제이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 에파비렌즈(efavirenz), 에트라비린(etravirine), 네비라핀(nevirapine), 아바카비르(abacavir), 엠트리시타빈(emtricitabine), 테노포비르(tenofovir), 라미부딘(lamivudine), 지도부딘(zidovudine), 아타자나비르(atazanavir), 다루나비르(darunavir), 포삼프레나비르(fosamprenavir), 리토나비르(ritonavir), 엔푸비르티드(enfuvirtide), 마라비록(maraviroc), 및 랄테그라비르(raltegravir)로부터 선택된다.

[0137] 본원에 제공된 임의의 방법은 HCV RNA 수준을 낮추기에 충분한 용량의 화합물을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 일정한 구현예에서, 화합물의 투여 용량은 HCV RNA 수준을 혈청 ml 당 40 카페 미만으로 감소시킨다. 일정

한 구현예에서, 화합물의 투여 용량은 HCV RNA 수준에서 적어도 2-로그 감소를 달성한다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물의 투여는 지속적 바이러스 반응을 달성한다. 일정한 구현예에서, 화합물의 투여 용량은 적어도 0.5배, 적어도 1.0배, 적어도 1.5배, 적어도 2.0배, 또는 적어도 2.5배의 HCV RNA 수준의 감소를 달성하기에 충분하다. 일정한 구현예에서, HCV RNA 수준 감소는 화합물의 제1 투여 2주, 3주, 4주, 5주, 또는 6주 후에 달성된다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 매주 1회, 2주 당 1회, 3주 당 1회, 4주 당 1회, 또는 매월 1회 투여된다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 2개월 당 1회 또는 3개월 당 1회 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 4주 당 1회 투여된다.

[0138] 일정한 구현예에서, 투여된 화합물의 용량은 주당 5 mg/kg 이하, 5 mg/kg 이하, 4.5 mg/kg 이하, 4.0 mg/kg 이하, 3.5 mg/kg 이하, 3.0 mg/kg 이하, 2.5 mg/kg 이하, 2.0 mg/kg 이하, 1.5 mg/kg 이하, 또는 1.0 mg/kg 이하이다. 일정한 구현예에서, 화합물은 1 내지 5 mg/kg, 또는 1 내지 4 mg/kg, 또는 2 내지 5 mg/kg, 또는 2 내지 4 mg/kg의 범위 내 용량으로 투여된다. 일정한 구현예에서, 투여되는 화합물의 용량은 10 mg/kg 이하, 7.5 mg/kg 이하, 주 당 10 mg/kg 이하 또는 주 당 7.5 mg/kg 이하이다.

[0139] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물의 투여는 간 효소 수준을 정상화시키되, 간 효소는 선택적으로 알려진 아미노트랜스퍼라제이다.

[0140] 본원에 제공된 임의의 구현예에서, 화합물은 약학적 조성물 내에 존재한다.

[0141] HCV에 감염된 대상체를 치료하는데 사용하기 위한 화합물이 본원에 제공된다.

[0142] 일정한 구현예에서, 대상체는 인간이다.

### 도면의 간단한 설명

도 1a 및 도 1b. 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드의 생체 내 효능. (a) 지시된 용량으로 화합물의 단일 투여 후 항-miR-122의 작용의 개시 및 지속기간. (b) 지시된 용량으로 항-miR-122 화합물의 단일 투여 7일 후 ALDOA의 탈억제.

도 2. 3개의 GalNAc 리간드를 포함하는 접합체 모이어티의 구조.

도 3a, 도 3b 및 도 3c. 접합된 변형 올리고뉴클레오티드 구조.

도 4a, 도 4b 및 도 4c. GalNAc가 접합된 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드의 생체 내 효능.

도 5a 및 도 5b. miR-122의 안티센스 저해는 HCV 역가를 감소시킨다.

도 6a 및 도 6b. GalNAc가 접합된 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드의 생체 내 효능.

도 7a 및 도 7b. GalNAc가 접합된 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드의 생체 내 효능.

도 8a 및 도 8b. GalNAc가 접합된 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드의 생체 내 효능.

도 9a 및 도 9b. 항-miR-122 화합물의 약동력학.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0144] 다르게 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적이고 과학적인 용어들은 본 발명이 속하는 분야의 당업자가 통상적으로 이해하는 바와 같은 의미를 가진다. 구체적인 정의가 제공되지 않는 한, 본원에 기술된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 의학적 및 약학적 화학의 기술 및 절차 및 이와 관련하여 이용된 명명법은 당해 분야에 잘 알려지고 통상적으로 사용되는 것들이다. 본원의 용어에 대하여 복수의 정의가 존재하는 경우에는 본 섹션에서의 정의가 우세하다. 화학적 합성, 화학적 분석, 약학적 제조, 제형화 및 전달, 및 대상체의 치료를 위해 표준 기술이 사용될 수 있다. 일정한 이러한 기술 및 절차는, 예를 들어 Sangvi 및 Cook에 의해 편집된 문헌(“Carbohydrate Modification in Antisense Research”, American Chemical Society, Washington D.C., 1994); 및 문헌(“Remington's Pharmaceutical Sciences,” Mack Publishing Co., Easton, Pa., 18th edition, 1990)에서 찾을 수 있으며, 이들은 사실상 참조로서 본원에 포함된다. 허용되는 경우, 본원의 개시 전체에 걸쳐 언급된, 모든 특허들, 특히 출원들, 공개된 출원들 및 공보들, GENBANK 서열들, 웹사이트 및 다른 공개된 재료들은, 다르게 언급되지 않는 한, 그 전체가 참조로서 포함된다. URL 또는 다른 이러한 식별자 또는 어드레스를 참조하는 경우, 이러한 식별자가 변할 수 있고, 인터넷 상의 특정한 정보도 변할 수 있지만, 인터넷을 검색함으로써 동등한 정보를 찾을 수 있는 것으로 이해한다. 이에 대한 참조는 이러한 정보의 이용가능성 및 공개적인 보

급의 증거가 된다.

- [0145] 본 조성물 및 방법이 개시되고 기술되기 전, 본원에 사용된 용어는 단지 특정한 구현예를 기술하기 위한 목적이며 이를 제한하고자 하는 의도가 아닌 것으로 이해된다. 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된, 단수 형태 “a,” “an” 및 “the” 는, 문맥 상 명확하게 다르게 구술되지 않는 한, 복수의 지시 대상을 포함한다는 것을 주지하여야 한다.
- [0146] 정의
- [0147] “HCV 감염”은 C형 간염 바이러스의 하나 이상의 유전형으로의 감염을 의미한다.
- [0148] “HCV에 감염된 대상체”는 C형 간염 바이러스의 하나 이상의 유전형에 감염된 대상체를 의미한다. HCV에 감염된 대상체는 HCV 감염의 증상을 나타내거나 나타내지 않을 수 있다. HCV에 감염된 대상체는 하나 이상의 유전형의 HCV에 감염되었지만, 대상체의 혈중 HCV RNA가 검출가능한 수준보다 낮은 대상체를 포함한다.
- [0149] “HCV 관련 질환”은 HCV 감염에 의해 매개되는 병리학적 과정을 의미한다. HCV 관련 질환은, 이에 제한되지는 않으나, 간경변, 간 섬유증, 지방간염 및 간세포 암종을 포함한다.
- [0150] “혈액 HCV RNA”은 HCV에 감염된 대상체의 혈액 내에 존재하는 C형 간염 바이러스 RNA를 의미한다. 혈액은 전혈 및 혈청을 포함한다.
- [0151] “혈청 내 HCV RNA의 반등”은 이전의 HCV RNA 수준의 감소 후 HCV RNA 수준의 증가를 의미한다.
- [0152] “HCV RNA 수준”은 주어진 부피의 대상체의 혈액 내 HCV RNA의 양을 의미한다. HCV RNA 수준은 밀리리터 당 RNA의 카피로 표현될 수 있다. “HCV RNA 수준”은, 또한, “HCV 바이러스 로드” 또는 “HCV RNA 역가”로도 일컬어질 수 있다.
- [0153] “지속적인 바이러스 반응”은 치료의 전체 과정의 종료시 그리고 추가 6개월 후, 검출가능하지 않은 대상체의 혈중 C형 간염 바이러스 RNA를 의미한다. 일정한 구현예에서, HCV RNA는 밀리리터의 혈액 당 40 카피 미만이면 검출가능하지 않은 것으로 여겨진다.
- [0154] “무반응자”는 치료를 받았지만, 질환 마커 또는 증상에서 임상적으로 수용가능한 개선을 경험하지 않은 대상체를 의미한다.
- [0155] “인터페론 무반응자”는 인터페론으로 치료받았지만, HCV RNA 수준에서 임상적으로 수용가능한 감소를 경험하지 않은, HCV에 감염된 대상체를 의미한다.
- [0156] “직접 작용 항바이러스제”는 HCV 효소의 활성을 저해하는 약학적 제제를 의미한다.
- [0157] “직접 작용 항바이러스 무반응자”는 직접 작용 항바이러스제로 치료받았지만, HCV RNA 수준에서 임상적으로 수용가능한 감소를 경험하지 않은, HCV에 감염된 대상체를 의미한다. 일정한 구현예에서, 바이러스는 직접 작용 항바이러스제에 대한 내성을 발달시킨다.
- [0158] “miR-122 관련 병태”는 miR-122를 조절함으로써 치료하거나 예방하거나 개선될 수 있는 임의의 질환, 장애, 또는 병태를 의미한다. miR-122 관련 질환이 과량의 miR-122를 특징으로 해야 할 필요는 없다. miR-122 관련 질환은, 제한 없이, HCV 감염, 상승된 콜레스테롤 및 철분 과부하 장애를 포함한다.
- [0159] “철분 과부하 장애”는 신체 내 과량의 철분을 특징으로 하는 임의의 질환, 장애 또는 병태를 의미한다. “대상체”는 치료 또는 치료요법에 대해 선택된 인간 또는 인간이 아닌 동물을 의미한다.
- [0160] “필요로 하는 대상체”는 치료요법 또는 치료가 필요한 것으로 식별된 대상체를 의미한다.
- [0161] “가진 것으로 의심되는 대상체”는 질환의 하나 이상의 임상적 지표를 나타내는 대상체를 의미한다.
- [0162] “투여”는 대상체에게 약학적 제제 또는 조성물을 제공하는 것을 의미하며, 이에 제한되지는 않으나, 의료 전문가에 의한 투여 및 자가 투여를 포함한다.
- [0163] “비경구 투여”는 주사 또는 주입을 통한 투여를 의미한다. 비경구 투여는, 이에 제한되지는 않으나, 피하 투여, 정맥내 투여, 및 근육내 투여를 포함한다.
- [0164] “피하 투여”는 피부 바로 아래로의 투여를 의미한다.
- [0165] “정맥내 투여”는 정맥으로의 투여를 의미한다.

- [0166] “동시에 투여한다”는, 임의의 방식으로, 2종 이상의 제제의 대상체로의 공동 투여를 지칭하는 것으로, 각 제제의 약리학적 효과가 대상체에서 나타난다. 동시 투여에서 두 제제가 동일한 투여 형태 내 단일한 약학적 조성물로 투여되거나 동일한 경로의 투여에 의해 투여되는 것을 요구하지는 않는다. 두 제제의 효과가 동시에 나타나야 할 필요는 없다. 효과는 단지 일정한 기간동안 중첩되면 되고, 동시에 존재해야 할 필요는 없다.
- [0167] “지속기간”은 활성 또는 사건이 계속되는 기간을 의미한다. 일정한 구현예에서, 치료의 지속기간은 용량의 약학적 제제 또는 약학적 조성물이 투여되는 기간이다.
- [0168] “치료요법”은 질환 치료 방법을 의미한다. 일정한 구현예에서, 치료요법은, 이에 제한되지는 않으나, 화학요법, 방사선 요법, 또는 약학적 제제의 투여를 포함한다.
- [0169] “치료”는 질환의 치유 또는 개선을 위해 사용되는 하나 이상의 구체적인 절차의 적용을 의미한다. 일정한 구현예에서, 구체적인 절차는 하나 이상의 약학적 제제의 투여이다.
- [0170] “개선”은 병태 또는 질환의 적어도 하나의 지표의 중증도의 약화를 의미한다. 일정 구현예에서, 개선은 병태 또는 질환의 하나 이상의 지표의 진행의 지체 또는 지연을 포함한다. 지표의 중증도는 당업자에게 알려진 주관적이거나 객관적인 척도에 의해 결정될 수 있다.
- [0171] “발달될 위험”은 대상체가 병태 또는 질환이 발달될 성향이 있는 상황을 의미한다. 일정한 구현예에서, 병태 또는 질환이 발달될 위험이 있는 대상체는 병태 또는 질환의 하나 이상의 증상을 나타내지만, 병태 또는 질환을 가진 것으로 진단하기에 충분한 수의 증상을 나타내지는 않는다. 일정한 구현예에서, 병태 또는 질환이 발달될 위험이 있는 대상체는 병태 또는 질환의 하나 이상의 증상을 나타내지만, 병태 또는 질환을 가진 것으로 진단하기 위해 요구되는 것보다는 적은 정도이다.
- [0172] “발병의 예방”은 병태 또는 질환이 발달될 위험이 있는 대상체에서 병태 또는 질환의 발달을 예방하는 것을 의미한다. 일정한 구현예에서, 병태 또는 질환이 발달될 위험이 있는 대상체는 이미 질환 또는 병태를 가지고 있는 대상체가 받는 치료와 유사한 치료를 받는다.
- [0173] “발병의 지연”은 병태 또는 질환이 발달될 위험이 있는 대상체에서 병태 또는 질환의 발달을 지연시키는 것을 의미한다. 일정한 구현예에서, 병태 또는 질환이 발달될 위험이 있는 대상체는 이미 질환 또는 병태를 가지고 있는 대상체가 받는 치료와 유사한 치료를 받는다.
- [0174] “치료제”는 질환의 치유, 개선 또는 예방을 위해 사용되는 약학적 제제를 의미한다.
- [0175] “용량”은 단일 투여에 제공되는 약학적 제제의 명시된 양을 의미한다. 일정한 구현예에서, 용량은 2개 이상의 볼루스, 정제 또는 주사제로 투여될 수 있다. 예를 들어, 일정한 구현예에서, 피하 투여가 바람직한 경우에, 원하는 용량은 단일 주사에 의해 쉽게 수용되지 않는 부피를 필요로 한다. 이러한 구현예에서, 원하는 용량을 달성하기 위해 2회 이상의 주사가 사용될 수 있다. 일정한 구현예에서, 개체 내 주사 부위 반응을 최소화하기 위해 용량이 2회 이상의 주사로 투여될 수 있다. 일정한 구현예에서, 용량은 느린 주입으로 투여된다.
- [0176] “투여량 단위”는 약학적 제제가 제공되는 형태를 의미한다. 일정한 구현예에서, 투여량 단위는 동결건조된 올리고뉴클레오티드를 함유하는 바이알이다. 일정한 구현예에서, 투여량 단위는 재구성된 올리고뉴클레오티드를 함유하는 바이알이다.
- [0177] “치료적 유효량”은 동물에게 치료적 혜택을 제공하는 약학적 제제의 양을 의미한다.
- [0178] “약학적 조성물”은 개체에 투여하기에 적합한 물질들의 혼합물을 의미하는 것으로 약학적 제제를 포함한다. 예를 들어, 약학적 조성물은 멸균 수용액을 포함할 수 있다.
- [0179] “약학적 제제”는 대상체에 투여될 때 치료 효과를 제공하는 물질을 의미한다.
- [0180] “활성 약학적 성분”은 원하는 효과를 제공하는 약학적 조성물 내 물질을 의미한다.
- [0181] “개선된 기관 기능”은 정상 허용치를 향한 기관 기능에서의 변화를 의미한다. 일정한 구현예에서, 기관 기능은 대상체의 혈액 또는 소변에서 발견되는 분자를 측정함으로써 평가된다. 예를 들어, 일정한 구현예에서, 개선된 간 기능은 혈중 간 트랜스아미나제 수준의 감소로 측정된다. 일정한 구현예에서, 개선된 신장 기능은 혈중 요소 질소의 감소, 단백뇨의 감소, 알부민뇨의 감소 등으로 측정된다.
- [0182] “허용가능한 안전성 프로파일”은 임상적으로 허용가능한 한계치 내인 부작용의 패턴을 의미한다.



- [0205] “완전히 상보적”은 올리고뉴클레오티드의 각각의 핵염기가 표적 핵산 내 각각의 상응하는 위치의 핵염기와 쌍을 이룰 수 있다는 것을 의미한다. 일정한 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 마이크로RNA에 완전히 상보적인데, 즉, 올리고뉴클레오티드의 각각의 핵염기가 마이크로RNA 내 상응하는 위치의 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 각각의 핵염기가 마이크로RNA 서열의 하나의 영역 내 핵염기와 상보성을 가지는 경우, 올리고뉴클레오티드는 마이크로RNA 서열에 완전히 상보적이다.
- [0206] “상보성 백분율”은 표적 핵산의 동일한 길이 부분에 상보적인 올리고뉴클레오티드의 핵염기의 백분율을 의미한다. 상보성 백분율은 표적 핵산 내 상응하는 위치의 핵염기에 상보적인, 올리고뉴클레오티드의 핵염기의 수를 이러한 올리고뉴클레오티드 내 전체 핵염기의 수로 나누어서 계산한다.
- [0207] “동일성 백분율”은, 제1 핵산 내 총 핵염기의 수로 나눈, 제2 핵산 내 상응하는 위치의 핵염기에 동일한 제1 핵산 내 핵염기의 수를 의미한다. 일정한 구현예에서, 제1 핵산이 마이크로RNA이고, 제2 핵산은 마이크로RNA이다. 일정한 구현예에서, 제1 핵산은 올리고뉴클레오티드이고, 제2 핵산은 올리고뉴클레오티드이다.
- [0208] “흔성화하다”는 핵염기 상보성을 통해 일어나는 상보적인 핵산들의 어닐링을 의미한다.
- [0209] “미스매치”는 제2 핵산의 상응하는 위치의 핵염기와 앗순-크릭 쌍을 이룰 수 없는 제1 핵산의 핵염기를 의미한다.
- [0210] 핵염기 서열의 맥락에서 “동일한”은, 당, 결합 및/또는 핵염기 변형과 관계 없이, 그리고 존재하는 임의의 피리미딘의 메틸 상태와 관계 없이 동일한 핵염기 서열을 가지는 것을 의미한다.
- [0211] “마이크로RNA”는 길이가 18 내지 25개 핵염기 사이인 내인성 비암호화 RNA를 의미하는 것으로, 다이서 효소에 의한 전구-마이크로RNA의 절단 생성물이다. 성숙 마이크로RNA의 예는 miRBase(<http://microrna.sanger.ac.uk/>)로 알려진 마이크로RNA 데이터베이스에 밝혀져 있다. 일정한 구현예에서, 마이크로RNA는 “마이크로RNA” 또는 “miR”로 축약된다.
- [0212] “전구-마이크로RNA” 또는 “전구-miR”은 Drosha로 알려진 이중 가닥 RNA-특이적 리보뉴클레아제에 의한 프리-miR의 절단 생성물인, 헤어핀 구조를 가지는 비암호화 RNA를 의미한다.
- [0213] “스텝-루프 서열”은 헤어핀 구조를 가지고 성숙 마이크로RNA 서열을 함유하는 RNA를 의미한다. 전구-마이크로RNA 서열 및 스텝-루프 서열은 중첩될 수 있다. 스텝-루프 서열의 예는 miRBase(<http://microrna.sanger.ac.uk/>)로 알려진 마이크로RNA 데이터베이스에 밝혀져 있다.
- [0214] “프리(pr i)-마이크로RNA” 또는 “프리-miR”은 이중 가닥 RNA-특이적 리보뉴클레아제인 Drosha의 기질인, 헤어핀 구조를 가지는 비암호화 RNA를 의미한다.
- [0215] “마이크로RNA 전구체”는 게놈 DNA로부터 기원한 전사체로서 하나 이상의 마이크로RNA 서열을 포함하는 구조화된 비암호화 RNA를 포함하는 전사체를 의미한다. 예를 들어, 일정한 구현예에서, 마이크로RNA 전구체는 전구-마이크로RNA이다. 일정한 구현예에서, 마이크로RNA 전구체는 프리-마이크로RNA이다.
- [0216] “마이크로RNA로 조절되는 전사체”는 마이크로RNA에 의해 조절되는 전사체를 의미한다.
- [0217] “단일시스템론 전사체”는 단일한 마이크로RNA 서열을 함유하는 마이크로RNA 전구체를 의미한다.
- [0218] “다중시스템론 전사체”는 2종 이상의 마이크로RNA 서열을 함유하는 마이크로RNA 전구체를 의미한다.
- [0219] “시드 서열”은 성숙 마이크로RNA 서열의 5' -말단의 핵염기 1 내지 9 중 6 내지 8개의 연속적인 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 의미한다.
- [0220] “시드 매치 서열”은 시드 서열에 상보적이고, 시드 서열과 동일한 길이인 핵염기 서열을 의미한다.
- [0221] “올리고머 화합물”은 복수의 결합된 단량체 서브유닛을 포함하는 화합물을 의미한다. 올리고머 화합물을 올리고뉴클레오티드를 포함하였다.
- [0222] “올리고뉴클레오티드”는 복수의 결합된 뉴클레오시드(각각, 서로 독립적으로 변형되거나 변형되지 않을 수 있음)를 포함하는 화합물을 의미한다.
- [0223] “자연적으로 발생하는 뉴클레오시드 간 결합”은 뉴클레오시드들 사이의 3'-5' 포스포디에스테르 결합을 의미한다.

- [0224] “천연 당”은 DNA(2' -H) 또는 RNA(2' -OH)에서 발견되는 당을 의미한다.
- [0225] “뉴클레오시드 간 결합”은 인접한 뉴클레오시드들 사이의 공유 결합을 의미한다.
- [0226] “결합된 뉴클레오시드”는 공유 결합에 의해 연결된 뉴클레오시드들을 의미한다.
- [0227] “핵염기”는 다른 핵염기와 비공유결합적으로 쌍을 이룰 수 있는 헤테로환 모이어티를 의미한다.
- [0228] “뉴클레오시드”는 당 모이어티에 결합된 핵염기를 의미한다.
- [0229] “뉴클레오티드”는 뉴클레오시드의 당 부위에 공유 결합된 인산기를 가지는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0230] 다수의 결합된 뉴클레오시드로 “이루어진 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물”은 명시된 수의 결합된 뉴클레오시드를 가지는 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물을 의미한다. 따라서, 화합물은 추가적인 치환체 또는 접합체를 포함할 수 있다. 다르게 지시되지 않는 한, 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 것이 이상의 임의의 추가적인 뉴클레오시드를 포함하지 않는다.
- [0231] “변형 올리고뉴클레오티드”는 자연적으로 발생하는 말단, 당, 핵염기, 및/또는 뉴클레오시드 간 결합에 대해 하나 이상의 변형을 가지는 올리고뉴클레오티드를 의미한다. 변형 올리고뉴클레오티드는 미변형 뉴클레오시드를 포함할 수 있다.
- [0232] “단일 가닥 변형 올리고뉴클레오티드”는 상보적인 가닥에 혼성화될 수 없는 변형 올리고뉴클레오티드를 의미한다.
- [0233] “변형 뉴클레오시드”는 자연적으로 발생하는 뉴클레오시드로부터 임의의 변화를 가지는 뉴클레오시드를 의미한다. 변형 뉴클레오시드는 변형 당 및 미변형 핵염기를 가질 수 있다. 변형 뉴클레오시드는 변형 당 및 변형 핵염기를 가질 수 있다. 변형 뉴클레오시드는 천연 당 및 변형 핵염기를 가질 수 있다. 일정한 구현예에서, 변형 뉴클레오시드는 이환식 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 변형 뉴클레오시드는 비이환식 뉴클레오시드이다.
- [0234] “2' -변형 뉴클레오시드”는 퓨라노실 고리의 2' 위치와 동일한 위치(위치는 2-데옥시리보스 또는 리보스 내에서 번호부여됨)에 임의의 변형을 가지는 당을 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 2' -변형 뉴클레오시드는, 제한 없이, 이환식 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0235] “변형 뉴클레오시드 간 결합”은 자연적으로 발생하는 뉴클레오시드 간 결합으로부터의 임의의 변화를 의미한다.
- [0236] “포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합”은 비가교 원자 중 하나가 황 원자인 뉴클레오시드들 사이의 결합을 의미한다. “포스포로티오에이트 결합”은 동일한 구조를 가지는 2개의 화학적 모이어티 사이의 결합인 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합을 의미하며, 예를 들어 -OP(0)(S)O-이다.
- [0237] “포스포디에스테르 결합”은 동일한 구조를 가지는 2개의 화학적 모이어티 사이의 결합인 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합을 의미하는데, 예를 들어 -OP(0)<sub>2</sub>O-이다.
- [0238] “미변형 핵염기”는 RNA 또는 DNA의 자연적으로 발생하는 헤테로환 염기를 의미한다: 퓨린 염기 아데닌(A) 및 구아닌(G), 페리미딘 염기 티민(T), 시토신(C)(5-메틸시토신을 포함함), 및 우라실(U).
- [0239] “5-메틸시토신”은 5번 위치에 부착된 메틸기를 포함하는 시토신을 의미한다.
- [0240] “비메틸화 시토신”은 5번 위치에 부착된 메틸기를 가지지 않는 시토신을 의미한다.
- [0241] “변형 핵염기”는 미변형 핵염기가 아닌 임의의 핵염기를 의미한다.
- [0242] “퓨라노실”은 4개의 탄소 원자 및 1개의 산소 원자로 이루어진 5-원 고리를 포함하는 구조를 의미한다.
- [0243] “자연적으로 발생하는 퓨라노실”은 자연적으로 발생하는 RNA에서 발견되는 리보퓨라노실 또는 자연적으로 발생하는 DNA에서 발견되는 데옥시리보퓨라노실을 의미한다.
- [0244] “당 모이어티”는 자연적으로 발생하는 퓨라노실 또는 변형 당 모이어티를 의미한다.
- [0245] “변형 당 모이어티”는 치환된 당 모이어티 또는 당 대용체(surrogate)를 의미한다.
- [0246] “치환된 당 모이어티”는 자연적으로 발생하는 퓨라노실이 아닌 퓨라노실을 의미한다. 치환된 당 모이어티는,

이에 제한되지는 않으나, 자연적으로 발생하는 퓨라노실의 2'-위치, 5' -위치 및/또는 4' -위치에 변형을 포함하는 당 모이어티를 포함한다. 일정한 치환된 당 모이어티는 이환식 당 모이어티이다.

[0247] “당 대용체”는 퓨라노실을 포함하지 않고, 자연적으로 발생하는 뉴클레오시드의 퓨라노실을 대체할 수 있는 구조를 의미하는 것으로서, 이에 따른 뉴클레오시드는 (1) 울리고뉴클레오티드 내로 통합될 수 있고 (2) 상보적인 뉴클레오시드와 혼성화될 수 있다. 이러한 구조는 퓨라노실에 대한 상대적으로 단순한 변화, 예를 들어 상이한 수의 원자를 포함하는 고리(예컨대, 4, 6, 또는 7-원 고리); 퓨라노실의 산소의 비산소 원자(예컨대, 탄소, 황, 또는 질소)로의 대체; 또는 원자의 수의 변화 및 산소의 대체 둘 다를 포함한다. 이러한 구조는 또한 치환된 당 모이어티에 대해 기술된 바와 같은 치환(예컨대, 선택적으로 추가적인 치환기를 포함하는 6-원 탄소환 이환식 당 대용체)에 상응하는 치환을 포함할 수 있다. 당 대용체는, 또한, 더욱 복잡한 당 대체물(예컨대, 비고리계의 펩티드 핵산)을 포함한다. 당 대용체는, 제한 없이, 모폴리노, 사이클로헥세닐 및 사이클로헥시톨을 포함한다.

[0248] “ $\beta$ -D-데옥시리보스”는 자연적으로 발생하는 DNA 당 모이어티를 의미한다.

[0249] “ $\beta$ -D-리보스”는 자연적으로 발생하는 RNA 당 모이어티를 의미한다.

[0250] “2' -O-메틸 당” 또는 “2' -OMe 당”은 2' -위치에 O-메틸 변형을 가지는 당을 의미한다.

[0251] “2' -O-메톡시에틸 당” 또는 “2'-MOE당”은 2' 위치에 O-메톡시에틸 변형을 가지는 당을 의미한다.

[0252] “2'-O-플루오로” 또는 “2'-F”는 2' 위치에 플루오로 변형을 가지는 당을 의미한다.

[0253] “이환식 당 모이어티”는 4 내지 7원 고리의 2개의 원자를 연결하여 제2 고리를 형성함으로써 이환 구조를 만드는 가교를 포함하는, 4 내지 7원 고리(퓨라노실을 포함하지만, 이에 제한되지는 않음)를 포함하는 변형 당 모이어티를 의미한다. 일정한 구현예에서, 4 내지 7원 고리는 당 고리이다. 일정한 구현예에서, 4 내지 7원 고리는 퓨라노실이다. 일정한 이러한 구현예에서, 가교는 퓨라노실의 2'-탄소 및 4'-탄소를 연결한다. 이환식 당 모이어티의 비제한적인 예시는 LNA, ENA, cEt, S-cEt, 및 R-cEt를 포함한다.

[0254] “잠금 핵산(Locked nucleic acid, LNA) 당 모이어티”는 4' 과 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에  $(\text{CH}_2)_0$  가교를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다.

[0255] “ENA 당 모이어티”는 4' 과 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에  $(\text{CH}_2)_2$ -0 가교를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다.

[0256] “제한 에틸(cEt) 당 모이어티”는 4' 및 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에  $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -0 가교를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다. 일정한 구현예에서,  $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -0 가교는 S 방향으로 제한된다. 일정한 구현예에서,  $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -0 가교는 R 방향으로 제한된다.

[0257] “S-cEt 당 모이어티”는 4' 및 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에 S-제한  $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -0 가교를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다.

[0258] “R-cEt 당 모이어티”는 4' 및 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에 R-제한  $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -0 가교를 포함하는 치환된 당 모이어티를 의미한다.

[0259] “2'-O-메틸 뉴클레오시드”는 2'-O-메틸 당 변형을 가지는 변형 뉴클레오시드를 의미한다.

[0260] “2'-O-메톡시에틸 뉴클레오시드”는 2'-O-메톡시에틸 당 변형을 가지는 변형 뉴클레오시드를 의미한다. 2'-O-메톡시에틸 뉴클레오시드는 변형 또는 미변형 핵염기를 포함할 수 있다.

[0261] “2'-플루오로 뉴클레오시드”는 2'-플루오로 당 변형을 가지는 변형 뉴클레오시드를 의미한다. 2'-플루오로 뉴클레오시드는 변형 또는 미변형 핵염기를 포함할 수 있다.

[0262] “이환식 뉴클레오시드”는 이환식 당 모이어티를 가지는 변형 뉴클레오시드를 의미한다. 이환식 뉴클레오시드는 변형 또는 미변형 핵염기를 가질 수 있다.

[0263] “cEt 뉴클레오시드”는 cEt 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. cEt 뉴클레오시드는 변형 또는 미변형 핵염기를 포함할 수 있다.

- [0264] "S-cEt 뉴클레오시드"는 S-cEt 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0265] "R-cEt 뉴클레오시드"는 R-cEt 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0266] "비이환식 뉴클레오시드"는 이환식 당이 아닌 당을 가지는 뉴클레오시드를 의미한다. 일정한 구현예에서, 비이환식 뉴클레오시드는 자연적으로 발생하는 당을 포함한다. 일정한 구현예에서, 비이환식 뉴클레오시드는 변형 당을 포함한다. 일정한 구현예에서, 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 비이환식 뉴클레오시드는 2'-O-메톡시에틸 뉴클레오시드이다.
- [0267] " $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드"는 자연적으로 발생하는 DNA 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0268] " $\beta$ -D-리보뉴클레오시드"는 자연적으로 발생하는 RNA 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0269] "LNA 뉴클레오시드"는 LNA 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0270] "ENA 뉴클레오시드"는 ENA 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0271] "모티프"는 올리고뉴클레오티드 내 변형 및/또는 미변형 핵염기, 당, 및/또는 뉴클레오시드 간 결합의 패턴을 의미한다. 일정한 구현예에서, 모티프는 뉴클레오시드 패턴이다.
- [0272] "뉴클레오시드 패턴"은 변형 올리고뉴클레오티드 또는 이의 영역 내 뉴클레오시드 변형의 패턴을 의미한다. 뉴클레오시드 패턴은 올리고뉴클레오티드 내 뉴클레오시드 변형의 배열을 기술하는 모티프이다.
- [0273] "완전한 변형 올리고뉴클레오티드"는 각각의 핵염기, 각각의 당, 및/또는 각각의 뉴클레오시드 간 결합이 변형 되었다는 것을 의미한다.
- [0274] "균등한 변형 올리고뉴클레오티드"는 각각의 핵염기, 각각의 당, 및/또는 각각의 뉴클레오시드 간 결합이 변형 올리고뉴클레오티드 전체에 걸쳐 동일한 변형을 가진다는 것을 의미한다.
- [0275] "안정화 변형"은, 뉴클레아제의 존재 하에, 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합에 의해 결합된 2'-데옥시뉴클레오시드에 의해 제공되는 것이 비해, 변형 올리고뉴클레오티드에 향상된 안정성을 제공하는 뉴클레오시드에 대한 변형을 의미한다. 예를 들어, 일정한 구현예에서, 안정화 변형은 안정화 뉴클레오시드 변형이다. 일정한 구현예에서, 안정화 변형은 뉴클레오시드 간 결합 변형이다.
- [0276] "안정화 뉴클레오시드"는 2'-데옥시뉴클레오시드에 의해 제공되는 것에 비해 향상된 뉴클레아제 안정성을 올리고뉴클레오티드에 제공하기 위해 변형 뉴클레오시드를 의미한다. 일 구현예에서, 안정화 뉴클레오시드는 2'-변형 뉴클레오시드이다.
- [0277] "안정화 뉴클레오시드 간 결합"은 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합에 의해 제공되는 것에 비해 개선된 뉴클레아제 안정성을 올리고뉴클레오티드에 제공하는 뉴클레오시드 간 결합을 의미한다. 일 구현예에서, 안정화 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.
- [0278] 본원에 사용된 "연결기"는 하나 이상의 공유 결합을 통하여 제1 화학적 엔티티를 제2 화학적 엔티티에 부착하는 원자 또는 원자들의 군을 지칭한다.
- [0279] 본원에 사용된 "링커"는, 하나 이상의 공유 결합을 통해 하나 이상의 리간드를 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 부착시키는 원자 또는 원자들의 군을 지칭한다. 변형 또는 미변형 뉴클레오시드는 본원에 기술된 변형 올리고뉴클레오티드의 일부일 수 있거나 포스포디에스테르 또는 포스포로티오에이트 결합을 통해 변형 올리고뉴클레오티드에 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 하나 이상의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 하나 이상의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 하나 이상의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 부착된 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 하나 이상의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 부착된 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 부착시킨다. 링커가 하나 이상의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 부착시킬 때, 일부 구현예에서, 링커에 대한 부착점은 변형 또는 미변형 당 모이어티의 3' 탄소일 수 있다. 링커가 하나 이상의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단 또는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 부착된 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 부착시킬 때, 일부 구현예에서, 링커에 대한 부착점은 변형 또는 미변형 당 모이어티의 5' 탄소일 수 있다.
- [0280] 개요

- [0281] miR-122의 강력한 저해제를 식별하기 위해, 다수의 항-miR-122 화합물을 설계하였고 합성하였다. 화합물은 길이 및 이환식 뉴클레오시드 및 비이환식 뉴클레오시드의 개수, 배치, 및 종류에서 차이가 있는, 변형 올리고뉴클레오티들을 포함하였다. 초기의 일련의 화합물을 시험관 내 루시피라제 검정에서 시험하였는데, 하나의 하위세트의 화합물들이 시험관 내에서 활성인 화합물들로 식별되었다. 그런 다음, 이러한 시험관 내 활성 화합물들을 생체 내 검정에서 시험하여 강력한 생체 내 miR-122 저해제인 화합물들을 식별하였다. 초기 시험관 내 및 생체 내 스크리닝으로부터, 일정한 화합물들이 추가적인 화합물의 설계에 대한 기준으로서 선택되었다. (시험관 내 및 생체 내에서) 구조 및 활성 간의 실험적으로 관찰된 상호관계를, 길이 및 이환식 및 비이환식 뉴클레오시드의 선택 및 배열에 대한 추가적인 변이를 가지는, 이러한 추가적인 화합물의 설계에 대한 정보를 제공하기 위해 사용하였다. 생체 내 및 시험관 내 스크리닝 검정을 이러한 추가적인 화합물들에 대하여 반복하였다. 일정한 화합물을, 또한, 다른 성질들, 예를 들어 엑소뉴클라제 활성에 대한 감수성, 조직 축적 및 조직 반감기에 대하여 시험하였다.
- [0282] 이러한 과정에서 시험관 내 스크리닝된 400종이 넘는 화합물 중에서, 대략 150종이 시험관 내 루시피라제 검정에서 활성인 것으로 식별되었다. 이러한 화합물들 중 대략 70종을 생체 내 효능 및 안전성에 대하여 추가로 평가하였다. 이러한 반복적인 화합물의 설계 및 스크리닝 과정을 통해, 일정한 화합물(미접합 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드 및 접합 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드)이 강력한 생체 내 miR-122 저해제인 것으로 관찰되었다. 이처럼, 이러한 화합물들은 miR-122의 활성에 의해 증진되는 세포내 과정의 조절에 유용하다. 또한, 이러한 화합물들은 miR-122와 관련된 질환의 발병의 치료, 예방, 및/또는 치연에 유용하다. 이러한 질환은, 이에 제한되지는 않으나, HCV 감염, HCV 관련 합병증, 예를 들어, 간경변, 간 섬유증, 지방간염, 지방증 및 간세포 암종을 포함한다.
- [0283] 일정한 항-miR-122 화합물
- [0284] 일정한 이환식 및 비이환식 뉴클레오시드의 패턴을 가지는 변형 올리고뉴클레오티드가 본원에 제공된다. 본원에서 식별된 패턴을 가지는 변형 올리고뉴클레오티드는 효과적인 miR-122 활성의 저해제이다.
- [0285] 본원에 예시된 뉴클레오시드 패턴 각각은 5'에서 3' 방향으로 나타나 있다.
- [0286] 일정한 구현예에서, 16 내지 22개의 결합된 뉴클레오시드로 이루어진 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물이 본원에 제공되며, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은 miR-122(서열 번호 1)에 상보적이고, 변형 올리고뉴클레오티드는 5'에서 3' 방향으로, 다음의 뉴클레오시드 패턴 I의 적어도 16개의 연속적인 뉴클레오시드를 포함한다:
- [0287]  $(R)_x - N^Q - N^Q - N^B - N^B - N^Q - N^B - N^Q - N^B - N^Q - N^B - N^B - (N^Z)_Y$
- [0288] 여기서 각각의 R은, 독립적으로, 비이환식 뉴클레오시드 또는 이환식 뉴클레오시드이고;
- [0289] X는 4 내지 10이고;
- [0290] 각각의  $N^B$ 는, 독립적으로, 이환식 뉴클레오시드이고;
- [0291] 각각의  $N^Q$ 는, 독립적으로, 비이환식 뉴클레오시드이고;
- [0292] Y는 0 또는 1이고;
- [0293]  $N^Z$ 는 변형 뉴클레오시드 또는 미변형 뉴클레오시드, 비이환식 뉴클레오시드 또는 이환식 뉴클레오시드이다.
- [0294] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 뉴클레오시드 패턴 I의 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 또는 22개의 연속적인 뉴클레오시드를 포함한다.
- [0295] 일정한 구현예에서, 각각의 이환식 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드, cEt 뉴클레오시드, 및 ENA 뉴클레오시드로부터 독립적으로 선택된다.
- [0296] 일정한 구현예에서, 적어도 2개의 이환식 뉴클레오시드는 서로 상이하다.
- [0297] 일정한 구현예에서, 모든 이환식 뉴클레오시드 동일한 유형의 당 모이어티를 가진다.
- [0298] 일정한 구현예에서, 각각의 이환식 뉴클레오시드는 cEt 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, cEt 뉴클레오시드

는 S-cEt 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, cEt 뉴클레오시드는 R-cEt 뉴클레오시드이다.

[0299] 일정한 구현예에서, 각각의 이환식 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다.

[0300] 일정한 구현예에서, 적어도 2개의 비이환식 뉴클레오시드는 서로 다른 당 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는 동일한 유형의 당 모이어티를 가진다.

[0301] 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드,  $\beta$ -D-리보뉴클레오시드, 2'-0-메틸 뉴클레오시드, 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드, 및 2'-플루오로뉴클레오시드로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드, 및 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 각각의 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이다.

[0302] 일정한 구현예에서, 2개 이하의 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 2개 이하의 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 각각의 다른 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0303] 일정한 구현예에서, 5'- 말단 및 3'-말단 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 각각의 다른 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0304] 일정한 구현예에서, 2개의 비이환식 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고, 각각의 다른 비이환식 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0305] 일정한 구현예에서, R의 각각의 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이다.

[0306] 일정한 구현예에서, X는 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0307] 일정한 구현예에서, Y는 0이다. 일정한 구현예에서, Y는 1이다.

[0308] 일정한 구현예에서, R은 7개의 결합된 뉴클레오시드로 이루어지되, 각각의 뉴클레오시드는 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>B</sup>는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>Q</sup>는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.

[0309] 일정한 구현예에서, R은 4개의 결합된 뉴클레오시드 N<sup>R1</sup>-N<sup>R2</sup>-N<sup>R3</sup>-N<sup>R4</sup>로 이루어지되, N<sup>R1</sup> 및 N<sup>R3</sup> 각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고, N<sup>R2</sup> 및 N<sup>R4</sup> 각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>B</sup>는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>Q</sup>는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고; N<sup>Z</sup>는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다.

[0310] 일정한 구현예에서, R은 4개의 결합된 뉴클레오시드 N<sup>R1</sup>-N<sup>R2</sup>-N<sup>R3</sup>-N<sup>R4</sup>로 이루어지되, N<sup>R1</sup> 및 N<sup>R4</sup> 각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고, N<sup>R2</sup> 및 N<sup>R3</sup> 각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>B</sup>는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>Q</sup>는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고; N<sup>Z</sup>는 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이다.

[0311] 일정한 구현예에서, R은 7개의 결합된 뉴클레오시드 N<sup>R1</sup>-N<sup>R2</sup>-N<sup>R3</sup>-N<sup>R4</sup>-N<sup>R5</sup>-N<sup>R6</sup>-N<sup>R7</sup>로 이루어지되, N<sup>R1</sup>, N<sup>R2</sup>, N<sup>R3</sup> 및 N<sup>R4</sup> 각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고, N<sup>R5</sup> 및 N<sup>R7</sup> 각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, N<sup>R6</sup>는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>B</sup>는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>Q</sup>는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.

[0312] 일정한 구현예에서, R은 7개의 결합된 뉴클레오시드 N<sup>R1</sup>-N<sup>R2</sup>-N<sup>R3</sup>-N<sup>R4</sup>-N<sup>R5</sup>-N<sup>R6</sup>-N<sup>R7</sup>로 이루어지되, N<sup>R1</sup>, N<sup>R2</sup>, N<sup>R3</sup>, N<sup>R4</sup>, 및 N<sup>R5</sup> 각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고, N<sup>R6</sup>는 S-cEt 뉴클레오시드이고, N<sup>R7</sup>은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>B</sup>는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>Q</sup>는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.

[0313] 일정한 구현예에서, R은 7개의 결합된 뉴클레오시드 N<sup>R1</sup>-N<sup>R2</sup>-N<sup>R3</sup>-N<sup>R4</sup>-N<sup>R5</sup>-N<sup>R6</sup>-N<sup>R7</sup>로 이루어지되, N<sup>R1</sup>, N<sup>R2</sup>, N<sup>R3</sup>, N<sup>R4</sup>, N<sup>R5</sup>, 및 N<sup>R6</sup> 각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고, N<sup>R7</sup>은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>B</sup>는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 N<sup>Q</sup>는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.

- [0314] 일정한 구현예에서, R은 10개의 결합된 뉴클레오시드  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}-N^{R8}-N^{R9}-N^{R10}$ 으로 이루어지되,  $N^{R1}$ ,  $N^{R2}$ ,  $N^{R3}$ ,  $N^{R4}$ ,  $N^{R5}$ , 및  $N^{R6}$  각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R7}$  및  $N^{R9}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고;  $N^{R8}$  및  $N^{R10}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^B$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^Q$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 0이다.
- [0315] 일정한 구현예에서, R은 10개의 결합된 뉴클레오시드  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}-N^{R5}-N^{R6}-N^{R7}-N^{R8}-N^{R9}-N^{R10}$ 으로 이루어지되,  $N^{R1}$ ,  $N^{R2}$ ,  $N^{R3}$ ,  $N^{R4}$ ,  $N^{R5}$ , 및  $N^{R6}$  각각은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R7}$  및  $N^{R9}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고;  $N^{R8}$  및  $N^{R10}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^B$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^Q$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고  $N_Z$ 는 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이다.
- [0316] 일정한 구현예에서, R은 4개의 결합된 뉴클레오시드  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 로 이루어지되,  $N^{R1}$  및  $N^{R4}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고,  $N^{R1}$  및  $N^{R3}$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^B$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^Q$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고  $N^Z$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이다.
- [0317] 일정한 구현예에서, R은 4개의 결합된 뉴클레오시드  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ 로 이루어지되,  $N^{R1}$ 는 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고,  $N^{R2}$  및  $N^{R4}$  각각은 S-cEt 뉴클레오시드이고,  $N^{R3}$ 은  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 각각의  $N^B$ 는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의  $N^Q$ 는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; Y는 1이고  $N^Z$ 는 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이다.
- [0318] 일정 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은 miR-122의 핵염기 서열(서열 번호 1)에 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 또는 100% 상보적이다.
- [0319] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은, 서열 번호 1의 위치 2가 올리고뉴클레오티드의 3'-말단 핵염기와 쌍을 이루도록 miR-122에 상보적이다. 예를 들어:
- [0320] 5'-UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG-3' (miR-122; 서열 번호 1)
- [0321] ||||||| ||||| |||||
- [0322] 3'- CCTCACACTGTTACCACA-5' (항-miR-122; 서열 번호 4)
- [0323] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은, 서열 번호 1의 위치 1이 올리고뉴클레오티드의 3'-말단 핵염기와 쌍을 이루도록 miR-122에 상보적이다. 예를 들어:
- [0324] 5'-UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG-3' (miR-122; 서열 번호 1)
- [0325] ||||||| ||||| |||||
- [0326] 3'-ACCTCACACTGTTACC-5' (항-miR-122; 서열 번호 3); 및
- [0327] 5'-UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG-3' (miR-122; 서열 번호 1)
- [0328] ||||||| ||||| ||||| |||||
- [0329] 3'-TCCTCACACTGTTACCACAAAC-5' (항-miR-122; 서열 번호 6).
- [0330] 일정한 구현예에서, 적어도 하나의 뉴클레오시드 간 결합은 변형 뉴클레오시드 간 결합이다. 일정한 구현예에서, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 변형 뉴클레오시드 간 결합이다. 일정한 구현예에서, 변형 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.
- [0331] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 적어도 하나의 피리미딘은 5-메틸기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 적어도 하나의 시토신은 5-메틸시토신이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 각각의 시토신은 5-메틸시토신이다. 일정한 구현예에서, 시토신을 포함하는 각각의 변형 뉴클레오티드는 5-메틸시토신을 포함한다. 일정한 구현예에서, 시토신을 포함하는 각각의 2'-0-메톡시에틸뉴클레오시드는 5-메틸시토신을 포함한다.

[0332] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은 서열 번호 3 내지 6으로부터 선택되되, 여기서 각각의 T는 T 및 U로부터 독립적으로 선택된다.

[0333] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 miR-122의 핵염기 서열에 대하여 0, 1, 2, 또는 3개의 미스매치를 가진다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 miR-122의 핵염기 서열에 대하여 0개의 미스매치를 가진다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 miR-122의 핵염기 서열에 대하여 1개의 미스매치를 가진다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 miR-122의 핵염기 서열에 대하여 2개의 미스매치를 가진다.

[0334] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 22개를 초과하는 결합된 뉴클레오시드로 이루어지고, 뉴클레오시드 패턴 I의 적어도 8개의 결합된 뉴클레오시드를 포함한다. 뉴클레오시드 패턴 I에 기술된 뉴클레오시드에 추가적으로 존재하는 뉴클레오시드도 변형되거나 변형되지 않는다.

[0335] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 16개 미만의 결합된 뉴클레오시드로 이루어지고, 뉴클레오시드 패턴 I의 적어도 8개의 결합된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0336] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 표 1에 나타낸 바와 같은 핵염기 서열 및 변형을 가진다. 뉴클레오시드 및 핵염기를 다음과 같이 나타낸다: 첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타내고; 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고; 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.

[0337] [표 1]

항-miR-122 화합물		
화합물 #	서열 및 변형	서열 번호
38649	A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> T <sub>E</sub> TG <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub>	4
38012	C <sub>S</sub> CA <sub>S</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub> A	3
38016	<sup>Me</sup> C <sub>S</sub> CAT <sub>S</sub> TGT <sub>S</sub> <sup>Me</sup> C <sub>S</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>S</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>S</sub> T <sup>Me</sup> C <sub>S</sub> <sup>Me</sup> C <sub>S</sub> A <sub>E</sub>	3
38646	A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> CA <sub>S</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub>	4
38647	A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub>	4
38648	A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub>	4
38652	<sup>Me</sup> C <sub>S</sub> A <sub>E</sub> A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> C <sub>S</sub> CA <sub>S</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub>	5
38659	C <sub>S</sub> CA <sub>S</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> T <sub>E</sub>	10
38660	<sup>Me</sup> C <sub>S</sub> A <sub>E</sub> A <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> C <sub>S</sub> CA <sub>S</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> T <sub>E</sub>	6
38872	C <sub>S</sub> CAU <sub>S</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub> A	3
38910	<sup>Me</sup> C <sub>E</sub> C <sub>S</sub> AU <sub>S</sub> TTGU <sub>S</sub> C <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> AC <sub>S</sub> T <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub> A <sub>E</sub>	3

[0338]

[0339] 일부 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 아래에 나타낸 바와 같은 핵염기 서열 및 변형을 가진다:

U<sub>S</sub>TGU<sub>S</sub>C<sub>S</sub>AC<sub>S</sub>AC<sub>S</sub>T<sub>S</sub>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>(서열 번호 8); 또는

C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>C<sub>S</sub>U<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>(서열 번호 9);

[0342] 여기서, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다. 이러한 일부 구현예에서, 화합물은 38591, 38633, 38998, 또는 38634이다.

[0343] 접합체를 포함하는 항-miR-122 화합물

[0344] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 올리고뉴클레오티드의 활성, 세포내 분포 및/또는 세포 내 흡수를 향상시키는 하나 이상의 모이어티에 접합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 예를 들어, 화합물의 증가된 세포내 흡수는 세포 표면 수용체에 대한 리간드인 접합체를 활용하여 달성될 수 있다. 외인성 문자(예를 들어, 약물)에 접합된 리간드의 그의 세포 표면 수용체에 대한 결합은 접합된 분자의 내재화를 야기함으로써 외인성 분자의 막관통 수송을 향상시킨다. 본원에 제공된 임의의 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 모이어티에 결합하여 접합된 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물을 형성할 수 있다.

[0345] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단 또는 3' 말단에 결합된 접합체

모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합된 접합체 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 결합된 접합체 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 화합물은 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합된 제1 접합체 모이어티 및 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 결합된 제2 접합체 모이어티를 포함한다.

[0346] 일정한 구현예에서, 접합체 모이어티는 탄수화물, 클레스테롤, 지질, 인지질, 항체, 지단백질, 호르몬, 웨티드, 비타민, 스테로이드, 또는 양이온성 지질로부터 선택된 적어도 하나의 리간드를 포함한다.

[0347] 리간드는 임의의 적합한 링커에 의해 변형 올리고뉴클레오티드에 공유결합적으로 부착될 수 있다. 다양한 링커가 당해 분야에 알려져 있고, 일정한 비제한적인 예시적인 링커가, 예를 들어 PCT 공개 번호 WO 2013/033230 및 미국 특허 번호 8,106,022 B2에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 생체 내 효소적 절단에 내성인 링커가 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 생체 내 가수분해적 절단에 내성인 링커가 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 생체 내 효소 절단을 거칠 링커가 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 생체 내 가수분해적 절단을 거칠 링커가 선택될 수 있다.

[0348] 일정한 구현예에서, 본원에 기술된 접합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물은 다음의 구조를 가진다:

[0349]  $L-X_1-N_m-X_2-MO;$

[0350] 여기서 각각의 L은 리간드이고; 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고 m은 1 내지 5이고;  $X_1$  및  $X_2$ 는, 각각, 독립적으로, 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일정한 구현예에서, m은 1이다. 일정한 구현예에서, m은 2이다. 일정한 구현예에서, m은 2, 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서, m은 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서, m이 1을 초과할 때, N<sub>m</sub>의 각각의 변형 또는 미변형 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합에 의해 N<sub>m</sub>의 인접한 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 연결될 수 있다. 일정한 구현예에서, m은 1이고  $X_1$  및  $X_2$  각각은 포스포디에스테르이다.

[0351] 일정한 구현예에서, 본원에 기술된 접합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물은 구조 A를 가진다:

[0352]  $L_n-\text{링커}-MO;$

[0353] 여기서 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고, n은 1 내지 10이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0354] 일정한 구현예에서, 본원에 기술된 접합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물은 구조 B를 가진다:

[0355]  $L_n-\text{링커}-X_1-N_m-X_2-MO;$

[0356] 여기서 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고 n은 1 내지 10이고; 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고 m은 1 내지 5이고;  $X_1$  및  $X_2$ 는, 각각, 독립적으로, 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일정한 구현예에서, m은 1이다. 일정한 구현예에서, m은 2이다. 일정한 구현예에서, m은 2, 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서, m은 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서, m이 1보다 클 때, N<sub>m</sub>의 각각의 변형 또는 미변형 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합에 의해 N<sub>m</sub>의 인접한 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 연결될 수 있다.

[0357] 일정한 구현예에서, 본원에 기술된 접합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물은 구조 C를 가진다:

[0358]  $L_n-\text{링커}-X-N_m-Y-MO;$

[0359] 여기서 각각의 L은, 독립적으로, 리간드이고 n은 1 내지 10이고; 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고 m은 1 내지 5이고; X는 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일정한 구현예에서, m은 1이다. 일정한 구현예에서, m은 2이다. 일정한 구현예에서, m은 2, 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서, m은 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서, m이 1보다 크면, N<sub>m</sub>의 각각의 변형 또는 미변형 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간

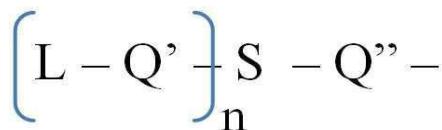
결합 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합에 의해  $N_m$ 의 인접한 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 연결될 수 있다.

[0360] 일정한 구현예에서, 본원에 기술된 접합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물은 구조 D를 가진다:

[0361]  $L_n$ -링커-Y- $N_m$ -Y-MO;

[0362] 여기서 각각의  $L$ 은, 독립적으로, 리간드이고  $n$ 은 1 내지 10이고; 각각의  $N$ 은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시이고  $m$ 은 1 내지 5이고; 각각의  $Y$ 는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 1이다. 일부 구현예에서,  $m$ 은 2이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 2, 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 이 1을 초과할 때,  $N_m$ 의 각각의 변형 또는 미변형 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합에 의해  $N_m$ 의 인접한 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 연결될 수 있다.

[0363] 일정한 구현예에서,  $n$ 이 1보다 클 때, 링커는 하나를 초과하는  $L$ 을 화합물의 나머지(즉, 변형 올리고뉴클레오티드(MO),  $X_1-N_m-X_2-MO$ ,  $X-N_m-Y-MO$ , 등)에 결합시킬 수 있는 스캐폴드를 포함한다. 이러한 일부 구현예에서, 화합물(예를 들어 구조 A, B, C, 또는 D의 화합물)의  $L_n$ -링커 부분은 구조 E를 포함한다:



[0364]

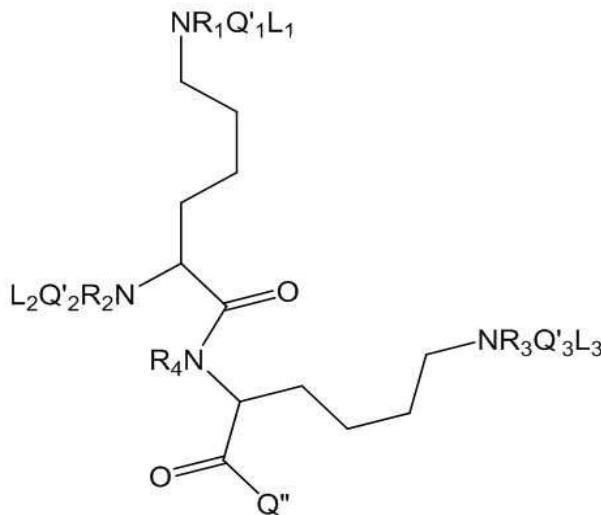
[0365] 여기서 각각의  $L$ 은, 독립적으로, 리간드이고  $n$ 은 1 내지 10이고;  $S$ 는 스캐폴드이고;  $Q'$  및  $Q''$ 은, 독립적으로, 연결기이다.

[0366] 일정한 구현예에서, 각각의  $Q'$  및  $Q''$ 는 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다.

[0367] 일정한 구현예에서, 스캐폴드는 2, 3, 4, 또는 5개의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드에 결합시킨다. 일정한 구현예에서, 스캐폴드는 3개의 리간드를 변형 올리고뉴클레오티드에 결합시킨다.

[0368]

비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(i)이다:

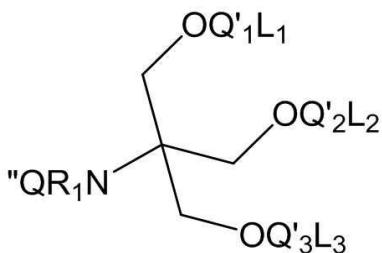


[0369]

[0370] 여기서  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 는, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, H,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0371] 일부 구현예에서, Q'<sub>1</sub>, Q'<sub>2</sub>, Q'<sub>3</sub>, 및 Q"은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알킬, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐, C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알키닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알키닐, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알콕시, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, 및 R<sub>4</sub>는, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, 및 R<sub>4</sub>는, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다.

[0372] 추가적인 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(ii)이다:

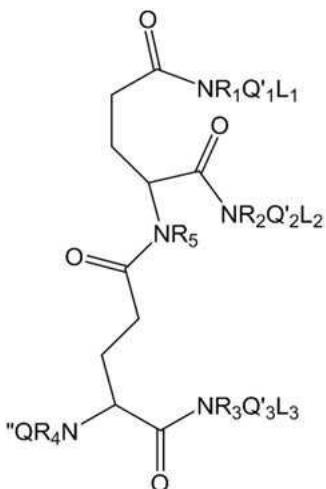


[0373]

[0374] 여기서 L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, 및 L<sub>3</sub>는, 각각, 독립적으로, 리간드이고; Q'<sub>1</sub>, Q'<sub>2</sub>, Q'<sub>3</sub>, 및 Q"은, 각각, 독립적으로, 연결기이고; R<sub>1</sub>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 및 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬로부터 선택된다.

[0375] 일부 구현예에서, Q'<sub>1</sub>, Q'<sub>2</sub>, Q'<sub>3</sub>, 및 Q"은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알킬, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐, C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알키닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알키닐, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알콕시, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, R<sub>1</sub>은 H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 선택된다. 일부 구현예에서, R<sub>1</sub>은 H 또는 메틸이다.

[0376] 추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(iii)이다:



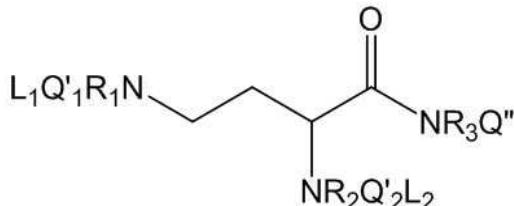
[0377]

[0378] 여기서 L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, 및 L<sub>3</sub>은, 각각, 독립적으로 리간드이고; Q'<sub>1</sub>, Q'<sub>2</sub>, Q'<sub>3</sub>, 및 Q"은, 각각, 독립적으로, 연결기이고; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, 및 R<sub>5</sub>는, 각각, H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 및 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0379] 일부 구현예에서, Q'<sub>1</sub>, Q'<sub>2</sub>, Q'<sub>3</sub>, 및 Q"은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알킬, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐, C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알키닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알키닐, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알콕시, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, R<sub>1</sub>,

$R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ , 및  $R_5$ 는, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ , 및  $R_5$ 는, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다.

[0380] 추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(iv)이다:



[0381]

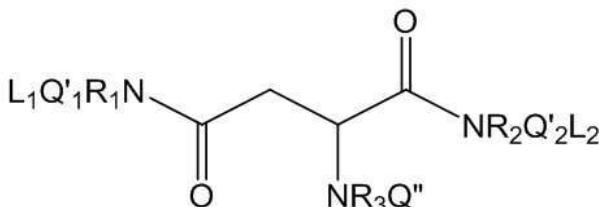
[0382] 여기서  $L_1$  및  $L_2$ 는, 각각, 독립적으로 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각, H,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0383]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다.

[0384]

추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(v)이다:



[0385]

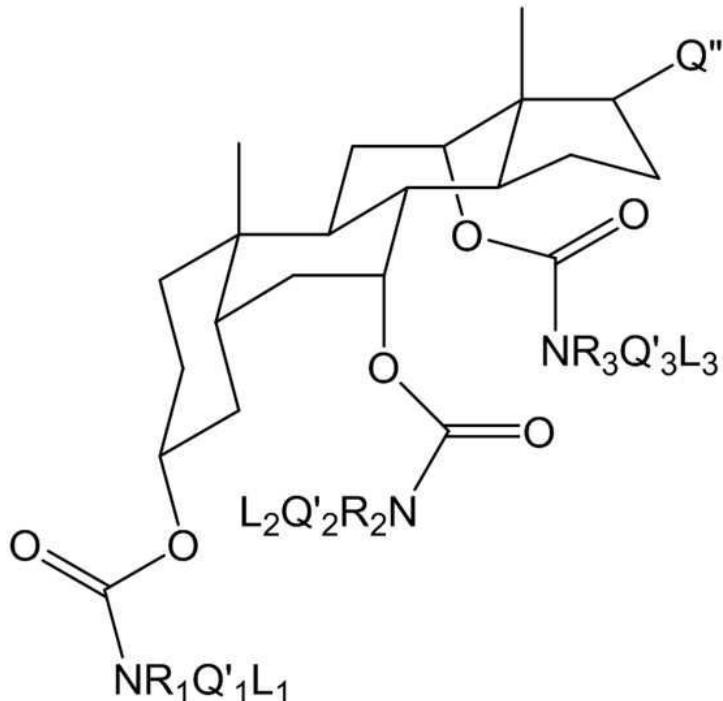
[0386] 여기서  $L_1$  및  $L_2$ 는, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각, H,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0387]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다.

[0388]

추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(vi)이다:



[0389]

[0390]

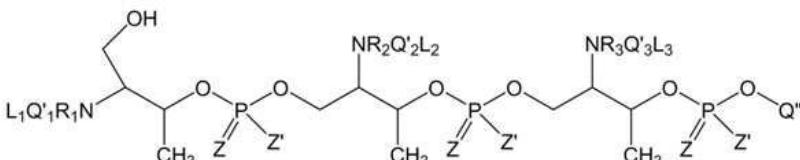
여기서  $L_1$ ,  $L_2$  및  $L_3$ 은, 각각, 독립적으로 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각, H,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0391]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각 H 및 메틸로부터 선택된다.

[0392]

추가적인 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(vii)이다:



[0393]

[0394]

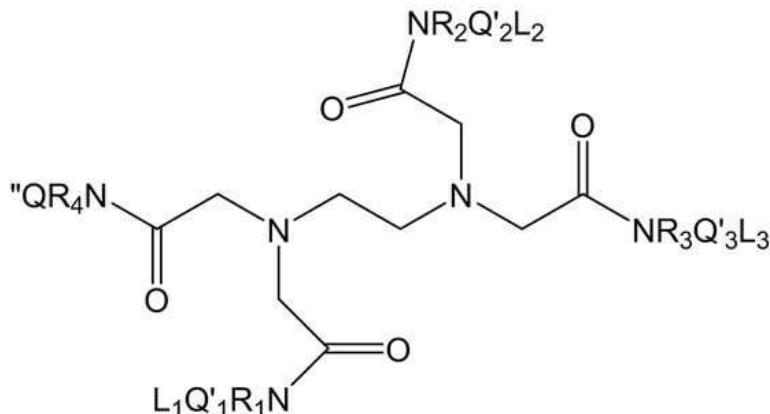
여기서  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 은, 각각, 독립적으로 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각, H,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 독립적으로 선택되고;  $Z$  및  $Z'$ 은, 각각, O 및 S로부터 독립적으로 선택된다.

[0395]

일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 은, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 P 원자 상의 Z 또는  $Z'$ 은 S

이고, 다른 Z 또는 Z'은 O(즉, 포스포로티오에이트 결합)이다. 일부 구현예에서, 각각의  $-OP(Z)(Z')O-$ 는 포스포로티오에이트 결합이다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 P 원자 상의 Z 및 Z'은 둘 다 O(즉, 포스포디에스테르 결합)이다. 일부 구현예에서, 각각의  $-OP(Z)(Z')O-$ 는 포스포디에스테르 결합이다.

[0396] 추가의 비제한적인 예시적인 구조 E는 구조 E(viii)이다:



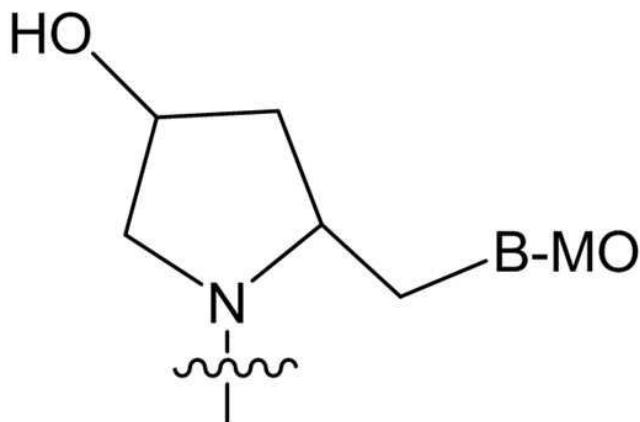
[0397]

[0398] 여기서  $L_1$ ,  $L_2$ , 및  $L_3$ 는, 각각, 독립적으로, 리간드이고;  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$  및  $Q''$ 은, 각각, 독립적으로, 연결기이고;  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, H,  $C_1-C_6$  알킬, 및 치환된  $C_1-C_6$  알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0399] 일부 구현예에서,  $Q'_1$ ,  $Q'_2$ ,  $Q'_3$ , 및  $Q''$ 은, 각각, 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬, 치환된  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_2-C_{20}$  알케닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알케닐,  $C_2-C_{20}$  알키닐, 치환된  $C_2-C_{20}$  알키닐,  $C_1-C_{20}$  알콕시, 치환된  $C_1-C_{20}$  알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 및 부틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$ 는, 각각, H 및 메틸로부터 선택된다.

[0400] 비제한적인 예시적인 스캐폴드 및/또는 스캐폴드를 포함하는 링커 및 이의 합성이, 예를 들어 PCT 공개 번호 WO 2013/033230, 미국 특허 번호 8,106,022 B2, 미국 공개 번호 2012/0157509 A1; 미국 특허 번호 5,994,517; 미국 특허 번호 7,491,805 B2; 미국 특허 번호 8,313,772 B2; Manoharan, M의 문헌(Chapter 16, Antisense Drug Technology, Crooke, S.T., Marcel Dekker, Inc., 2001, 391-469)에 기술되어 있다.

[0401] 일정한 구현예에서, 화합물의  $L_n$ -링커 부분은 구조 F를 포함한다:



[0402]

[0403] 여기서:

[0404] B는  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-N(R^N)-$ ,  $-Z-P(Z')(Z'')O-$ ,  $-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X-$ , 및  $-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-$ 로부터 선택되고;

[0405] MO는 변형 올리고뉴클레오티드이고;

[0406]  $R^N$ 은 H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 및 벤질로부터 선택되고;

[0407] Z, Z', 및 Z'' 각각은 O 및 S로부터 독립적으로 선택되고;

[0408] 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고;

[0409] m은 1 내지 5이고;

[0410] X는 포스포디에스테르 결합 및 포스포로티오에이트 결합으로부터 선택되고;

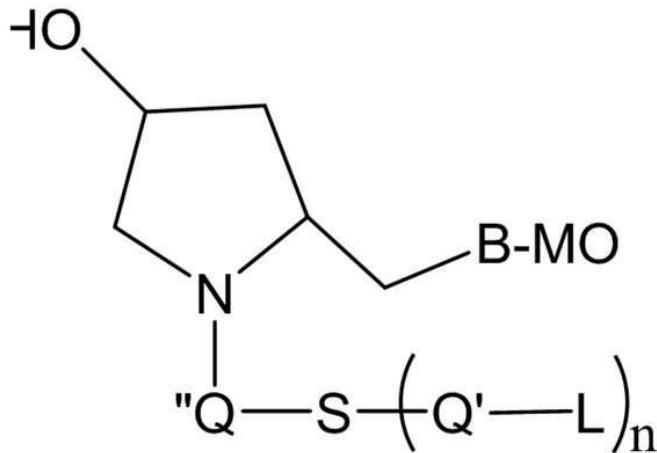
[0411] Y는 포스포디에스테르 결합이고;

[0412] 물결선은 나머지의 링커 및 리간드(들)에 대한 연결을 나타낸다.

[0413] 일정한 구현예에서, 물결선은 위의 구조 E에 대한 연결을 나타낸다.

[0414] 일정한 구현예에서, n은 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 일정한 구현예에서, n은 1이다. 일정한 구현예에서, n은 2이다. 일정한 구현예에서, n은 3이다. 일정한 구현예에서, n은 4이다. 일정한 구현예에서, n은 5이다.

[0415] 일정한 구현예에서, 화합물의  $L_n$ -링커 부분은 구조 G를 포함한다:



[0416] .

[0417] 여기서:

[0418] B는  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-N(R^N)-$ ,  $-Z-P(Z')(Z'')O-$ ,  $-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X-$ , 및  $-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-$ 로부터 선택되고;

[0419] MO는 변형 올리고뉴클레오티드이고;

[0420]  $R^N$ 은 H, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 및 벤질로부터 선택되고;

[0421] Z, Z', 및 Z'' 각각은 O 및 S로부터 독립적으로 선택되고;

[0422] 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고;

[0423] m은 1 내지 5이고;

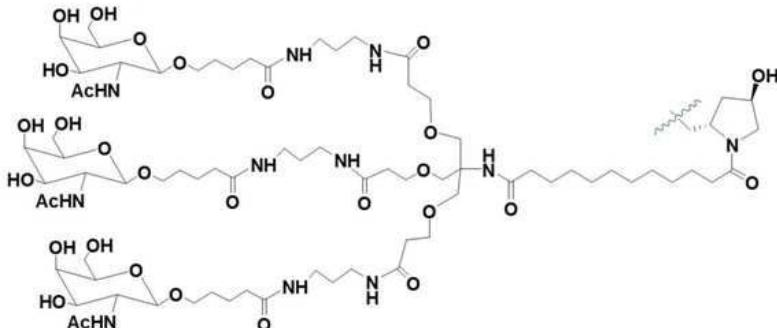
[0424] X는 포스포디에스테르 결합 및 포스포로티오에이트 결합으로부터 선택되고;

[0425] Y는 포스포디에스테르 결합이고;

[0426] 각각의 L은 독립적으로 리간드이고; n은 1 내지 10이고; S는 스캐폴드이고; Q' 및 Q''은, 독립적으로, 연결기이다.

[0427] 일정한 구현예에서, 각각의 Q' 및 Q"은 펩티드, 에테르, 폴리에틸렌 글리콜, 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알킬, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐, C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알키닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알키닐, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알콕시, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알콕시, 아미노, 아미도, 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥타논산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 및 6-아미노헥산산으로부터 독립적으로 선택된다.

[0428] (예를 들어, 구조 F 또는 G의) 화합물의 비제한적인 예시적인 L<sub>n</sub>-링커 부분은 하기의 구조 H로 나타낸다.



[0429]

[0430] 여기서 물결선은 변형 올리고뉴클레오티드(MO), 예를 들어, 구조 B 내 X<sub>1</sub>, 또는 예를 들어 구조 C, 또는 D 내 X 또는 Y에 대한 부착을 나타낸다.

[0431] 일정한 구현예에서, 각각의 리간드는 탄수화물이다. 탄수화물이 접합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물은, 세포 표면 렉틴에 의해 인식될 때, 세포막을 가로질러 세포 내로 수송된다. 일정한 구현예에서, 세포 표면 렉틴은 C형 렉틴이다. 일정한 구현예에서, C형 렉틴은 쿠퍼(Kupffer) 세포 상에 존재한다. 일정한 구현예에서, C형 렉틴은 대식세포 상에 존재한다. 일정한 구현예에서, C형 렉틴은 내피 세포 상에 존재한다. 일정한 구현예에서, C형 렉틴은 단핵구 상에 존재한다. 일정한 구현예에서, C형 렉틴은 백혈구 상에 존재한다. 일정한 구현예에서, C형 렉틴은 수지상세포 상에 존재한다. 일정한 구현예에서, C형 렉틴은 B 세포 상에 존재한다. 접합체는 C형 렉틴을 발현하는 임의의 세포 유형 내로의 항-miR-122 화합물의 흡수를 용이하게 할 수 있다.

[0432] 일정한 구현예에서, C형 렉틴은 아시알로글리코단백질 수용체(ASGPR)이다. 일정한 구현예에서, 접합체는, 이에 제한되지는 않으나, 갈락토스 또는 갈락토스 유도체를 포함하는 ASGPR에 대한 친화도를 가지는 하나 이상의 리간드를 포함한다. 일정한 구현예에서, ASGPR에 대한 친화도를 가지는 리간드는 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스, 갈락토사민, N-포밀갈락토사민, N-프로피오닐-갈락토사민, N-n-부타노일갈락토사민, 또는 N-이소-부타노일-갈락토사민이다. 이러한 접합체는 ASGPR를 발현하는 세포, 예를 들어, 간세포 및 수지상세포 내로의 화합물의 흡수를 용이하게 한다.

[0433] 일정한 구현예에서, 리간드는 만노스, 글루코스, 갈락토스, 리보스, 아라비노스, 프룩토스, 푸코스, 자일로스, D-만노스, L-만노스, D-갈락토스, L-갈락토스, D-글루코스, L-글루코스, D-리보스, L-리보스, D-아라비노스, L-아라비노스, D-프룩토스, L-프룩토스, D-푸코스, L-푸코스, D-자일로스, L-자일로스, 알파-D-만노펩라노스, 베타-D-만노펩라노스, 알파-D-만노펩라노스, 베타-D-만노펩라노스, 알파-D-글루코펩라노스, 베타-D-글루코펩라노스, 알파-D-갈락토펩라노스, 베타-D-갈락토펩라노스, 알파-D-갈락토펩라노스, 베타-D-갈락토펩라노스, 알파-D-리보펩라노스, 베타-D-리보펩라노스, 알파-D-리보펩라노스, 베타-D-리보펩라노스, 알파-D-프룩토펩라노스, 글루코사민, 갈락토사민, 시알산, 및 N-아세틸갈락토사민으로부터 선택된 탄수화물이다.

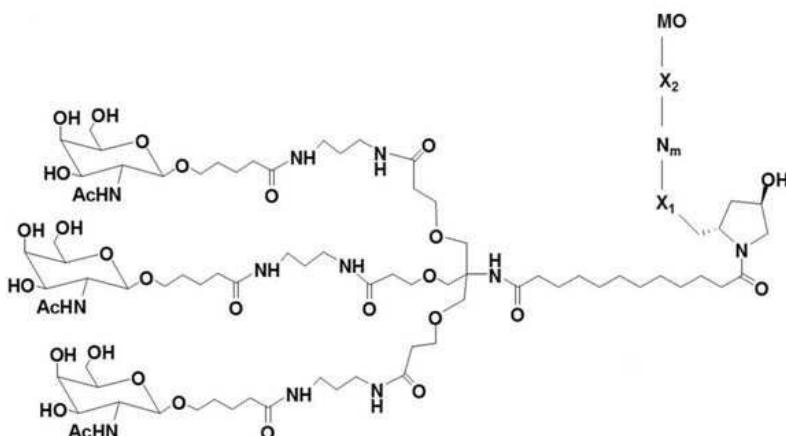
[0434] 일정한 구현예에서, 리간드는 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스, 갈락토사민, N-포밀갈락토사민, N-프로피오닐-갈락토사민, N-n-부타노일갈락토사민, 및 N-이소-부타노일-갈락토사민으로부터 선택된다.

[0435] 일정한 구현예에서, 리간드는 N-아세틸갈락토사민이다.

[0436] 일정한 구현예에서, 화합물은 다음의 구조를 포함한다:

[0437]

[식 I]



[0438]

[0439]

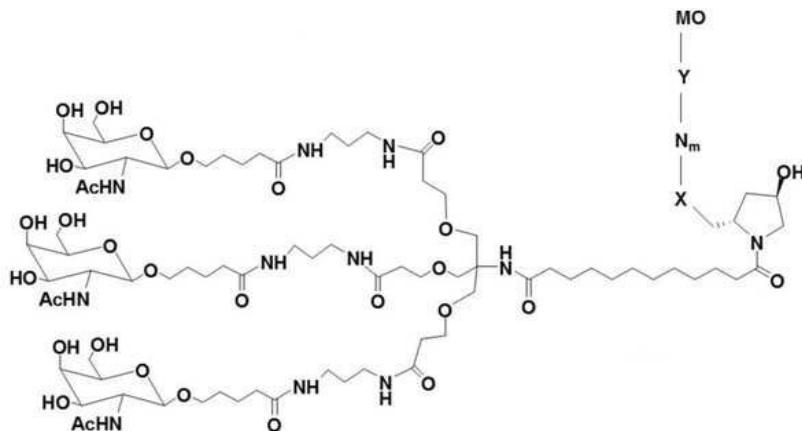
여기서 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고,  $m$ 은 1 내지 5이고;  $X_1$  및  $X_2$  각각은, 독립적으로, 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; Mo는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 1이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 는 2이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 2, 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 이 1보다 클 때,  $N_m$ 의 각각의 변형 또는 미변형 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합에 의해  $N_m$ 의 인접한 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 연결될 수 있다.

[0440]

일정한 구현예에서, 화합물은 다음의 구조를 포함한다:

[0441]

[식 II]



[0442]

[0443]

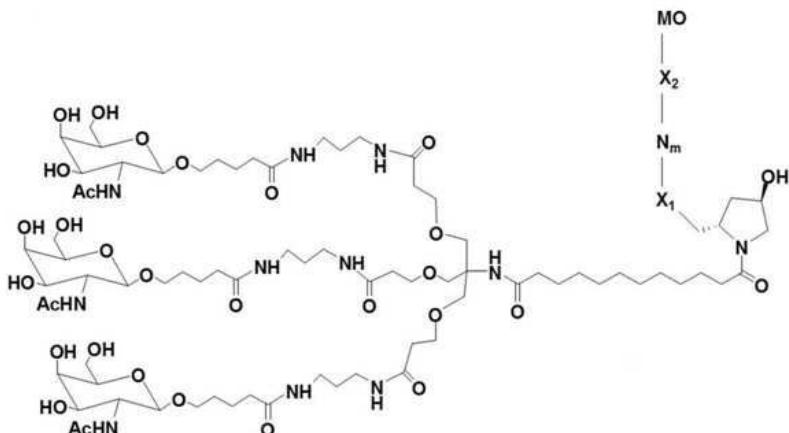
여기서 X는 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고,  $m$ 은 1 내지 5이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; Mo는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 1이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 2이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 2, 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 이 1보다 클 때,  $N_m$ 의 각각의 변형 또는 미변형 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합에 의해  $N_m$ 의 인접한 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 연결될 수 있다.

[0444]

일정한 구현예에서, 화합물은 변형 뉴클레오티드 및 접합체 모이어티를 포함하되, 변형 올리고뉴클레오티드는 다음의 구조  $C_LCA_LTTG_LT_LCAC_LAC_LTC_LC_L$ (서열 번호 7)를 가지고, 여기서 첨자 "L"은 LNA를 나타내고, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이고, 접합체 모이어티는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합되고 다음의 구조를 가진다:

[0445]

### [식 I]

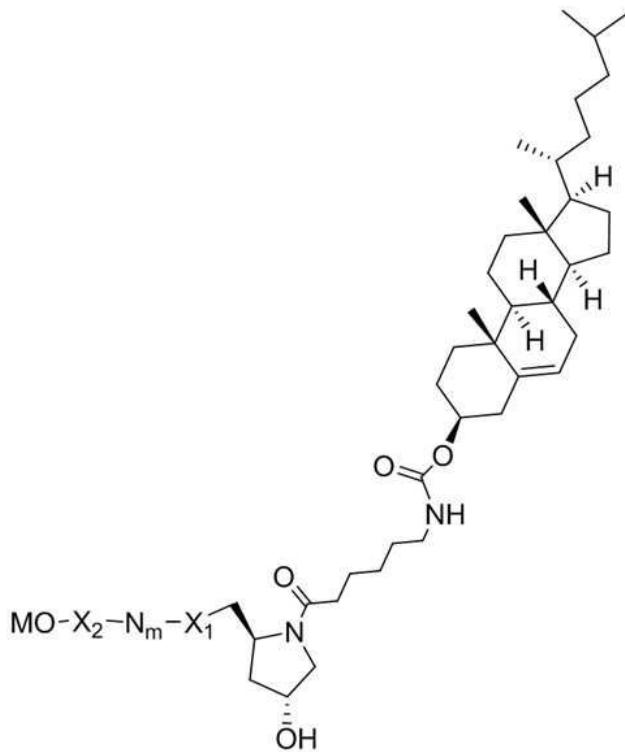


[0446]

[0447] 여기서 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고, m은 1 내지 5이고;  $X_1$  및  $X_2$  각각은, 독립적으로, 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현 예에서,  $C_L$  뉴클레오시드 모두는  $^{Me}C_L$  뉴클레오시드이고, 여기서 첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타낸다.

[0448]

일부 구현 예에서, 화합물은 다음의 구조를 가진다:



[0449]

[0450] 여기서 각각의 N은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고 m은 1 내지 5이고;  $X_1$  및  $X_2$  각각은, 독립적으로, 포스포디에스테르 결합 또는 포스포로티오에이트 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0451] 일정한 구현예에서,  $X_1$  및  $X_2$  중 적어도 하나는 포스포디에스테르 결합이다. 일정한 구현예에서,  $X_1$  및  $X_2$  각각이 포스포디에스테르 결합이다.

[0452] 일정한 구현예에서,  $m$ 은 1이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 2이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 은 2, 3, 4, 또는 5이다. 일정한 구현예에서,  $m$ 이 1보다 클 때,  $N_m$ 의 각각의 변형 또는 미변형 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합에

의해  $N_m$ 의 인접한 변형 또는 미변형 뉴클레오시드에 연결될 수 있다.

[0453] 본원에 기술된 임의의 구현예에서,  $N_m$ 은  $N'pN''$ 일 수 있고, 각각의  $N'$ 은, 독립적으로, 변형 또는 미변형 뉴클레오시드이고  $p$ 는 0 내지 4이고;  $N''$ 은 미변형 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드이다.

[0454] 일정한 구현예에서,  $p$ 는 0이다. 일정한 구현예에서,  $p$ 는 1, 2, 3, 또는 4이다. 일정한 구현예에서,  $p$ 가 1, 2, 3, 또는 4일 때, 각각의  $N'$ 은 미변형 당 모이어티를 포함한다.

[0455] 일정한 구현예에서, 미변형 당 모이어티는  $\beta$ -D-리보스 또는  $\beta$ -D-데옥시리보스이다.

[0456] 일정한 구현예에서,  $p$ 가 1, 2, 3, 또는 4일 때,  $N'$ 은 퓨린 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서,  $N''$ 은 퓨린 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 퓨린 핵염기는 아데닌, 구아닌, 하이포잔틴, 잔틴, 및 7-메틸구아닌으로부터 선택된다. 일정한 구현예에서,  $N'$ 은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신 또는  $\beta$ -D-데옥시리보구아노신이다. 일정한 구현예에서,  $N''$ 은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신 또는  $\beta$ -D-데옥시리보구아노신이다.

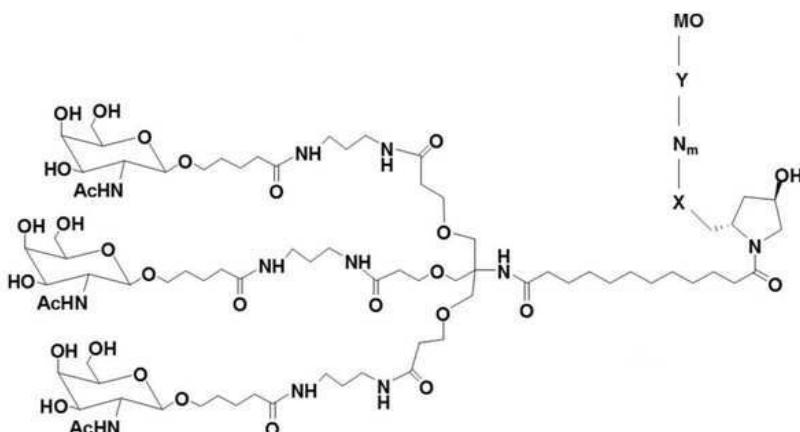
[0457] 일정한 구현예에서,  $p$ 는 1이고,  $N'$  및  $N''$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고,  $N'$  및  $N''$ 은 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합에 의해 결합된다. 일정한 구현예에서,  $p$ 는 1이고,  $N'$  및  $N''$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고,  $N'$  및  $N''$ 은 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합에 의해 결합된다. 일정한 구현예에서,  $p$ 는 1이고,  $N'$  및  $N''$  각각은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고,  $N'$  및  $N''$ 은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합에 의해 결합된다.

[0458] 일정한 구현예에서,  $p$ 가 1, 2, 3, 또는 4일 때,  $N'$ 은 피리미딘 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서,  $N''$ 은 피리미딘 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 피리미딘 핵염기는 시토신, 5-메틸시토신, 티민, 우라실, 및 5,6-디하이드로우라실로부터 선택된다.

[0459] 일정한 구현예에서, 각각의  $N$ 의 당 모이어티는  $\beta$ -D-리보스,  $\beta$ -D-데옥시리보스, 2'-O-메톡시 당, 2'-O-메틸 당, 2'-플루오로 당, 및 이환식 당 모이어티로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, 각각의 이환식 당 모이어티는 cEt 당 모이어티, LNA 당 모이어티, 및 ENA 당 모이어티로부터 독립적으로 선택된다. 일정한 구현예에서, cEt 당 모이어티는 S-cEt 당 모이어티이다. 일정한 구현예에서, cEt 당 모이어티는 R-cEt 당 모이어티이다.

[0460] 일정한 구현예에서, 화합물은 다음의 구조를 포함한다:

[0461] [식 II]



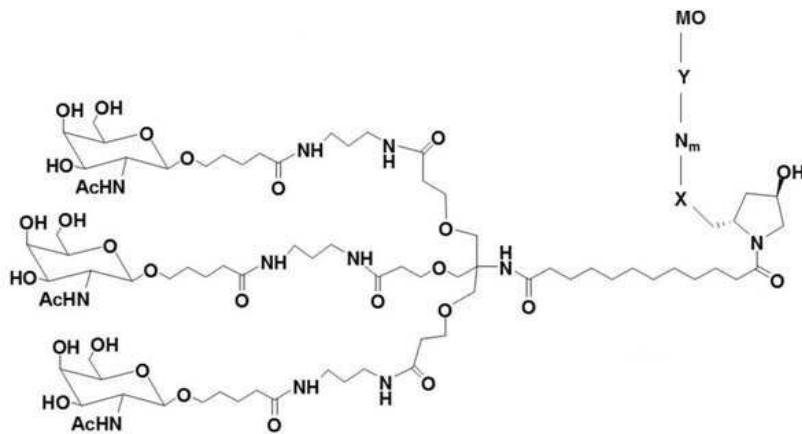
[0462]

[0463] 여기서  $X$ 는 포스포디에스테르 결합이고;  $m$ 은 1이고;  $N$ 은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고;  $Y$ 는 포스포디에스테르 결합이고;  $MO$ 는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0464] 일정한 구현예에서, 화합물은 다음의 구조를 포함한다:

[0465]

[식 II]



[0466]

[0467]

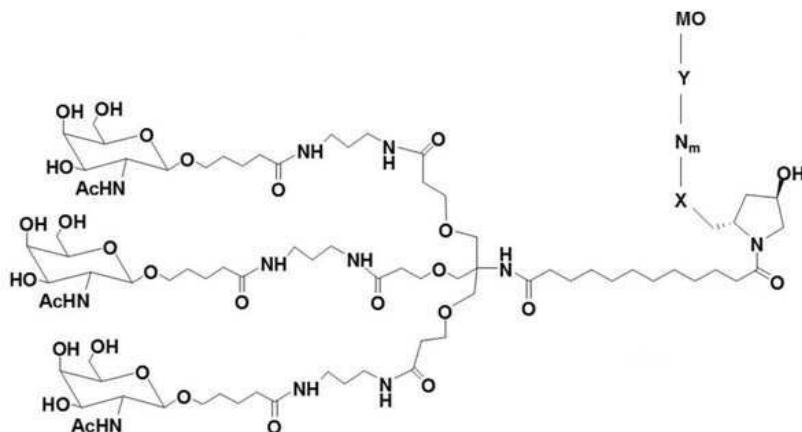
여기서 X는 포스포디에스테르 결합이고; m은 2이고; 각각의 N은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고; N의 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 결합에 의해 결합되고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0468]

일정한 구현예에서, 화합물이 변형 뉴클레오티드 및 접합체 모이어티를 포함하되, 변형 올리고뉴클레오티드는 구조  $\text{A}_E^{\text{Me}} \text{C}_E \text{A}_E^{\text{Me}} \text{C}_E^{\text{Me}} \text{C}_{\text{E}} \text{A}_{\text{E}} \text{T}_{\text{E}} \text{TGU}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{AC}_{\text{S}} \text{TC}_{\text{S}} \text{C}_{\text{S}}$ (서열 번호 4)를 가지고, 여기서 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고; 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이고; 여기서 접합체 모이어티는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합되고 다음의 구조를 가진다:

[0469]

[식 II]



[0470]

[0471]

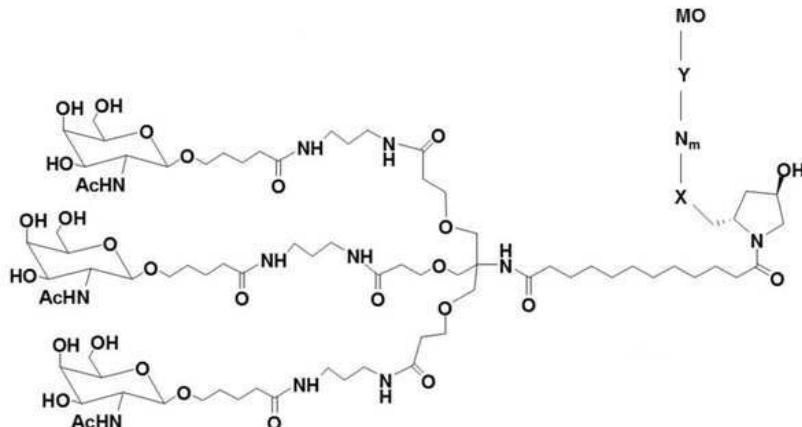
여기서 X는 포스포디에스테르 결합이고; m은 1이고; N은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0472]

일정한 구현예에서, 화합물은 변형 뉴클레오티드 및 접합체 모이어티를 포함하되, 변형 올리고뉴클레오티드는 구조  $\text{C}_L \text{CA}_L \text{TTG}_L \text{T}_L \text{CAC}_L \text{AC}_L \text{TC}_L \text{C}_L$ (서열 번호 7)를 가지고, 여기서 첨자 "L"은 LNA를 나타내고, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이고, 접합체 모이어티는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합되고, 다음의 구조를 가진다:

[0473]

[식 II]



[0474]

[0475]

여기서 X는 포스포디에스테르 결합이고; m은 1이고; N은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고; Y는 포스포디에스테르 결합이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서,  $C_L$  뉴클레오시드 모두는  $^{Me}C_L$  뉴클레오시드이되, 첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타낸다.

[0476]

일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 표 2에 나타낸 핵염기 서열 및 변형을 가진다. 뉴클레오시드 및 핵염기는 다음과 같이 나타낸다: 첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타내고; 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 첨자 "E"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2'-MOE 뉴클레오시드이고; 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.

[0477]

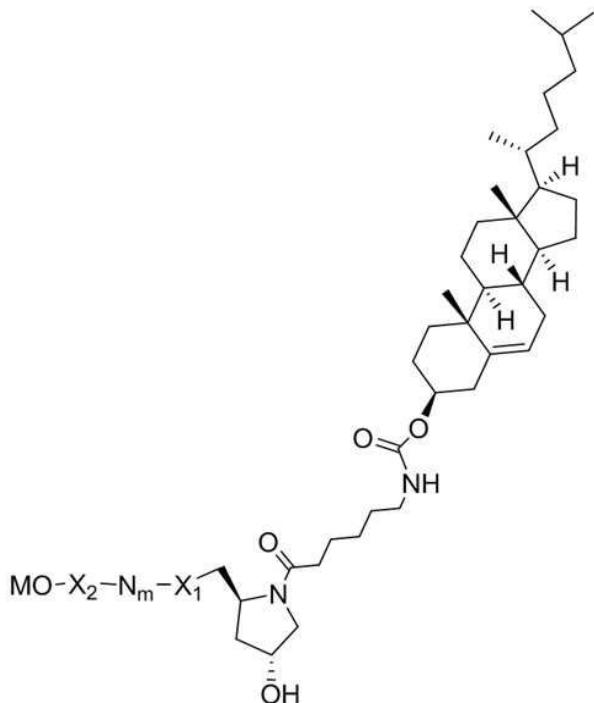
[표 2]

화합물 #	접합된 변형 올리고뉴클레오티드														GalNAc 구조에 대한 연결	서열 번호				
	서열 (5'에서 3') 및 변형																			
38368	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	A	T	C <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	도 3c 의 구조 III. X는 포스포디에스테르 결합이고. MO는 화합물 38649임	4	
38371	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	T	C <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	도 3c 의 구조 III. X는 포스포로티오에이트 결합이고. MO는 화합물 38649임	4
38458	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	T	C <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	도 3c 의 구조 I. X <sub>2</sub> 는 포포로티오에이트 (phosphorothioate) 결합이고. n은 1이고. X <sub>1</sub> 는 $\beta$ -D-데옥시뉴클레오티드 (dA)이고. X <sub>1</sub> 은 포스포로티오에이트 결합이고. MO는 화합물 38649임	4
38459	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	T	C <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	도 3c 의 구조 I. X <sub>2</sub> 는 포포 디에스테르 (phosphodiester) 결합이고. n은 1이고. X <sub>1</sub> 은 $\beta$ -D-데옥시뉴클레오티드 (dA)이고. X <sub>1</sub> 은 포스포로티오에이트 결합이고. MO는 화합물 38649임	4
38597	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	T	C <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	도 3c 의 구조 I. X <sub>2</sub> 는 포포로티오에이트 결합이고. n은 1이고. X <sub>1</sub> 은 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오시드이고. X <sub>1</sub> 은 포스포로티오에이트 결합이고. MO는 화합물 38649임	4
38598	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	$^{Me}C_E$	$^{Me}C_E$	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	A	C <sub>E</sub>	T	C <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	도 3c 의 구조 I. X <sub>2</sub> 는 포포로티오에이트 결합이고. m은 1이고. X <sub>1</sub> 은 a. X <sub>1</sub> 은 포스포로티오에이트 결합이고. MO는 화합물 38649임	4

[0478]

[0479]

일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 변형 뉴클레오티드 및 접합체 모이어티를 포함하되, 변형 올리고뉴클레오티드는 구조  $C_SAsCsAsCsUsCsCs$  (서열 번호 9)를 가지고, 여기서 첨자 "S"는 S-cEt를 나타내고, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고, 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이고, 접합체 모이어티는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 결합되고, 다음의 구조를 가진다:



[0480]

[0481] 여기서  $X_1$  및  $X_2$ 는 포스포디에스테르 결합이고;  $m$ 은 1이고;  $N$ 은  $\beta$ -D-데옥시리보아데노신이고; MO는 변형 올리고뉴클레오티드이다.

[0482]

변형 올리고뉴클레오티드에 대한 접합을 위한 추가적인 모이어티는, 페나진, 페난트리딘, 안트라퀴논, 아크리딘, 플루오레세인, 로다민, 쿠마린, 및 염료들을 포함한다. 일정한 구현예에서, 접합체기는 변형 올리고뉴클레오티드에 직접적으로 부착된다.

[0483]

일정한 대사 생성물

[0484]

시험관 내 또는 생체 내 엑소뉴클라제 및/또는 엔도뉴클라제에 대한 노출 시, 화합물은 화합물 전체에 걸친 다양한 위치에서 절단을 거칠 수 있다. 이러한 절단의 생성물들은 모 화합물의 활성을 일정 정도로 보유할 수 있고, 따라서 이들은 활성 대사체로 여겨진다. 이처럼, 화합물의 대사 생성물은 본원에 기술된 방법에 사용될 수 있다. 일정한 구현예에서, (미접합 또는 접합) 변형 올리고뉴클레오티드는 5' 말단 및/또는 3' 말단에서 절단을 거쳐, 모 변형 올리고뉴클레오티드에 비해 5' 말단 및/또는 3' 말단에 1, 2, 또는 3개 적은 뉴클레오티드를 가지는 대사 생성물이 된다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 5' 말단에서 절단을 거쳐, 5'-말단 뉴클레오티드를 방출하고, 모 변형 올리고뉴클레오티드에 비해 5' 말단에서 1개 적은 뉴클레오티드를 가지는 대사 생성물이 된다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 5' 말단에서 절단을 거쳐, 2개의 5'-말단 뉴클레오시드를 방출하고, 모 변형 올리고뉴클레오티드에 비해 5' 말단에 2개 적은 뉴클레오티드를 가지는 대사 생성물이 된다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 3' 말단에서 절단을 거쳐, 3'-말단 뉴클레오티드를 방출하고, 모 변형 올리고뉴클레오티드에 비해 3' 말단에 하나 적은 뉴클레오티드를 가지는 대사 생성물이 된다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 3' 말단에서 절단을 거쳐, 2개의 3'-말단 뉴클레오시드를 방출하고, 모 변형 올리고뉴클레오티드에 비해 3' 말단에 2개 적은 뉴클레오티드를 가지는 대사 생성물이 된다.

[0485]

또한, 접합체 모이어티에 결합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물도 변형 올리고뉴클레오티드와 리간드 사이의 링커 내 자리에서 절단을 거칠 수 있다. 일정한 구현예에서, 절단은 접합체 모이어티의 일부를 포함하는 모 변형 올리고뉴클레오티드를 산출한다. 일정한 구현예에서, 절단은 변형 올리고뉴클레오티드와 리간드 사이의 링커의 하나 이상의 서브유닛을 포함하는 모 변형 올리고뉴클레오티드를 산출한다. 예를 들어, 화합물이 구조  $L_n$ -링커- $N_m$ -P-MO를 가지는 경우, 일부 구현예에서, 절단은  $N_m$ 의 하나 이상의 뉴클레오티드를 포함하는 모 변형 올리고뉴클레오티드를 산출한다. 일부 구현예에서, 접합된 변형 올리고뉴클레오티드의 절단은 모 변형 올리고뉴클레오티드를 산출한다. 이러한 일부 구현예에서, 예를 들어, 화합물이 구조  $L_n$ -링커- $N_m$ -P-MO를 가지는 경우, 일부 구현예에서, 절단은 임의의  $N_m$ 의 뉴클레오티드가 없는 모 변형 올리고뉴클레오티드를 산출한다.

[0486] 일정한 핵염기 서열

성숙 miR-122 및 이에 상응하는 스템-루프 서열의 핵염기 서열은, [microrna.sanger.ac.uk](http://microrna.sanger.ac.uk)에 밝혀진 마이크로RNA 서열 및 주석의 온라인으로 검색가능한 데이터베이스인 miRBase에 밝혀져 있다. miRBase에 밝혀져 있다. miRBase 서열 데이터베이스 내 엔리들은 성숙 마이크로RNA 서열의 서열 및 위치에 관한 정보로, 마이크로RNA 전사체(스템-루프)의 예상 해어핀 부분을 나타낸다. 데이터베이스 내 마이크로RNA 스템-루프 서열은 엄밀히 전구체 마이크로RNA(전구-마이크로RNA)가 아니며, 몇몇 경우에는 전구-마이크로RNA 및 추정된 1차 전사체로부터의 일부 측방 서열을 포함할 수 있다. 본원에 기술된 마이크로RNA 핵염기 서열은 miRBase 서열 데이터베이스의 발표 15.0에 기술된 서열 및 miRBase 서열 데이터베이스의 임의의 초기 발표에 기술된 서열을 포함하는 임의의 버전의 마이크로RNA를 포함한다. 서열 데이터베이스 발표는 일정한 마이크로RNA의 재명명을 초래할 수 있다. 본 발명은 본원에 기술된 마이크로RNA의 임의의 핵염기 서열 버전에 상보적인 변형 올리고뉴클레오티드를 포함한다.

[0488] 일정한 구현예에서, miR-122로 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드의 각각의 핵염기는 miR-122 또는 이의 전구체의 핵염기 서열 내 상응하는 위치의 핵염기와 염기쌍형성을 수행할 수 있다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은 표적 마이크로RNA 또는 전구체 서열에 대해 하나 이상의 미스매치된 염기쌍을 가질 수 있고, 이의 표적 서열에 혼성화될 수 있는 상태로 존재한다.

[0489] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 miR-122 전구체의 핵염기 서열, 예를 들어 miR-122 스템-루프 서열에 상보적인 핵염기 서열을 가진다. miR-122가 miR-122 전구체 서열 내에 포함되기 때문에, miR-122에 상보적인 핵염기 서열을 가지는 변형 올리고뉴클레오티드도 또한 miR-122 전구체의 영역에 상보적이다.

[0490] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 서열 번호 1의 핵염기 1 내지 16, 1 내지 17, 1 내지 18, 1 내지 19, 1 내지 20, 1 내지 21, 또는 1 내지 22에 상보적인 핵염기 서열을 가진다.

[0491] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 서열 번호 1의 핵염기 2 내지 16, 2 내지 17, 2 내지 18, 2 내지 19, 2 내지 20, 2 내지 21, 또는 2 내지 22에 대해 상보적인 핵염기 서열을 가진다.

[0492] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 서열 번호 1의 핵염기 3 내지 17, 3 내지 18, 3 내지 19, 3 내지 20, 3 내지 21, 또는 3 내지 22에 상보적인 핵염기 서열을 가진다.

[0493] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 결합된 뉴클레오시드의 수는 miR-122, 또는 이의 전구체의 길이보다 적다. 이러한 일정한 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 miR-122, 또는 이의 전구체의 영역에 상보적인 핵염기 서열을 가진다. miR-122의 길이보다 적은 수의 결합된 뉴클레오시드를 가지는 변형 올리고뉴클레오티드(여기서 변형 올리고뉴클레오티드의 각각의 핵염기는 miR-122 핵염기 서열 내 상응하는 위치의 각각의 핵염기에 상보적임)는 miR-122에 완전히 상보적인 핵염기 서열을 가지는 변형 올리고뉴클레오티드인 것으로 여겨진다. 예를 들어, 19개의 결합된 뉴클레오시드로 이루어진 변형 올리고뉴클레오티드(뉴클레오시드 1에서부터 19까지의 핵염기 각각이 miR-122의 상응하는 위치에 상보적이되, miR-122의 길이는 22개의 핵염기임)는 miR-122의 19개의 연속적인 핵염기에 완전히 상보적이다. 이러한 변형 올리고뉴클레오티드는 miR-122의 핵염기 서열에 100% 상보적인 핵염기 서열을 가진다.

[0494] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 결합된 뉴클레오시드의 수는 miR-122의 길이보다 하나 적다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 5' 말단에 하나 적은 뉴클레오시드를 가진다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 3' 말단에 하나 적은 뉴클레오시드를 가진다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 5' 말단에 2개 적은 뉴클레오시드를 가진다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 3' 말단에 2개 적은 뉴클레오시드를 가진다.

[0495] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 15개의 연속적인 핵염기 각각은 miR-122의 15개의 연속적인 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 16개의 연속적인 핵염기 각각은 miR-122의 16개의 연속적인 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 17개의 연속적인 핵염기 각각은 miR-122의 17개의 연속적인 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 18개의 연속적인 핵염기 각각은 miR-122의 18개의 연속적인 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 19개의 연속적인 핵염기 각각은 miR-122의 19개의 연속적인 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 20개의 연속적인 핵염기 각각은 miR-122의 20개의 연속적인 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 21개의 연속적인 핵염기 각각은 miR-122의 21개의 연속적인 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 22개의 연속적인 핵염기 각각은

miR-122의 22개의 연속적인 핵염기에 상보적이다.

[0496] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 시드 서열에 상보적인 핵염기 서열을 포함하는데, 즉, 변형 올리고뉴클레오티드는 시드 매치 서열을 포함한다. 일정한 구현예에서, 시드 서열은 유향체 시드 서열이다. 이러한 일정한 구현예에서, 시드 서열은 miR-122의 핵염기 1 내지 6이다. 이러한 일정한 구현예에서, 시드 서열은 miR-122의 핵염기 3 내지 8이다. 일정한 구현예에서, 시드 서열은 칠량체 시드 서열이다. 이러한 일정한 구현예에서, 칠량체 시드 서열은 miR-122의 핵염기 1 내지 7이다. 이러한 일정한 구현예에서, 칠량체 시드 서열은 miR-122의 핵염기 2 내지 8이다. 일정한 구현예에서, 시드 서열은 팔량체 시드 서열이다. 이러한 일정한 구현예에서, 팔량체 시드 서열은 miR-122의 핵염기 1 내지 8이다. 일정한 구현예에서, 팔량체 시드 서열은 miR-122의 핵염기 2 내지 9이다.

[0497] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 결합된 뉴클레오시드의 수는 miR-122 서열 길이보다 크다. 이러한 일정한 구현예에서, 추가적인 뉴클레오시드의 핵염기는 miR-122 스템-루프 서열의 핵염기에 상보적이다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 결합된 뉴클레오시드의 수는 miR-122의 길이보다 하나 더 크다. 일정한 이러한 구현예에서, 추가적인 뉴클레오시드는 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 있다. 일정한 이러한 구현예에서, 추가적인 뉴클레오시드는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 있다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 결합된 뉴클레오시드의 수는 miR-122의 길이보다 2개 더 크다. 일정한 이러한 구현예에서, 2개의 추가적인 뉴클레오시드는 변형 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 있다. 일정한 이러한 구현예에서, 하나의 추가적인 뉴클레오시드는 5' 말단에 있고 하나의 추가적인 뉴클레오시드는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 있다. 일정한 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 영역은 miR-122의 핵염기 서열에 완전히 상보적일 수 있지만, 전체적인 변형 올리고뉴클레오티드는 miR-122에 완전히 상보적이지 않다. 예를 들어, 23개의 결합된 뉴클레오시드로 이루어진 변형 올리고뉴클레오티드(여기서, 뉴클레오시드 1부터 22까지의 핵염기 각각은 길이가 22개의 핵염기인 miR-122의 상응하는 위치에 상보적임)는 miR-122의 핵염기 서열에 완전히 상보적인 22개의 뉴클레오시드 부분을 가진다.

[0498] 일정한 구현예에서, 화합물은 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함하는 링커를 통해 리간드에 부착된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 상보성 백분율을 계산하기 위한 목적으로, 링커의 임의의 추가적인 뉴클레오시드는 링커 부분이고, 변형 올리고뉴클레오티드 부분이 아닌 것으로 간주한다. 따라서, 접합된 화합물의 변형 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열은 심지어 링커가 miR-122에 상보적이지 않은 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함하는 경우에도 miR-122에 100% 상보적일 수도 있다.

[0499] 이에 제한되지는 않으나, 실시예 및 서열 목록에 밝혀진 것들을 포함하는, 본원에 기술된 miR-122 핵염기 서열은 핵산에 대한 임의의 변형에 독립적이다. 이처럼, 서열 번호에 정의된 핵산은, 독립적으로, 하나 이상의 당모이어티, 하나 이상의 뉴클레오시드 간 결합, 및/또는 하나 이상의 핵염기 대한 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다.

[0500] 본 출원에 따른 서열 목록은 각각의 핵염기 서열을 필요에 따라 "RNA" 또는 "DNA"로 식별하지만, 실제로, 이러한 서열은 임의의 조합의 화학적 변형으로 변형될 수 있다. 당업자는 변형 올리고뉴클레오티드를 기술하기 위한 "RNA" 또는 "DNA"로의 지정은 다소 임의적인 것이라는 것을 쉽게 이해할 것이다. 예를 들어, 2'-OH 당 모이어티 및 티민 염기를 포함하는 뉴클레오시드를 포함하는 변형 올리고뉴클레오티드는 변형 당(자연적인 DNA의 2'-H의 경우 2'-OH)을 가지는 DNA 또는 변형 염기(자연적인 RNA의 우라실의 경우 티민(메틸화 우라실))를 가지는 RNA로 기술될 수 있다.

[0501] 따라서, 이에 제한되지는 않으나, 서열 목록 내에 있는 것을 포함하는, 본원에 제공된 핵산 서열은, 이에 제한되지는 않으나, 변형 핵염기를 가지는 이러한 핵산을 포함하는, 자연적 또는 변형 RNA 및/또는 DNA의 임의의 조합을 포함하는 핵산들을 포함하고자 하는 의도이다. 추가적인 예시로서, 그리고 제한 없이, 핵염기 서열 "ATCGATCG"를 가지는 변형 올리고뉴클레오티드는, 변형되든 변형되지 않든, 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 핵염기 서열을 포함하는 임의의 올리고뉴클레오티드를 포함한다: RNA 염기를 포함하는 이러한 화합물, 예를 들어 서열 "AUCGAUCG"를 가지는 화합물 및 "AUCGATCG"와 같은 일부 DNA 염기 및 일부 RNA 염기를 가지는 화합물 및 "AT<sup>me</sup>CGAUCG"와 같은 다른 변형 염기를 가지는 올리고뉴클레오티드(여기서, <sup>me</sup>C는 5-메틸시토신을 나타냄). 유사하게, 핵염기 서열 "AUCGAUCG"을 가지는 변형 올리고뉴클레오티드는, 변형되든 변형되지 않았든, 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 핵염기 서열을, 가지는 임의의 올리고뉴클레오티드를 포함한다: DNA 염기를 포함하는 이러한 화합물, 예를 들어 서열 "ATCGATCG"를 가지는 화합물, 및 "AUCGATCG"와 같은 일부 DNA 염기 및

일부 RNA 엔지를 가지는 화합물 및 "AT<sup>me</sup>CGAUCG"와 같은 다른 변형 엔지를 가지는 올리고뉴클레오티드(여기서 <sup>me</sup>C는 5-메틸시토신을 나타냄).

[0502] *miR-122 조성물의 일정한 용도*

마이크로RNA miR-122는 간에서 발현되는 마이크로RNA로서 HCV의 복제를 위한 중요한 내인성 "숙주 인자"이고, miR-122를 표적화하는 올리고뉴클레오티드는 HCV 복제를 차단한다(Jopling *et al.* (2005) *Science* 309, 1577-81). C형 간염 바이러스에 만성적으로 감염된 침팬지에서 miR-122의 저해는 HCV RNA 수준을 낮춘다. HCV에 감염된 환자에서, miR-122의 저해는 항-miR-122 화합물의 5회 매주 용량투여 후 HCV RNA 수준에서 평균 2 로그 감소를 초래하였다. 본원에 기술된 화합물은 강력한 miR-122 활성의 저해제이다. 따라서, HCV에 감염된 대상체에 대한 본원에 제공된 화합물을 포함하는 HCV 감염의 치료를 위한 방법이 본원에 제공된다.

[0504] 본원에 제공된 화합물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 HCV에 감염된 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공된다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 HCV에 감염된 대상체를 선택하는 단계를 포함한다. 일정한 구현예에서, 대상체는 인간이다.

[0505] 일정한 구현예에서, 투여는 HCV 감염의 증상을 감소시킨다. HCV 감염의 증상은, 제한 없이, 간에서의 통증, 황달, 구토, 식욕의 소실, 및 피로를 포함한다.

[0506] HCV 치료 계획에 따르면, HCV에 감염된 대상체는 HCV RNA 수준의 감소 후, HCV RNA 수준의 증가를 경험할 수 있는데, 이러한 이어지는 증가는 HCV RNA 수준의 반등으로 알려져 있다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법 및 화합물은 HCV RNA 수준의 반등을 예방한다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법 및 화합물은 HCV RNA 수준의 반등을 지연시킨다.

[0507] HCV RNA 수준은 HCV 감염을 진단하고, 질환 활성을 모니터링하고, 치료에 대한 대상체의 반응을 모니터링하기 위해 사용될 수 있다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물의 투여는 HCV RNA 수준을 감소시킨다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 HCV RNA 수준을 감소시키기에 충분한 용량으로 투여된다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 밀리리터의 혈청 당 350,000 카페 초과, 밀리리터의 혈청 당 350,000 내지 3,500,000 카페, 또는 밀리리터의 혈청 당 3,500,000 카페 초과의 HCV RNA 수준을 가지는 대상체를 선택하는 단계를 포함한다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 HCV RNA 수준을 감소시키는 단계를 포함한다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 HCV RNA 수준을 밀리리터의 혈청 당 200 카페 미만, 밀리리터의 혈청 당 100 카페 미만, 또는 밀리리터의 혈청 당 40 카페 미만으로 감소시키는 단계를 포함한다. HCV RNA 수준은 "바이러스 로드" 또는 "HCV RNA 역가"로 지칭될 수 있다.

[0508] HCV RNA 수준에 대한 변화는 로그 변화로 기술될 수 있다. 예를 들어, HCV RNA 수준에서 60,000으로부터 600으로의 강하는 2-로그 강하일 수 있다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 2 로그 이상의 HCV RNA 수준 감소를 달성한다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 적어도 0.5배, 적어도 1.0배, 적어도 1.5배, 적어도 2.0배, 또는 적어도 2.5배의 HCV RNA 수준 감소를 달성한다.

[0509] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 지속적인 바이러스 반응을 달성하는 단계를 포함한다.

[0510] HCV에 감염된 대상체에서는 HCV 관련 질환이 발달될 수 있다. HCV 감염의 주요한 간연구학적 결과는 간경변 및 출혈, 간부전, 및 간세포 암종을 포함하는 간경변의 합병증이다. 추가적인 합병증은 세포외 매트릭스 구성성분의 침전을 유발하는 만성적인 염증의 결과인 섬유증으로서 간 구조의 변형 및 미세 순환 및 간 기능의 차단을 야기한다. 간경변이 진행되고, 섬유 조직이 쌓이면서, 심각한 피사염증 활성이 뒤따르고 지방증이 시작된다. 지방증은 당뇨병, 단백질 영양실조, 고혈압, 세포 독소, 비만, 무산소증을 포함하는 간의 병리를 야기한다. 섬유증 및 지방증이 심각해 지면서, 간은 결국 작동이 안 되고, 간 이식을 필요로 하게 될 것이다. HCV에 감염된 대상체에서는 또한 간세포 암종이 발달될 수 있다. 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 HCV 관련 질환을 가진다. 일정한 구현예에서, HCV 관련 질환은 간경변, 섬유증, 지방간염, 지방증, 및/또는 간세포 암종이다.

[0511] 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 하나 이상의 질환을 가진다. 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 HCV가 아닌 하나 이상의 바이러스에 감염된다. 일정한 구현예에서, HCV에 감염된 대상체는 인간 면역결핍 바이러스(HIV)에 감염된다.

[0512] 본원에 제공된 화합물은 하나 이상의 추가적인 치료제와 동시에 투여될 수 있다. 일정한 구현예에서, 하나 이상의 추가적인 치료제는 면역 요법, 면역조절제, 치료용 백신, 항섬유화제, 항염증제, 기관지 확장제, 뮤코다당류

분해제, 항무스카린제, 항류코트리엔제, 세포 부착의 저해제, 항산화제, 사이토카인 작용제, 사이토카인 길항제, 폐 계면활성제, 항미생물제, 항바이러스제, 항-HCV제, 항암제, 항-miR-122 화합물, RNAi 제제 또는 사이클로필린 저해제를 포함한다.

[0513] 일정한 구현예에서, 하나 이상의 추가적인 치료제는 프로테아제 저해제, 폴리머라제 저해제, 보조인자 저해제, RNA 폴리머라제 저해제, 구조 단백질 저해제, 비구조 단백질 저해제, 사이클로필린 저해제, 유입 저해제, TLR7 작용제, 및 인터페론으로부터 선택될 수 있다.

[0514] 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 구조 C<sub>L</sub>CA<sub>L</sub>TTG<sub>L</sub>T<sub>L</sub>CAC<sub>L</sub>AC<sub>L</sub>TC<sub>L</sub>C<sub>L</sub>(서열 번호 7)를 가지는 변형 올리고뉴클레오티드로서, 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; 첨자 "L"이 뒤따르는 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드를 나타내고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다. 일정한 구현예에서, 치료제는 GaINAc-접합 C<sub>L</sub>CA<sub>L</sub>TTG<sub>L</sub>T<sub>L</sub>CAC<sub>L</sub>AC<sub>L</sub>TC<sub>L</sub>C<sub>L</sub>(서열 번호 7)이다. 일부 구현예에서, C<sub>L</sub> 뉴클레오시드 모두는 <sup>Me</sup>C<sub>L</sub> 뉴클레오시드이되, 첨자 "Me"는 5-메틸시토신을 나타낸다.

[0515] 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 프로테아제 저해제, NS5A 저해제, NS3/4A 저해제, 뉴클레오시드 NS5B 저해제, 뉴클레오티드 NS5B 저해제, 비뉴클레오시드 NS5B 저해제, 사이클로필린 저해제 및 인터페론으로부터 선택된다.

[0516] 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 인터페론 알파콘(alfacon)-1, 폐그인터페론 알파-2b, 폐그인터페론 알파-2a, 인터페론-알파-2b 연장 방출제, 인터페론 람다, 소포스부비르(sofosbuvir), 리바비린(ribavirin), 텔라프라비르(telaprevir), 보세프레비르(bcoprevir), 바니프레비르(vaniprevir), 아수나프레비르(asunaprevir), 리토나비르(ritonavir), 세트로부비르(setrobuvir), 다클라타스비르(daclatasvir), 시메프레비르(simeprevir), 알리스포리비르(alisporivir), 메리시타빈(mericitabine), 테고부비르(tegobuvir), 다노프레비르(danoprevir), 소바프레비어(sovaprevir), 및 네세프레비르(neceprevir)로부터 선택된다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 팔다프레비르(faldaprevir), ABT-450, MK-5172, 메리시타빈, 레디파스비르(ledipasvir), 옴비타스비르(ombitasvir), GS-5816, MK-8742, 다사부비르(dasabuvir), BMS-791325, 및 ABT-072로부터 선택된다.

[0517] 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 인터페론, 리바비린, 및 텔라프라비르로부터 선택된다. 일정한 구현예에서, 인터페론은 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 인터페론 알파콘-1, 폐그인터페론 알파-2b, 및 폐그인터페론 알파-2a로부터 선택된다.

[0518] 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 폐그인터페론 알파-2b 및 리바비린을 포함한다. 예를 들어, 대상체는 본원에 제공된 화합물, 폐그인터페론 알파-2b 및 리바비린을 포함하는 치료요법을 제공받을 수 있다. 일정한 구현예에서, 적어도 하나 추가적인 치료제는 폐그인터페론 알파-2a 및 리바비린을 포함한다. 예를 들어, 대상체는 본원에 제공된 화합물, 폐그인터페론 알파-2a 및 리바비린을 포함하는 치료요법을 제공받을 수 있다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 옴비타스비르 및 ABT-450이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 아수나프레비르, 다클라타스비르, 및 BMS-791325이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 소포스부비르 및 레디파시브(ledipasivir)이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 MK-8742 및 MK-5172이다.

[0519] 일정한 치료요법, 예를 들어 인터페론 또는 리바비란(ribaviran) 치료요법을 제공받는 일정한 대상체는, HCV RNA 수준에서 유의하거나 치료적으로 이로운 감소를 경험하지 않을 수 있다. 이러한 대상체에게는 하나 이상의 추가적인 치료제의 투여가 유익할 수 있다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법의 대상체는 무반응자이다. 일정한 구현예에서, 대상체는 인터페론 무반응자이다. 일정한 구현예에서, 대상체는 직접 작용 항바이러스 무반응자이다.

[0520] 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 HIV 감염의 치료에 사용된 항바이러스제이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 비뉴클레오시드 역전사효소 저해제(NNRTI)이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 뉴클레오시드 역전사효소 저해제(NRTI)이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 프로테아제 저해제이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 유입 저해제 또는 융합 저해제이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 인테그라제 저해제이다. 일정한 구현예에서, 추가적인 치료제는 에파비렌즈(efavirenz), 에트라비린(etravirine), 네비라핀(nevirapine), 아바카비르(abacavir), 엠트리시타빈(emtricitabine), 테노포비르(tenofovir), 라미부딘(lamivudine), 지도부딘(zidovudine), 아타자나비르(atazanavir), 다루나비르(darunavir), 포삼프레나비르(fosamprenavir), 리토나비르(ritonavir), 엔푸비르티드(enfuvirtide), 마라비록(maraviroc), 및 랄테그라비르

(raltegravir)로부터 선택된다.

- [0521] HCV에 감염된 대상체는 빌리루빈, 알부민, 및 프로토민(prothrombin) 시간 중 하나 이상의 측정에 의해 평가되는, 비정상적인 간 기능을 경험할 수 있다. 간 효소인 알라닌 아미노트랜스페라제(ALT), 및 아스파르트산 아미노트랜스페라제(AST)의 측정을 수행하여 간 염증을 평가한다. 이러한 마커들 중 하나 이상의 비정상적인 수준은 비정상적인 간 기능을 나타낼 수 있다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 간 기능을 정상화하는 단계를 포함한다. 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 간 효소 수준을 정상화하는 단계를 포함한다.
- [0522] 본원에 제공된 임의의 방법에서, 화합물은 약학적 조성물 내에 존재할 수 있다.
- [0523] 본원에 제공된 화합물은 치료요법에서 사용될 수 있다. 일정한 구현예에서, 화합물은 HCV에 감염된 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 것이다. 일정한 구현예에서, 대상체는 인간이다. HCV에 감염된 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 화합물은, 일정한 구현예에서, 본원에 기술된 임의의 치료 방법에 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0524] 본원에 제공된 화합물을 miR-122 관련 병태를 가지는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 일정한 구현예에서, miR-122 관련 병태는 HCV 감염이다.
- [0525] 일정한 구현예에서, miR-122 관련 병태는 상승된 콜레스테롤이다. 일정한 구현예에서, 항-miR-122 화합물의 대상체로의 투여는 감소된 혈청 콜레스테롤을 초래한다. 따라서, 일정한 구현예에서, 대상체에게 본원에 제공된 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 콜레스테롤을 저하시키는 방법이 본원에 제공된다. 일정한 구현예에서, 콜레스테롤 수준은, 단독 또는 다른 효능 지표, 예를 들어, HCV RNA 수준의 감소에 더하여, 본원에 제공된 항-miR-122 화합물의 활성을 평가하는 바이오마커로서 사용될 수 있다. 따라서, 본원에 제공된 화합물 대상체에 투여하는 단계, 대상체로부터 혈액 시료를 수집하는 단계, 및 대상체로부터의 혈액 시료에서 콜레스테롤을 측정하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 콜레스테롤의 수준은 대상체 내 항-miR-122 화합물 활성의 지표로 사용될 수 있다.
- [0526] 일정한 구현예에서, miR-122 관련 병태는 지방증이다. 따라서, 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 대상체 내에서 지방증을 감소시키는 방법이 본원에 제공된다.
- [0527] 일정한 구현예에서, miR-122 관련 병태는 철분 과부하 장애이다. 철분 과부하 장애는 신체가 과량의 철분을 흡수하게 하는 유전적인 돌연변이의 결과로 발생할 수 있다. 철분 과부하 장애는, 또한, 이에 제한되지는 않으나, 만성 수혈, 만성 간염, 또는 과량의 철분의 섭취를 포함하는 비유전적인 원인을 가질 수도 있다. 일정한 구현예에서, 철분 과부하 장애는 수혈 철분 과부하, 식이 철분 과부하, 유전적 혈색소침착증, 경상 세포 질환, 탈라세미아, X-관련 철아구성 빈혈, 피루베이트 키나제 결핍, 및 글루코스-6-포스페이트 데하이드로제나제 결핍으로부터 선택된다. 일정한 구현예에서, 철분 과부하 장애는 혈색소침착증 유형 1, 혈색소침착증 유형 2A, 혈색소침착증 유형 2B, 혈색소침착증 유형 3, 혈색소침착증 유형 4(또는 폐로포틴 질환), 아프리카 혈색소침착증, 신생아 혈색소침착증, 선천성철분대사이상증, 및 무트랜스페린증로부터 선택된 유전적인 혈색소침착증이다. 일정한 구현예에서, 철분 과부하 장애를 가지는 대상체로의 본원에 제공된 화합물의 투여는 대상체의 신체 내 과량의 철분의 감소를 야기한다.
- [0528] 일정한 변형
- [0529] 변형 올리고뉴클레오티드는 핵염기, 당, 및/또는 뉴클레오시드 간 결합에 대해 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 원하는 성질, 예를 들어, 향상된 세포내 흡수, 다른 올리고뉴클레오티드 또는 핵산 표적에 대한 향상된 친화도 및 뉴클레아제의 존재 하에 증가된 안정성으로 인해, 미변형 형태보다는 변형 핵염기, 당, 및/또는 뉴클레오시드 간 결합이 선택될 수 있다.
- [0530] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형 뉴클레오시드를 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 뉴클레오시드는 안정화 뉴클레오시드이다. 안정화 뉴클레오시드의 일 예는 2'-변형 뉴클레오시드이다.
- [0531] 일정한 구현예에서, 변형 뉴클레오시드는 변형 당 모이어티를 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 당 모이어티를 포함하는 변형 뉴클레오시드는 미변형 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 당은 변형 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 뉴클레오시드는 2'-변형 뉴클레오시드이다.
- [0532] 일정한 구현예에서, 2'-변형 뉴클레오시드는 이환식 당 모이어티를 포함한다. 이러한 일정한 구현예에서, 이환식 당 모이어티는 알파 형태인 D 당이다. 이러한 일정한 구현예에서, 이환식 당 모이어티는 베타 형태인 D 당이다. 이러한 일정한 구현예에서, 이환식 당 모이어티는 알파 형태인 L 당이다. 이러한 일정한 구현예에서, 이환

식 당 모이어티는 베타 형태인 L 당이다.

[0533]

일정한 구현예에서, 이환식 당 모이어티는 2' 및 4'-탄소 원자 사이에 가교기를 포함한다. 이러한 일정한 구현예에서, 가교기는 1 내지 8개의 결합된 2라디칼기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 이환식 당 모이어티는 1 내지 4개의 결합된 2라디칼기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 이환식 당 모이어티는 2 또는 3개의 결합된 2라디칼기를 포함한다. 이러한 4' 내지 2' 당 치환체의 예는, 이에 제한되지는 않으나, 다음을 포함한다:  $-(C(R_a)(R_b))_{n-}$ ,  $-(C(R_a)(R_b))_{n-}O-$ ,  $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$  또는,  $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$ ; 4'-CH<sub>2</sub>-2', 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-2', 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2'; 4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2'(LNA); 4'-(CH<sub>2</sub>)-S-2'; 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'(ENA); 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'(cEt) 및 4'-C-H(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-O-2', 및 이의 유사체(예를 들어, 2008년 7월 15일에 발행된 미국 특허 7,399,845 참조); 4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)-O-2' 및 이의 유사체(예를 들어, 2009년 1월 8일에 공개된 WO2009/006478 참조); 4'-CH<sub>2</sub>-N(OCH<sub>3</sub>)-2' 및 이의 유사체(예를 들어, 2008년 12월 11일에 공개된 WO2008/150729 참조); 4'-CH<sub>2</sub>-O-N(CH<sub>3</sub>)-2'(예를 들어, 2004년 9월 2일에 공개된 US2004/0171570 참조); 4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2', 및 4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2'-, 여기서 각각의 R은, 독립적으로, H, 보호기, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬임; 4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2', 여기서 R은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, 또는 보호기임(2008년 9월 23일에 발행된 미국 특허 7,427,672 참조); 4'-CH<sub>2</sub>-C-(H)(CH<sub>3</sub>)-2'(예를 들어, Chattopadhyaya, et al., *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134 참조); 및 4'-CH<sub>2</sub>-C-(=CH<sub>2</sub>)-2' 및 이의 유사체(2008년 12월 8일에 공개된 공개 PCT 국제 출원 WO 2008/154401 참조).

[0534]

일정한 구현예에서, 이러한 4'에서 2'으로의 가교는, 독립적으로,  $-(C(R_a)(R_b))_{n-}$ ,  $-C(R_a)=C(R_b)-$ ,  $-C(R_a)=N-$ ,  $-C(=NR_a)-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-C(=S)-$ ,  $-O-$ ,  $-Si(R_a)_2-$ ,  $-S(=O)_x-$ , 및 N(R<sub>a</sub>)-로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2 내지 4 개의 결합기를 포함하되;

[0535]

여기서:

[0536]

x는 0, 1, 또는 2이고;

[0537]

n은 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0538]

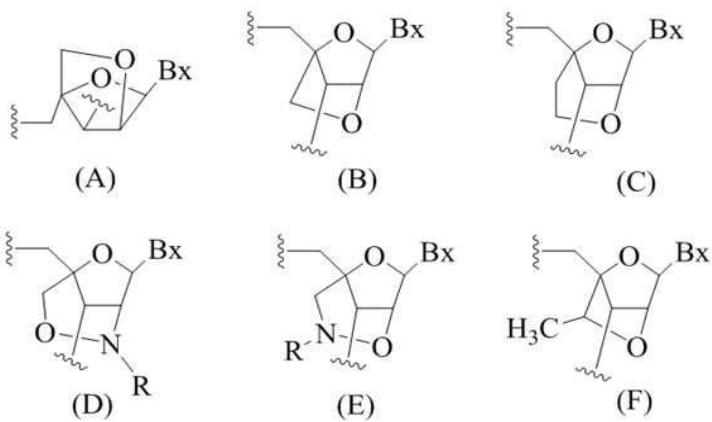
각각의 R<sub>a</sub> 및 R<sub>b</sub>는, 독립적으로, H, 보호기, 하이드록실, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알케닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알케닐, C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알키닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알키닐, C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> 아릴, 치환된 C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> 아릴, 헤테로환 라디칼, 치환된 헤테로환 라디칼, 헤테로아릴, 치환된 헤�테로아릴, C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> 지환식 라디칼, 치환된 C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> 지환식 라디칼, 할로겐, OJ<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, SJ<sub>1</sub>, N<sub>3</sub>, COOJ<sub>1</sub>, 아실(C(=O)-H), 치환된 아실, CN, 설포닐(S(=O)<sub>2</sub>-J<sub>1</sub>), 또는 설포실(S(=O)-J<sub>1</sub>)이고;

[0539]

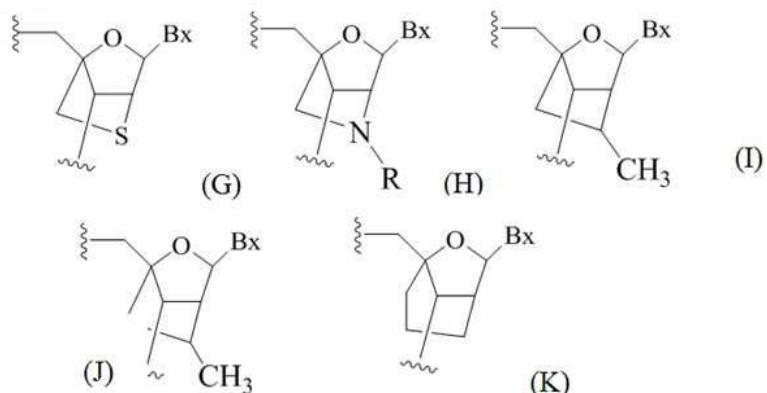
각각의 J<sub>1</sub> 및 J<sub>2</sub>는, 독립적으로, H, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알케닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알케닐, C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알키닐, 치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알키닐, C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> 아릴, 치환된 C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> 아릴, 아실(C(=O)-H), 치환된 아실, 헤�테로환 라디칼, 치환된 헤�테로환 라디칼, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 아미노알킬, 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 아미노알킬, 또는 보호기이다.

[0540]

이환식 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드는 이환식 뉴클레오시드 또는 BNA로 지칭된다. 일정한 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는, 이에 제한되지는 않으나, 아래에 도시된 바와 같은, (A)  $\alpha$ -L-메틸렌옥시(4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA; (B)  $\beta$ -D-메틸렌옥시(4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA; (C) 에틸렌옥시(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2') BNA; (D) 아미노옥시(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2') BNA; (E) 옥시아미노(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2') BNA; (F) 메틸(메틸렌옥시)(4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2') BNA(또한, 제한 에틸 또는 cEt로도 지칭됨); (G) 메틸렌-티오(4'-CH<sub>2</sub>-S-2') BNA; (H) 메틸렌-아미노(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-2') BNA; (I) 메틸 탄소환(4'-CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-2') BNA; (J) c-MOE(4'-CH<sub>2</sub>-OMe-2') BNA 및 (K) 프로필렌 탄소환(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2') BNA를 포함한다.



[0541]



[0542]

[0543]

여기서 Bx는 핵염기 모이어티이고 R은, 독립적으로, H, 보호기, 또는  $C_1-C_{12}$  알킬이다.

[0544]

일정한 구현예에서, 2'-변형 뉴클레오시드는 할로, 알릴, 아미노, 아지도, SH, CN, OCN,  $CF_3$ ,  $OCF_3$ , O-, S-, 또는  $N(R_m)-$ 알킬; O-, S-, 또는  $N(R_m)-$ 알케닐; O-, S- 또는  $N(R_m)-$ 알키닐; O-알킬레닐-O-알킬, 알키닐, 알카릴, 아랄킬, O-알카릴, O-아랄킬,  $O(CH_2)_2SCH_3$ ,  $O-(CH_2)_2-O-N(R_m)(R_n)$  또는  $O-CH_2-C(=O)-N(R_m)(R_n)$ (여기서, 각각의  $R_m$  및  $R_n$ 은, 독립적으로, H, 아미노 보호기 또는 치환 또는 미치환  $C_1-C_{10}$  알킬임)로부터 선택된 2'-치환기를 포함한다. 이러한 2'-치환기는 하이드록실, 아미노, 알콕시, 카복시, 벤질, 페닐, 니트로( $NO_2$ ), 티올, 티오알콕시(S-알킬), 할로겐, 알킬, 아릴, 알케닐 및 알키닐로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환기로 더 치환될 수 있다.

[0545]

일정한 구현예에서, 2'-변형 뉴클레오시드는 F,  $NH_2$ ,  $N_3$ ,  $OCF_3$ ,  $O-CH_3$ ,  $O(CH_2)_3NH_2$ ,  $CH_2-CH=CH_2$ ,  $O-CH_2-CH=CH_2$ ,  $OCH_2CH_2OCH_3$ ,  $O(CH_2)_2SCH_3$ ,  $O-(CH_2)_2-O-N(R_m)(R_n)$ ,  $-O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ , 및 N-치환된 아세트아미드( $O-CH_2-C(=O)-N(R_m)(R_n)$ (여기서, 각각의  $R_m$  및  $R_n$ 은, 독립적으로, H, 아미노 보호기 또는 치환 또는 미치환  $C_1-C_{10}$  알킬임)로부터 선택된 2'-치환기를 포함한다.

[0546]

일정한 구현예에서, 2'-변형 뉴클레오시드는 F,  $OCF_3$ ,  $O-CH_3$ ,  $OCH_2CH_2OCH_3$ ,  $2'-O(CH_2)_2SCH_3$ ,  $O-(CH_2)_2-O-N(CH_3)_2$ ,  $-O(CH_2)_2O(CH_2)_2N-(CH_3)_2$ , 및  $O-CH_2-C(=O)-N(H)CH_3$ 로부터 선택된 2'-치환기를 포함한다.

[0547]

일정한 구현예에서, 2'-변형 뉴클레오시드는 F,  $O-CH_3$ , 및  $OCH_2CH_2OCH_3$ 로부터 선택된 2'-치환기를 포함한다.

[0548]

일정한 구현예에서, 2'-변형 뉴클레오시드는 4'-티오 변형 뉴클레오시드이다. 일정한 구현예에서, 2'-변형 뉴클레오시드는 4'-티오-2'-변형 뉴클레오시드이다. 4'-티오 변형 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-리보뉴클레오시드를 가지는데, 여기서 4'-O는 4'-S로 대체된다. 4'-티오-2'-변형 뉴클레오시드는 2'-치환기로 대체된 2'-OH를 가지는 4'-티오 변형 뉴클레오시드이다. 적합한 2'-치환기는 2'- $OCH_3$ , 2'- $O-(CH_2)_2OCH_3$ , 및 2'-F를 포함한다.

- [0549] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 뉴클레오시드 간 변형을 포함한다. 이러한 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 변형 뉴클레오시드 간 결합이다. 일정한 구현예에서, 변형 뉴클레오시드 간 결합은 인 원자를 포함한다.
- [0550] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합을 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.
- [0551] 일정한 구현예에서, 변형 뉴클레오시드 간 결합은 인 원자를 포함하지 않는다. 이러한 일정한 구현예에서, 뉴클레오시드 간 결합은 단체 알킬 뉴클레오시드 간 결합에 의해 형성된다. 이러한 일정한 구현예에서, 뉴클레오시드 간 결합은 사이클로알킬 뉴클레오시드 간 결합에 의해 형성된다. 이러한 일정한 구현예에서, 뉴클레오시드 간 결합은 혼합 헤테로원자 및 알킬 뉴클레오시드 간 결합에 의해 형성된다. 이러한 일정한 구현예에서, 뉴클레오시드 간 결합은 혼합 헤테로원자 및 사이클로알킬 뉴클레오시드 간 결합에 의해 형성된다. 이러한 일정한 구현예에서, 뉴클레오시드 간 결합은 하나 이상의 단체 헤테로원자 뉴클레오시드 간 결합에 의해 형성된다. 이러한 일정한 구현예에서, 뉴클레오시드 간 결합은 하나 이상의 헤테로환 뉴클레오시드 간 결합에 의해 형성된다. 이러한 일정한 구현예에서, 뉴클레오시드 간 결합은 아미드 골격을 가진다. 이러한 일정한 구현예에서, 뉴클레오시드 간 결합은 혼합 N, O, S 및  $\text{CH}_2$  구성성분 부분을 가진다.
- [0552] 일정한 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형 핵염기를 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 핵염기는 7-데아자구아닌, 7-데아자아데닌, 하이포잔틴, 잔틴, 7-메틸구아닌, 2-아미노피리딘 및 2-피리돈으로부터 선택된다. 일정한 구현예에서, 변형 핵염기는 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실 및 5-프로피닐시토신을 포함하는, 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린으로부터 선택된다.
- [0553] 일정한 구현예에서, 변형 핵염기는 다환식 헤테로환을 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 핵염기는 삼환식 헤테로환을 포함한다. 일정한 구현예에서, 변형 핵염기는 폐녹사진 유도체를 포함한다. 일정한 구현예에서, 폐녹사진은 더 변형되어 당해 분야에 G-클램프로 알려진 핵염기를 형성할 수 있다.
- [0554] 이러한 일정한 구현예에서, 화합물은, 예를 들어 뉴클라제 안정성과 같은 성질을 향상시키기 위해 변형 올리고뉴클레오티드의 하나의 말단 또는 양 말단에 부착된 하나 이상의 안정화기를 가지는 변형 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 안정화기에는 캡 구조가 포함된다. 이러한 말단 변형은 변형 올리고뉴클레오티드를 엑소뉴클라제 분해로부터 보호하고, 세포 내 전달 및/또는 국소화를 도울 수 있다. 캡은 5'-말단(5'-캡), 또는 3'-말단(3'-캡)에 존재할 수 있거나, 양 말단에 존재할 수 있다. 캡 구조는, 예를 들어, 역전 데옥시 무염기 캡을 포함한다.
- [0555] 적합한 캡 구조는 4',5'-메틸렌 뉴클레오티드, 1-(베타-D-에리트로퓨라노실) 뉴클레오티드, 4'-티오 뉴클레오티드, 탄소환 뉴클레오티드, 1,5-안하이드로헥시톨 뉴클레오티드, L-뉴클레오티드, 알파-뉴클레오티드, 변형 염기 뉴클레오티드, 포스포로디티오에이트 결합, 트레오-펜토퓨라노실 뉴클레오티드, 무고리형 3',4'-세코 뉴클레오티드, 및 무고리형 3,4-디하이드록시부틸 뉴클레오티드, 무고리형 3,5-디하이드록시펜틸 뉴클레오티드, 3'-3'-역전(inverted) 뉴클레오티드 모이어티, 3'-3'-역전 무염기 모이어티, 3'-2'-역전 뉴클레오티드 모이어티, 3'-2'-역전 무염기 모이어티, 1,4-부탄디올 포스페이트, 3'-포스포라미데이트, 핵실포스페이트, 아미노핵실 포스페이트, 3'-포스페이트, 3'-포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 가교 메틸포스포네이트 모이어티, 및 비가교 메틸포스포네이트 모이어티 5'-아미노-알킬 포스페이트, 1,3-디아미노-2-프로필 포스페이트, 3-아미노프로필 포스페이트, 6-아미노핵실 포스페이트, 1,2-아미노도데실 포스페이트, 하이드록시프로필 포스페이트, 5'-5'-역전 뉴클레오티드 모이어티, 5'-5'-역전 무염기 모이어티, 5'-포스포라미데이트, 5'-포스포로티오에이트, 5'-아미노, 가교 및/또는 비가교 5'-포스포라미데이트, 포스포로티오에이트, 및 5'-머캅토 모이어티를 포함한다.
- [0556] 일정한 합성 방법
- [0557] 변형 올리고뉴클레오티드는 당해 분야에 알려진 자동화된 고체상 합성 방법으로 제조될 수 있다. 고체 상 합성 중, 포스포라미디트 단량체들은 고체 지지체에 공유결합적으로 결합된 뉴클레오시드에 순차적으로 커플링된다. 이러한 뉴클레오시드는 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단 뉴클레오시드이다. 통상적으로, 커플링 사이클은 다음의 4가지 단계를 포함한다: 탈트리틸화(산을 이용한 5'-하이드록실 보호기의 제거), 커플링(지지체에 결합된 뉴클레오시드 또는 올리고뉴클레오티드에 활성화된 포스포로아미디트의 부착), 산화 또는 황화(산화제 또는 황화제를 이용한 새로 형성된 포스파이트 3개의 전환) 및 캡핑(미반응 5'-하이드록실기의 아세틸화). 마지막 커플링 사이클 후, 고체 지지체에 결합된 올리고뉴클레오티드는 탈트리틸화 단계를 거치고, 올리고뉴클레오티드를

고체 지지체로부터 방출하고 동시에 염기로부터의 보호기를 제거하는 절단 및 탈보호 단계가 이어진다. 고체 지지체는 여과에 의해 제거되고, 여과물이 농축되고, 식별 및 순도에 대해 얻어진 용액을 시험한다. 그런 다음, 올리고뉴클레오티드를, 예를 들어 음이온 교환 수지로 패킹된 컬럼을 이용하여 정제한다.

[0558] Ga1NAc가 접합된 변형 올리고뉴클레오티드는 미접합 올리고뉴클레오티드를 생성하였던 고체상 합성과 유사한 자동화된 고체상 합성으로 제조될 수 있다. Ga1NAc가 접합된 올리고뉴클레오티드의 합성 중, 포스포라미디트 단량체들은 고체 지지체에 공유 결합된 Ga1NAc 접합체에 순차적으로 커플링된다. Ga1NAc 접합체 및 Ga1NAc 접합체 고체 지지체의 합성은, 예를 들어, 미국 특허 번호 8,106,022, 및 국제 출원 공개 번호 WO 2013/033230에 기술되어 있으며, 각각은, 하나 이상의 Ga1NAc 모이어티를 함유하는 접합체를 포함하는 탄수화물-함유 접합체의 합성 및 고체 지지체에 공유 결합된 접합체의 합성에 대한 기술내용 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0559] 일정한 약학적 조성물

[0560] 본원에 제공된 임의의 화합물은 약학적 조성물로서 제조될 수 있다. 일정한 구현예에서, 약학적 조성물은 투여 단위(예를 들어, 정제, 캡슐, 볼러스 등)의 형태로 투여된다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 본원에 제공된 화합물을 25 mg 내지 800 mg, 25 mg 내지 700 mg, 25 mg 내지 600 mg, 25 mg 내지 500 mg, 25 mg 내지 400 mg, 25 mg 내지 300 mg, 25 mg 내지 200 mg, 25 mg 내지 100 mg, 100 mg 내지 800 mg, 200 mg 내지 800 mg, 300 mg 내지 800 mg, 400 mg 내지 800 mg, 500 mg 내지 800 mg, 600 mg 내지 800 mg, 100 mg 내지 700 mg, 150 mg 내지 650 mg, 200 mg 내지 600 mg, 250 mg 내지 550 mg, 300 mg 내지 500 mg, 300 mg 내지 400 mg, 및 400 mg 내지 600 mg으로부터 선택된 범위 내의 용량으로 포함한다. 일정한 구현예에서, 이러한 약학적 조성물은 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, 및 800 mg로부터 선택된 용량으로 존재하는 본원에 제공된 화합물을 포함한다. 이러한 일정한 구현예에서, 약학적 조성물은 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, 및 800 mg으로부터 선택된 용량의 본원에 제공된 화합물을 포함한다.

[0561] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 화합물을 포함하는 약학적 조성물은 10 mg/kg 이하, 9 mg/kg 이하, 8 mg/kg 이하, 7.5 mg/kg 이하, 7 mg/kg 이하, 6.5 mg/kg 이하, 6 mg/kg 이하, 5.5 mg/kg 이하, 5 mg/kg 이하, 4.5 mg/kg 이하, 4 mg/kg 이하, 3.5 mg/kg 이하, 3 mg/kg 이하, 2.5 mg/kg 이하, 2 mg/kg 이하, 1.5 mg/kg 이하, 1 mg/kg 이하, 0.75 mg/kg 이하, 0.5 mg/kg 이하, 또는 0.25 mg/kg 이하의 용량으로 투여된다.

[0562] 일정한 구현예에서, 약학적 제제는 적합한 희석액, 예를 들어 주사용 멸균수 또는 주사용 멸균 염수에 재구성된 멸균 동결건조 화합물이다. 재구성된 생성물은 염수 내에 희석된 후 피하 주사 또는 정맥내 주입으로 투여된다. 동결건조된 약물 생성물은, 제조 중 산 또는 염기로 pH를 7.0 내지 9.0으로 조정한 후 동결건조된, 주사용 물 또는 주사용 염수 내에 제조된 화합물로 이루어진다. 동결건조된 화합물은 25 내지 800 mg의 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 이러한 화합물은 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 및 800 mg의 변형된 동결건조 올리고뉴클레오티드를 포함하는 것으로 이해된다. 나아가, 일부 구현예에서, 동결건조된 화합물은 25 mg 내지 800 mg, 25 mg 내지 700 mg, 25 mg 내지 600 mg, 25 mg 내지 500 mg, 25 mg 내지 400 mg, 25 mg 내지 300 mg, 25 mg 내지 200 mg, 25 mg 내지 100 mg, 100 mg 내지 800 mg, 200 mg 내지 800 mg, 300 mg 내지 800 mg, 400 mg 내지 800 mg, 500 mg 내지 800 mg, 600 mg 내지 800 mg, 100 mg 내지 700 mg, 150 mg 내지 650 mg, 200 mg 내지 600 mg, 250 mg 내지 550 mg, 300 mg 내지 500 mg, 300 mg 내지 400 mg, 또는 400 mg 내지 600 mg의 범위 내 양으로 존재한다. 동결건조된 약물 생성물은 2 mL 유형 I, 투명한 유리 바이알(황산 암모늄 처리됨) 내에 포

장되고, 브로모부틸 고무 마개로 덮어지고, 알루미늄 FLIP-OFF® 오버실로 밀봉될 수 있다.

[0563] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 화합물을 치료적으로 유효한 양으로 포함한다. 일정한 구현예에서, 치료적으로 유효한 양은 질환의 증상을 예방하고, 완화하고, 개선하거나, 치료되는 대상체의 생존을 연장하기에 충분하다. 치료적으로 유효한 양의 결정은 충분히 당업자의 능력 내이다.

[0564] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 그들의 분야에 확립된 이용 수준으로 약학적 조성물 내에서 통상적으로 발견되는 다른 부 구성성분들을 추가적으로 함유할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 조성물은 추가적인, 적합한, 약학적으로 활성인 물질들, 예를 들어, 항소양제, 수렴제, 국소 마취제 또는 항염증제를 함유할 수 있거나 본 발명의 조성물의 다양한 투여 형태를 물리적으로 제형화하는데 유용한 추가적인 물질, 예를 들어 염료, 향미제, 보존제, 항산화제, 유백제, 점증제 및 안정화제를 함유할 수 있다. 그러나 이러한 물질들은, 첨가될 때, 본 발명의 조성물의 구성성분의 생물학적 활성을 과도하게 방해하지 않아야 한다. 제형은 멸균되고, 원한다면, 제형의 올리고뉴클레오티드(들)와 유해한 상호작용을 하지 않는 보조제, 예를 들어, 윤활제, 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 삼투압에 영향을 주는 염, 완충제, 착색제, 향미제 및/또는 방향족 물질 등과 혼합될 수 있다.

[0565] 지질 모이어티는 핵산 치료요법에서 다양한 방법으로 사용되어오고 있다. 하나의 방법에서, 핵산은 양이온성 지질 및 중성 지질의 혼합물로 만들어진 예비형성된 리포좀 또는 리포플렉스에 도입된다. 다른 방법에서, 단일- 또는 다중-양이온성 지질과의 DNA 복합체가 중성 지질의 존재 없이 형성된다. 일정한 구현예에서, 지질 모이어티는 특정 세포 또는 조직으로의 약학적 제제의 분포를 증가시키기 위해 선택된다. 일정한 구현예에서, 지질 모이어티는 지방 조직으로의 약학적 제제의 분포를 증가시키기 위해 선택된다. 일정한 구현예에서, 지질 모이어티는 근육 조직으로의 약학적 제제의 분포를 증가시키기 위해 선택된다.

[0566] 일정한 구현예에서, 인트라리피드(INTRALIPID)는 올리고뉴클레오티드를 포함하는 약학적 조성물을 제조하기 위해 사용된다. 인트라리피드는 정맥내 투여용으로 제조된 지방 에멀젼이다. 인트라리피드는 10% 대두유, 1.2% 난황 인지질, 2.25% 글리세린, 및 주사용수로 구성된다. 또한, 최종 생성물의 pH 범위가 6 내지 8.9가 되도록 pH를 조정하기 위해 수산화 나트륨이 첨가된다.

[0567] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 핵산과 복합체화된 지질 모이어티 또는 폴리아민 화합물을 포함한다. 이러한 제제는 지질 제제의 개시내용에 대해 그 전체가 참조로서 본원에 포함된 PCT 공개 WO/2008/042973에 기술되어 있다. 일정한 추가적인 제제는 지질 제제의 개시내용에 대해 그 전체가 참조로서 본원에 포함된 문헌(Akinc et al., *Nature Biotechnology* 26, 561-569(01 May 2008))에 기술되어 있다.

[0568] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 하나 이상의 화합물 및 하나 이상의 부형제를 포함한다. 이러한 일정한 구현예에서, 부형제는 물, 염 용액, 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 락토스, 아밀라제, 마그네슘 스테아레이트, 탈크, 규산, 점성 파라핀, 하이드록시메틸셀룰로스 및 폴리비닐피롤리돈으로부터 선택된다.

[0569] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은, 이에 제한되지는 않으나, 혼합, 용해, 과립화, 당의정화, 가루화, 유화, 캡슐화, 내장 또는 타정 공정을 포함하는 알려진 기술을 사용하여 제조된다.

[0570] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 액체(예를 들어, 혼탁액, 엘리서 및/또는 용액)이다. 일정한 이러한 구현예에서, 약학적 액체 조성물은, 이에 제한되는 않으나, 물, 글리콜, 오일, 알코올, 향미제, 보존제, 및 착색제를 포함하는, 당해 분야에 알려진 성분들을 사용하여 제조된다.

[0571] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 고체(예를 들어, 분말, 정제, 및/또는 캡슐)이다. 일정한 이러한 구현예에서, 하나 이상의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 약학적 고체 조성물은, 이에 제한되지는 않으나, 전분, 당, 희석제, 과립제, 윤활제, 결합제, 및 봉해제를 포함하는, 당해 분야에 알려진 성분들을 사용하여 제조된다.

[0572] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 데포(depot) 제제로서 제형화된다. 일정한 이러한 데포 제제는 비데포 제제보다 통상적으로 더 길게 작용한다. 일정한 구현예에서, 이러한 제제는(예를 들어, 피하 또는 근육내) 이식 또는 근육내 주사에 의해 투여된다. 일정한 구현예에서, 데포 제제는 적합한 폴리머 또는 소수성 물질(예를 들어, 허용가능한 오일 내 에멀젼) 또는 이온 교환 수지를 이용하여 제조되거나 약하게 용해되는 유도체, 예를 들어 약하게 용해되는 염으로서 제조된다.

[0573] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 전달 시스템을 포함한다. 예시적인 전달 시스템은, 이에 제한되지는 않으나, 리포좀 및 에멀젼을 포함한다. 일정한 전달 시스템은 소수성 화합물들을 포함하는 조성물을

포함하는 일정한 약학적 조성물의 제조에 유용하다. 일정한 구현예에서, 일정한 유기 용매, 예를 들어 디메틸설폭사이드가 사용된다.

[0574] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 본원에 제공된 하나 이상의 화합물을 특이적 조직 또는 세포 유형에 전달하도록 설계된 하나 이상의 조직 특이적 전달 분자를 포함한다. 예를 들어, 일정한 구현예에서, 약학적 조성물은 조직 특이적 항체로 코팅된 리포좀을 포함한다.

[0575] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 공용매 시스템을 포함한다. 일정한 이러한 공용매 시스템은, 예를 들어, 벤질 알코올, 비극성 계면활성제, 물과 혼화되는 유기 폴리머, 및 수용성 상을 포함한다. 일정한 구현예에서, 이러한 공용매 시스템은 소수성 화합물을 위해 사용된다. 이러한 공용매 시스템의 비제한적인 예는 3% w/v 벤질 알코올, 8% w/v의 비극성 계면활성제 폴리소르베이트 80™ 및 65% w/v 폴리에틸렌 글리콜 300을 포함하는 무수 에탄올의 용액인 VPD 공용매 시스템이다. 이러한 공용매 시스템의 비율은 그들의 용해도 및 독성 특성을 유의하게 바꾸지 않으면서 상당히 다양할 수 있다. 나아가, 공용매 구성성분의 종류는 다양할 수 있다: 예를 들어, 다른 계면활성제가 폴리소르베이트 80™ 대신에 사용될 수 있다; 폴리에틸렌 글리콜의 분획 크기는 다양할 수 있다; 다른 생체적합성 폴리머, 예를 들어 폴리비닐 피롤리돈이 폴리에틸렌 글리콜을 대체할 수 있다; 그리고, 다른 당 또는 다당류가 텍스트로스를 치환할 수 있다.

[0576] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 지역 방출 시스템을 포함한다. 이러한 지역 방출 시스템의 비제한적인 예는 고체 소수성 폴리머의 반투과성 매트릭스이다. 일정한 구현예에서, 지역 방출 시스템은, 그들의 화학적 성질에 따라, 수시간, 수일, 수주 또는 수개월의 기간 동안 약학적 제제를 방출할 수 있다.

[0577] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 경구 투여용으로 제조된다. 일정한 이러한 구현예에서, 약학적 조성물은 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 하나 이상의 화합물을 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 제형화된다. 일정한 이러한 담체는 약학적 조성물이 대상체에 의한 경구 흡수를 위한 정제, 알약, 당의정, 캡슐, 액제, 젤, 시럽, 슬러리, 혼탁액 등으로 제형화될 수 있도록 한다. 일정한 구현예에서, 경구 용 약학적 조성물은 올리고뉴클레오티드와 하나 이상의 고체 부형제를 혼합함으로써 얹어진다. 적합한 부형제는, 이에 제한되지는 않으나, 충진제, 예를 들어, 락토스, 수크로스, 만니톨, 또는 소르비톨을 포함하는 당; 셀룰로스 제제, 예를 들어 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트 검, 메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸-셀룰로스, 소디움 카복시메틸셀룰로스, 및/또는 폴리비닐피롤리돈(PVP)을 포함한다. 일정한 구현예에서, 이러한 혼합물은 선택적으로 산제이고, 보조제들이 선택적으로 첨가된다. 일정한 구현예에서, 정제 또는 당의정 코어가 수득되도록 약학적 조성물이 형성된다. 일정한 구현예에서, 봉해제(예컨대, 가교 결합된 폴리비닐 피롤리돈, 아가, 또는 알긴산 또는 이의 염, 예를 들어 알긴산 나트륨)이 첨가된다.

[0578] 일정한 구현예에서, 당의정 코어는 코팅을 구비한다. 이러한 일정한 구현예에서, 선택적으로 아라비아 검, 텔크, 폴리비닐 피롤리돈, 카보풀 젤, 폴리에틸렌 글리콜, 및/또는 이산화 티탄, 래커 용액, 및 적합한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 함유할 수 있는, 농축된 당 용액이 사용될 수 있다. 염료물질류 또는 색소가 정제 또는 당의정 코팅에 첨가될 수 있다.

[0579] 일정한 구현예에서, 경구 투여용 약학적 조성물은 젤라틴으로 만들어진 푸쉬-핏(push-fit) 캡슐이다. 일정한 이러한 푸쉬-핏 캡슐은 하나 이상의 충진제, 예를 들어 락토스, 결합제 예를 들어 전분, 및/또는 윤활제 예를 들어 탈크 또는 마그네슘 스테아레이트, 그리고 선택적으로, 안정화제와 혼합된 본 발명의 하나 이상의 약학적 제제를 포함한다. 일정한 구현예에서, 경구 투여용 약학적 조성물은, 젤라틴 및 가소제, 예를 들어, 글리세롤 또는 소르비톨로 만들어진 부드럽고, 밀봉된 캡슐이다. 일정한 연질 캡슐에서, 본 발명의 하나 이상의 약학적 제제는 적합한 액체, 예를 들어 지방산 오일, 액체 파라핀, 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜 중에 용해되거나 혼탁된다. 또한, 안정화제가 첨가될 수 있다.

[0580] 일정한 구현예에서, 약학적 조성물은 구강 투여를 위해 제조된다. 일정한 이러한 약학적 조성물은 통상적인 방식으로 제형화된 정제 또는 로렌지(lozenge)이다.

[0581] 일정한 구현예에서, 약학적 조성물은 (예를 들어, 정맥내, 피하, 근육내 등) 주사에 의한 투여용으로 제조된다. 일정한 이러한 구현예에서, 약학적 조성물은 담체를 포함하고, 수용액, 예를 들어 물 또는 생리학적으로 적합한 완충액, 예를 들어 행크 용액(Hanks's solution), 링거 용액(Ringer's solution) 또는 생리학적 염수 완충액 내에 제형화된다. 일정한 구현예에서, 다른 성분(예를 들어, 용해도에 도움을 주거나 보존제로서의 역할을 하는 성분들)들이 포함된다. 일정한 구현예에서, 주사가능한 혼탁액은 적절한 액체 담체, 혼탁제 등을 사용하여 제조된다. 주사를 위한 일정한 약학적 조성물은 단위 투여 형태, 예를 들어, 앰플 또는 다용량 용기 내에 존재한다.

주사를 위한 일정한 약학적 조성물은 유성 또는 수성 비허를 중 혼탁액, 용액 또는 에멀젼이고, 제형화제, 예를 들어 혼탁제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 주사용 약학적 조성물에 사용하기에 적합한 일정한 용매는, 이에 제한되지는 않으나, 친유성 용매 및 지방 오일, 예를 들어, 참깨 오일, 합성 지방산 에스테르, 예를 들어 에틸 올레이트 또는 트리글리세리드 및 리포좀을 포함한다. 수용성 주사 혼탁액은 혼탁액의 점성을 증가시키는 물질, 예를 들어 소디움 카복시메틸 셀룰로스, 소르비톨, 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 선택적으로, 이러한 혼탁액은, 또한, 고도로 농축된 용액의 제조를 가능하게 하기 위한 적합한 안정화제 또는 약학적 제제의 용해도를 증가시키는 제제를 함유할 수 있다.

[0582] 일정한 구현예에서, 약학적 조성물은 경점막 투여용으로 제조된다. 일정한 이러한 구현예에서, 투파될 장벽에 적절한 투파물이 제형화에 사용된다. 이러한 투파물은 일반적으로 당해 분야에 알려져 있다.

[0583] 일정한 구현예에서, 본원에 제공된 하나 이상의 변형 올리고뉴클레오티드는 전구 약물로 투여된다. 일정한 구현예에서, 생체 내 투여 시, 전구약물은 생물학적, 약학적 또는 치료적으로 더욱 활성인 형태의 올리고뉴클레오티드로 화학적으로 또는 효소적으로 전환된다. 일정한 구현예에서, 전구 약물은 상응하는 활성 형태보다 투여하기 더 쉽기 때문에 유용하다. 예를 들어, 일정한 예시에서, 전구 약물은 상응하는 활성 형태보다 (예를 들어, 경구 투여를 통해) 더욱 생물학적으로 이용가능할 수 있다. 일정한 구현예에서, 전구 약물은 세포막을 가로지르는 우수한 이송력을 보유한다. 일정한 구현예에서, 전구 약물은 원하는 세포 유형, 조직 또는 기관으로의 변형 올리고뉴클레오티드의 전달을 용이하게 한다. 일정한 구현예에서, 전구 약물은 접합된 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물이다. 일정한 예시에서, 전구 약물은 상응하는 활성 형태에 비해 개선된 용해도를 가질 수 있다. 일정한 구현예에서, 전구 약물은 상응하는 활성 형태보다 덜 수용성이다. 일정한 구현예에서, 전구 약물은 에스테르이다. 이러한 일정한 구현예에서, 에스테르는 투여 시 카복실산으로 대사적으로 가수분해된다. 일정한 예시에서, 화합물을 함유하는 카복실산은 상응하는 활성 형태이다. 일정한 구현예에서, 전구 약물은 산성기에 결합된 짧은 펩티드(폴리아미노산)를 포함한다. 일정한 이러한 구현예에서, 펩티드는 투여 시 절단되어 상응하는 활성 형태를 형성한다. 일정한 구현예에서, 전구 약물은 약학적으로 활성인 화합물을 변형하여 생성되며 이러한 활성 화합물은 생체 내 투여시 재생성될 것이다. 전구 약물은 약물의 대사적 안정성 또는 수송 특성을 바꾸거나, 부작용 또는 독성을 가리거나, 약물의 향미를 개선하거나, 약물의 다른 특성 또는 성질을 바꾸도록 설계될 수 있다. 약동력학적 프로세스 및 생체 내 약물 대사에 대한 지식에 의해, 당업자는, 일단 약학적으로 활성인 화합물을 알면, 화합물의 전구 약물을 설계할 수 있다(예를 들어, Nogradi(1985) *Medicinal Chemistry A Biochemical Approach*, Oxford University Press, New York, pages 388-392 참조).

[0584] 투여의 일정한 경로

[0585] 일정한 구현예에서, 대상체로의 투여는 비경구 투여를 포함한다. 일정한 구현예에서, 대상체로의 투여는 정맥내 투여를 포함한다. 일정한 구현예에서, 대상체로의 투여는 피하 투여를 포함한다.

[0586] 일정한 구현예에서, 대상체로의 투여는 동맥내, 폐, 경구, 직장, 경점막, 장, 경장, 국소, 경피, 좌제, 척추강, 심실내, 복강내, 비강내, 안내, 근육내, 골수내, 및 종양내 투여를 포함한다.

[0587] 일정한 *miR-122* 키트

[0588] 본 발명은 또한 키트를 제공한다. 일부 구현예에서, 키트는 본원에 제공된 하나 이상의 화합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 화합물은 바이알 내에 존재한다. 복수의 바이알, 예를 들어 10개가, 예를 들어 분배 팩 내에 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 시린지로 접근가능하도록 바이알이 제조된다. 키트는 또한 본원에 제공된 화합물을 사용하기 위한 안내를 함유할 수 있다.

[0589] 일부 구현예에서, 키트는 대상체로의 본원에 제공된 화합물의 투여를 위해 사용될 수 있다. 이러한 예시에서, 본원에 제공된 적어도 하나의 화합물을 포함하는 것에 추가하여, 키트는 다음 중 하나 이상을 더 포함할 수 있다: 시린지, 알코올 탈지면, 약솜, 및/또는 거즈. 일부 구현예에서, *miR-122*에 상보적인 화합물은, 바이알 내보다는 사전 충진된 시린지(예를 들어, 니들 가드를 가지는 27 게이지,  $1/2$  인치 니들을 가지는 단일 용량 시린지) 내에 존재할 수 있다. 복수의 사전 충진된 시린지, 예를 들어 10개가, 예를 들어 분배 팩 내에 존재할 수 있다. 키트는, 또한, 본원에 제공된 화합물의 투여를 위한 안내도 포함할 수 있다.

[0590] 일정한 실험 모델

[0591] 일정한 구현예에서, 본 발명은 실험 모델 내에서 본원에 제공된 화합물을 사용하고/하거나 시험하는 방법을 제공한다. 당업자는 본원에 제공된 화합물을 평가하기 위한 이러한 실험 모델에 대한 프로토콜을 선택 및 변형할

수 있다.

[0592] 항-miR 화합물의 투여 후 마이크로RNA의 안티센스 저해의 효과는 당해 분야에 알려진 다양한 방법으로 평가할 수 있다. 일정한 구현예에서, 이러한 방법은 세포 또는 조직 내 마이크로RNA 수준을 생체 내 또는 시험관 내에서 정량하기 위해 사용된다. 일정한 구현예에서, 마이크로RNA 수준에서의 변화는 마이크로어레이 분석에 의해 측정된다. 일정한 구현예에서, 마이크로RNA 수준에서의 변화는 수개의 상업적으로 이용가능한 PCR 검정 중 하나, 예를 들어 TaqMan® 마이크로RNA 검정(Applied Biosystems, a Life Technologies brand)에 의해 측정된다.

[0593] 항-miR 화합물의 시험관 내 활성은 루시퍼라제 세포 배양 검정을 통해 평가할 수 있다. 본 검정에서, 마이크로RNA 루시퍼라제 감지 컨스트럭트는 루시퍼라제 유전자에 융합된 관심 있는 마이크로RNA의 하나 이상의 결합 자리를 함유하도록 조작된다. 마이크로RNA가 루시퍼라제 감지 컨스트럭트 내 이의 동쪽 자리에 결합하면, 루시퍼라제 발현이 억제된다. 적절한 항-miR가 세포 내로 도입될 때, 항-miR는 표적 마이크로RNA에 결합하고 루시퍼라제 발현의 억제를 해제한다. 따라서, 이러한 검정에서, 관심 있는 마이크로RNA의 효과적인 저해제인 항-miR은 루시퍼라제 발현에서의 증가를 유발할 것이다.

[0594] 항-miR 화합물의 활성은 마이크로RNA의 표적의 mRNA 및/또는 단백질 수준을 측정함으로써 평가할 수 있다. 마이크로RNA는 하나 이상의 표적 RNA 내 상보적인 자리에 결합하여, 표적 RNA의 억제를 야기함으로써, 마이크로RNA의 저해가 마이크로RNA의 표적의 mRNA 및/또는 단백질 수준의 증가(즉, 탈억제)를 초래한다. 하나 이상의 표적 RNA의 탈억제는 생체 내 또는 시험관 내에서 측정될 수 있다. 예를 들어, miR-122의 표적은 알돌라제 A(ALDOA)이다. miR-122의 저해는 ALDOA mRNA의 수준에서의 증가를 초래하고, 따라서, ALDOA mRNA 수준은 항-miR-122 화합물의 저해 활성을 평가하기 위해 사용할 수 있다.

[0595] HCV 복제에 대한 항-miR-122 화합물의 효과는 HCV 레플리콘 검정에서 측정될 수 있다. 이러한 검정에서, 화합물은 안정한 루시퍼라제 보고자 및 3종의 세포 배양 적응성 돌연변이(luc-ubi-neo/ET)와 함께 HCV의 서브게놈 레플리콘을 함유하는 세포주(예를 들어, 인간 간세포주) 내로 도입된다. 루시퍼라제 보고자는 HCV 복제의 간접적인 척도로 사용된다. 사용된 레플리콘은 모 HCV 유전형 또는 항바이러스제에 대한 내성을 부여하는 돌연변이를 가지는 HCV 유전형일 수 있다. 항-miR-122 화합물은, 단독으로 또는 HCV-감염의 치료에 사용되는 다른 제제와 조합하여 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 변형 올리고뉴클레오티드는 생체 내 또는 시험관 내 검정에서 시험될 수 있고, 이어서 본원에 기술된 방법에 사용하기 위한 화합물을 형성하기 위해 접합될 수 있다.

## 실시예

[0597] 하기의 실시예는 본 발명의 일부 구현예들을 더욱 완전하게 설명하기 위해 제시된다. 그러나 실시예는, 어떠한 방식으로도, 본 발명의 광범위한 범주를 제한하는 것으로 이해되어서는 안 된다. 당업자는 현재의 발명의 사상으로부터 벗어나지 않으면서 다양한 화합물을 설계하기 위한 이러한 발견의 기저 원리를 용이하게 차용할 수 있을 것이다.

### 실시예 1: 항-miR-122 화합물의 설계 및 평가

[0599] miR-122의 강력한 저해제를 식별하기 위해, 다수의 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드를 설계하였고 합성하였다. 변형 올리고뉴클레오티드들은 길이, 및 이환식 뉴클레오시드들 및 비이환식 뉴클레오시드들의 개수, 배치, 및 종류에서 차이가 있었다. 화합물들을 다수의 검정에서 평가하여 HCV 감염의 치료에 적합한 치료제인 항-miR을 식별하였다. 화합물의 평가는 활성이 높은 화합물을 설계 변경을 통해 더욱 측적화하고, 이에 따른 화합물을, 그런 다음 추가로 스크리닝하는, 반복 방식으로 수행하였다. 화합물 평가 과정은 효능, 안전성 및 물리화학적 특성의 평가를 포함하였다.

[0600] 총 400개가 넘는 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드를 설계하고, 제1 루시퍼라제 세포 배양 활성 검정으로 시험하였다. 추가적인 루시퍼라제 검정 및 일정한 화합물에 대한 대사적 안정성의 측정 후, 이러한 화합물들 중 대략 70개가 추가의 생체 내 시험을 위해 선택되었다. 이러한 70개의 화합물 중, 대략 10개의 화합물이 적합한 생체 내 효능(예를 들어, 5 mg/kg 미만의 ED<sub>50</sub>)을 가지는 것으로 식별되었다. 이러한 화합물들의 하위세트는 설치류 및 비인간 영장류에서 일정한 안전성 프로파일을 가지는 것으로 식별되었다. 따라서, 스크리닝되는 수백개의 화합물 중에서, 초기 400개를 넘는 화합물의 단지 적은 하위세트만이 일정한 효능, 안정성 및 물리화학적 기준을 충족하였다.

[0601] 일정한 항-miR-122 화합물들은 표 A에 나타나 있다. “miR-122 상의 위치”는 그러한 컬럼 내 뉴클레오시드가,

서열 번호 1의 5' 말단으로부터 계산하여, 서열 번호 1에 상보적인 위치이다.

[0602] [표 A]

화합물 #	일정한 항-miR-122 화합물																						서열 번호	
	서열(5'에서 3') 및 변형																							
	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1		
miR-122 상 위치																								
38011																								
38012	C <sub>S</sub>	C	A	U <sub>S</sub>	T	G <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	C	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	3					
38013	C <sub>S</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	3					
38014	C <sub>S</sub>	C	A	U <sub>S</sub>	T	G <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	3					
38015	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	C	A	T <sub>S</sub>	T	G <sub>S</sub>	T <sub>S</sub>	C	A	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	A	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	A	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	T	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	3					
38016	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	C	A	A <sub>S</sub>	T	G	T <sub>S</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	A	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	A	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	T	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	3							
38021	C <sub>L</sub>	C	A	T <sub>E</sub>	T	G	T <sub>E</sub>	C <sub>E</sub>	A	C <sub>L</sub>	A	C <sub>L</sub>	A	C <sub>L</sub>	T	C <sub>L</sub>	C <sub>L</sub>	A	4					
38646	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	4				
38647	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	4				
38648	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	4				
38649	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	4				
38650	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	4				
38651	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	G <sub>E</sub>	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	4				
38652	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	5			
38660	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	M <sub>E</sub> C <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	6			
38872																								
38910																								

[0603] [0604] 당 모이어티는 다음과 같이 나타낸다: 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; 첨자 "E" 가 뒤따르는 뉴클레오시드는 2' MOE-뉴클레오시드를 나타내고; 첨자 "S" 가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드를 나타내고; 첨자 "L" 이 뒤따르는 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드를 나타낸다. 각각의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합이다. 첨자 "Me" 는 뉴클레오시드의 염기 상의 5-메틸기를 나타낸다.

[0605] 효능

[0606] 시험관 내 및 생체 내 효능

[0607] 시험관 내 루시퍼라제 검정을 사용하여 세포 배양물 내에서 miR-122의 활성을 저해하는 각 화합물의 능력을 측정하였다. 이러한 검정에서, 마이크로RNA 루시퍼라제 감지 컨스트럭트를 루시퍼라제 유전자에 융합된 다수의 miR-122 결합 자리를 함유하도록 조작하였다. miR-122가 루시퍼라제 감지 컨스트럭트 내 표적 자리에 결합할 때, 루시퍼라제 발현이 억제된다. 활성 항-miR-122 화합물이 세포 내에 도입되면, 화합물은 miR-122에 결합하여 루시퍼라제 발현의 억제를 해제한다. 따라서, 이러한 검정에서, miR-122의 효과적인 저해제인 항-miR-122 화합물은 루시퍼라제 발현의 증가를 유발할 것이다.

[0608] 루시퍼라제 감지 컨스트럭트 및 miR-122를 발현하는 제2 컨스트럭트를 HeLa 세포 내에 도입하였다. 항-miR-122 화합물을 몇몇 상이한 농도로 세포 내로 형질감염시켰다. 활성을 확인하기 위해, 100 nM보다 낮은 EC<sub>50</sub>을 가지는 화합물들에서 초기 루시퍼라제 검정에서보다 광범위한 항-miR 농도로 추가적인 루시퍼라제 검정을 수행하였다. 화합물들을 표 B에 나타낸 2회의 별도의 실험에서 시험하였다. 각각의 화합물에 대한 평균 EC<sub>50</sub>은 표 B에 나타나 있다. 이러한 결과는 당 모이어티 또는 핵염기에 대한 변형이 항-miR-122 화합물의 시험관 내 효능에 영향을 미칠 수 있다는 것을 보여준다.

[0609]

[표 B]

투시페라제 세포 배양 검정에서 평균 EC50				
화합물 #	서열 및 화학	서열 번호	실험 #	투시페라제 평균 EC <sub>50</sub>
38011	C <sub>5</sub> CAU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A	3	1	38.45
38012	C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A	3	1	43.78
38013	C <sub>5</sub> CAU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A	3	1	53.27
38014	C <sub>5</sub> CAU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	3	1	42.71
38015	<sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CAT <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> T <sub>5</sub> CA <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> T <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	3	1	42.40
38016	<sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CAT <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> T <sub>5</sub> CA <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> T <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	3	1	14.07
38021	<sup>Me</sup> C <sub>1</sub> CAT <sub>1</sub> TG <sub>1</sub> T <sub>1</sub> CA <sup>Me</sup> C <sub>1</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>1</sub> T <sup>Me</sup> C <sub>1</sub> <sup>Me</sup> C <sub>1</sub> A <sub>5</sub>	3	1	11.18
38872	C <sub>5</sub> CAU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A	3	2	18.3
38910	<sup>Me</sup> CC <sub>5</sub> AU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	3	시험하지 않음	
38646	A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	4	2	77.15
38647	A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	4	2	57.44
38648	A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	4	2	97.68
38649	A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	4	2	46.76
38650	A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	4	2	28.16
38651	A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	4	2	26.12
38652	<sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	5	2	31.86
38659	C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	10	2	130.01
38660	<sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	6	2	17.02

[0610]

생체 내 효능을 결정하기 위해, 보통 miR-122 활성에 의해 억제되는 유전자인 간 알돌라제 A(ALDOA)의 발현을 탈억제하는 일정한 화합물들의 능력에 대해 평가하였다. miR-122의 저해는 ALDOA 발현에서의 증가를 야기하고, 따라서 ALDOA mRNA 수준은 생체 내 miR-122 저해 활성을 측정하기 위해 사용될 수 있다. 화합물들을 표 C에 지시된 양인 단일 용량으로 마우스에 투여하였고, 7일 후 연구를 종료하였고, ALDOA mRNA 수준을 간으로부터 분리된 RNA에서 정량적 PCR로 측정하였다. 화합물 38910을 제외한 표 C의 각각의 화합물을 동일한 연구에서 시험하였다. 염수에 대한, ALDOA mRNA의 배율 변화를 계산하여 생체 내 효능을 결정하였다( “ND”는 “결정되지 않음”을 나타냄).

[0612]

[표 C]

항-miR-122 화합물 구조 및 효능의 비교					
화합물 #	서열 및 화학	서열 번호	염수에 비교한 ALDOA에서의 배율 변화		
			1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg
38011	C <sub>5</sub> CAU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A	3	1.47	2.10	3.89
38012	C <sub>5</sub> CA <sub>5</sub> TTG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A	3	1.79	4.69	4.57
38013	C <sub>5</sub> CAU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A	3	1.31	1.61	2.55
38014	C <sub>5</sub> CAU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	3	1.16	1.82	2.94
38015	<sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CAT <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> T <sub>5</sub> CA <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> T <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	3	1.43	1.64	1.82
38016	<sup>Me</sup> C <sub>5</sub> CAT <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> T <sub>5</sub> CA <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> T <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> <sup>Me</sup> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	3	1.43	2.34	4.18
38021	<sup>Me</sup> C <sub>1</sub> CAT <sub>1</sub> TG <sub>1</sub> T <sub>1</sub> CA <sup>Me</sup> C <sub>1</sub> A <sup>Me</sup> C <sub>1</sub> T <sup>Me</sup> C <sub>1</sub> <sup>Me</sup> C <sub>1</sub> A <sub>5</sub>	3	1.46	3.01	3.91
38872	C <sub>5</sub> CAU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A	3	1.80	4.04	4.89
38910	<sup>Me</sup> CC <sub>5</sub> AU <sub>5</sub> TG <sub>5</sub> U <sub>5</sub> CAC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	3	ND	2.35	3.26

[0613]

표 C에서 볼 수 있는 바와 같이, 당 모이어티 또는 핵염기의 배치에서의 하나의 변화가 생체 내 효능에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 38872 및 38011 사이의 유일한 차이는 cEt 당 모이어티의 배치이지만, 0011의 생체 내 효능은 38872의 생체 내 효능보다 유의하게 낮으며, 3 mg/kg의 용량의 화합물 38872에 비교하여 더 높은 용량인 10 mg/kg의 38011에서만 비슷한 수준의 ALDOA 탈억제에 도달하였다. 38016에 비해 화합물 38021은 cEt 당 모이어티를 대신하여 LNA를 가지고, 38016과 유사한 효능을 가지므로, 이러한 차이는 효능에 영향을 미치지 않았다. 이러한 군의 화합물을 중, 화합물 38012, 38016, 38021 및 38872가 활성 화합물로서 식별되었다.

[0614]

일정한 추가적인 항-miR-122 화합물을 평가하기 위한 추가적인 연구를 수행하였다. 이러한 연구들의 결과는 표 D에 나타나 있다. 화합물 38646, 38647, 38648, 38649, 38650, 38651, 및 38652를 하나의 생체 내 연구에서 함께 시험하였고, 화합물 38659 및 38660을 다른 생체 내 시험에서 함께 시험하였다.

[0615]

[0616]

[표 D]

화합물 #	서열 및 구조	서 열 번 호	염수에 비교한 ALDOA에서의 배율 변화	항-miR-122 화합물 구조 및 효능의 비교	
				투시파라 제 평균 EC <sub>50</sub>	3 mg/kg
38646	<chem>AcMeC(E)MeC(E)CAsTTGUuC(C)ACsACsTCsCs--</chem>	4	77.15	ND	ND
38647	<chem>AcMeC(E)MeC(E)MeCAsTTGUuC(C)ACsACsTCsCs--</chem>	4	57.44	2.61	4.81
38648	<chem>AcMeC(E)MeC(E)CAsTTGUuC(C)ACsACsTCsCs--</chem>	4	97.68	3.28	4.36
38649	<chem>AcMeC(E)MeC(E)MeCAsTTGUuC(C)ACsACsTCsCs--</chem>	4	46.76	2.84	4.46
38650	<chem>AcMeC(E)MeC(E)CAsTCsTTGUuC(C)ACsACsTCsCs--</chem>	4	28.16	1.51	2.03
38651	<chem>AcMeC(E)MeC(E)CAsTCsTTGUuC(C)ACsACsTCsCs--</chem>	4	26.12	1.26	1.46
38652	<chem>MeCAsTCsTTGUuC(C)ACsACsTCsCs--</chem>	5	31.86	1.86	4.27
38659	<chem>CsCAsTTGUuC(C)ACsACsTCsCsTE</chem>	10	130.01	4.44	4.82
38660	<chem>MeCAsTCsTTGUuC(C)ACsACsTCsCsTE</chem>	6	17.02	3.84	4.44

[0617]

[0618] 위와 같이, 이러한 데이터는 당 모이어티의 배치에 대한 하나의 변화가 생체 내 효능에 실질적인 영향을 미칠 수 있다는 것을 보여준다. 또한, 시험관 내 및 생체 내 효능이 반드시 상호관련되지는 않는다는 것을 보여준다. 예를 들어, 화합물 38659는 낮은 시험관 내 효능을 가지지만, 매우 강력한 생체 내 miR-122 저해제이다.

[0619]

항-miR-122 화합물 구조들 및 생체 내 효능의 비교는 일 군의 활성 항-miR-122에 공통적인 11개 뉴클레오시드 코어 서열을 밝혔다. B-D-데옥시 당 모이어티 및 이환식 당 모이어티가 항-miR-122 뉴클레오시드 서열 상의 동일한 위치에 존재하는 이러한 코어 서열은 표 D-2에 강조되어 있다. 11개 뉴클레오시드 코어의 핵염기 서열은 miR-122(서열 번호1)의 핵염기 2 내지 12에 상보적이다.

[0620]

[표 D-2]

화합물 #	공통 코어 서열을 가지는 강한 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드																						서열 번호
	서열(5'에서 3') 및 구조																						
miR-122 상 위치	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
38012						C <sub>S</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	3	
38016						MeC <sub>S</sub>	C	A	T <sub>S</sub>	T	G	T <sub>S</sub>	MeC <sub>S</sub>	A	MeC <sub>S</sub>	A	MeC <sub>S</sub>	T	MeC <sub>S</sub>	MeC <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	3	
38021						C <sub>L</sub>	C	A	T <sub>L</sub>	T	G	T <sub>L</sub>	C <sub>L</sub>	A	C <sub>L</sub>	A	C <sub>L</sub>	T	C <sub>L</sub>	C <sub>L</sub>	C <sub>L</sub>	4	
38646	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>					4
38647	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>					4
38648	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>					4
38649	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>					4
38652	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>		5
38659						C <sub>S</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	10	
38660	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	MeC <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	C	A <sub>S</sub>	T	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	6
38872						C <sub>S</sub>	C	A	U <sub>S</sub>	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	3	
38910						MeC <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	U <sub>S</sub>	T	G	U <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	A	C <sub>S</sub>	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	3	

[0621]

[0622] 이러한 데이터는 강력한 생체 내 miR-122의 저해제를 산출하는 일정한 코어 뉴클레오시드 패턴의 발견을 보여준다.

[0623]

HCV 레플리콘 연구

[0624]

HCV 레플리콘 검정을 사용하여, HCV(모 HCV 유전형 및 항바이러스제에 대한 내성을 부여하는 돌연변이를 가지는 HCV 유전형을 포함함)의 복제를 저해하는 항-miR-122 화합물의 능력을 결정하였다. 화합물 38649를 이러한 검정에서 시험하여, 유전형 1a(H77 군주), 유전형 1b, 및 유전형 1b의 몇몇 변이형(A156T, A156S, D168a, 및 V36 M)의 HCV 서브 계놈 레플리콘의 복제를 저해하는 화합물 38649의 능력을 결정하였다.

[0625]

이러한 검정에서, 사용된 세포주는, 안정적인 루시파라제 보고자 및 3가지의 세포 배양 적응 돌연변이(luc-ubi-neo/ET)와 함께, HCV의 서브 계놈 레플리콘을 함유하는, Huh7 인간 간세포주인 세포주 ET였다. 루시파라제 보고자는 HCV 복제의 간접적인 척도로 사용된다. HCV 레플리콘 항바이러스 평가 검정은 각 화합물의 6 반-로그(half-log) 농도에서 화합물의 효과를 평가하였다. 인간 인터페론 알파-2b는 양성 대조군 화합물로서 포함되었

다. ETL주의 꽈 차지 않은(sub-confluent) 배양물을 96-웰 플레이트에 평판도말하였고, 다음 날 항-miR-122 화합물을 양이온 지질로 세포 내로 형질감염시켰다. 세포가 여전히 꽈 차지 않은 때인 72시간 후에 세포를 가공하였다. HCV 레플리콘 수준을 HCV RNA 레플리콘 유래 루시퍼라제 활성으로 평가하였다. 각각의 HCV 유전형에 대한 EC<sub>50</sub>(50% 저해가 관찰되었던 농도)을 계산하였고, 표 E에 나타내었다. 선택성 인덱스(SI<sub>50</sub>, 바이러스 복제에 대한 EC<sub>50</sub> 대 본래의 세포독성에 대한 EC<sub>50</sub>의 비율)도 또한 계산하였고, 표 E에 나타내었다.

[0626] [표 E]

화합물 38649의 항바이러스 활성		
HCV 유전형	항바이러스 활성 EC <sub>50</sub> (nM)	선택성 인덱스 SI <sub>50</sub>
HCV 유전형 1b	57.8 nM	4.0
HCV 유전형 1b 변이형 V36M	139.6 nM	> 2.0
HCV 돌연변이 A156S	45.9 nM	5.7
HCV 돌연변이 A156T	26.7 nM	10.0
HCV 돌연변이 D168A	16.2 nM	12.0
HCV 유전형 1a (H77 균주)	14.1 nM	15.0

[0627] [0628] 레플리콘 검정으로부터의 결과는 다수의 HCV 유전형에 대한 화합물 38649의 항바이러스 활성을 보여준다. 항바이러스 활성은 검정이 수행되는 기간(18일) 동안 지속되었다. HCV 감염을 치료하기 위해 처방되는 일정한 프로테아제 저해제에 내성인 것으로 알려진 돌연변이를 포함하는 HCV 레플리콘에 대한 화합물 38649의 활성은 유사하게 강하였다.

[0629] 항-miR-122의 단일 용량 연구

[0630] 작용의 개시, 최대 표적 탈억제 및 작용의 지속기간을 결정하기 위해 화합물 38649를 마우스 내 단일 용량 연구에서 0.3 mg/kg 내지 30 mk/kg 범위의 용량으로 시험하였다. 본 연구로부터 ED<sub>50</sub>도 또한 계산하였다.

[0631] 항-miR 화합물을 각각 5마리씩의 마우스의 군들에 0.3, 1.0, 3.0, 10, 및 30 mg/kg의 용량으로 복강내 투여하였다. 0.3 및 1.0 용량의 경우, 동물군들을 3, 7, 및 28일 차에 희생시켰다. 3.0, 10 및 30 mg/kg 용량의 경우, 동물군들을 3, 5, 7, 14, 21, 및 2838649일 차에 희생시켰다. 간 내 ALDOA mRNA수준을 정량적 PCR로 측정하였고, 염수로 처리된 마우스의 간 내 ALDOA mRNA 수준과 비교하여 ALDOA 발현에서의 배율 변화를 계산하였다.

[0632] 도 1a에 나타낸 바와 같이, ALDOA 탈억제는 3일 차에 이미 관찰되었고 화합물 38649의 투여 후 28일을 초과하여 유지되었다. 최대 표적 탈억제는 10 mg/kg에서 달성되었다. 6.7 mg/kg의 ED<sub>50</sub>을 7일 차 데이터로부터 계산하였다(도 1b).

[0633] 물리화학적 특성

[0634] 물리화학적 특성의 평가는 다음을 포함할 수 있다: 항-miR의 용액이 일정한 유형의 비경구 투여, 예를 들어 피하 투여에 적합하지를 결정하기 위한 점성의 측정; 인간 대상체 내에 항-miR-122 화합물이 투여될 수 있는 빈도를 추정하기 위한 간 내 항-miR 반감기의 계산; 및 뉴클라제에 의한 절단에 민감할 수 있는 화합물을 식별하기 위한 대사 안정성 검정.

[0635] 대사 안정성은 항-miR-122 화합물을 비인간 영장류 간 용해물과 함께 항온배양하여 평가하였다. 간 조직 균질액 내 뉴클라제 활성은 참조 올리고뉴클레오티드(뉴클라제 활성에 대해 알려진 내성을 가지는 화합물, 3'-엑소뉴클라제 활성에 민감한 화합물, 및 엔도뉴클라제 활성에 민감한 화합물을 포함하였음)를 사용하여 확인하였다. 내부 표준 화합물을 추출 효율에 대한 대조군으로 사용하였다. 0시간 및 24시간 시점에서, 각각의 시료에 고성능 액체 크로마토그래피 비행 시간형 질량 분광분석(HPLC-TOF MS)을 수행하여 올리고뉴클레오티드 길이 및 양을 측정하였다. 0시간과 24시간 시점에서의 전장 화합물의 양과 비교하여 소실 백분율을 결정한다. 화합물 38646, 38647, 38648, 38649, 38650, 38651, 38652, 38659, 및 38660은 24시간 시점에서 10% 이하의 소실 백분율을 나타내었다. 화합물 38012는 24시간 시점에서 대략 50%의 소실 백분율을 나타내었다.

[0636] 화합물 38649의 반감기를 추정하기 위한 추가적인 단일 용량 연구를 마우스에서 수행하였다. 간 내 반감기는 적어도 2주인 것으로 추정되었다.

[0637] 안전성

[0638] 다양한 안전성 파라미터들을 평가하기 위해, 본원에 기술된 일정한 화합물에 대해, 전염증성 반응을 유발하는

화합물의 잠재성을 평가하기 위한 생체 내 연구를 설치류에서 수행하였다. 평가된 파라미터들은 기관 중량, 예를 들어 비장 중량 및 간 중량에서의 변화 및 간 내의 인터페론 유도성 유전자, 예를 들어 IFIT 및 OASL의 발현에서의 변화를 포함하였다. 혈청 화학도 또한 평가하였다. 추가로, 일정한 화합물에 대해, 안전성 파라미터가 비인간 영장류에서 평가되었고, 혈액학적 종료점, 혈청 화학, 기관 중량, 응고, 보체 활성화, 사이토카인/케모카인 변화, 및 전염증성 유전자 발현을 포함하였다.

[0639] 시험된 화합물들은 평가된 안전성 파라미터들 사이에서 일부 변동성을 나타내지만, 화합물 38649를 포함하는, 몇몇 화합물이 특히 적합한 안전성 프로파일을 가지는 것으로 밝혀졌다.

#### 실시예 2: 접합된 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드

[0641] 접합이 올리고뉴클레오티드의 효능을 개선할 수 있는지를 결정하기 위해, 항-miR-122 변형 올리고뉴클레오티드를 GalNAc를 함유하는 모이어티에 접합시켰다.

[0642] 도 2의 구조를 38649 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 접합시켜서, GalNAc를 함유하는 화합물을 형성하였다. GalNAc를 함유하는 모이어티와 38649의 3'-말단 사이의 결합은 표 F-1에 나타낸 바와 같이 다양하였다. 예를 들어, 화합물 38368에서, GalNAc를 함유하는 모이어티는, 도 3c에 나타낸 바와 같이, 포스포디에스테르 결합을 통해 38649의 3'-말단 뉴클레오시드에 직접적으로 결합하되, 여기서 X는 포스포디에스테르 결합이고, M0는 화합물 38649이다. 화합물 38458에서, GalNAc를 함유하는 모이어티는, 도 3a에 나타낸 바와 같이, 38649의 3'-말단 뉴클레오시드 사이의 포스포로티오에이트 결합 및  $\beta$ -D-데옥시뉴클레오시드와 GalNAc를 함유하는 모이어티 사이의 포스포디에스테르 결합을 가지는,  $\beta$ -D-데옥시뉴클레오시드를 통해서 38649의 3'-말단 뉴클레오시드에 결합하되, X<sub>2</sub>는 포스포로티오에이트 결합이고, m은 1이고, N<sub>m</sub>은  $\beta$ -D-데옥시뉴클레오시드이고, X<sub>1</sub>은 포스포디에스테르 결합이고, M0는 화합물 38649이다.

[0643] [표 F-1]

화합물 #	GalNAc 함유 화합물	
	화합물 구조	
38368	도 3c의 구조 III, X는 포스포디에스테르 결합이고 M0는 화합물 38649임	
38371	도 3c의 구조 III, X는 포스포로티오에이트 결합이고 M0는 화합물 38649임	
38458	도 3a의 구조 I, X <sub>2</sub> 는 포포로티오에이트(phosphorothioate) 결합이고, m은 1이고, N <sub>m</sub> 은 $\beta$ -D-데옥시뉴클레오시드이고, X <sub>1</sub> 은 포스포디에스테르 결합이고, M0는 화합물 38649임	
38459	도 3a의 구조 I, X <sub>2</sub> 는 포포디에스테르(phosphodiester) 결합이고, m은 1이고, N <sub>m</sub> 은 $\beta$ -D-데옥시뉴클레오시드(dA)이고, X <sub>1</sub> 은 포스포디에스테르 결합이고, M0는 화합물 38649임	
38597	도 3a의 구조 I, X <sub>2</sub> 는 포스포티오에이트 결합이고, m은 1이고, N <sub>m</sub> 은 2'-O-메톡시에틸 뉴클레오시드이고, X <sub>1</sub> 은 포스포디에스테르 결합이고, M0는 화합물 38649임	
38598	도 3a의 구조 I, X <sub>2</sub> 는 포스포로티오에이트 결합이고, m은 1이고, N <sub>m</sub> 은 a X <sub>1</sub> 은 포스포디에스테르 결합이고, M0는 화합물 38649임	

[0644]

[0645] GalNAc가 접합된 변형 올리고뉴클레오티드의 생체 내 효능, GalNAc가 접합된 변형 올리고뉴클레오티드로부터 미접합 변형 올리고뉴클레오티드의 방출, 및 간 및 조직 내 농도에 대하여 평가하였다.

[0646]

전술된, 미접합 변형 올리고뉴클레오티드를 평가하기 위해 사용된 프로토콜에 따라 효능 연구를 수행하였다. 화합물을 마우스에 주사하였고, ALDOA의 탈억제를 7일 차에 측정함으로써 생체 내 효능을 평가하였다. 접합된 화합물들의 투여량은 투여된 변형 올리고뉴클레오티드 투여량을 나타낸다.

[0647]

도 4에 나타낸 바와 같이, 시험된 3종의 GalNAc가 접합된 변형 올리고뉴클레오티드 각각은 미접합 변형 올리고뉴클레오티드보다 더욱 강력하였다. 화합물 38368 및 38371에서는 미접합 38649에 비해 효능에서 대략 3배의 증가가 나타났다(도 4a). 각각  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드 연결기를 가지는 화합물 38458 및 38459는 효능에서 적어도 10배의 증가를 나타냈다(도 4b). 각각 2'-당 변형 연결기를 가지는 화합물 38597 및 38598도, 또한, 효능에서 적어도 10배의 증가를 나타냈다(도 4c). 추가적인 연구에서, 20배까지의 효능 증가가 화합물 38459, 38458, 38597, 및 38598에서 관찰되었다.

[0648] 더 넓은 범위의 용량의 화합물 38459를 포함하는 추가적인 실험을 수행하였다. 화합물 38459(n=6) 또는 화합물 38649(n=3)를 마우스에 투여하였고, 간 내 ALDOA 수준 및 혈중 콜레스테롤 수준을 7일 후에 측정하였다. 평균 ALDOA 및 콜레스테롤 수준을 계산하였고, 표 F-2에 나타냈다. 표 F-2에 나타낸 바와 같이, ALDOA 수준 증가 및 콜레스테롤 수준 저하의 관점에서, 단일 피하 용량의 화합물 38459가 미접합 화합물 38649에 비해 증가된 효능을 나타냈다. 이러한 실험에서, 화합물 38459에 대해 계산된 ED<sub>50</sub>은 0.19 mg/kg였고, 화합물 38649에 대해 계산된 ED<sub>50</sub>은 3.5 mg/kg였다(효능에서 18배 차이임).

[0649] [표 F-2]

접합된 항-miR-122 화합물의 증가된 효능			
화합물	용량	ALDOA 배율 변화	콜레스테롤 mg/dL
38649 (미접합)	1.0 mg/kg	1.2	100.2
	3.0 mg/kg	2.2	81.2
	10 mg/kg	3.3	73.4
38459 (GalNAc가 접합됨)	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

[0650] [0651] 또한, 1 mg/kg 및 3 mg/kg의 용량의 화합물 38368 및 38371, 및 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 및 3 mg/kg의 용량의 화합물 38458 및 38459의 단일 피하 투여 7일 후, 간 및 신장 조직 내 미접합 변형 올리고뉴클레오티드의 양을 측정하였다. 각각의 시료에 고성능 액체 크로마토그래피 비행 시간형 질량 분광분석(HPLC-TOF MS)을 수행하여 올리고뉴클레오티드 길이 및 양을 측정하였다. 본 방법에 의한 정량의 하한(LLOQ)은 0.2~1.0 μg/g이다.

[0652] GalNAc가 접합된 변형 올리고뉴클레오티드는 다양한 비율의 미접합 변형 올리고뉴클레오티드의 형성을 가지는 것으로 밝혀져 있다. 예를 들어, 화합물 38368의 투여 후, 10% 미만의 화합물 38649(미접합 변형 올리고뉴클레오티드)가 간에서 검출된다. 화합물 38371의 투여 후, 어떠한 용량의 화합물 38371에서도, 화합물 38649가 간에서 검출되지는 않았다. 대조적으로, 화합물 38459의 피하 투여 후 7일에, 검출된 유일한 미접합 변형 올리고뉴클레오티드 종은 미접합 38649였고; 모 화합물 38459는 검출되지 않았다. 화합물 38458의 투여 후, 미접합 변형 올리고뉴클레오티드는 2가지의 형태로 검출되었다: 38649 및 38649-PO-A(화합물 38458의 대사체). 이러한 대사체는 미접합 38649보다 높은 수준으로 검출되었다.

[0653] 또한, 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 및 3 mg/kg의 용량으로의 화합물 38458 및 38459의 단일 피하 투여 후 24시간에 간내에서의 미접합 변형 올리고뉴클레오티드의 양을 측정하였다. 항-miR 수준을 LC-TOF로 측정하였다. 본 방법에 의한 정량의 하한(LLOQ)은 0.2~1.0 μg/g이다. 화합물 38459의 투여 후, 간에 존재하는 총 화합물의 90%가 미접합 화합물 38649인 것으로 관찰되었다. 38458의 투여 후, 간에 존재하는 총 화합물의 대략 46%가 미접합 화합물 38649였다. 따라서, 미접합 화합물 38649는, 화합물 38458보다, 화합물 38459로부터 더욱 빠르게 방출된다. 이러한 데이터는 접합된 화합물의 대사가 링커와 변형 올리고뉴클레오티드 사이의 부착에 의해 영향을 받는다는 것을 시사한다.

[0654] 올리고뉴클레오티드는, 일반적으로 신장 조직에 가장 높은 수준으로 축적되고, 다음으로는 간 조직에 축적된다. 미접합 화합물에 비해, GalNAc 접합체가 신장 조직 대비 간 조직에서의 화합물의 축적률을 바꾸는지를 결정하기 위해, 미접합 38649의 양을 또한 신장 조직에서도 측정하였다. 전술된 바와 같이, 화합물 38459의 투여 후, 간에서 발견되는 총 화합물의 100%가 미접합 38649였는데, 이는 GalNAc가 접합된 화합물 38459로부터의 38649의 완전한 방출을 나타내는 것이다. 화합물 38649의 투여 후 화합물 38649의 축적에 비해, 화합물 38459의 투여 후, 화합물 38649는 간보다 신장에 덜 축적되었다(즉, 더 낮은 신장:간 비율을 나타내었다). 따라서, 화합물 38459는, 미접합 38649에 비해, 신장으로의 전달을 최소화하면서, 화합물 38649를 우선적으로 간에 전달할 수 있다.

[0655] 화합물 38459의 작용의 개시 및 지속기간에 대하여 생체 내 연구에서 평가하였다. 마우스 군들에게 단일, 피하(SC) 용량의 화합물 38459를 0.1 mg/kg, 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 및 3 mg/kg으로 제공하였다. 추가적인 마우스의 군에는 화합물 38649를 10 mg/kg의 용량으로 투여하였다. 각 치료군으로부터 일 군의 동물들을 1, 2, 3, 4, 5, 6, 14, 21, 28, 및 56일 차 각각에서 희생시켰다. RNA를 간으로부터 분리하였고, ALDOA mRNA 수준을 실시간

PCR로 측정하였다. 각 군에 대한 평균 ALDOA 수준을 계산하였다. (PBS로 처리된) 대조군에 대한 배율 변화가 표 G에 나타나있다.

[표 G]

화합물 38459의 작용의 개시 및 지속기간					
단일 SC 투여 후 날짜	ALDOA에서의 배율 변화				
	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

표 G에서의 데이터는, 화합물의 단일 투여 후 이미 1일 차에서의 ALDOA 탈억제에 의해 입증되는 바와 같이, 화합물 38459뿐 아니라 화합물 38649가 작용의 빠른 개시를 나타낸다는 것을 보여준다. 나아가, ALDOA 탈억제는 화합물의 단일 투여 후 적어도 8주간 유지된다.

이러한 데이터는, 미접합 38649 화합물보다 적어도 10배 더 강력한, GalNAc가 접합된 화합물 38459가, 간 조직으로의 우선적인 전달과 함께, 유의하게 낮은 간 조직 농도에서 이러한 효능을 달성한다는 것을 보여준다. 추가로, 화합물 38459는 작용의 빠른 개시와 적어도 8주간의 작용 지속기간을 나타낸다.

또한, 표 H에 나타낸 LNA를 함유하는 미접합 및 접합 변형 올리고뉴클레오티드를 시험하였다.

[표 H]

LNA를 함유하는 화합물			
화합물 #	서열(5' 내지 3') 및 변형	구조	서 열 변 호
36848	C <sub>1</sub> CA <sub>1</sub> TTG <sub>1</sub> T <sub>1</sub> CAC <sub>1</sub> AC <sub>1</sub> TC <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	미접합	7
36852	C <sub>1</sub> CA <sub>1</sub> TTG <sub>1</sub> T <sub>1</sub> CAC <sub>1</sub> AC <sub>1</sub> TC <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	도 3c의 구조 III에서와 같이 접합됨, 여기서 X는 PO이고 MO는 36848임	7
36632	C <sub>1</sub> CA <sub>1</sub> TTG <sub>1</sub> T <sub>1</sub> CAC <sub>1</sub> AC <sub>1</sub> TC <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	도 3a의 구조 I에서와 같이 접합됨, 여기서 X <sub>2</sub> 는 포포디에스테르(phosphodiester) 결합이고, m은 1이고, N <sub>2</sub> 은 β-D-데옥시뉴클레오시드(dA)이고, X <sub>1</sub> 은 포스포디에스테르 결합이고, MO는 화합물 36848임	7

[0662]

당 및 결합 모이어티는 다음과 같이 나타낸다: 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는 β-D-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; 첨자 "L"이 뒤따르는 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.

[0664] miR-122 활성을 저해하고, ALDOA 발현을 증가시키는 화합물들의 능력을 평가하기 위해, 화합물 36848 및 36852에 대한 생체 내 효능을 전술된 바와 동일한 프로토콜에 따라 시험하였다. 각각의 화합물은 miR-122의 강력한 저해체였지만, GalNAc가 접합된 화합물 36852가 미접합 화합물 36848보다 큰 효능(대략 3 배 큼)을 나타냈다.

[0665] 또한, 화합물 36632에 대한 생체 내 효능을, 전술된 바와 유사한 프로토콜에 따른 단일 용량 투여 연구에서, 0.03 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.3 mg/kg, 1.0 mg/kg, 3.0 mg/kg, 및 10.0 mg/kg의 용량으로 평가하였다. ALDOA 발현에서, 화합물 36632는 PBS로 처리된 대조군에 비해, 각각 1.6, 2.7, 3.7, 4.3, 4.7, 6.0의 배율 증가를 나타냈다. ALDOA 발현에서, 화합물 36848은, 1.0 mg/kg, 3.0 mg/kg, 및 10 mg/kg의 용량에서, 각각, 1.6, 2.5, 및

5.3의 배율 증가를 초래하였다. 화합물 36848에 대한 화합물 36632의 비교는 미접합 화합물에 대비 접합된 화합물에서 대략 30배의 효능의 증가를 밝혔다.

#### [0666] 실시예 3: HCV 감염의 마우스 모델

숙주-병원균 특이성으로 인해, HCV는 오직 인간과 침팬지만 감염시킬 수 있다. 따라서, 실험적 생체 내 연구에 통상적으로 사용되는 더 작은 종들, 예를 들면 마우스를 HCV 감염의 치료에 대한 후보 제제를 평가하기 위해 HCV로 감염시킬 수가 없다. 이러한 문제를 해결하기 위해, 인간 간 키메라 마우스 모델을 활용할 수 있다(예를 들어, Bissig et al., *Proc Natl Acad Sci US A*, 2007, 104:20507-20511; Bissig et al., *J Clin Invest.*, 2010, 120: 924-930을 참조). 이러한 모델에서, 면역결핍 마우스의 간에 인간 간세포를 재증식시켜서 대부분의 간세포가 인간 간세포인 키메라 간을 얻는다. 그런 다음, 마우스를 HCV에 감염시키고, 항-HCV 제제로 치료한다. 이러한 마우스 모델은, 예를 들어, PhoenixBio로부터 상업적으로 입수 가능하다.

[0668] 항-miR-122 화합물을 HCV에 감염된 인간 키메라 간을 가지는 마우스에서 시험한다. 동물들의 군(n = 5 내지 10)들은 하나 이상의 용량(예를 들어, 치료 계획 연구로부터 식별된 용량)의 항-miR-122 화합물을 수여받는다. 약동력학 분석 및 HCV RNA 수준의 측정을 위해, 다양한 시점에서 혈장을 수집한다. 연구가 종료될 때 간 조직을 수집한다.

[0669] 일부 구현예에서, miR-122의 저해는 인간 ALDOA mRNA 수준을 측정함으로써 확인한다. 항-miR-122 화합물의 투여는 마우스의 혈청 내 HCV RNA 수준을 감소시킬 것으로 예상된다.

#### [0670] 실시예 4: miR-122 저해에 반응한 HCV RNA 수준의 감소

[0671] 인간 키메라 마우스 간 모델을 miR-122 표적 유전자 발현 및 HCV 바이러스 역가에 대한 miR-122 저해의 효과를 평가하기 위해 사용하였다.

#### [0672] 인간 키메라 간 마우스

[0673] HCV에 감염되지 않은 인간 키메라 간 마우스에서 표적 유전자 발현에 대한 miR-122 저해의 효과를 평가하였다. 마우스의 군(n=6)들을 단일 용량의 PBS, 0.3 mg/kg, 1.0 mg/kg, 3.0 mg/kg, 또는 10 mg/kg의 화합물 38459로 치료하였다. 치료 후 7일에, 연구를 종료하였고, ALDOA 발현 및 화합물 조직 농도 측정을 위해 간 조직을 수집하였다. ALDOA mRNA 수준은 PBS로 처리된 마우스 내 ALDOA mRNA 수준에 비해 증가하였지만, ALDOA 발현의 탈억제는 야생형 마우스에서 관찰되는 것보다 3배 내지 5배 더 적었다. 키메라 간 마우스 내 화합물 38459 수준은 야생형 마우스 내에서의 농도에 비해 대략 3배 낮았다. 이러한 관찰은, 야생형 마우스에 비해, 인간 키메라 간 마우스 내에서 감소된 아시알로글리코단백질 수용체(ASGPR)의 발현과 일치한다. 간 세포 내 화합물의 측적이 ASGPR에 의한 흡수에 좌우되기 때문에, ASGPR의 감소된 발현은 GalNAc가 접합된 변형 올리고뉴클레오티의 감소된 측적을 초래하고, 결과적으로 miR-122의 내인성 표적, 예를 들어 ALDOA를 탈억제하는 화합물 38459의 능력에 대한 감수성을 낮출 것으로 예상될 수 있다. 따라서, 인간 키메라 간 마우스 모델은 ASGPR 발현이 유지되는 대상체에서는 화합물 38459의 활성을 예상하지 못할 수 있다. 예비 데이터는 HCV에 감염되지 않은 대상체의 간에 비교할 때, HCV에 감염된 환자의 간 내 ASGPR 발현이 유사한 수준을 유지한다는 것을 시사한다.

#### [0674] HCV에 감염된 인간 키메라 간 마우스의 치료

[0675] 항-miR-122 화합물을 HCV 감염의 인간 키메라 간 마우스 모델에서 시험하였다.

[0676] 면역결핍 마우스의 간에 인간 간세포를 재증식시켜서, 대부분의 간세포가 인간 간세포인 키메라 간을 얻었다. HCV 유전형 1a로의 접종 후 대략 3.5주에,  $1 \times 10^6$  카피/ml을 초과하는 HCV RNA 수준을 가지는 마우스를 본 연구에 포함시키기 위해 선택하였다(7일 차).

[0677] 한 주 연구에서, 3마리 동물의 군을 0일 차에, 단일 10 mg/kg 용량의 38459로 치료하였다. -7, 0, 3, 및 7일 차에 혈액을 수집하였다. 7일 차에 연구를 종료하였고, 혈액에 더하여, 간 조직 및 신장 조직을 수집하였다. 본 연구에서 HCV RNA 수준은 3일 차 및 7일 차에서 감소하였다.

[0678] 여러 주 연구에서, 5마리 동물의 군을 다음으로 치료하였다: PBS(n=5); 3 mg/kg 38459(n=5); 10 mg/kg 38459(n=4~5); 또는 30 mg/kg 38459(n=4~5). 추가 군의 동물을 10 mg/kg 미접합 화합물 36848(n=5)로 치료하였다. 치료제를 단일, 피하 주사로 0일 차에 투여하였다. 혈액을 -7, 0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28, 및 35일 차에 수집하였다. 혈중 HCV RNA 수준은 일상적인 방법에 따라 실시간 PCR로 측정하였고, 표 I에 나타내었다. 다르게 지시되지 않는 한, 각 치료군은 5마리의 동물을 포함하였다. 표 I에 나타낸 바와 같이, HCV RNA 수준은,

10 mg/kg 또는 30 mg/kg의 화합물 38459로 치료된 군에서 3일 차에 이미 유의하게 감소하였고, 이러한 감소는 적어도 35일 차까지 지속되었다. 통계적인 유의성은, PBS로 치료된 동물에서의 평균 HCV RNA 수준에 대하여 정규화된, 화합물로 치료된 동물에서의 평균 HCV RNA 수준의 이원분산분석을 통해 계산하였다. 본 연구에서, 미접합 화합물 36848은 HCV RNA 수준을 감소시키지 않았다. 이러한 결과는 또한 도 5a에 그래프 형태로 예시되어 있다.

[0679] [표 I]

GalNAc가 접합된 항-miR-122는 HCV 역가를 감소시킨다					
일	PBS 평균	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	1.50E+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)

[0680] [0681] \*\*\*\*p<.0001; \*\*\*p<0.0005; \*p<0.05

[0682] 이러한 결과는 GalNAc가 접합된 변형 올리고뉴클레오티드 38459의 단일 투여 후, 작용의 빠른 개시 및 작용의 지속적인 지속기간으로, HCV에 감염된 동물에서 HCV 바이러스 역가가 유의하게 감소되었다는 것을 보여준다.

[0683] 마우스가 HCV 유전형 3a에 감염된 HCV 감염의 인간 키메라 간 마우스 모델에서 화합물 38459의 효과를 평가하기 위한 추가적인 연구가 수행되었다. 5마리의 동물의 군들 각각을 다음으로 치료하였다: PBS(n=4); 10 mg/kg 38459(n=5); 또는 30 mg/kg 38459 (n=5). 마우스에 HCV 유전형 3a를 접종하였다. 치료 7일 전에, 바이러스 역가의 측정을 위해 마우스로부터 혈액을 수집하였다. 치료제는 0일 차에 단일, 피하 주사로 투여하였다. 치료 후 0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24, 및 28일 차에 혈액을 수집하였다. 혈중 HCV RNA 수준을 일상적인 방법에 따라 실시간 PCR로 측정하였다. 도 5b에 나타낸 바와 같이, 10 mg/kg 또는 30 mg/kg의 화합물 38459로 치료된 군은 3일 차에 이미 HCV RNA 수준이 유의하게 감소하였고, 이러한 감소는 적어도 28일 차까지 지속되었다.

[0684] 또한, 화합물 38459로 치료된 마우스의 간에서 지방증의 실질적인 감소가 관찰되었다. 감소된 지방증은 HCV에 감염된 마우스 및 감염되지 않은 마우스에서 관찰되었는데, 이는 miR-122의 저해가 HCV 감염 존재 및 부재 시 모두 지방증을 감소시킬 수 있다는 것을 시사한다.

#### [0685] 실시예 5: 접합된 짧은 변형 올리고뉴클레오티드

[0686] 도 3내 구조를 표 J에 나타낸 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 접합시켜 GalNAc를 함유하는 화합물을 형성하였다. 당 모이어티, 뉴클레오시드 간 결합, 및 핵염기를 다음과 같이 나타낸다: 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.

[0687]

[표 J]

미접합 및 접합 변형 올리고뉴클레오티드			
	서열 및 변형	구조	서열 번호
38591	U <sub>5</sub> TGU <sub>5</sub> C <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	미 접합	8
38633	U <sub>5</sub> TGU <sub>5</sub> C <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> AC <sub>5</sub> TC <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub>	도 3a의 구조 I. 여기서 X <sub>2</sub> 는 포포디에스테르(phosphodiester) 결합이고, m은 1이고, N <sub>6</sub> 은 $\beta$ -D-데옥시뉴클레오시드(dA)이고, X <sub>1</sub> 은 포스포디에스테르 결합임	8
38998	C <sub>5</sub> A <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub> C <sub>5</sub> U <sub>5</sub> C <sub>5</sub> C <sub>5</sub>	미 접합	9
38634	C <sub>5</sub> A <sub>5</sub> C <sub>5</sub> A <sub>5</sub> C <sub>5</sub> U <sub>5</sub> C <sub>5</sub> C <sub>5</sub>	도 3a의 구조 I. 여기서 X <sub>2</sub> 는 포포디에스테르 결합이고, m은 1이고, N <sub>6</sub> 은 $\beta$ -D-데옥시뉴클레오시드(dA)이고, X <sub>1</sub> 은 포스포디에스테르 결합임	9

[0688]

생체 내 효능을 결정하기 위해, 간 알돌라제 A(ALDOA)의 발현을 탈억제하는 능력에 대하여 화합물들을 평가하였다. 화합물을 마우스에게 투여하였고, 간으로부터 분리된 RNA에서 ALDOA mRNA 수준을 정량적 PCR로 측정하였다. 염수에 대한, ALDOA mRNA에서의 배율 변화를 계산하여 생체 내 효능을 계산하였다(도 6a 및 6b 및 7a 및 7b). 이러한 실험의 결과로부터 계산된 ED50(ALDOA 탈억제가 최대치의 50%인 화합물의 농도) 및 ED90(ALDOA 탈억제가 최대치의 90%인 화합물의 농도)이 표 K 및 L에 나타나 있다.

[0690]

[표 K]

접합 및 미접합 항-miR-122 화합물의 생체 내 효능				
화합물	ED50 (mg/kg)	배율 변화	ED90 (mg/kg)	배율 변화
실험 1 (도 6a)				
38634	0.03	456	0.3	212
38998	13.7		63.8	
실험 2 (도 6b)				
38634	0.04	290	0.43	99.3
38998	11.6		42.7	

[0691]

[표 L]

접합 및 미접합 항-miR-122 화합물의 생체 내 효능				
화합물	ED50 (mg/kg)	배율 변화	ED90 (mg/kg)	배율 변화
실험 1 (도 7a)				
38633	0.08	27	0.25	26
38591	2.2		6.62	
실험 2 (도 7b)				
38633	0.15	20	0.94	10
38591	3.0		8.9	

[0693]

표 K에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 GalNAc 접합은 8량체 항-miR-122 화합물의 ED<sub>50</sub> 및 ED<sub>90</sub>을 적어도 100배 개선하였다. 표 L에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 GalNAc 접합은 13량체 항-miR-122 화합물의 ED<sub>50</sub> 및 ED<sub>90</sub>을 적어도 10배 개선하였다.

[0694]

또한, 화합물 38634 및 38998에 대해, 다른 miR-122 표적 유전자인 CD320의 탈억제도 결정하였다. 결과는 표 K에 나타낸 ALDOA에 대해 얻어진 결과와 유사하였다: 본 발명에 따른 GalNAc 접합은 ED<sub>50</sub>을, 실험 1 및 2에서, 각각, 343배 및 272배 개선하였고, ED<sub>90</sub>을, 실험 1 및 2에서, 각각, 492배 및 545배 개선하였다.

[0695]

또한, 본원에 기술된 GalNAc 접합이 개선한 콜레스테롤 저하 효능도 또한 GalNAc를 함유하는 화합물에서 관찰되었다. 실험 1로부터의 예시적인 결과가 도 8a 및 b에 나타나 있다. GalNAc 접합체인 화합물 38633 및 38634는, GalNAc가 결여된 화합물 38591 및 38998보다 더욱 강력하였다. 유사한 결과가 실험 2에서도 얻어졌다(데이터 미 도시).

[0696]

실시예 6: 비인간 영장류 내 항-miR-122 화합물의 약동력학적 활성

항-miR-122 화합물을 정상적인 비인간 영장류(시노몰구스 원숭이)에서 시험하였다. 단일 용량의 GalNAc가 접합된 화합물 38459 또는 미접합 화합물 38649를 피하로 투여하였다(각 화합물 당 n = 3). PBS를 대조 치료로 투여

하였다( $n = 5$ ). 화합물의 투여 후 4일 및 8일 차에, 간 조직을 수집하였고, ALDOA 수준의 측정을 위해 RNA를 분리하였다. 혈중 총 콜레스테롤을 8일 차에 측정하였다. 표 L에 나타낸 바와 같이, 가장 낮은 용량인 1 mg/kg을 포함하는, 각각의 용량의 화합물 38459에서 4일 차 및 8일 차에 ALDOA 탈억제가 관찰된다. 또한, 콜레스테롤 저하도 가장 낮은 용량의 화합물 38459로도 관찰되었다. 따라서, GalNAc가 접합된 화합물 38459는, 미접합 화합물 38649에 비해, 비인간 영장류에서 유의하게 더 강력하다. 추가적으로, 양 화합물은 비인간 영장류에서 단일 투여 후 적어도 1주의 작용 지속시간을 가진다.

[0699] [표 L]

비인간 영장류에서 miR-122의 저해			
치료	ALDOA(4일 차) 배율 변화	ALDOA(8일 차) 배율 변화	콜레스테롤(8일 차) 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

[0700]

## [0701] 실시예 7: 접합된 항-miR-122 화합물의 약동력학적 활성

[0702] 항-miR-122 화합물의 혈장 및 조직 약동력학을 마우스 및 비인간 영장류에서 평가하였다.

[0703] 단일 피하 용량의 화합물 38649 또는 GalNAc가 접합된 화합물 38459를 CD-1 마우스에 투여하였다. 투여 후 24시간의 기간에 걸쳐 다수의 시점에서 혈액을 수집하였고, 혈중 화합물의 총량을 혼성화 기반 ELISA로 측정하였다.

[0704] 단일 피하 용량의 화합물 38649 또는 GalNAc가 접합된 화합물 38459를 비인간 영장류에 투여하였다. 투여 후 24시간의 기간에 걸쳐 다수의 시점에서 혈액을 수집하였고, 혈중 화합물의 총량을 LC-MS로 측정하였다.

[0705] 도 9에 나타낸 바와 같이, 마우스(도 9a) 및 비인간 영장류(도 9b)에서, GalNAc가 접합된 화합물 38459는, 미접합 화합물 38649에 비해, 혈장으로부터 빠르게 제거된다. GalNAc가 접합된 화합물 38459의 투여 후, 미접합 화합물 38649는 검출되지 않는데, 이는 접합된 화합물 38459가 혈중에서 대사되지 않는다는 것을 나타낸다(데이터 미도시).

[0706] 이러한 연구에서, 화합물의 조직 수준을, 또한, 마우스(표 M) 및 비인간 영장류(표 N)의 신장 및 간에서 측정하였다.

[0707] [표 M]

단일 투여 후 24시간에서의 마우스 내 화합물 조직 수준						
투여된 화합물:		38459 (+GalNAc)			38649	
조직:	신장	간	K/L	신장	간	K/L
용량	검출된 화합물	평균 ( $\mu\text{g/g}$ )	평균 ( $\mu\text{g/g}$ )	비율	평균 ( $\mu\text{g/g}$ )	평균 ( $\mu\text{g/g}$ )
1 mg/kg	38649	1.1	5.7	0.19	18.4	4
	총 화합물	1.1	7.4	0.15		
3 mg/kg	38649	8.2	15.8	0.52	83.9	10.8
	총 화합물	16.8	27.7	0.61		7.6

[0708]

[표 N]

단일 투여 후 72시간에서의 비인간 영장류 내 화합물 조직 수준						
투여된 화합물:		38459 (+GalNAc)			38649	
조직:	신장	간	K/L	신장	간	K/L
용량	검출된 화합물	평균 ( $\mu\text{g/g}$ )	평균 ( $\mu\text{g/g}$ )	비율	평균 ( $\mu\text{g/g}$ )	평균 ( $\mu\text{g/g}$ )
1 mg/kg	38649	5.6	27.2	0.21		
	총 화합물	31.3	34	0.92		
10 mg/kg	38649	124	148	0.84	283.3	61.2
	총 화합물	513.5	186.3	2.7		
100 mg/kg	38649	374.1	418.8	0.89	1430	242.3
	총 화합물	2129.1	547.2	3.9		5.9

[0710] [0711] 투여 후, 화합물 38459는 간 및 신장에서 미접합 화합물 38649로 빠르게 대사된다. 추가적으로, 전술된 마우스

연구로부터의 데이터와 일치하게, 화합물 38459의 신장 대 간 비율은 화합물 38649의 신장 대 간 비율보다 유의하게 낮다.

[0712] 투여 후 24시간에서 간 내 화합물의 농도에 기반하여, 대략 6  $\mu\text{g/g}$ 의 GaINAc가 접합된 화합물 38459 및 대략 30  $\mu\text{g/g}$ 의 미접합 화합물 38459는 7일 차에 90% 최대 효능(ALDOA 탈억제에 의해 측정됨)을 초래하는 것으로 추정되었다. 따라서, 화합물 38459는, 미접합 화합물 38649에 비해, 낮은 간 조직 농도에서 더 큰 효능을 초래한다.

[0713] 이러한 데이터는 비인간 영장류 및 마우스에서, GaINAc를 함유하는 모이어티에 대한 접합이 유의하게 향상된 변형 올리고뉴클레오티드의 간으로의 전달을 초래한다는 것을 보여준다. 나아가, 낮은 신장 대 간 비율과 함께 낮은 ED<sub>50</sub>은, GaINAc가 접합된 화합물 38459가 높은 치료 인덱스를 가질 수 있다는 것을 시사한다.

#### 실시예 8: 항-miR-122 화합물의 독성 및 안전성 연구

[0715] GaINAc가 접합된 화합물 38459의 안전성 및 관용성을 평가하기 위해, 마우스, 설치류, 및 비인간 영장류에서 다수의 연구를 수행하였다.

[0716] 예를 들어, 화합물 38459를 랫트 내 전염증성 연구에서 평가하였다. 수컷 스프래그 다우리(sprague Dawley) 랫트에 단일 피하 용량의 화합물 38459를 투여하였다. 투여 후 14일에, ALDOA 및 CXCL13(인터페론 유도성 유전자)의 발현을 간에서 측정하였다.

[0717] 표 0에 나타낸 바와 같이, 100 mg/kg만큼 높은 용량에서 CXCL13 발현에서의 증가는 검출되지 않았던 반면, ALDOA 수준은 1 mg/kg 용량에서부터 시작하여 상승하였다. 또한, 알려진 염증성 항-miR-122 화합물도 시험하였고, 10, 30 및 100 mg/kg 용량에서 CXCL13 수준의 2 내지 2.5배의 증가를 초래하였다.

[0718] [표 0]

화합물 38459는 전염증성 유전자 발현을 증가시키지 않음		
화합물의 38459의 용량	ALDOA 배율 변화	CXCL13 배율 변화
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

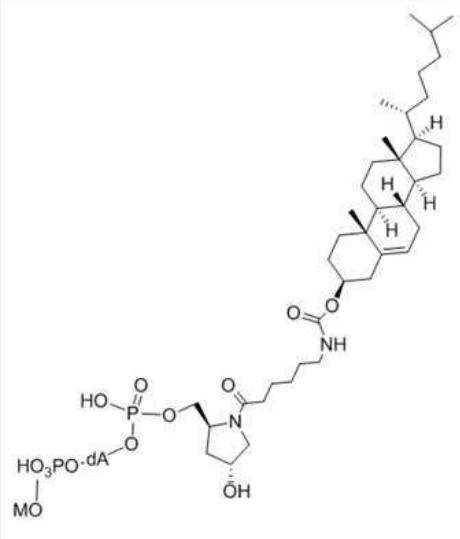
[0719] [0720] 추가적인 독성 연구를 마우스 및 비인간 영장류(시노몰구스 원숭이)에서 수행하였는데, 치료적으로 관련 있는 용량에서 유의한 부작용이 관찰되지 않았다.

#### 실시예 9: 접합된 짧은 변형 올리고뉴클레오티드

[0722] 콜레스테롤을 표 P에 나타낸 변형 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 접합하여 콜레스테롤을 함유하는 화합물을 형성하였다. 당 모이어티, 뉴클레오시드 간 결합, 및 핵염기는 다음과 같이 나타낸다: 첨자가 뒤따르지 않는 뉴클레오시드는  $\beta$ -D-데옥시리보뉴클레오시드이고; 첨자 "S"가 뒤따르는 뉴클레오시드는 S-cEt 뉴클레오시드이고; 포스포디에스테르 결합인 첨자(0)로 나타낸 뉴클레오시드 간 결합을 제외한 각각의 뉴클레오시드 간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드 간 결합이다.

[0723]

[표 P]

미접합 및 접합 변형 올리고뉴클레오티드			
	서열 및 변형	구조	서열 번호
38998	C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> C <sub>S</sub> U <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub>	미접합	9
38070	C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> C <sub>S</sub> U <sub>S</sub> C <sub>S</sub> C <sub>S</sub>	 <p>MO 는 C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>C<sub>S</sub>U<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub> 입</p>	9

[0724]

[0725]

생체 내 효능을 결정하기 위해, 간 알돌라제 A(ALDOA)의 발현을 탈억제하는 능력에 대해 화합물들을 평가하였다. 화합물을 마우스에 투여하였고, ALDOA mRNA 수준을 간으로부터 분리된 RNA에서 정량적 PCR로 측정하였다. 염수에 비교한 ALDOA mRNA에서의 배율 변화를 계산하여 생체 내 효능을 결정하였다. 이러한 실험의 결과로부터 계산된 ED<sub>50</sub>(ALDOA 탈억제가 최대치의 50%인 화합물의 농도) 및 ED<sub>90</sub>(ALDOA 탈억제가 최대치의 90%인 화합물의 농도)이 표 Q에 나타나 있다.

[0726]

[표 Q]

접합 및 미접합 항-miR-122 화합물의 생체 내 효능				
화합물	ED <sub>50</sub> (mg/kg)	배율 변화	ED <sub>90</sub> (mg/kg)	배율 변화
38070	0.08	78.8	1.27	31.6
38998	6.3		40.1	

[0727]

표 Q에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 콜레스테롤 접합은 8량체 항-miR-122 화합물의 ED<sub>50</sub> 및 ED<sub>90</sub>을 적어도 30배 개선하였다.

[0728]

또한, 화합물 38070 및 38998에 대해, 다른 miR-122 표적 유전자인 CD320의 탈억제도 결정하였다. 결과는 ALDOA에 대해 얻어진 결과와 유사하였다(데이터 미도시).

[0729]

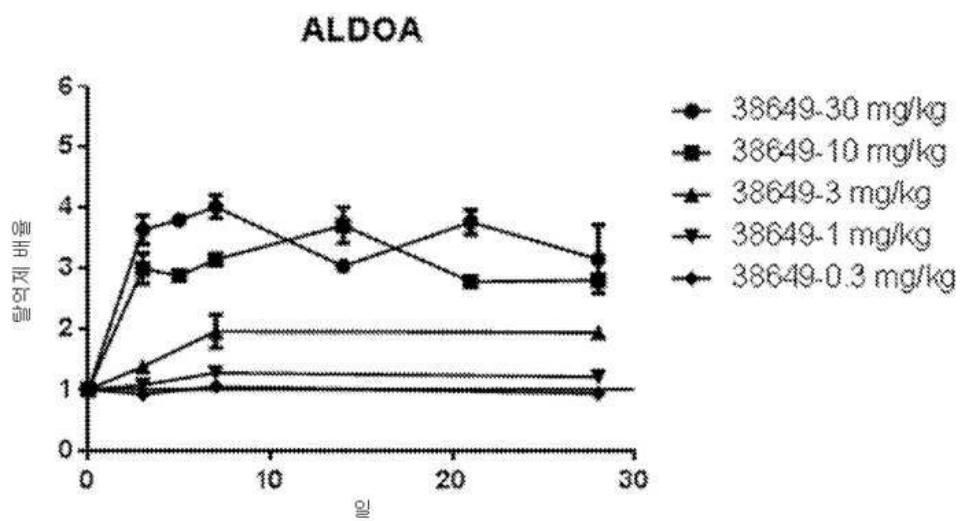
본원에 기술된 콜레스테롤 접합은 또한 콜레스테롤 저하 효능도 개선하였다. 시험한 대부분의 농도에서 화합물 38070은 동일한 농도의 화합물 38998보다 콜레스테롤을 더 큰 정도로 감소시켰다(데이터 미도시).

[0730]

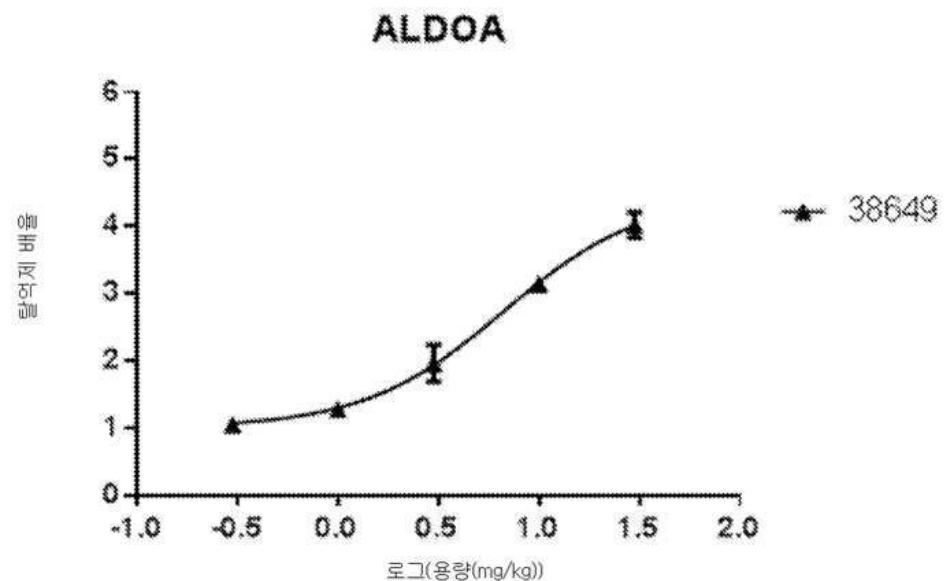
본원에 기술된 것뿐만 아니라 본 발명의 다양한 변형들이 전술된 내용으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 이러한 변형들도 또한 첨부된 청구범위의 범주 이내인 것으로 의도된다. 본 출원에 인용된 (논문, 미국 및 미국 외 특허, 특히 출원 공개물, 국제 특허 출원 공개물, GENBANK® 기탁 번호 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는) 각각의 참조는 그 전체가 참조로서 명백하게 본원에 포함된다.

## 도면

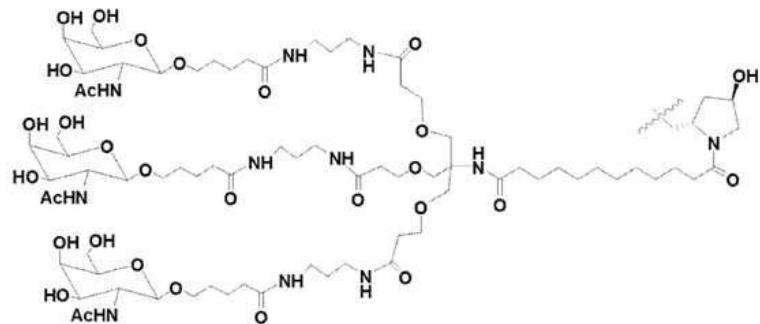
## 도면 1a



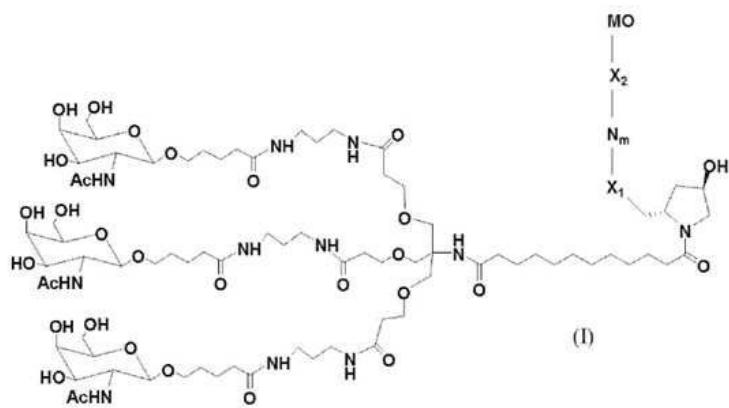
## 도면 1b



## 도면2

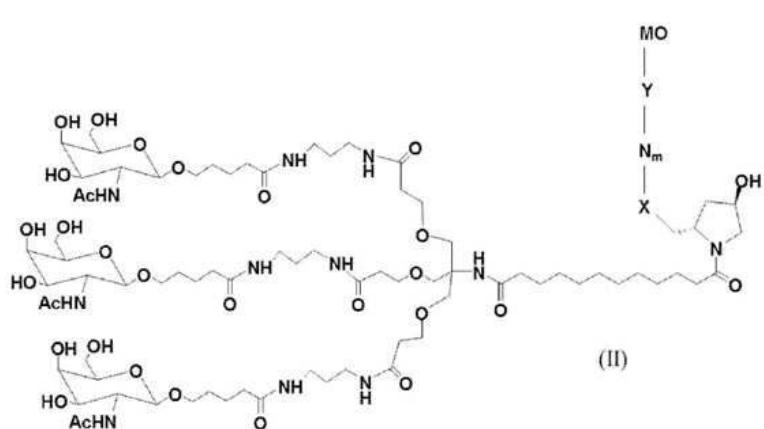


## 도면3a



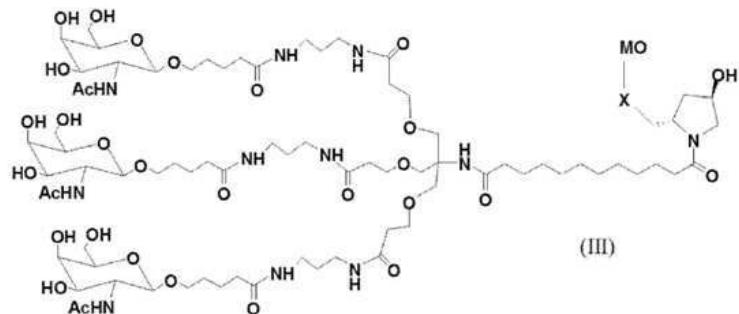
(I)

## 도면3b

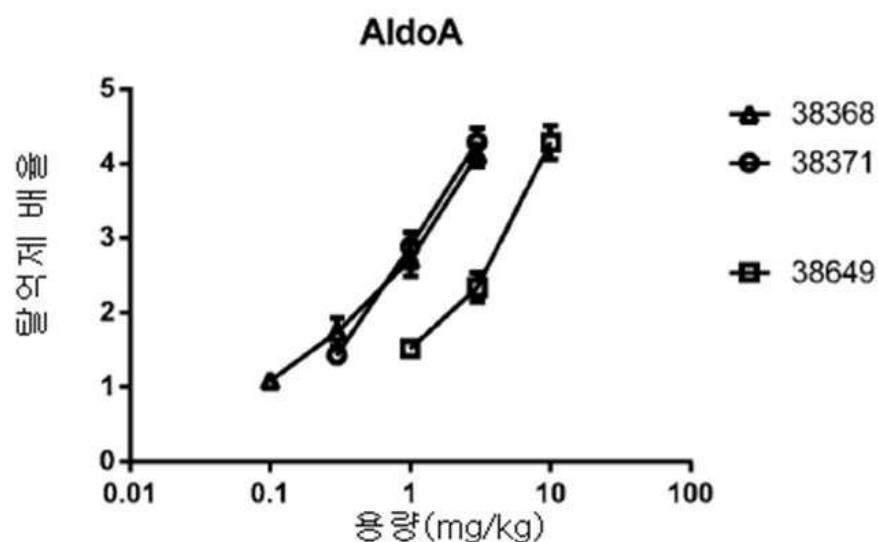


(II)

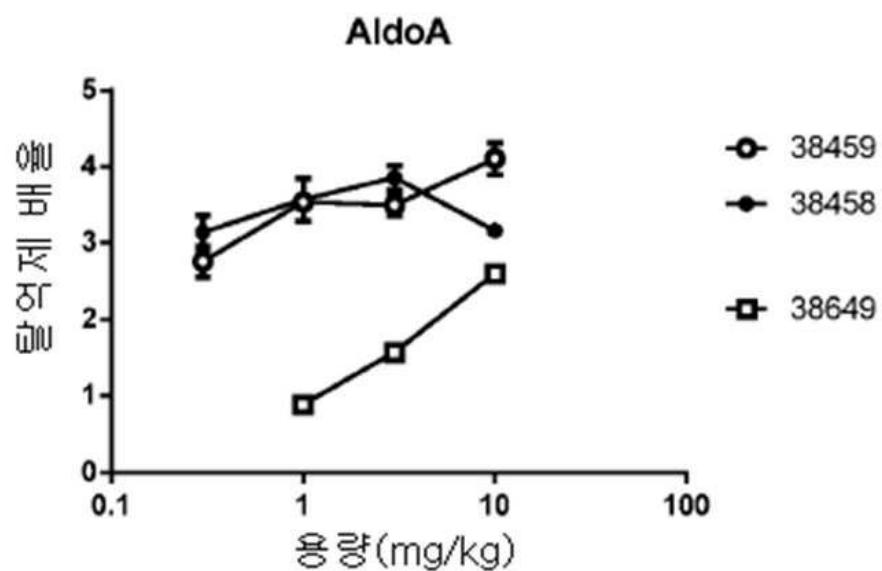
## 도면3c



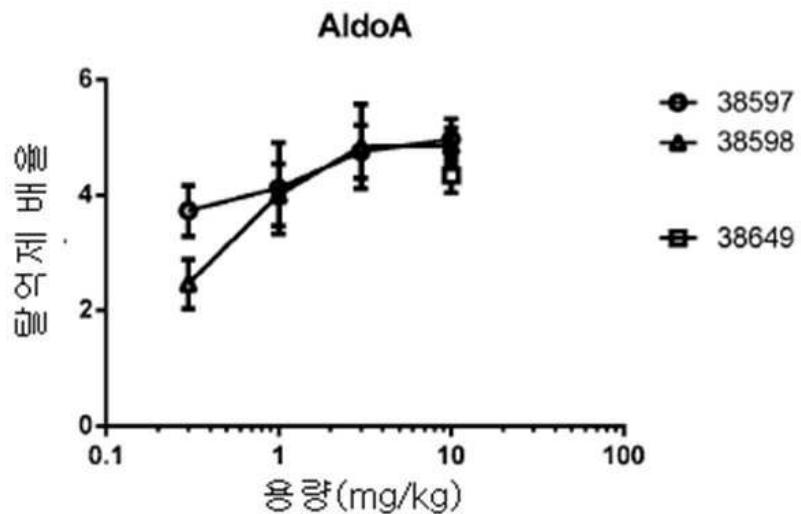
## 도면4a



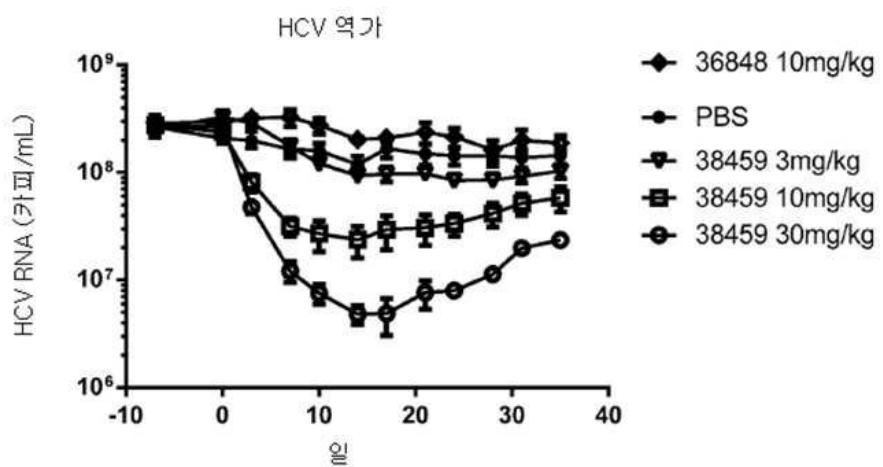
## 도면4b



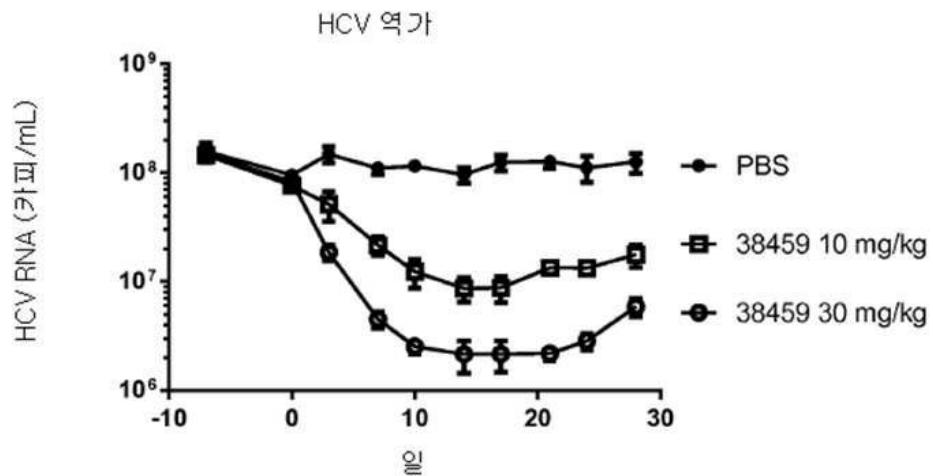
도면4c



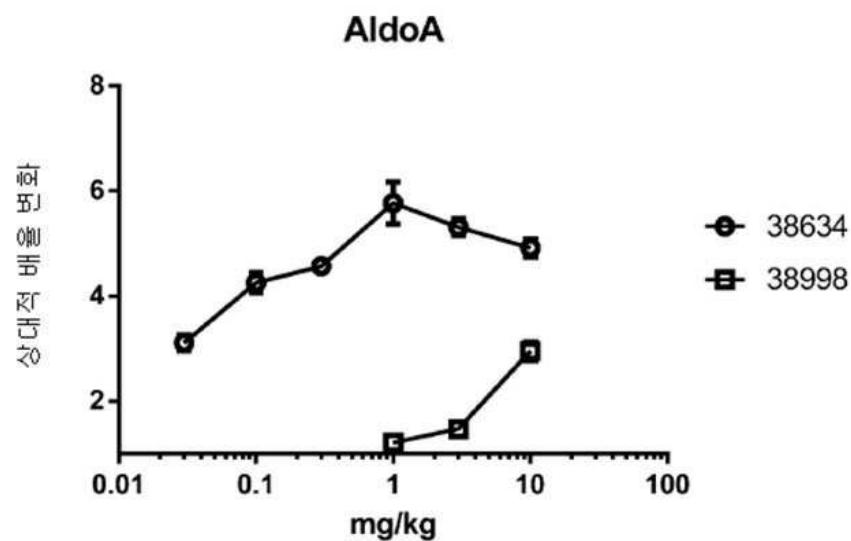
도면5a



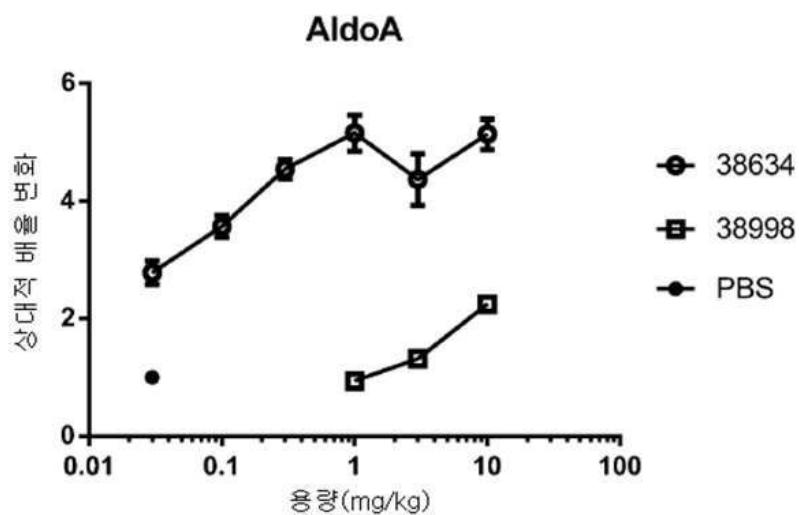
도면5b



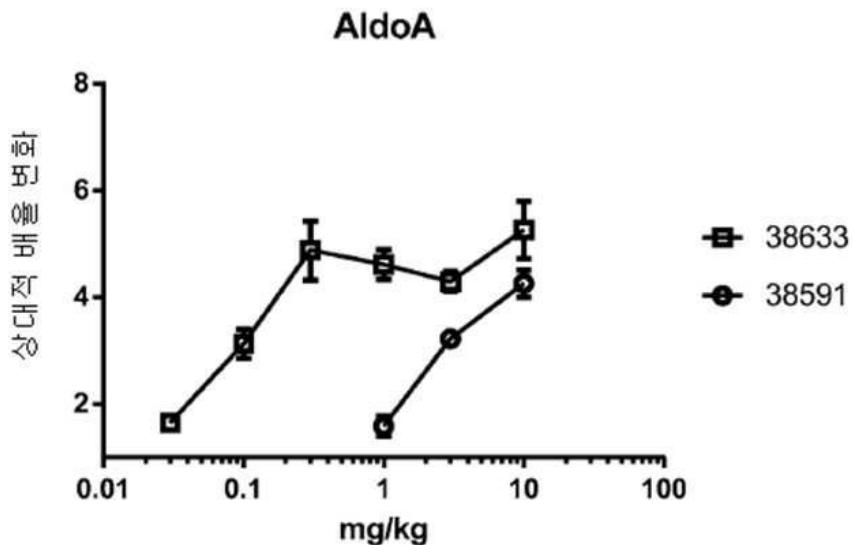
도면6a



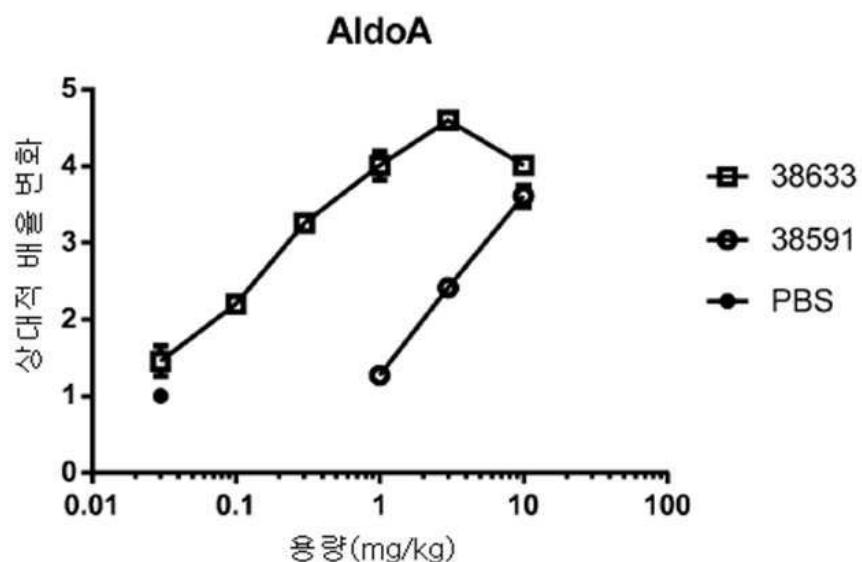
도면6b



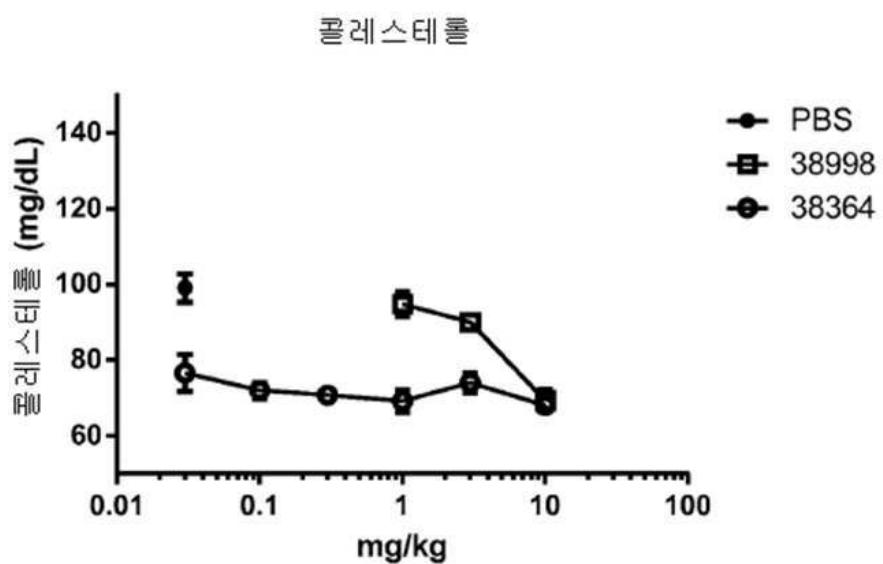
도면7a



도면7b

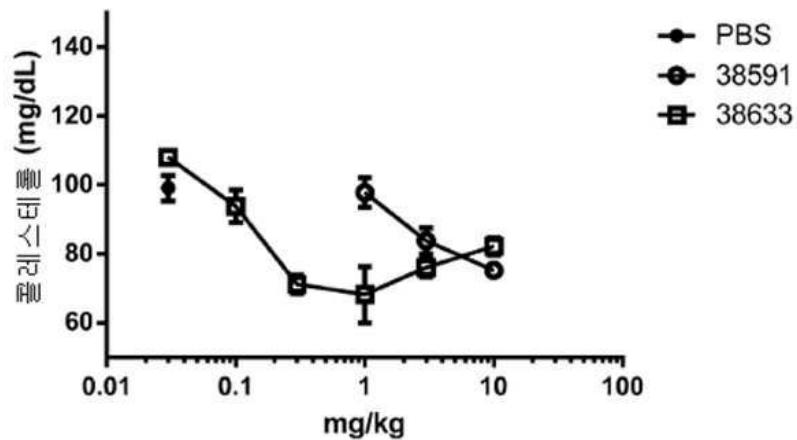


도면8a

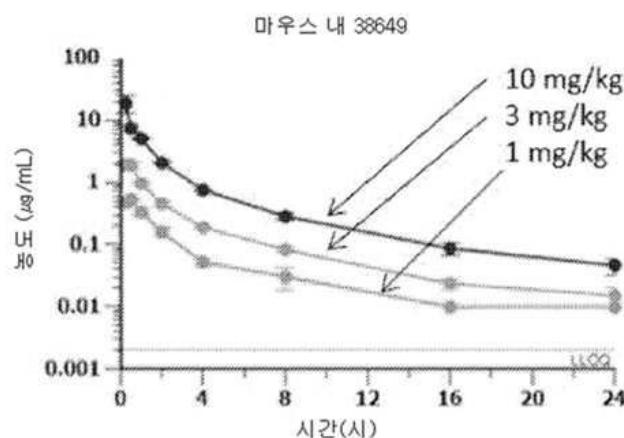


도면8b

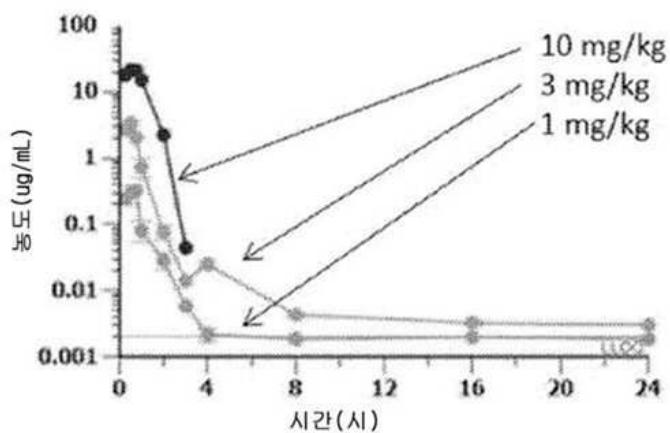
## 콜레스테롤



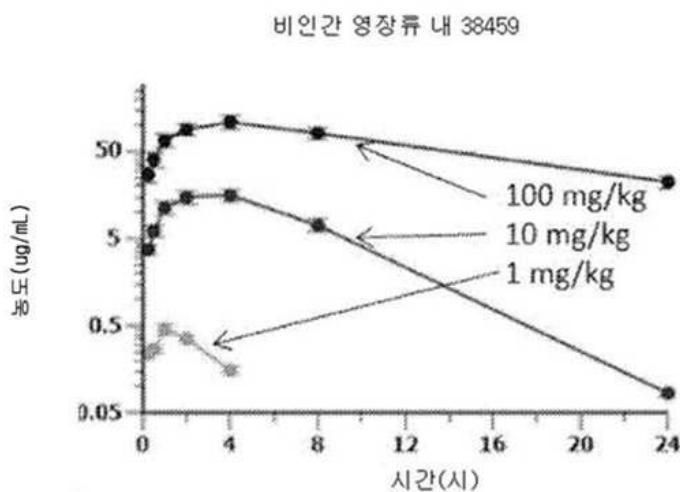
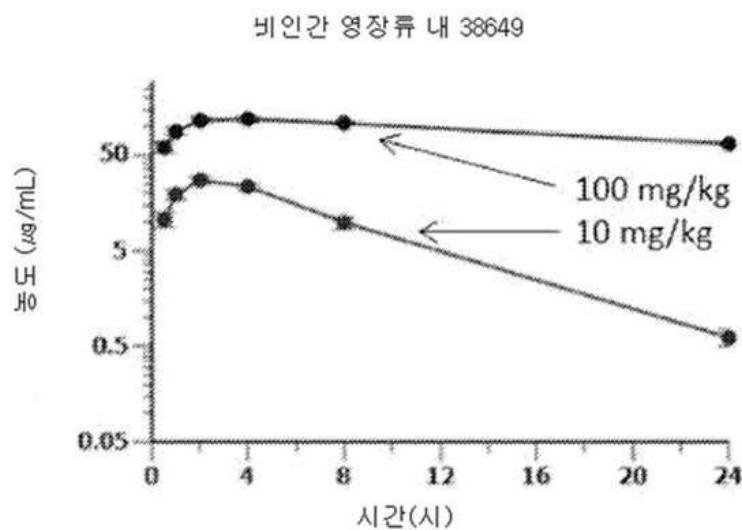
도면9a



마우스 내 38459



## 도면9b



## 서 열 목 록

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; REGULUS THERAPEUTICS INC.

&lt;120&gt; MICRORNA COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATING MIR-122

&lt;130&gt; REGUL-32975/WO-1/ORD

&lt;150&gt; US 61/818,432

&lt;151&gt; 2013-05-01

&lt;150&gt; US 61/822,112

&lt;151&gt; 2013-05-10

&lt;150&gt; US 61/839,550

&lt;151&gt; 2013-06-26

&lt;150&gt; 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 version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 22  
 <212> RNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 1  
 uggaguguga caaugguguu ug 22  
 <210> 2  
 <211> 85  
 <212> RNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 2  
 ccuuagcaga gcuguggagu gugacaaugg uguuuguguc uaaacuaauca aacgccauua 60  
 ucacacuaaa uagcuacugc uaggc 85  
 <210> 3  
 <211> 16  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic  
 <400> 3  
 ccatgtcac actcca 16  
 <210> 4  
 <211> 18  
 <212>  
 > DNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> Synthetic  
 <400> 4

acaccattgt cacactcc	18
<210> 5	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 5	
caaacaccat tgtcacactc c	21
<210> 6	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 6	
caaacaccat tgtcacactc ct	22
<210> 7	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 7	
ccattgtcac actcc	15
<210> 8	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 8	
ttgtcacact cca	13
<210> 9	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	

<400> 9

cacactcc

8

<210> 10

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

ccattgtcac actcct

16