202340468

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202340468 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：112101108　(22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 01 月 10 日

(51)Int. Cl.： *C12N15/113 (2010.01)*　*A61K31/712 (2006.01)*

A61K48/00 (2006.01)　*A61P31/20 (2006.01)*

A61P1/16 (2006.01)

(30)優先權：2022/01/10　美國　63/298,092

(71)申請人：中國大陸商杭州浩博醫藥有限公司 (中國大陸) AUSPER BIOPHARMA CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72)發明人：程　國鋒 CHENG, GUOFENG (US) ；楊　成勇 YANG, CHENG YONG (US)

(74)代理人：陳長文；朱淑尹；黃裕煦

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：126 項　圖式數：41　共 292 頁

(54)名稱

B 型肝炎病毒(HBV)表現之調節

(57)摘要

本發明揭示用於減少 HBV mRNA、DNA 及蛋白質表現之嵌合反義化合物及方法。此類方法、化合物及組合物適用於治療、預防或減輕 HBV 相關疾病、病症或病狀。

Disclosed herein are chimeric antisense compounds and methods for decreasing HBV mRNA, DNA and protein expression. Such methods, compounds, and compositions are useful to treat, prevent, or ameliorate HBV-related diseases, disorders or conditions.

指定代表圖：

表1.1

圖例

符號	說明	表示	實例
n	小寫	2'-去氧核苷	c代表2'-去氧5-甲基胞苷， a代表2'-去氧腺苷， g代表2'-去氧鳥苷，及 t代表2'-去氧胸苷。
N	大寫	2'-O-甲氧基乙基核苷	C代表2'-O-甲氧基乙基5-甲基胞苷， A代表2'-O-甲氧基乙基腺苷， G代表2'-O-甲氧基乙基鳥苷， T代表2'-O-甲氧基乙基胸苷，及 U代表2'-O-甲氧基乙基尿苷
C	大寫，加下劃線	2'-O-甲氧基乙基胞苷	C代表2'-O-甲氧基乙基胞苷(亦即具有2'-O-甲氧基乙基修飾之常規未甲基化胞苷)。
c	小寫c，加下劃線	2'-去氧胞苷	c代表2'-去氧胞苷(亦即，常規未甲基化2'-去氧胞苷)。
N	大寫斜體	2'-O-甲基核苷	C代表2'-O-甲基5-甲基胞苷， A代表2'-O-甲基腺苷， G代表2'-O-甲基鳥苷， T代表2'-O-甲基胸苷，及 U代表2'-O-甲基尿苷
n	小寫粗斜體	2'-OH核苷	c代表2'-OH 5-甲基胞苷(或5-甲基胞苷)， a代表2'-OH腺苷(或腺苷)， g代表2'-OH鳥苷(或鳥苷)，及 u代表2'-OH尿苷(或尿苷)。
N	大寫粗體	乙二醇核酸(GNA)	A代表具有腺嘌呤鹼基之GNA， C代表具有5-甲基胞嘧啶鹼基之GNA，
+N	前面有+符號之大寫	鎖核酸(LNA)	+A代表具有腺嘌呤鹼基之LNA， +C代表具有5-甲基胞嘧啶鹼基之LNA， +T代表具有鳥嘌呤鹼基之LNA， +T代表具有胸腺嘧啶鹼基之LNA， +U代表具有尿嘧啶鹼基之LNA，
+C	前面有+符號之大寫加下劃線	具有胞嘧啶鹼基之鎖核酸(LNA)	+C代表具有常規胞嘧啶鹼基(未甲基化)之LNA，
N'	大寫後有'符號	2'-氟2'-去氧核苷	A'代表2'-氟2'-去氧腺苷， C'代表2'-氟2'-去氧5-甲基胞苷， G'代表2'-氟2'-去氧鳥苷、 U'代表2'-氟2'-去氧尿苷
C'	大寫加下劃線後有'符號	2'-氟2'-去氧胞苷	C'代表2'-氟2'-去氧胞苷(未甲基化)
N"	大寫後有"符號	2'-F-阿拉伯糖核酸(2'-F-ANA)	A"代表具有腺嘌呤鹼基之2'-F-ANA T"代表具有胸腺嘧啶鹼基之2'-F-ANA G"代表具有鳥嘌呤鹼基之2'-F-ANA
C"	大寫加下劃線後有"符號	具有胞嘧啶鹼基之2'-F-ANA	C"代表具有胞嘧啶鹼基之2'-F-ANA

【圖1】

202340468

【發明摘要】

【中文發明名稱】

B型肝炎病毒(HBV)表現之調節

【英文發明名稱】

MODULATION OF HEPATITIS B VIRUS (HBV) EXPRESSION

【中文】

本發明揭示用於減少HBV mRNA、DNA及蛋白質表現之嵌合反義化合物及方法。此類方法、化合物及組合物適用於治療、預防或減輕HBV相關疾病、病症或病狀。

【英文】

Disclosed herein are chimeric antisense compounds and methods for decreasing HBV mRNA, DNA and protein expression. Such methods, compounds, and compositions are useful to treat, prevent, or ameliorate HBV-related diseases, disorders or conditions.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

B型肝炎病毒(HBV)表現之調節

【英文發明名稱】

MODULATION OF HEPATITIS B VIRUS (HBV) EXPRESSION

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 B型肝炎為藉由受污染物質(諸如血液及血液產品)、受污染之針非經腸傳染，性傳染及自經感染或載體母親向其後代豎直傳染的病毒疾病。據世界衛生組織(World Health Organization)估計全世界已感染超過20億人，每年約4百萬急性病例，每年1百萬例死亡且350至400百萬慢性攜帶者(世界衛生組織：B型肝炎發病率之地理發病率，2004. http://www.who.int/vaccines-surveillance/graphics/htmls/hepbprev.htm)。

【0002】 病毒HBV為僅感染人類及非人類靈長類動物的雙股親肝性病毒。病毒複製主要發生在肝臟中且以較低程度發生在腎臟、胰臟、骨髓及脾臟中(Hepatitis B virus biology. Microbiol Mol Biol Rev. 64: 2000; 51-68.)。病毒及免疫標記在血液中為可偵測的且特徵抗原-抗體模式隨時間推移而演變。第一可偵測病毒標記為HBsAg，接著為B型肝炎e抗原(HBeAg)及HBV DNA。效價在培育期期間可能較高，但HBV DNA及HBeAg含量在疾病發作時開始下降且在峰值臨床疾病時可能不可偵測(Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. N Engl J Med., 350: 2004; 1118-1129)。HBeAg為血液中可偵測之病毒標記

且與活性病毒複製相關，且因此具有高病毒負荷及傳染性(Hepatitis B e antigen-the dangerous end game of hepatitis B. N Engl J Med. 347: 2002; 208-210)。抗HBsAb及抗HBcAb (IgG)之存在指示先前感染之個體的恢復及免疫力。

【0003】 當前，由美國肝臟疾病研究協會(American Association for the Study of Liver Diseases；AASLD)及歐洲肝臟研究協會(European Association for the Study of the Liver；EASL)建議的用於慢性HBV感染之療法包括干擾素α (INF*a*)、聚乙二醇化干擾素α-2a (Peg-IFN2a)、恩替卡韋(entecavir)及替諾福韋(tenofovir)。核苷及核苷酸療法，恩替卡韋及替諾福韋成功降低病毒負荷，但HBeAg血清轉化及HBsAg損耗之比率甚至低於使用IFN*a*療法獲得之彼等。亦使用其他類似療法，包括拉米夫定(lamivudine) (3TC)、替比夫定(telbivudine) (LdT)及阿德福韋(adefovir)，但一般而言，針對核苷/核苷酸療法，出現抗性會限制治療功效。

【0004】 因此，此項技術中需要發現且研發新的抗病毒療法。另外，需要能夠增加HBeAg及HBsAg血清轉化率之新穎抗HBV療法。最新的臨床研究發現血清轉化與HBeAg降低(Fried等人(2008) Hepatology 47:428)及HBsAg降低(Moucari等人(2009) Hepatology 49:1151)之間的關聯。抗原含量降低可允許對HBV感染之免疫控制，因為認為高含量之抗原會誘導免疫耐受性。當前針對HBV之核苷療法能夠顯著降低HBV之血清含量，但對HBeAg及HBsAg含量具有極小影響。

【0005】 反義技術正在成為降低特定基因產物之表現的有效手段，且可因此證明其在許多治療、診斷中具有獨特的用途。反義療法不同於核

苷療法，因為其可直接靶向HBV抗原之轉錄物且從而降低血清HBeAg及HBsAg含量。由於HBV感染之後產生的多種重疊轉錄物，單個反義寡聚物亦有機會減少除HBeAg及HBsAg兩者以外的HBV DNA。因此，反義技術正在成為降低某些基因產物之表現的有效手段，且可因此證明其在調節HBV之許多治療、診斷及研究應用中具有獨特的用途。

【0006】 已研發出具有直接側接在5'翼段與3'翼段之間的單歌間隙段的HBV反義寡核苷酸(WO 2012/145697)。然而，許多具有此結構之HBV反義寡核苷酸在降低血清HBsAg含量中展現極小的功效及/或引起慢性B型肝炎患者之安全問題。因此，此項技術中需要改良的HBV反義寡核苷酸。

【發明內容】

【0007】 本發明藉由提供增強的經修飾之寡核苷酸結構而延伸HBV反義寡核苷酸之原理，該等結構藉由使用一或多個分隔物提供其他分段式間隙結構。

【0008】 本發明至少部分地基於以下發現：經修飾之寡核苷酸中側接在5'翼段與3'翼段之間的不連續間隙段提供相較於具有連續間隙之習知反義寡核苷酸改良的活性(例如，降低血清HBsAg含量或HBeAg含量)。直接置放於間隙段之間的一或多個分隔段可提供反義寡核苷酸之改良活性，其不同於此項技術中之當前教示，其展示分隔段可引起不良活性。本發明人出乎意料地發現，分隔段在全長反義寡核苷酸之特定位置處的安置提供改良之活性，而其他位置中之分隔段導致活性降低或無活性變化。此外，分隔段中僅特定類型之核苷修飾提供改良之活性，而分隔段中之其他類型之核苷修飾導致活性降低或無活性變化。不受理論束縛，全長反義寡核苷

酸內之分隔段之核苷修飾及定位的特定組合改良RNA酶H核酸內切酶之結合及活性，而不損害與HBV目標序列之互補性。

【0009】 本發明至少部分地基於以下發現：5'翼段及3'翼段之特定核苷修飾降低活體內毒性(例如，ALT含量(肝毒性之代表)或CC30 (使細胞存活率降低30%之細胞毒性濃度)降低)。本發明人出乎意料地發現，5'翼段中之特定類型的經修飾之核苷導致活體內毒性增加，而3'翼段中之特定類型的經修飾之核苷降低活體內毒性。此外，5'翼段及3'翼段內之經修飾之核苷的定位亦促進活體內毒性。不受理論束縛，5'翼段及3'翼段內之核苷修飾及定位的特定組合有助於全長反義寡核苷酸與HBV目標序列之互補。雖然某些位置處之特定類型之修飾的組合提高互補性，但特定類型之修飾及位置的其他組合降低互補性，從而導致脫靶結合增加，最終導致毒性。

【0010】 本文提供用於調節HBV mRNA及蛋白質之表現的方法、化合物及組合物。在某些實施例中，適用於調節HBV mRNA及蛋白質之表現的化合物為反義化合物。在某些實施例中，反義化合物為反義寡核苷酸。

【0011】 在某些實施例中，調節可發生在細胞或組織中。在某些實施例中，細胞或組織係在動物中。在某些實施例中，動物為人類。在某些實施例中，HBV mRNA含量降低。在某些實施例中，HBV DNA含量降低。在某些實施例中，HBV蛋白質含量降低。在某些實施例中，HBV抗原含量降低。在某些實施例中，HBV s-抗原(HBsAg)含量降低。在某些實施例中，HBV e-抗原(HBeAg)含量降低。此類降低可以時間依賴性方式或以劑量依賴性方式發生。

【0012】 亦提供適用於預防、治療及減輕疾病、病症及病狀之方法、化合物及組合物。在某些實施例中，此類HBV相關疾病、病症及病狀為肝臟疾病。在某些實施例中，此類肝臟疾病、病症及病狀包括黃疸、肝癌、肝臟發炎、肝纖維化、發炎、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎、HBV病毒血症及肝臟疾病相關移植。在某些實施例中，此類HBV相關疾病、病症及病狀為過度增生性疾病、病症及病狀。在某些實施例中，此類過度增生性疾病、病症及病狀包括癌症以及相關惡性腫瘤及癌轉移。在某些實施例中，此類癌症包括肝癌及肝細胞癌(HCC)。

【0013】 此類疾病、病症及病狀可具有一或多種常見的風險因子、病因或結果。針對肝臟疾病或過度增生性疾病發展之某些風險因子及病因包括變老；菸草使用；暴露於日光及電離輻射；與某些化學物質接觸；感染某些病毒及細菌；某些激素療法；癌症家族病史；酒精使用；及某些生活方式選擇，包括不良飲食、缺乏身體活動及/或超重。與肝臟疾病或過度增生性疾病之發展相關的某些症狀及結果包括但不限於：流感樣疾病、虛弱、疼痛、頭痛、發熱、食慾不振、腹瀉、黃疸、噁心及嘔吐、身體肝臟區域之疼痛、陶土色或灰色大便、渾身發癢及深色尿液。

【0014】 在某些實施例中，治療方法包括向有需要之個體投與HBV反義化合物。在某些實施例中，治療方法包括向有需要之個體投與HBV反義寡核苷酸。

【圖式簡單說明】

【0015】 **圖1**提供在圖2所示之序列之各位置處之核苷修飾的圖例。「實例」行描述各種類型之核苷修飾。

【0016】 **圖2**展示本發明之例示性經修飾之寡核苷酸的表格。使用圖1中之圖例讀取經修飾之寡核苷酸序列之各位置處的修飾。AUS1010至AUS1714 (SEQ ID NO:11至SEQ ID NO:666)表示經修飾之寡核苷酸序列。AUS1233 (SEQ ID NO: 10)亦稱為AUS1138，為參考的經修飾之寡核苷酸序列。

【0017】 **圖3**展示用於產生經修飾之寡核苷酸之固相合成方法的示意圖。

【0018】 **圖4**展示針對HBV Tg小鼠之經修飾之寡核苷酸給藥方案及HBsAg含量取樣排程的示意圖。

【0019】 **圖5**展示針對C57BL/6 Tg小鼠之經修飾之寡核苷酸給藥方案及HBsAg含量取樣排程的示意圖。

【0020】 **圖6**展示針對C57BL/6 Tg小鼠之經修飾之寡核苷酸給藥方案及丙胺酸胺基轉移酶(ALT)及天冬胺酸胺基轉移酶(AST)含量取樣排程的示意圖。

【0021】 **圖7**展示針對pAAV-1.2HBV-GTA HDI-HBV小鼠之經修飾之寡核苷酸給藥方案及HBsAg含量取樣排程的示意圖。

【0022】 **圖8**展示針對C57BL/6 Tg小鼠之經修飾之寡核苷酸給藥方案及丙胺酸胺基轉移酶(ALT)及天冬胺酸胺基轉移酶(AST)含量取樣排程的示意圖。

【0023】 **圖9**展示針對pcDNA3.1-preS2-GTD HDI-HBV小鼠之例示性經修飾之寡核苷酸給藥方案及HBsAg含量取樣排程的示意圖。

【0024】 **圖10**展示針對pcDNA3.1-preS2-GTA HDI-HBV小鼠之例示性經修飾之寡核苷酸給藥方案及HBsAg含量取樣排程的示意圖。

【0025】 **圖11**展示針對GTA HBV Tg小鼠之例示性經修飾之寡核苷酸給藥方案及HBsAg含量取樣排程的示意圖。

【0026】 **圖12**展示針對GTD AAV-HBV Tg小鼠之例示性經修飾之寡核苷酸給藥方案及HBsAg含量取樣排程的示意圖。

【0027】 **圖13**展示針對C57BL/6 Tg小鼠之例示性經修飾之寡核苷酸給藥方案及丙胺酸胺基轉移酶(ALT)及天冬胺酸胺基轉移酶(AST)含量取樣排程的示意圖。

【0028】 **圖14**呈現表15.1，其顯示GT-C 1.0HBV轉殖基因小鼠在經修飾之寡核苷酸AUS1233、AUS1683、AUS1684、AUS1685、AUS1220、AUS1322、AUS1323或AUS1324之40mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0029】 **圖15**呈現表15.2，其顯示GT-C 1.0HBV轉殖基因小鼠在經修飾之寡核苷酸AUS1169、AUS1171、AUS1170、AUS1168或AUS1322之40mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0030】 **圖16**呈現表15.3，其展示GT-C 1.0HBV轉殖基因小鼠在經修飾之寡核苷酸AUS1434、AUS1435、AUS1440、AUS1436、AUS1437、AUS1438、AUS1439、AUS1441、AUS1422、AUS1423、AUS1424、AUS1425、AUS1426、AUS1427、AUS1428、AUS1429、AUS1430、AUS1431、AUS1432或AUS1433之30 mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0031】 **圖17**呈現表15.4，其顯示GT-C 1.0HBV轉殖基因小鼠在經修飾之寡核苷酸AUS1463、AUS1466、AUS1476、AUS1472、AUS1489或AUS1459之30mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0032】 **圖18**呈現表15.5，其展示GT-C 1.0HBV轉殖基因小鼠在經修飾之寡核苷酸AUS1492、AUS1495、AUS1494、AUS1493、AUS1482或AUS1441之30mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0033】 **圖19**呈現表15.6，其顯示GT-C 1.0HBV轉殖基因小鼠在經修飾之寡核苷酸AUS1693、AUS1694、AUS1695、AUS1696、AUS1697、AUS1698、AUS1699或AUS1700之40mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0034】 **圖20**呈現表15.7，其展示GT-C 1.0HBV轉殖基因小鼠在用經修飾之寡核苷酸處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。第1列及第2列展示第0天在AUS1493或AUS1233之10mg/kg皮下劑量後的HBsAg含量。第3列及第4列展示第0天在AUS1493或AUS1233之30mg/kg皮下劑量後的HBsAg含量。平均值以log_{10}表示。

【0035】 **圖21**呈現表16.1，其展示GT-D HDI HBV小鼠在eASO化合物AUS1683、AUS1684、AUS1685、AUS1220、AUS1322、AUS1323或AUS1324之60mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0036】 **圖22**呈現表16.2，其展示GT-D HDI HBV小鼠在eASO化合物AUS1169、AUS1171、AUS1170或AUS1168之60mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0037】 **圖23**呈現表16.3，其展示GT-D HDI HBV小鼠在eASO化合物AUS1173、AUS1174、AUS1175或AUS1176之60mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0038】 **圖24**呈現表16.4，其展示GT-D HDI HBV小鼠在eASO化合物AUS1173、AUS1177、AUS1178、AUS1179、AUS1180、AUS1181、AUS1182、AUS1194、AUS1184、AUS1185、AUS1186、AUS1187、AUS1188、AUS1189、AUS1190、AUS1191、AUS1192、AUS1193、AUS1183、AUS1239、AUS1325、AUS1326、AUS1327、AUS1328、AUS1329、AUS1175、AUS1361或AUS1362之60mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天及第14天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0039】 **圖25**呈現表16.5，其展示GT-D HDI HBV小鼠在eASO化合物AUS1322、AUS1382、AUS1383、AUS1384或AUS1385之60mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第22天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0040】 **圖26**呈現表16.6，其展示GT-D HDI HBV小鼠在eASO化合物AUS1322、AUS1388、AUS1389、AUS1390、AUS1392、AUS1393、AUS1396、AUS1403、AUS1409、AUS1411、AUS1413、

AUS1414或AUS1415之60mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0041】 **圖27**呈現表16.7，其展示GT-D HDI HBV小鼠在eASO化合物AUS1387、AUS1326、AUS1328、AUS1388、AUS1390、AUS1403或AUS1360之60mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天及第14天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0042】 **圖28**呈現表16.8，其展示GT-D HDI HBV小鼠在eASO化合物AUS1434、AUS1435、AUS1440、AUS1436、AUS1437、AUS1438、AUS1439、AUS1441、AUS1422、AUS1423、AUS1424、AUS1425、AUS1426、AUS1427、AUS1428、AUS1429、AUS1430、AUS1431、AUS1432或AUS1433之40 mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0043】 **圖29**呈現表16.9，其展示GT-D HDI HBV (1.5ug/ml pcDNA3.1 preS2/S質體)小鼠在eASO化合物AUS1444、AUS1458、AUS1459、AUS1460、AUS1461、AUS1462、AUS1463、AUS1464、AUS1465、AUS1466、AUS1467、AUS1468、AUS1469、AUS1470、AUS1471、AUS1472、AUS1473、AUS1474、AUS1475、AUS1476、AUS1477、AUS1478、AUS1479、AUS1480、AUS1481、AUS1482、AUS1483、AUS1488、AUS1489、AUS1490、AUS1443、AUS1444或AUS1445之40mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0044】 **圖30**呈現表16.10，其展示GT-D HDI HBV (1.5ug/ml pcDNA3.1 preS2/S質體)小鼠在eASO化合物AUS1492、AUS1493、

AUS1233、AUS1492或AUS1493之15mg/kg或45mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0045】**圖31**呈現表16.11，其展示GT-A HDI HBV (1.5ug/ml pcDNA3.1 preS2/S質體)小鼠在eASO化合物AUS1492、AUS1493、AUS1233、AUS1492或AUS1493之40mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0046】**圖32**呈現表16.12，其展示GT-A HDI HBV (1.5ug/ml pcDNA3.1 preS2/S質體)小鼠在eASO化合物AUS1441、AUS1466、AUS1472、AUS1488或AUS1489之15或45 mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0047】**圖33**呈現表16.13，其展示GT-D HDI HBV (1.5ug/ml pcDNA3.1 preS2/S質體)小鼠在eASO化合物AUS1495、AUS1494、AUS1233、AUS1495、AUS1494、AUS1492或AUS1441之15mg/kg或45mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0048】**圖34**呈現表16.14，其展示GT-A HDI HBV (1.5ug/ml pcDNA3.1 preS2/S質體)小鼠在eASO化合物AUS1495、AUS1494、AUS1233、AUS1495、AUS1494、AUS1492、AUS1482或AUS1441之15mg/kg或45mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0049】 **圖35**呈現表16.15，其展示GT-B HDI HBV (0.5ug/ml pcDNA3.1 preS2/S質體)小鼠在eASO化合物AUS1684之40mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0050】 **圖36**呈現表16.16，其展示GT-A 1.2HBV小鼠在eASO化合物AUS1492或AUS1493之45mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0051】 **圖37**呈現表16.17，其展示GT-A HDI HBV (1.5ug/ml pAAV-1.2HBV質體)小鼠在eASO化合物AUS1396、AUS1422、AUS1423、AUS1424、AUS1425、AUS1426、AUS1427、AUS1428、AUS1429、AUS1430、AUS1431、AUS1432或AUS1433之40 mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0052】 **圖38**呈現表16.18，其展示GT-A HDI HBV (1.5ug/ml pAAV-1.2HBV質體)小鼠在eASO化合物AUS1444、AUS1458、AUS1459、AUS1460、AUS1461、AUS1462、AUS1463、AUS1464、AUS1465、AUS1466、AUS1467、AUS1468、AUS1469、AUS1470、AUS1471、AUS1472、AUS1473、AUS1474、AUS1475、AUS1476、AUS1477、AUS1478、AUS1479、AUS1480、AUS1481、AUS1482、AUS1483、AUS1488、AUS1489、AUS1490、AUS1443或AUS1434之40mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天及第21天的HBsAg血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0053】 **圖39**呈現表17，其展示GT-D AAV HBV (rAAV-HBV1.3-

聚體WT複製子)小鼠在eASO化合物AUS1493之40mg/kg皮下處理後的第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天的HBsAg、HBeAg及HBV DNA之血清含量。平均值以log_{10}表示。

【0054】 **圖40**呈現表18.1，其展示WT雄性C57BL/6小鼠在第0天、第2天及第4天在eASO化合物AUS1434、AUS1435、AUS1440、AUS1436、AUS1437、AUS1438、AUS1439、AUS1441、AUS1178、AUS1190、AUS1188、AUS1192、AUS1422、AUS1423、AUS1424、AUS1425、AUS1426、AUS1427、AUS1428、AUS1429、AUS1430、AUS1431、AUS1432、AUS1433、AUS1360、AUS1401、AUS1361、AUS1362或AUS1411之60mg/kg皮下處理後的第5天、第7天、第10天、第14天、第17天及第21天的ALT血清含量。

【0055】 **圖41**呈現表18.2，其展示WT雄性C57BL/6小鼠在第0天、第2天及第4天在eASO化合物AUS1443、AUS1444、AUS1445、AUS1446、AUS1447、AUS1448、AUS1449、AUS1450、AUS1452、AUS1453、AUS1454、AUS1455、AUS1456或AUS1457之60mg/kg皮下處理後的第5天、第7天、第10天、第14天、第17天及第21天的ALT血清含量。

【實施方式】

相關申請案

【0056】 本申請案主張2022年1月10日申請的美國臨時申請案第63/298,092號的優先權及權益，該申請案之內容以全文引用之方式併入本文中。

【0057】 應理解，前文一般描述與以下詳細說明僅舉例說明及解釋

而非限制所主張之本發明。在本文中，除非另外特別說明，否則單數的使用包括複數。如本文中所使用，除非另外陳述，否則使用「或」意謂「及/或」。此外，使用術語「包括(including)」以及其他形式，諸如「包括(includes)」及「包括(included)」，不具限制性。另外，除非另外特別說明，否則諸如「要素(element)」或「組分(component)」之術語涵蓋包含一個單元之要素及組分以及包含多於一個子單元之要素及組分。

【0058】 本文使用之章節標題僅出於組織目的而不應被視為限制所述標的物。本申請案中引用之所有文獻或文獻之部分，包括但不限於專利、專利申請案、文章、書籍及論文，特此明確地以本文所論述之文獻部分以及其全部內容引用的方式併入。

定義

【0059】 除非提供具體定義，否則本文所述之與分析化學、合成有機化學以及醫學及醫藥化學相關使用之命名法及該等學科之程序及技術為此項技術中眾所周知且常用的彼等命名法以及程序及技術。標準技術可用於化學合成及化學分析。在允許之情況下，所有專利、申請案、公開申請案及其他出版物、GENBANK登錄號及可經由諸如國家生物技術資訊中心(NCBI)之資料庫獲得之相關序列資訊以及本發明通篇提及之其他資料均以本文中所論述之文獻部分以及其全部內容引用的方式併入。

【0060】 除非另外指示，否則以下術語具有以下含義：

【0061】 「2'-O-甲氧基乙基」(亦為2'-MOE及2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3)係指呋喃醣環之2'位置之O-甲氧基-乙基修飾。經2'-O-甲氧基乙基修飾之糖為經修飾之糖。

【0062】 「2'-MOE核苷」(亦為2'-O-甲氧基乙基核苷)意謂包含經

2'-MOE修飾之糖部分的核苷。

【0063】「2'-經取代之核苷」意謂在除H或OH外之呋喃醣基環之2'-位置處包含取代基之核苷。在某些實施例中，2'經取代之核苷包括具有雙環糖修飾之核苷。

【0064】「3'目標位點」係指目標核酸之與特定反義化合物之最3'-端核苷酸互補的核苷酸。

【0065】「5'目標位點」係指目標核酸之與特定反義化合物之最5'-端核苷酸互補的核苷酸。

【0066】「5-甲基胞嘧啶」係指經附接至5位置之甲基修飾之胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶為經修飾之核鹼基。

【0067】「約」意謂在值之±7%內。舉例而言，若陳述「化合物影響HBV之至少約70%抑制」，則其暗示HBV含量經抑制在63%與77%之範圍內。

【0068】「可接受之安全概況」意謂副作用在臨床上可接受之限值內的模式。

【0069】「活性醫藥劑」意謂當向個體投與時提供治療益處之醫藥組合物中之一或多種物質。舉例而言，在某些實施例中，靶向HBV之反義寡核苷酸為活性醫藥劑。

【0070】「活性目標區域」意謂一或多種活性反義化合物所靶向之目標區域。「活性反義化合物」意謂降低目標核酸含量或蛋白質含量之反義化合物。

【0071】當暴露於B型肝炎病毒之個人開始出現病毒性肝炎之病徵及症狀時，產生「急性B型肝炎感染症」。稱為培育期之此時段平均為90

天，但可短至45天或長達6個月。對於大部分人類而言，此感染將引起輕度至中度不適，但會自行消失，因為身體之免疫反應成功地對抗病毒。然而，一些人，尤其患有受損之免疫系統者，諸如患有AIDS、正在經歷化學療法、服用免疫抑制劑藥物或服用類固醇之人，由於急性HBV感染而具有極嚴重的問題，且上升至更嚴重的病狀，諸如爆發性肝衰竭。

【0072】「同時投與」係指以藥理學作用同時顯現在患者中之任何方式共同投與兩種藥劑。同時投與不需要兩種藥劑以單一醫藥組合物形式、以相同劑型或藉由相同投與途徑投與。兩種藥劑之作用皆無需同時顯現。作用僅需要重疊一段時間且無需共同延伸。

【0073】「投與」意謂向個體提供醫藥劑，且包括但不限於藉由醫學專業人員投與及自投。

【0074】「藥劑」意謂當向動物投與時可提供治療效益之活性物質。「第一藥劑」意謂本文所描述之治療性化合物。舉例而言，第一藥劑可為靶向HBV之反義寡核苷酸。「第二藥劑」意謂本文所描述之第二治療性化合物(例如，靶向HBV之第二反義寡核苷酸)及/或非HBV治療性化合物。

【0075】「改善」意謂減輕病狀或疾病之嚴重程度之至少一個指標。指標之嚴重程度可藉由熟習此項技術者已知之主觀量測或客觀量測來測定。

【0076】「動物」係指人類或非人類動物，包括但不限於小鼠、大鼠、兔、狗、貓、豬，及非人類靈長類動物，包括但不限於猴及黑猩猩。

【0077】「抗體」係指藉由以一些方式與抗原特異性反應來表徵的分子，其中抗體及抗原各自根據另一者定義。抗體可指完整抗體分子或其

任何片段或區域，諸如重鏈、輕鏈、F_{ab}區及F_c區。

【0078】「反義活性」意謂可歸因於反義化合物與其目標核酸雜交的任何可偵測及/或可量測之活性。在某些實施例中，反義活性為由此目標核酸編碼之目標核酸或蛋白質之量或表現的降低。

【0079】「反義化合物」意謂能夠經由氫鍵結與目標核酸雜交之寡聚化合物。反義化合物之實例包括單鏈及雙鏈化合物，諸如反義寡核苷酸、siRNA、shRNA、snoRNA、miRNA及衛星重複序列。

【0080】「反義抑制」意謂與在不存在反義化合物之情況下的目標核酸含量相比，在存在與目標核酸互補之反義化合物的情況下的目標核酸含量降低。

【0081】「反義機制」為涉及化合物與目標核酸之雜交的所有彼等機制，其中雜交之結果或影響為目標降解或目標佔用同時停止涉及例如轉錄或剪接之細胞機構。

【0082】「反義寡核苷酸」意謂具有允許與目標核酸之對應區域或片段雜交之核鹼基序列的單鏈寡核苷酸。

【0083】「曲線下面積」或「AUC」為血漿中之藥物濃度隨時間變化之積分。可測定可獲得資料之全部時間的AUC，例如直至藥物不再可偵測(AUC_{0-t})，時間0外推無限之曲線下面積($AUC_{0-¥}$)或特定截斷時間窗，例如投與後24小時之曲線下面積(AUC_{0-24})。

【0084】「鹼基互補」係指反義寡核苷酸之核鹼基與目標核酸中之相應核鹼基之精確鹼基配對的能力(亦即，雜交)，且由相應核鹼基之間的華特生-克里克(Watson-Crick)、胡斯坦(Hoogsteen)或反向胡斯坦氫鍵結介導。

【0085】「雙環糖」意謂藉由兩個非成對碳原子之橋接而修飾之呋喃醣環。雙環糖為經修飾之糖。

【0086】「體重」係指動物之整個體重，包括所有組織，包括脂肪組織。

【0087】「帽結構」或「端帽部分」意謂已併入反義化合物之任一端的化學修飾。

【0088】「cEt」或「約束乙基」意謂包含連接4'-碳及2'-碳之橋的雙環糖部分，其中橋具有式：4'-$CH(CH_3)$-O-2'。

【0089】「經約束乙基核苷」(亦為cEt核苷)意謂包含雙環糖部分之核苷，該雙環糖部分包含4'-$CH(CH_3)$-O-2'橋。

【0090】「化學上不同之區域」係指反義化合物之區域，其在一些方面化學上不同於同一反義化合物之另一區域。舉例而言，具有2'-O-甲氧基乙基核苷酸之區域在化學上不同於不具有2'-O-甲氧基乙基修飾之核苷酸之區域。

【0091】「嵌合反義化合物」意謂具有至少2個化學上不同區域之反義化合物，各位置具有複數個子單元。

【0092】當個人最初罹患急性感染但隨後不能對抗感染時，產生「慢性B型肝炎感染症」。疾病變成慢性的或完全消退主要取決於感染者之年齡。約90%在出生時感染之嬰兒將發展成慢性疾病。然而，隨著人年齡增長，慢性感染之風險降低，所得20%與50%之間的兒童及小於10%之大齡兒童或成人將自急性發展成慢性感染。慢性HBV感染為本創作之實施例之主要治療目標，但本發明之ASO組合物亦能夠治療HBV相關病狀，諸如發炎、纖維化、肝硬化、肝癌、血清肝炎等。

【0093】「共投與」意謂向個體投與兩種或更多種醫藥劑。兩種或更多種醫藥劑可在單一醫藥組合物中，或可在各別醫藥組合物中。兩種或更多種醫藥劑中之每一者可經由相同或不同的投與途徑來投與。共投與涵蓋同時或依序投與。

【0094】「互補性」意謂第一核酸及第二核酸之核鹼基之間配對的能力。

【0095】「遵守」意謂個體依從建議之療法。

【0096】「包含(Comprise)」、「包含(comprises)」及「包含(comprising)」應理解為暗示包括所述步驟或要素或步驟或要素組但不排除任何其他步驟或要素或步驟或要素組。

【0097】「連續核鹼基」意謂彼此緊鄰的核鹼基。

【0098】「治癒」意謂恢復健康之方法或過程或用於疾病之處方治療。

【0099】「去氧核糖核苷酸」意謂在核苷酸之糖部分之2'位置處具有氫的核苷酸。去氧核糖核苷酸可經多種取代基中之任一者修飾。

【0100】「設計」或「經設計以」係指設計與所選核酸分子特異性雜交之寡聚化合物的方法。

【0101】「稀釋劑」意謂不具有藥理學活性，但為醫藥學上必需或所需之組合物中的成分。舉例而言，在注射之藥物中，稀釋劑可為液體，例如鹽水溶液。

【0102】「劑量單位」意謂一種形式，其中提供醫藥劑，例如丸劑、錠劑或此項技術中已知之其他劑量單位。

【0103】「劑量」意謂在單次投與中或在指定時段中提供之指定數

量之醫藥劑。在某些實施例中，劑量可以兩種或更多種彈丸劑、錠劑或注射劑形式投與。舉例而言，在某些實施例中，在需要皮下投與之情況下，所需劑量需要不易於藉由單次注射調節之體積。在此類實施例中，可使用兩次或更多次注射來實現所需劑量。在某些實施例中，劑量可以兩次或更多次注射投與以使個體中之注射位點反應減到最少。在其他實施例中，醫藥劑藉由輸注經延長時段或連續地投與。劑量可陳述為每小時、每天、每週或每月之醫藥劑之量。

【0104】「給藥方案」為經設計以實現一或多種所需效應之劑量的組合。

【0105】「持續時間」意謂活性或事件持續的時間段。在某些實施例中，治療之持續時間為投與醫藥劑之劑量的時間段。

【0106】在調節活性或治療或預防病狀之情形下的「有效量」意謂以單劑量或作為一系列之部分向需要此調節、治療或預防之個體投與該量之活性成分，其有效於調節該作用或治療或防治或改善該病狀。有效量將視以下而變化：待治療之個體之健康及身體狀況、待治療之個體之分類群、組合物之配方、醫學情形評估，及其他相關因素。

【0107】「功效」意謂產生所要作用之能力。

【0108】「表現」包括將基因編碼資訊轉化為細胞中存在及運作之結構的所有功能。此類結構包括但不限於轉錄及轉譯之產物。

【0109】適用於聚核苷酸之術語「片段」應理解為意謂相對於參考核酸或核苷酸序列具有縮減長度且包含與參考核酸或核苷酸序列一致或幾乎一致(例如，60%、70%、80%、90%、92%、95%、98%或99%一致)之連續核苷酸之核苷酸序列，基本上由該核苷酸序列組成及/或由該核苷酸

序列組成的核苷酸序列。根據本發明之此類核酸片段在適當時可包括於其作為成分之較大聚核苷酸中。在一些實施例中，此類片段可包含長度為根據本發明之核酸或核苷酸序列之至少約8、10、12、15、20、25、30、35、40、45、50、75、100、150、200或更多個連續核苷酸的寡核苷酸，基本上由該寡核苷酸組成及/或由該寡核苷酸組成。

【0110】「完全互補」或「100%互補」意謂第一核酸之各核鹼基具有第二核酸中之互補核鹼基。在某些實施例中，第一核酸為反義化合物且目標核酸為第二核酸。

【0111】「完全修飾之模體」係指包含核苷之連續序列的反義化合物，其中基本上各核苷為具有均勻修飾的經糖修飾之核苷。

【0112】「間隙體(gapmer)」意謂其中具有複數個支援RNA酶H裂解之核苷的內部區域定位於具有一或多個核苷之外部區域之間的嵌合反義化合物，其中包含該內部區域之核苷在化學上不同於包含該等外部區域之一或多種核苷。內部區域可稱作「間隙」，且5'及3'外部區域中之每一者可稱作「翼」。

【0113】「間隙」為包含一或多個連接之去氧核苷的嵌合反義化合物之內部區段，且位於5'翼(W1)與3'翼(W2)之間。間隙可稱為「間隙」、「間隙區」或「間隙段」。

【0114】「HBV」意謂哺乳動物B型肝炎病毒，包括人類B型肝炎病毒。術語涵蓋B型肝炎病毒、尤其人類B型肝炎病毒之地理基因型以及B型肝炎病毒之地理基因型之變異品系。

【0115】「HBV抗原」意謂任何B型肝炎病毒抗原或蛋白質，包括核心蛋白質，諸如「B型肝炎核心抗原」或「HBcAG」及「B型肝炎E抗

原」或「HBeAG」及包膜蛋白，諸如「HBV表面抗原」或「HBsAg」或「HBsAG」。

【0116】「B型肝炎E抗原」或「HBeAg」或「HBeAG」為分泌型、非顆粒形式之HBV核心蛋白。HBV抗原HBeAg及HBcAg共用一級胺基酸序列，因此在T細胞水準展示交叉反應性。HBeAg對於病毒組裝或複製而言並非所需的，但研究表明其可為建立慢性感染所需的。具有HBeAg-陰性突變體之新生兒感染通常引起爆發性急性而非慢性HBV感染(Terezawa等人 (1991) Pediatr. Res. 29:5)，而具有WHeAg-陰性突變體之年輕土撥鼠之感染引起非常低速率之慢性WHV感染(Cote等人 (2000) Hepatology 31:190)。HBeAg可能藉由經由缺失或殖株無能使核心特異性T細胞不活化而充當耐受原(Milich等人 (1998) J. Immunol. 160:8102)。在抗病毒療法及HBeAg血清轉化後，在HBV病毒負荷及抗原之降低與抑制性受體計劃性死亡-1 (PD-1；亦稱為PDCD1)(一種活化T細胞之負調節因子)之T細胞表現降低之間存在正相關(Evans等人 (2008) Hepatology 48:759)。

【0117】「HBV mRNA」意謂由B型肝炎病毒表現之任何信使RNA。

【0118】「HBV核酸」或「HBV DNA」意謂編碼HBV之任何核酸。舉例而言，在某些實施例中，HBV核酸包括但不限於編碼HBV基因體或其部分之任何病毒DNA序列、自包括編碼HBV蛋白質之任何mRNA序列的病毒DNA轉錄的任何RNA序列。

【0119】「HBV蛋白質」意謂由B型肝炎病毒分泌之任何蛋白質。該術語涵蓋多種HBV抗原，包括核心蛋白質，諸如「E型肝炎抗原」、

「HBeAg」或「HBeAG」及包膜蛋白，諸如「HBV表面抗原」或「HBsAg」。

【0120】「HBV表面抗原」或「HBsAg」或「HBsAG」為感染性HBV病毒粒子之包膜蛋白，但亦以非感染性粒子形式分泌，其中血清含量比HBV病毒粒子高1000倍。受感染之個人或動物中HBsAg之血清含量可高達1000 gg/mL (Kann及Gehrlich (1998) Topley & Wilson's Microbiology及Microbial Infections,第9版745)。在急性HBV感染中，血清中HBsAg之半衰期或血清$t_{\%}$為8.3天(Chulanov等人(2003) J. Med. Virol. 69: 313)。骨髓樹突狀細胞使HBsAg內化會抑制共刺激分子(亦即B7)之上調且抑制T細胞刺激能力(den Brouw等人 (2008) Immunology 126:280)，且來自長期感染患者之樹突狀細胞亦展示共刺激分子之表現、IL-12之分泌及T細胞之刺激在存在HBsAg之情況下的缺乏(Zheng等人 (2004) J. Viral Hepatitis 11:217)。來自CHB患者之HBsAg特異性CD8細胞顯示四聚體結合改變。此等CD8細胞不係免疫無能的，可具有賦予部分耐受性或無法反應之TCR拓樸結構(Reignat等人 (2002) J. Exp. Med. 195:1089)。此外，在Peg-IFN*a*2a療法期間，在第24週血清HBsAg降低>1 log具有持續病毒反應(SVR -定義為在治療後1年不可藉由PCR偵測到之HBV DNA)之高預測值(92%) (Moucari等人 (2009) Hepatology 49:1151)。

【0121】「B型肝炎相關病狀」或「HBV相關病狀」意謂任何疾病、生物病狀、醫學病狀或事件，其由以下引起、相關於以下、或可追蹤至以下：B型肝炎感染、暴露或疾病。術語B型肝炎相關病狀包括慢性HBV感染、發炎、纖維化、肝硬化、肝癌、血清肝炎、黃疸、肝癌、肝臟發炎、肝纖維化、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬

血球症候群、血清肝炎、HBV病毒血症、與移植相關之肝臟疾病及具有可包括以下任何或全部症狀之病狀：流感樣疾病、虛弱、疼痛、頭痛、發熱、食慾不振、腹瀉、噁心及嘔吐、身體肝臟區域之疼痛、陶土色或灰色大便、渾身發癢及深色尿液，伴隨著針對B型肝炎病毒、B型肝炎病毒抗原之存在測試為陽性或針對B型肝炎病毒抗原具有特異性之抗體的存在測試為陽性。

【0122】「雜交」意謂互補核酸分子之退火。在某些實施例中，互補核酸分子包括但不限於反義化合物及核酸目標。在某些實施例中，互補核酸分子包括但不限於反義寡核苷酸及核酸目標。

【0123】如本文中所使用，術語「IC50」或「IC_{50}值」係指細胞存活率降低一半時藥劑之濃度。因此IC_{50}為藥劑在抑制生物過程中之效果的量度。

【0124】「鑑別具有HBV感染之動物」意謂鑑別已診斷患有HBV之動物；或鑑別具有HBV感染之任何症狀的動物，包括但不限於慢性HBV感染、發炎、纖維化、肝硬化、肝癌、血清肝炎、黃疸、肝癌、肝臟發炎、肝纖維化、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎、HBV病毒血症、與移植相關之肝臟疾病及具有可包括以下任何或全部症狀之病狀：流感樣疾病、虛弱、疼痛、頭痛、發熱、食慾不振、腹瀉、噁心及嘔吐、身體肝臟區域之疼痛、陶土色或灰色大便、渾身發癢及深色尿液，伴隨著針對B型肝炎病毒、B型肝炎病毒之存在測試為陽性或針對B型肝炎病毒抗原具有特異性之抗體的存在測試為陽性。

【0125】「緊鄰」意謂緊鄰要素之間不存在介入要素。

【0126】「個體(individual)」意謂經選擇用於治療或療法之人類或非人類動物。

【0127】「個體順應性」意謂個體依從建議或處方療法。

【0128】「誘導(Induce)」、「抑制(inhibit)」、「強化(potentiate)」、「提高(elevate)」、「增加(increase)」、「降低(decrease)」或類似者通常表示兩個狀態之間的定量差異。此類術語可指兩個狀態之間的統計學顯著差異。舉例而言，「有效抑制HBV之活性或表現的量」意謂經處理之樣本中HBV之活性或表現之水準將與未處理之細胞中之HBV活性或表現之水準定量地不同且可在統計學上顯著地不同。此類術語應用於例如表現量及活性水準。如本文中所使用，術語「抑制」或「降低」或其文法變化形式係指指定水準或活性降低或減小至少約5%、約10%、約15%、約25%、約35%、約40%、約50%、約60%、約75%、約80%、約90%、約95%或更多。在一些實施例中，抑制或降低導致極少或基本上無可偵測的活性(至多，無意義的量，例如小於約10%或甚至5%)。

【0129】「抑制HBV」意謂降低HBV mRNA、DNA及/或蛋白質之含量或表現。在某些實施例中，相較於在不存在HBV反義化合物，諸如反義寡核苷酸的情況下的HBV mRNA之表現、DNA及/或蛋白質含量，HBV在存在靶向HBV之反義化合物，包括靶向HBV之反義寡核苷酸的情況下經抑制。

【0130】「抑制表現或活性」係指降低、阻斷表現或活性，且不一定表示完全消除表現或活性。

【0131】「注射位點反應」意謂個體之注射位點處的皮膚之發炎或

異常發紅。

【0132】「核苷間鍵」係指核苷之間的化學鍵。

【0133】「腹膜內投藥」意謂經由輸注或注射至腹膜進行投與。

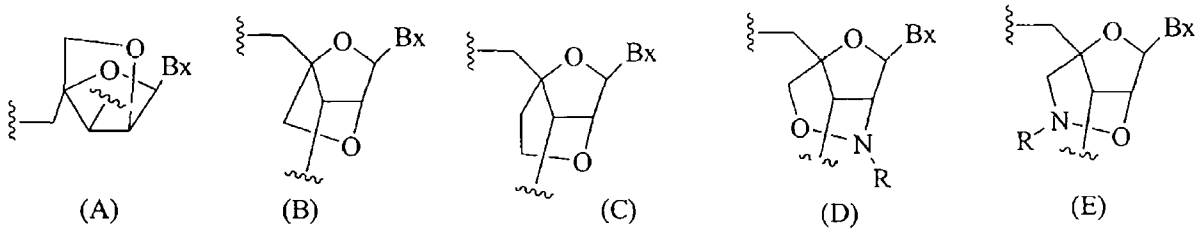
【0134】「靜脈內投藥」意謂投藥至靜脈。

【0135】「延長之」反義寡核苷酸為相對於本文中所揭示之反義寡核苷酸具有一或多個額外核苷的彼等反義寡核苷酸。

【0136】「連接之去氧核苷」意謂藉由磷酸酯連接之去氧核糖核酸鹼基(A、G、C、T、U)以形成核苷酸。

【0137】「連接之核苷」意謂藉由核苷間鍵連接在一起的相鄰核苷。連接之核苷的實例為其中鍵聯涉及磷酸酯基原子(例如，磷酸二酯鍵)的連接之核苷酸。

【0138】「鎖核酸」或「LNA」或「LNA核苷」意謂具有連接在核苷糖元件之4'與2'位置之間的兩個碳原子之橋，藉此形成雙環糖的核酸單體。此雙環糖之實例包括但不限於A) α-L-亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') LNA；(B) β-D-亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2')-LNA；(C)伸乙基氧基(4'-$(CH_2)_2$-O-2')



LNA；(D)胺氧基(4'-CH_2-O-N(R)-2') LNA；及(E)氧胺基(4'-CH_2-N(R)-O-2') LNA；如下文所描繪。

【0139】如本文中所使用，LNA化合物包括但不限於在糖之4'與2'位置之間具有至少一個橋的化合物，其中各橋獨立地包含1個或2至4個獨

立地選自以下之連接基團：-[C(R^1)(R^2)]n-、-C(R^1)=C(R^2)-、-C(R^1)=N-、-C(=NR^1)-、-C(=O)-、-C(=S)-、-O-、-Si(R^1)$_2$-、-S(=O)$_x$-及-N(R^1)-；其中x為0、1或2；n為1、2、3或4；各R^1及R^2獨立地為H、保護基、羥基、C_1-C_{12}烷基、經取代之C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、經取代之C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、經取代之C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}芳基、經取代之C_5-C_{20}芳基、雜環基、經取代之雜環基、雜芳基、經取代之雜芳基、C_5-C_7脂環基、經取代之C_5-C_7脂環基、鹵素、OJ^1、NJ^1J^2、SJ^1、N_3、COOJ^1、醯基(C(=O)-H)、經取代之醯基、CN、磺醯基(S(=O)$_2$-J^1)或磺基(S(=O)-J^1)；且各J^1及J^2獨立地為H、C_1-C_{12}烷基、經取代之C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、經取代之C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、經取代之C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}芳基、經取代之C_5-C_{20}芳基、醯基(C(=O)-H)、經取代之醯基、雜環基、經取代之雜環基、C_1-C_{12}胺基烷基、經取代之C_1-C_{12}胺基烷基或保護基。

【0140】涵蓋在LNA之定義內的4'-2'橋接基團之實例包括但不限於下式中之一者：--[C(R^1)(R^2)]$_n$-、-[C(R^1)(R^2)]$_n$-O-、-C(R^1)(R^2)-N(R^1)-O-或-C(R^1)(R^2)-O-N(R^1)-。此外，涵蓋在LNA之定義內的其他橋接基團為4'-CH_2-2',4'-(CH_2)$_2$-2'、4'-(CH_2)$_3$-2'、4'-CH_2-O-2'、4'-(CH_2)$_2$-O-2'、4'-CH_2-O-N(R^1)-2'及4'-CH_2-N(R^1)-O-2'-橋，其中各R^1及R^2獨立地為H、保護基或C_1-C_{12}烷基。

【0141】其中核糖基糖環之2'-羥基連接至糖環之4'碳原子，藉此形成亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2')橋以形成雙環糖部分的LNA亦包括於根據本發明之LNA之定義內。橋亦可為連接2'氧原子及4'碳原子之亞甲基(-CH_2-)基團，使用術語亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') LNA。此外，在此位置中具有伸乙基橋接基團之雙環糖部分的情況下，使用術語伸乙基氧基(4'-CH_2CH_2-

O-2') LNA。如本文中所使用，亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') LNA之異構體α-L-亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2')亦涵蓋在LNA之定義內。

【0142】「最大血漿濃度」或「C_{max}」係指在向個體給與藥物劑量之後血漿中藥物之最高濃度。量測藥物之濃度的方法將為一般熟習此項技術者已知的，且尤其包括液相層析及串聯質譜法。

【0143】「錯配」或「非互補核鹼基」係指第一核酸之核鹼基不能夠與第二或目標核酸之對應核鹼基配對的情況。

【0144】「經修飾之核苷間鍵」係指天然存在之核苷間鍵(亦即，磷酸二酯核苷間鍵)之取代或任何變化。

【0145】「經修飾之核鹼基」意謂除腺嘌呤、胞嘧啶、鳥嘌呤、胸苷或尿嘧啶外之任何核鹼基。「未經修飾之核鹼基」意謂嘌呤鹼基腺嘌呤(A)及鳥嘌呤(G)，以及嘧啶鹼基胸嘧啶(T)、胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。

【0146】「經修飾之核苷」意謂獨立地具有經修飾之糖部分及/或經修飾之核鹼基的核苷。

【0147】「經修飾之核苷酸」意謂獨立地具有經修飾之糖部分、經修飾之核苷間鍵或經修飾之核鹼基的核苷酸。

【0148】「經修飾之寡核苷酸」意謂包含至少一個經修飾之核苷間鍵、經修飾之糖及/或經修飾之核鹼基的寡核苷酸。

【0149】「經修飾之糖」意謂天然糖部分之取代及/或任何變化。

【0150】「單體」係指寡聚物之單一單元。單體包括但不限於核苷及核苷酸，無論天然存在或經修飾的。

【0151】「模體」意謂反義化合物中未經修飾及經修飾之核苷之模式。「天然糖部分」意謂發現於DNA (2'-H)或RNA (2'-OH)中之糖部分。

「天然存在之核苷間鍵」意謂3'至5'磷酸二酯鍵。

【0152】「非互補核鹼基」係指不彼此形成氫鍵或以其他方式支持雜交的核鹼基對。

【0153】「核酸」係指由單體核苷酸構成之分子。一種核酸包括但不限於核糖核酸(RNA)、去氧核糖核酸(DNA)、單鏈核酸、雙鏈核酸、小干擾型核糖核酸(siRNA)及微RNA (miRNA)。

【0154】「核鹼基」意謂能夠與另一核酸之鹼基配對的雜環部分。

【0155】「核鹼基互補性」係指核鹼基能夠與另一核鹼基進行鹼基配對。舉例而言，在DNA中，腺嘌呤(A)與胸腺嘧啶(T)互補。舉例而言，在RNA中，腺嘌呤(A)與尿嘧啶(U)互補。在某些實施例中，互補核鹼基係指反義化合物之核鹼基能夠與其目標核酸之核鹼基進行鹼基配對。舉例而言，若反義化合物之某一位置處的核鹼基能夠與目標核酸之某一位置處的核鹼基氫鍵結，則寡核苷酸與目標核酸之間的氫鍵結位置視為在該核鹼基對處互補。

【0156】「核鹼基序列」意謂與任何糖、鍵及/或核鹼基修飾無關之連續核鹼基的順序。

【0157】「核苷」意謂與糖連接的核鹼基。核苷包括去氧核苷，例如去氧核糖核苷。

【0158】「核苷模擬物」包括用於置換寡聚化合物之一或多個位置處的糖或糖及鹼基而非必須鍵的彼等結構，諸如具有N-味啉基、環己烯基、環己基、四氫哌喃基、二環或三環糖模擬物，例如非呋喃醣糖單元的核苷模擬物。核苷酸模擬物包括用於置換寡聚化合物之一或多個位置處之核苷及鍵的彼等結構，諸如肽核酸或N-味啉基(由-N(H)-C(=O)-O-或其他

非磷酸二酯鍵連接之N-味啉基)。糖替代物與略廣泛之術語核苷模擬物重疊但意指僅糖元件(呋喃醣環)之替代物。本文提供之四氫哌喃基環說明其中呋喃醣糖基已經四氫哌喃基環系統置換的糖替代物之實例。「模擬物」係指取代糖、核鹼基及/或核苷間鍵之基團。一般而言，使用模擬物代替糖或糖-核苷間鍵組合，且保持核鹼基以便與所選目標雜交。

【0159】「核苷酸」意謂具有共價連接至核苷之糖部分之磷酸酯基團的核苷。

【0160】「脫靶效應」係指與調節除期望目標核酸外之基因之RNA或蛋白質表現相關的非所需或有害生物效應。

【0161】「寡聚化合物」意謂能夠與核酸分子之至少一個區雜交的連接單體子單元之聚合物。

【0162】「寡核苷」意謂其中核苷間鍵不含有磷原子之寡核苷酸。

【0163】「寡核苷酸」意謂連接之核苷之聚合物，其中每一者可彼此獨立地經修飾或未經修飾。

【0164】「非經腸投與」意謂經由注射(例如彈丸注射)或輸注投與。非經腸投與包括皮下投與、靜脈內投與、肌肉內投與、動脈內投與、腹膜內投與或顱內投與，例如鞘內或腦室內投與。

【0165】「肽」意謂由醯胺鍵連接至少兩個胺基酸所形成之分子。非限制性地，如本文中所使用，「肽」係指多肽及蛋白質。

【0166】「醫藥學上可接受之載劑」意謂不干擾寡核苷酸之結構的介質或稀釋劑。某些此等載劑使得醫藥組合物能夠調配成例如用於個體口服攝取之錠劑、丸劑、糖衣藥丸、膠囊、液體、凝膠、糖漿、漿液、懸浮液及口含錠。

【0167】「醫藥學上可接受之衍生物」涵蓋本文所描述之化合物之醫藥學上可接受之鹽、結合物、前藥或異構物。

【0168】「醫藥學上可接受之鹽」意謂反義化合物之生理上及醫藥學上可接受之鹽：亦即，保持母體寡核苷酸之所需生物活性且不會賦予其不合需要之毒理作用的鹽。

【0169】「醫藥劑」意謂當向個體投與時提供治療益處之物質。舉例而言，在某些實施例中，靶向HBV之反義寡核苷酸為醫藥劑。

【0170】「醫藥組合物」意謂適用於向個體投與之物質的混合物。舉例而言，醫藥組合物可包含反義寡核苷酸及無菌水溶液。在某些實施例中，醫藥組合物在自由攝取分析中對某些細胞株顯示活性。

【0171】「硫代磷酸酯鍵」意謂核苷之間的鍵，其中磷酸二酯鍵藉由用硫原子置換非橋接氧原子中之一者而經修飾。硫代磷酸酯鍵為經修飾之核苷間鍵。

【0172】「部分(Portion)」意謂核酸之限定數目的鄰接(亦即，連接)核鹼基。在某些實施例中，部分為目標核酸之限定數目的鄰接核鹼基。在某些實施例中，部分為反義化合物之限定數目的鄰接核鹼基。

【0173】「預防(Prevention)」或「預防(preventing)」係指延遲或預先阻止病狀或疾病之發作或發展持續數小時或數天，較佳數週至數月的時間段。

【0174】「前藥」意謂以失活形式製備的藉由內源酶或其他化學物質及/或條件之作用在體內或其細胞內轉化成活性形式(亦即，藥物)的治療劑。

【0175】「防治有效量」係指向動物提供防治性或預防性益處的醫

藥劑之量。

【0176】「建議療法」意謂由治療、減輕或預防疾病之醫療專業人士建議的治療方案。

【0177】「區域」定義為具有至少一個可鑑別結構、功能或特徵之目標核酸的部分。

【0178】「核糖核苷酸」意謂在核苷酸之糖部分之2'位置處具有羥基的核苷酸。核糖核苷酸可用多種取代基中之任一者修飾。

【0179】「鹽」意謂反義化合物之生理上及醫藥學上可接受之鹽：亦即，保持母體寡核苷酸之所需生物活性且不會賦予其不合需要之毒理作用的鹽。

【0180】「區段(segment)」定義為目標核酸內之區域之較小或子部分。

【0181】「分隔物」為將兩個間隙區分隔開且位於嵌合反義化合物中之兩個間隙區之間的區段或區域。分隔段可具有一或多個核苷，其中該等核苷在化學上不同於包含間隙之核苷。分隔段包含經修飾以賦予特性(諸如抑制活性增強、針對目標核酸之結合親和力增加、活體內毒性或對活體內核酸酶降解之抗性降低)之核苷。嵌合反義化合物可包含一或多個分隔段。分隔物可稱為「分隔物」、「分隔區」或「分隔段」。本發明之例示性嵌合反義化合物包含一、二、三、四、五或六個分隔段。

【0182】藉由市售ELISA系統之當前可獲得的偵測極限測定，「血清轉化(Seroconversion)」定義為在監測HBeAg作為血清轉化之決定因子時血清HBeAg不存在加血清HBeAb存在，或定義為在監測HBsAg作為血清轉化之決定因子時血清HBsAg不存在。

【0183】本文教示之反義寡核苷酸之「縮短」或「截短」型式缺失一個、兩個或更多個核苷。

【0184】「副作用」意謂可歸因於治療之除所需作用外的生理反應。在某些實施例中，副作用包括但不限於注射位點反應、肝功能測試異常、腎功能異常、肝毒性、腎毒性、中樞神經系統異常及肌病變。舉例而言，血清中之胺基轉移酶含量增加可指示肝毒性或肝功能異常。舉例而言，膽紅素增加可指示肝毒性或肝功能異常。

【0185】如本文中所使用之「顯著(Significant)」意謂可量測或可觀測的，例如顯著結果，諸如，顯著改善或顯著降低通常係指可量測或可觀測的結果，諸如可量測或可觀測的改善或降低。

【0186】如本文所使用，「位點」定義為目標核酸內獨特的核鹼基位置。

【0187】「減緩進展」意謂該疾病之發展減少。

【0188】「特異性可雜交」係指反義寡核苷酸與目標核酸之間具有充足的互補程度以誘導所要作用，同時在需要特異性結合之條件下，亦即在活體內分析及治療性治療之情況下的生理條件下對非目標核酸展現極小或無影響的反義化合物。「嚴格雜交條件」或「嚴格條件」係指寡聚化合物與其目標序列雜交但與極小數目之其他序列雜交的條件。

【0189】如本文中所使用，「在統計學上顯著」意謂不可能偶然出現的可量測或可觀測的參數。

【0190】「皮下投藥」意謂僅在皮膚以下投藥。「個體(subject)」意謂經選擇用於治療或療法之人類或非人類動物。

【0191】「目標」係指需要調節之蛋白質。

【0192】「目標基因」係指編碼目標之基因。

【0193】「靶向」意謂設計及選擇將與目標核酸雜交且誘導所需作用之反義化合物的過程。

【0194】「目標核酸」、「目標RNA」及「目標RNA轉錄本」及「核酸目標」皆意謂能夠由反義化合物靶向的核酸。

【0195】「目標區域」意謂靶向一或多種反義化合物之目標核酸之一部分。

【0196】「目標區段」意謂靶向反義化合物之目標核酸之核苷酸序列。「5'目標位點」係指目標區段之最5'-端核苷酸。「3'目標位點」係指目標區段之最3'-端核苷酸。

【0197】「治療有效量」意謂向個體提供治療益處之醫藥劑的量。

【0198】「治療」係指投與組合物以影響疾病或病狀之改變或改善。

【0199】「未經修飾之」核鹼基意謂嘌呤鹼基腺嘌呤(A)及鳥嘌呤(G)，及嘧啶鹼基胸嘧啶(T)、胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。

【0200】「未經修飾之核苷酸」意謂由天然存在之核鹼基、糖部分及核苷間鍵構成之核苷酸。在某些實施例中，未經修飾之核苷酸為RNA核苷酸(亦即(3-D-核糖核苷))或DNA核苷酸(亦即(3-D-去氧核苷))。

【0201】「經驗證之目標區段」定義為靶向活性寡聚化合物之目標區域之至少8-核鹼基部分(亦即8個連續核鹼基)。

【0202】「翼(wing)」為經修飾以賦予寡核苷酸諸如以下之特性的嵌合反義寡核苷酸之末端區段：抑制活性增強、針對目標核酸之結合親和力增加、活體內毒性降低或對活體內核酸酶之降解的抗性。翼可稱為

「翼」、「翼區域」或「翼段」。如本文中所使用，翼包含至少兩個連接之核苷；其子集可包含一或多個去氧核苷，但整個翼不可僅由去氧核苷構成。

【0203】 本發明之嵌合反義化合物包含位於嵌合反義寡核苷酸之5'端處的5'翼段(W1)且W1之3'端處的殘基不可為去氧核苷。本發明之嵌合反義化合物亦包含位於嵌合反義寡核苷酸之3'端處的3'翼段(W2)且W2之5'端殘基不可為去氧核苷。

【0204】 5'翼(W1)始於嵌合反義寡核苷酸之5'端，沿5'至3'方向延伸，且終止於不為去氧核苷、直接連接至第一間隙之去氧核苷的第一核苷處，由此指示W1之3'端及第一間隙(G1)之5'端。

【0205】 3'翼(W2)始於嵌合反義寡核苷酸之3'端，沿3'至5'方向延伸且終止於不為去氧核苷、直接連接至間隙之去氧核苷的第一核苷處，由此指示最後一個間隙之3'端及W2之5'端。

例示性嵌合反義寡核苷酸

【0206】 本發明提供至少以下例示性嵌合反義寡核苷酸。

【0207】 在一個態樣中，提供經修飾之寡核苷酸，該經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - W2 3' (式I)

其中：

W1為5'翼段；

W2為3'翼段；

G1為第一間隙段；

S1為第一分隔段；

G2為第二間隙段；

-為核苷間鍵；且

該寡核苷酸之至少一個核苷經修飾。

【0208】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - W2 3' (式II)

其中：

S2為第二分隔段；且

G3為第三間隙段。

【0209】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - W2 3' (式III)

其中：

S3為第三分隔段；且

G4為第四間隙段。

【0210】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - W2 3' (式IV)

其中：

S4為第四分隔段；且

G5為第五間隙段。

【0211】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - S5 - G6 - W2 3' (式V)

其中：

S5為第五分隔段；且

G6為第六間隙段。

【0212】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - S5 - G6 - S6 - G7 - W2 3' (式VI)

其中：

S6為第六分隔段；且

G7為第七間隙段。

【0213】 在一些實施例中，W1包含2至25個連接之核苷。在一些實施例中，W1包含一或多個連接之去氧核苷。

【0214】 在一些實施例中，W2包含2至35個連接之核苷。在一些實施例中，W2包含一或多個連接之去氧核苷。

【0215】 在一些實施例中，G1、G2、G3、G4、G5、G6及/或G7中之任一者或多者包含1至10個連接之去氧核苷。

【0216】 在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6中之任一者或多者包含1、2、3、4或5個連接之核苷。

【0217】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸之長度為18至50個核鹼基。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸之長度為至少20個核鹼基。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸之長度為20個核鹼基。

【0218】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸具有式I，且W1包含4至6個連接之核苷。G1包含1至6個連接之去氧核苷，S1包含1個連接之核苷，G2包含1至6個連接之去氧核苷且W2包含4至6個連接之核苷。

【0219】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸具有式I，且W1包含4至6個連接之核苷，G1包含5個連接之去氧核苷，S1包含1個連接之核苷，

G2包含5個連接之去氧核苷，且W2包含4至6個連接之核苷。

【0220】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸具有式I，且W1包含4個連接之核苷，G1包含5個連接之去氧核苷，S1包含1個連接之核苷，G2包含5個連接之去氧核苷，且W2包含5個連接之核苷。

【0221】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸具有式I，且G1-S1-G2之長度為8與12個核鹼基之間的長度。

【0222】 以下實施例係關於式I至VI中之任一者：在一些實施例中，G1、G2、G3、G4、G5、G6及G7可包含核苷，該核苷包含對2'-去氧核苷之修飾。在一些實施例中，G1、G2、G3、G4、G5、G6及G7中之任一者或多者包含核苷，該核苷包含2'-去氧5-甲基胞苷糖修飾。在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾。在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含5-甲基胞苷。在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾。在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-OH糖修飾。在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)糖修飾。在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含乙二醇核酸(GNA)。在一些實施例中，S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含LNA。在一些實施例中，W1包含核苷，該核苷包含2'-去氧糖修飾(例如，其中2'-去氧糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2及/或5處)。在一些實施例中，W1包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾(例如，其中2'-O-甲氧基乙基糖修飾在對應於SEQ ID

NO: 2之序列之位置1、2、3、4及/或5處)。在一些實施例中，W1包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處的2'-O-甲氧基乙基5-甲基胞苷。在一些實施例中，W1包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾(例如，其中2'-O-甲基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置1、2、3、4及/或5處)。在一些實施例中，W1包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處的2'-O-甲基5-甲基胞苷。在一些實施例中，W1包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。在一些實施例中，W1包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)修飾。在一些實施例中，W1包含乙二醇核酸(GNA) (例如，其中GNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處)。在一些實施例中，W1包含經修飾之核苷且其中經修飾之核苷為鎖核酸(LNA) (例如，其中LNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置1及/或3處)。在一些實施例中，W2包含核苷，該核苷包含2'-去氧糖修飾(例如，其中2'-去氧糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置15及/或16處)。在一些實施例中，W2包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾(例如，其中2'-O-甲氧基乙基糖修飾在對應於SEQ ID NO：2之序列之位置15、16、17、18、19及/或20處)。在一些實施例中，W2包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾(例如，其中2'-O-甲基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置15、16、17、18、19及/或20處)。在一些實施例中，W2包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。在一些實施例中，W2包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)修飾。在一些實施例中，W2包含經修飾之核苷且其中經修飾之核苷為乙二醇核酸(GNA)。在一些實施例中，W2包含經修飾之核苷且其中經修飾之核苷為鎖核酸(LNA) (例如，其中LNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置16、17、18、19及/或20處)。

例示性目標序列及例示性經修飾之寡核苷酸

【0223】 某些實施例提供用於抑制HBV mRNA表現之方法、化合物及組合物。

【0224】 某些實施例提供靶向HBV核酸序列之反義化合物。例示性HBV核酸序列包括但不限於**表1**中所示之彼等序列。

表1 例示性HBV序列

HBV基因型	**登錄號**	**SEQ ID NO:**
GTD (HepG2.2.15細胞)	U95551.1	SEQ ID NO: 3
GTA	AJ309369.1	SEQ ID NO: 667
GTB	D00330.1	SEQ ID NO: 668
GTC	AB033550.1	SEQ ID NO: 669
GTD	KX470733.1	SEQ ID NO: 670
GTE	KX186584	SEQ ID NO: 671
GTF	KP718112	SEQ ID NO: 672
GTG	KX264500	SEQ ID NO: 673
GTH	KX264501	SEQ ID NO: 674

【0225】 在某些實施例中，HBV核酸為GENBANK登錄號U95551.1中所闡述之序列(作為**SEQ ID NO: 3**併入本文中)。在一些實施例中，反義化合物靶向**SEQ ID NO: 3**中所述之序列或其部分。在一些實施例中，反義化合物靶向**SEQ ID NO: 3**之位置1583至1602處的序列。

【0226】 例示性HBV核酸目標序列包括但不限於**表2**中所示之彼等序列。

表2.例示性HBV目標序列

HBV目標序列	**SEQ ID NO:**
CTTGG TCATG GGCCA TCAG	1
GCACT TCGCT TCACC TCTGC	4
TTTGTTTACGTCCCGTCGGC	675
TTTACGTCCCGTCGGCGCTGAATCCTGCGG	676
TTTACGTCCCGTCGGCGCTG	677
TTTACGCGGACTCCCCGTCT	678
TTGTTTACGTCCCGTCGGCG	679
TTGTTGACAAGAATCCTCAC	680
TTGAGAGAAGTCCACCACG	681
TTCTCCTGGCTCAGTTTACTAGTGCCATTT	682

HBV目標序列	SEQ ID NO:
TTCTCCTGGCTCAGTTTACT	683
TTACGTCCCGTCGGCGCTGA	684
TGTTTACGTCCCGTCGGCGC	685
TGTGCCTTCTCATCTGCCGG	686
TGTGCACTTCGCTTCACCTC	687
TGGTGGACTTCTCTCAATTT	688
TGGCTCAGTTTACTAGTGCC	689
TGGACTTCTCTCAATTTTCTAGGGG	690
TGGACTTCTCTCAATTTTCT	691
TGCCTTCTCATCTGCCGGAC	692
TGCCGGACCGTGTGCACTTC	693
TGCCGATCCATACTGCGGAA	694
TGCACTTCGCTTCACCTCTG	695
TGACAAGAATCCTCACAATA	696
TCTTTACGCGGACTCCCCGT	697
TCTTGTTGACAAGAATCCTC	698
TCTGTGCCTTCTCATCTGCC	699
TCTGCCGATCCATACTGCGG	700
TCTCTTTACGCGGACTCCCC	701
TCTCATCTGCCGGACCGTGT	702
TCGGCGCTGAATCCTGCGGA	703
TCCTGGCTCAGTTTACTAGT	704
TCCTCACAATACCGCAGAGT	705
TCCCGTCGGCGCTGAATCCT	706
TCCATACTGCGGAACTCCTA	707
TCATCTGCCGGACCGTGTGC	708
TCATCTCGAACGTTCACAGTCA	709
TCAGTTTACTAGTGCCATTT	710
TATTGTGAGGATTCTTGTCA	711
TAGGAGGCTGTAGGCATAAATTGGTCTGCG	712
TACGTCCCGTCGGCGCTGAA	713
TACGCGGACTCCCCGTCTGT	714
GTTTACGTCCCGTCGGCGCT	715
GTTGGTGCACTTCGCTTCAC	716
GTTGACAAGAATCCTCACAA	717
GTTCCCAGTATGGATCGGC	718
GTGTGCACTTCGCTTCACCT	719
GTGGTGGACTTCTCTCAATT	720
GTGGACTTCTCTCAATTTTCT	721
GTGGACTTCTCTCAATTTTC	722
GTGCCTTCTCATCTGCCGGA	723
GTGCACTTCGCTTCACCTCT	724
GTGAAGCGAAGTGCACACGG	725
GTCTGTGCCTTCTCATCTGC	726

HBV目標序列	SEQ ID NO:
GTCGGCGCTGAATCCTGCGG	727
GTCCCGTCGGCGCTGAATCC	728
GTATTGTGAGGATTCTTGTC	729
GGTGGACTTCTCTCAATTTT	730
GGGCGCACCTCTCTTTACGC	731
GGCTGTAGGCATAAATTGGT	732
GGCGCTGAATCCTGCGGACG	733
GGAGGAACCTTCAGGGAAGG	734
GGACTCCCCGTCTGTGCCTT	735
GGACCGTGTGCACTTCGCTT	736
GCTGTAGGCATAAATTGGT	737
GCTGAATCCTGCGGACGACC	738
GCTCAGTTTACTAGTGCCAT	739
GCGGACTCCCCGTCTGTGCC	740
GCGCTGAATCCTGCGGACGA	741
GCGCACCTCTCTTTACGCGG	742
GCCTTCTCATCTGCCGGACC	743
GCCGGACCGTGTGCACTTCG	744
GCCGATCCATACTGCGGAAC	745
GCCGATCCATACTGCGGAA	746
GCACTTCGCTTCACCTCTGC	747
GCACTAGTAAACTGAGCCAG	748
GCACCTCTCTTTACGCGGAC	749
GATCCATACTGCGGAACTCC	750
GACTCCCCGTCTGTGCCTTC	751
GACCGTGTGCACTTCGCTTC	752
GACAAGAATCCTCACAATAC	753
GAATCCTCACAATACCGCAG	754
GAAAATTGAGAGAAGTCCAC	755
CTTTGTTTACGTCCCGTCGG	756
CTTGTTGACAAGAATCCTCACAATACCGCA	757
CTTCTCATCTGCCGGACCGT	758
CTGTGCCTTCTCATCTGCCG	759
CTGGCTCAGTTTACTAGTGC	760
CTGGCTCAGTTTACTAGTG	761
CTGCCGGACCGTGTGCACTT	762
CTGCCGATCCATACTGCGGA	763
CTCTGCCGATCCATACTGCG	764
CTCCTGGCTCAGTTTACTAG	765
CTCCCCGTCTGTGCCTTCTC	766
CTCACAATACCGCAGAGTCT	767
CTATCAAGGTATGTTGCCCGTTTGTCCTCT	768
CGTGTGCACTTCGCTTCACC	769
CGTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCTAGGGG	770

HBV目標序列	SEQ ID NO:
CGTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCT	771
CGTGGTGGACTTCTCTCAAT	772
CGTGGTGGACTTCTCTCAAT	773
CGTCGGCGCTGAATCCTGCG	774
CGTCCCGTCGGCGCTGAATC	775
CGGGGCGCACCTCTCTTTAC	776
CGGCGCTGAATCCTGCGGAC	777
CGGACTCCCCGTCTGTGCCT	778
CGGACCGTGTGCACTTCGCT	779
CGCTGAATCCTGCGGACGAC	780
CGCGGACTCCCCGTCTGTGC	781
CGCACCTCTCTTTACGCGGA	782
CCTTTGTTTACGTCCCGTCG	783
CCTTCTCATCTGCCGGACCG	784
CCTTAGGCACTCCTGCCTCT	785
CCTGGCTCAGTTTACTAGTG	786
CCTCTGCCGATCCATACTGCGGAACTCCTA	787
CCTCTGCCGATCCATACTGC	788
CCTCTCTTTACGCGGACTCC	789
CCTCACAATACCGCAGAGTC	790
CCGTGTGCACTTCGCTTCAC	791
CCGTGTGCACTTCGCTGTTG	792
CCGTGTGCACTTCGCT	793
CCGTCTGTGCCTTCTCATCT	794
CCGTCGGCGCTGAATCCTGC	795
CCGGTCCGTGTGCACTTCGC	796
CCGGACCGTGTGCACTTCGC	797
CCGATCCATACTGCGGAACT	798
CCCGTCGGCGCTGAATCCTG	799
CCCCGTCTGTGCCTTCTCAT	800
CAGGTCCCCTAGAAGAAGAA	801
CACGGGGCGCACCTCTCTTT	802
CACCTCTCTTTACGCGGACT	803
CAAGAATCCTCACAATACCG	804
ATCTGCCGGACCGTGTGCAC	805
ATCCTCACAATACCGCAGAG	806
AGACTCGTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCT	807
AGAATCCTCACAATACCGCA	808
ACGTCCCGTCGGCGCTGAAT	809
ACGCGGACTCCCCGTCTGTG	810
ACCTCTCTTTACGCGGACTC	811
ACCGTGTGCACTTCGCTTCA	812
ACCAATTTATGCCTACAGCG	813
ACAAGAATCCTCACAATACC	814

HBV目標序列	SEQ ID NO:
AATCCTCACAATACCGCAGA	815
AAGGTATGTTGCCCGTTTGT	816
AAGAATCCTCACAATACCGC	817
CTAGACTCGTGGTGGACTTC	819
CCTGCTGCTATGCCTCATCT	820
CTGCTGCTATGCCTCATCTT	821
TGCTGCTATGCCTCATCTTC	822
GCTGCTATGCCTCATCTTCT	823
CTGCTATGCCTCATCTTCTT	824
CCTATGGGAGTGGGCCTCAG	825
GCCATTTGTTCAGTGGTTCG	826
GGAGGCTGTAGGCATAAATT	827
GAGGCTGTAGGCATAAATTG	828
AGGCTGTAGGCATAAATTGG	829
GGCTGTAGGCATAAATTGGT	830
TTCAAGCCTCCAAGCTGTGC	831
TCAAGCCTCCAAGCTGTGCC	832
CAAGCCTCCAAGCTGTGCCT	833
AAGCCTCCAAGCTGTGCCTT	834
AGCCTCCAAGCTGTGCCTTG	835
GCCTCCAAGCTGTGCCTTGG	836
GAACTCCCTCGCCTCGCAGA	837
CACCATATTCTTGGGAACA	838

【0227】 在一些實施例中，HBV目標包含**SEQ ID NO: 1**、**4**、**675**至**838**之序列。在一些實施例中，HBV目標包含CTTGG TCATG GGCCA TCAG (**SEQ ID NO: 1**)之序列。在一些實施例中，HBV目標包含GCACT TCGCT TCACC TCTGC (**SEQ ID NO: 4**)之序列。

【0228】 在某些實施例中，本文所提供之化合物包含經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，化合物包含經修飾之寡核苷酸及如本文所描述之結合物。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸為醫藥學上可接受之衍生物。

【0229】 在某些實施例中，HBV目標包含**SEQ ID NO: 3**中所述之序列或其部分或其變異體。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸與HBV核酸至少75%、或至少80%、或至少85%、或至少90%、或至少95%或

100%互補。

【0230】在某些實施例中，HBV目標包含**SEQ ID NO: 1**中所述之序列。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸與**SEQ ID NO: 1**至少75%、或至少80%、或至少85%、或至少90%、或至少95%或100%互補。

【0231】在某些實施例中，HBV目標包含**SEQ ID NO: 4**中所述之序列。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸與**SEQ ID NO: 4**至少75%、或至少80%、或至少85%、或至少90%、或至少95%或100%互補。

【0232】在一些實施例中，化合物或組合物包含結合於HBV目標序列之長度為14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個連接之核苷的經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，化合物或組合物包含結合於HBV目標序列之具有20個連接之核苷的經修飾之寡核苷酸。

【0233】在某些實施例中，具有20個連接之核苷的經修飾之寡核苷酸具有GCAGA GGTGA AGCGA AGTGC (**SEQ ID NO: 2**)之核鹼基序列。展示**SEQ ID NO: 2**之核鹼基位置的圖表顯示於下文：

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
G	C	A	G	A	G	G	T	G	A	A	G	C	G	A	A	G	T	G	C

【0234】在某些實施例中，具有20個連接之核苷的經修飾之寡核苷酸具有GTGAA GCGAA GTGCA CACGG(**SEQ ID NO: 5**)之核鹼基序列。展示**SEQ ID NO: 5**之核鹼基位置的圖表顯示於下文：

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
G	T	G	A	A	G	C	G	A	A	G	T	G	C	A	C	A	C	G	G

【0235】在某些實施例中，化合物包含本文所描述之經修飾之寡核苷酸。例示性經修飾之寡核苷酸包括但不限於**圖1至圖2**中展示之彼等寡核

苷酸。在一些實施例中，化合物包含經修飾之寡核苷酸，其包含**AUS1010**至**AUS1714**中任一者之序列。在一些實施例中，化合物包含：包含**SEQ ID NO:11**至**666**中任一者之序列的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸。

【0236】在某些實施例中，化合物包含經修飾之寡核苷酸，其包含以下中任一者之序列：**A**、**B**、**C**、**D**、**E**、**F**、**G**、**H**、**I**、**J**、**K**、**L**、**M**、**N**、**O**、**P**、**Q**、**R**、**S**、**T**、**U**、**V**、**W**、**X**、**Y**、**Z**、**AA**、**AB**、**AC**、**AD**、**AE**、**AF**、**AG**、**AH**、**AI**、**AJ**、**AK**、**AL**、**AM**、**AN**、**AO**、**AP**、**AQ**、**AR**、**AS**、**AT**、**AU**、**AV**、**AW**或**AX**。**表3**展示對應於經修飾之寡核苷酸之序列的字母標識符、AUS標識符及SEQ ID NO的對應關係表。

表3.經修飾之寡核苷酸之命名對應關係表

字母標識符	AUS標識符	SEQ ID NO:
A	AUS1427/AUS1461	390/424
B	AUS1422	385
C	AUS1423	386
D	AUS1424	387
E	AUS1425	388
F	AUS1426	389
G	AUS1428	391
H	AUS1458	421
I	AUS1459	422
J	AUS1460	423
K	AUS1322	294
L	AUS1326	298
M	AUS1439	402
N	AUS1443	406
O	AUS1444	407
P	AUS1462	425
Q	AUS1499	462
R	AUS1500	463
S	AUS1465	428
T	AUS1469	432
U	AUS1475	438
V	AUS1473	436
W	AUS1472	435
X	AUS1474	437
Y	AUS1478	441

字母標識符	AUS標識符	SEQ ID NO:
Z	AUS1479	442
AA	AUS1494	457
AB	AUS1463	426
AC	AUS1468	431
AD	AUS1466/AUS1495	429/458
AE	AUS1429	392
AF	AUS1431	394
AG	AUS1436	399
AH	AUS1437	400
AI	AUS1441	404
AJ	AUS1464	427
AK	AUS1467	430
AL	AUS1470	433
AM	AUS1471	434
AN	AUS1477	440
AO	AUS1476/AUS1493	439/456
AP	AUS1430	393
AQ	AUS1432	395
AR	AUS1440	403
AS	AUS1438	401
AT	AUS1489	452
AU	AUS1488/AUS1497	451/460
AV	AUS1490	453
AW	AUS1498	461
AX	AUS1433	396

經修飾之寡核苷酸之特徵

【0237】在某些實施例中，化合物包含具有20個連接之核苷的經修飾之寡核苷酸，其由以下組成：由連接之核苷組成之第一間隙段；由連接之核苷組成之第二間隙段；由與第一間隙段及第二間隙段連接之核苷組成的分隔段；由連接之核苷組成之5'翼段；及由連接之核苷組成之3'翼段；其中第一間隙段、分隔段及第二間隙段位於5'翼段與3'翼段之間；其中第一間隙段連接至5'翼段，且第二間隙段連接至3'翼段，其中第一間隙段、分隔段及第二間隙段連在一起，由8或9或10或11或12個連接之核苷組成。

【0238】在某些實施例中，化合物包含具有20個連接之核苷之經修飾之寡核苷酸，其由以下組成：由連接之核苷組成之第一間隙段；由連接

之核苷組成之第二間隙段；由連接在第一間隙段與第二間隙段之間的核苷組成之分隔段；其中第一間隙段、分隔段及第二間隙段連在一起，由8或9或10或11或12個核苷酸組成；由連接之核苷組成之5'翼段；及由連接之核苷組成之3'翼段；其中第一間隙段、第二間隙段及分隔段位於5'翼段與3'翼段之間；其中第一間隙段連接至5'翼段，且第二間隙段連接至3'翼段；其中第一間隙段由具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；其中第二間隙段由具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；其中分隔段由一個包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖或2'-OCH_3糖之核苷組成，其中經修飾之寡核苷酸與SEQ ID NO: 1至少95%互補；且其中該經修飾之寡核苷酸具有SEQ ID NO: 2之核鹼基序列(GCAGA GGTGA AGCGA AGTGC)。

【0239】 在某些實施例中，化合物包含具有20個連接之核苷之經修飾之寡核苷酸，其由以下組成：由連接之核苷組成之第一間隙段；由連接之核苷組成之第二間隙段；由連接在第一間隙段與第二間隙段之間的核苷組成之分隔段；其中第一間隙段、分隔段及第二間隙段連在一起，由8或9或10或11或12個核苷酸組成；由連接之核苷組成之5'翼段；及由連接之核苷組成之3'翼段；其中第一間隙段、第二間隙段及分隔段位於5'翼段與3'翼段之間；其中第一間隙段連接至5'翼段，且第二間隙段連接至3'翼段；其中第一間隙段由具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；其中第二間隙段由具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；其中分隔段由一個包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖或2'-OCH_3糖之核苷組成，其中5'翼段中之至少一個核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖；且其中3'翼段中之至少一個核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖；其中經修飾之寡核苷酸與SEQ ID NO: 1至少95%互補；且其中該經修飾之寡核苷酸具有SEQ ID NO: 2之核鹼基序列(GCAGA GGTGA AGCGA

AGTGC)。

***A*. 一般*5'*翼段**

【0240】在某些實施例中，5'翼段中之至少一個核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖。在某些實施例中，5'翼段中之各核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖。在某些實施例中，5'翼段包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段包含具有2'-去氧糖之核苷，且5'翼段中之其他核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置2處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置3處之核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置4處之核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段進一步包含兩個各自具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置2及3處之核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置2及4處之核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置3及4處之核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置2及5處之核苷包含2'-去氧糖。

【0241】在某些實施例中，5'翼段中之一、二、三或四個核苷包含本文所描述之糖修飾。在某些實施例中，5'翼段中之一、二、三或四個核苷包含雙環糖。在某些實施例中，5'翼段中之一、二、三或四個核苷包含約束乙基糖。

【0242】在某些實施例中，5'翼段中之一、二、三或四個核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，5'翼段中之一、二、三或四個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，5'翼段中之兩個核苷包含鎖核酸。在某些實施例中5'翼段中之兩個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2

之位置1及3處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

B1. 具有4個連接之核苷之5'翼段

【0243】 在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O(CH_2)$_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之3個包含具有2'-O(CH_2)$_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之2個包含具有2'-O(CH_2)$_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之1個包含具有2'-O(CH_2)$_2$-OCH_3糖之核苷。

B2. 具有4個連接之核苷、2'-去氧組合的5'翼段

【0244】 在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之二者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O(CH_2)$_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，4個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O(CH_2)$_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，4個連接之核苷中之二者包含鎖核酸，且其他連接之核苷包含具有2'-O(CH_2)$_2$-OCH_3糖之核苷。

【0245】 在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2處的核苷包含具有2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2處的核苷包含2'-去氧糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置3處的核苷包含具有2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置3處的核苷包含2'-去氧糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置4處的核苷包含具有2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置4處的核苷包含2'-去氧糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0246】 在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2及3處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2及3處的核苷包含2'-去氧糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2及4處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2及4處的核苷包含2'-去氧糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置3及4處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置3及4處的核苷包含2'-去氧糖，且其他2個連

接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

B3.具有4個連接之核苷、2'-LNA組合的5'翼段

【0247】 在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含鎖核酸。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之二者包含鎖核酸。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷之二者包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0248】 在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷之二者包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷之二者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0249】 在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0250】 在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ

ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

C1. 具有5個連接之核苷之5'翼段

【0251】 在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之4個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之3個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之2個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之1個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

C2. 具有5個連接之核苷、2'-去氧組合的5'翼段

【0252】 在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之二者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，

5個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，5個連接之核苷中之二者包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0253】 在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2處的核苷包含2'-去氧糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置3處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置3處的核苷包含2'-去氧糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置4處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置4處的核苷包含2'-去氧糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0254】 在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2及3處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2及3處的核苷包含2'-去氧糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2及4處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由5個連接

之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置2及4處的核苷包含2'-去氧糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置3及4處的核苷包含2'-去氧糖。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中SEQ ID NO: 2之位置3及4處的核苷包含2'-去氧糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

C3. 具有5個連接之核苷、2'-LNA組合的5'翼段

【0255】 在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含鎖核酸。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之二者包含鎖核酸。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之二者包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0256】 在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷之二者包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷之二者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0257】在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0258】在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，5'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

D. 一般3'翼段

【0259】在某些實施例中，3'翼段中之至少一個核苷包含2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖。在某些實施例中，3'翼段中之各核苷包含2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖。在某些實施例中，3'翼段包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段包含具有2'-去氧糖之核苷，且3'翼段中之其他核苷包含2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖。在某些實施例中，3'翼段進一步包含兩個各自具有2'-去氧糖之核苷。

【0260】在某些實施例中，3'翼段中之一、二、三或四個核苷包含本文所描述之糖修飾。在某些實施例中，3'翼段中之一、二、三或四個核苷包含雙環糖。在某些實施例中，3'翼段中之一、二、三或四個核苷包含約束乙基糖。

【0261】在某些實施例中，3'翼段中之一、二、三或四個核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段中之一、二、三或四個核苷包含4'-CH_2-

O-2'糖。在某些實施例中，3'翼段中之兩個核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段中之兩個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，3'翼段中之三個核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段中之三個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0262】 在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0263】 在某些實施例中，在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

E1. 具有4個連接之核苷之3'翼段

【0264】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之3個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之2個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之1個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

E2. 具有4個連接之核苷、2'-去氧組合的3'翼段

【0265】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之二者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，

4個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，4個連接之核苷中之二者包含鎖核酸，且其他連接之核苷包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

E3. 具有4個連接之核苷、2'-LNA組合的3'翼段

【0266】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之二者包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之二者包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0267】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷之二者包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷之三者包含鎖核酸，且其他連接之核苷包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷之二者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-

$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，其中4個連接之核苷之三者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他連接之核苷包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0268】在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0269】在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0270】在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0271】在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0272】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0273】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0274】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0275】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0276】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含4'-CH_2-

O-2'糖。

【0277】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O(CH$_2$)$_2$-OCH$_3$糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含4'-CH$_2$-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O(CH$_2$)$_2$-OCH$_3$糖之核苷。

【0278】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含4'-CH$_2$-O-2'糖。

【0279】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O(CH$_2$)$_2$-OCH$_3$糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含4'-CH$_2$-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O(CH$_2$)$_2$-OCH$_3$糖之核苷。

【0280】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含4'-CH$_2$-O-2'糖。

【0281】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之

每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0282】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0283】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0284】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0285】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖

之核苷。

【0286】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0287】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含鎖核酸，且其他連接之核苷包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他連接之核苷包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0288】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0289】 在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含鎖核酸，且其他連接之核苷包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由4個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他連接之核苷包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

F1. 具有5個連接之核苷之3'翼段

【0290】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之

核苷組成，其中5個連接之核苷中之4個包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之3個包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之2個包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之1個包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

F2. 具有5個連接之核苷、2'-去氧組合的3'翼段

【0291】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之二者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，5個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，5個連接之核苷中之二者包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷包含具有2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

F3. 具有5個連接之核苷、2'-LNA組合的3'翼段

【0292】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之二者包含鎖核酸。在某些實施例中，

3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷之二者包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0293】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷之二者包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷之三者包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷之二者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷之三者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0294】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0295】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之

每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0296】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0297】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0298】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0299】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖

之核苷。

【0300】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0301】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0302】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0303】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0304】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由

5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0305】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0306】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0307】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0308】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0309】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ

ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0310】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0311】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0312】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0313】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包

含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0314】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0315】 在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含鎖核酸，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由5個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他2個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

G1. 具有6個連接之核苷之3'翼段

【0316】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之5個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之4個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之3個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之2個包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之1個包含具

有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

G2.具有6個連接之核苷、2'-去氧組合的3'翼段

【0317】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中該等連接之核苷中之二者包含具有2'-去氧糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，且其他5個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，6個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中5個連接之核苷中之一者包含具有2'-去氧糖之核苷，6個連接之核苷中之二者包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

G3. 具有6個連接之核苷、2'-LNA組合的3'翼段

【0318】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之一者包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之二者包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷之二者包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0319】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之一者包含鎖核酸，且其他5個連接之核苷中之每一者包含

具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷之二者包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷之三者包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷中之一者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他5個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷之二者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，其中6個連接之核苷之三者包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0320】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0321】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0322】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ

ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0323】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0324】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0325】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置16及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0326】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0327】在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0328】在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0329】在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0330】在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0331】在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6

個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0332】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0333】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0334】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0335】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置18及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0336】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0337】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含鎖核酸，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他4個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0338】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0339】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、18及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

【0340】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含鎖核酸。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包

含4'-CH_2-O-2'糖。

【0341】 在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含鎖核酸，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。在某些實施例中，3'翼段由6個連接之核苷組成，且SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖，且其他3個連接之核苷中之每一者包含具有2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷。

H-0.間隙段

【0342】 在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含至少一個間隙段或由其組成。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含至少兩個間隙段或由其組成。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8或9或10個間隙段。間隙段分別連續地指代第一、第二、第三、第四、第五、第六、第七、第八、第九或第十間隙段，其中第一間隙段最接近經修飾之寡核苷酸之5'端且最後一個間隙段最接近經修飾之寡核苷酸之3'端。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含2個間隙段或由其組成。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含3個間隙段或由其組成。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含4個間隙段或由其組成。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含5個間隙段或由其組成。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含6個間隙段或由其組成。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含7個間隙段或由其組成。

【0343】 在一些實施例中，間隙段包含1至20個連接之核苷或由其組成。在一些實施例中，間隙段由1個核苷組成。在一些實施例中，間隙段由2個連接之核苷組成。在一些實施例中，間隙段由23個連接之核苷組

成。在一些實施例中，間隙段由4個連接之核苷組成。在一些實施例中，間隙段由5個連接之核苷組成。在一些實施例中，間隙段由6個連接之核苷組成。在一些實施例中，間隙段由7個連接之核苷組成。在一些實施例中，間隙段由8個連接之核苷組成。在一些實施例中，間隙段由9個連接之核苷組成。在一些實施例中，間隙段由10個連接之核苷組成。

H. 第一間隙段

【0344】 在某些實施例中，第一間隙段包含1、2、3、4、5、6、7或8個連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第一間隙段包含4或5個連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第一間隙段包含4個連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第一間隙段包含5個連接之核苷或由其組成。

【0345】 在某些實施例中，第一間隙段包含1、2、3、4、5、6、7或8個各自具有2'-去氧糖之連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第一間隙段包含4或5個各自具有2'-去氧糖的連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第一間隙段包含4個各自具有2'-去氧糖的連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第一間隙段包含5個各自具有2'-去氧糖的連接之核苷或由其組成。

【0346】 在某些實施例中，各自具有2'-去氧糖之第一間隙段為SEQ ID NO: 2之位置6、7、8及9。在某些實施例中，各自具有2'-去氧糖之第一間隙段為SEQ ID NO: 2之位置5、6、7、8及9。在某些實施例中，各自具有2'-去氧糖之第一間隙段為SEQ ID NO: 2之位置6、7、8、9及10。

I. 第二間隙段

【0347】 在某些實施例中，第二間隙段包含1、2、3、4、5、6、7

或8個連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第二間隙段包含4或5個連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第二間隙段包含4個連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第二間隙段包含5個連接之核苷或由其組成。

【0348】 在某些實施例中，第二間隙段包含1、2、3、4、5、6、7或8個各自具有2'-去氧糖的連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第二間隙段包含4個各自具有2'-去氧糖的連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第二間隙段包含5個各自具有2'-去氧糖的連接之核苷或由其組成。在某些實施例中，第二間隙段包含6個各自具有2'-去氧糖的連接之核苷或由其組成。

【0349】 在某些實施例中，各自具有2'-去氧糖之第二間隙段為SEQ ID NO: 2之位置11、12、13及14。在某些實施例中，各自具有2'-去氧糖之第二間隙段為SEQ ID NO: 2之位置11、12、13、14及15。在某些實施例中，各自具有2'-去氧糖之第二間隙段為SEQ ID NO: 2之位置11、12、13、14、15及16。

J. 分隔段

【0350】 在一些實施例中，分隔段包含0、1、2、3、4或5個連接之核苷。在一些實施例中，分隔段包含1個核苷。在一些實施例中，核苷包含修飾。核苷之例示性修飾包括但不限於2'甲氧基乙基核苷、2'-O-甲基核苷、2'OH核苷、2'氟2'-去氧核苷、2'-F-阿拉伯糖核酸(2'-F-ANA)、乙二醇核酸(GNA)或鎖核酸(LNA)。

【0351】 在某些實施例中，分隔段由一個包含2'-OCH_3糖之核苷組成。在某些實施例中，分隔段由一個包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷組

成。

【0352】 在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置7或8或9或10或11或12或13或14處。在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置9或10或11處。在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處。

【0353】 在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處且由一個包含2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷組成。在某些實施例中，分隔段由一個包含2'-OCH_3糖之核苷組成。在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置7或8或9或10或11或12或13或14處。在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置9或10或11處。在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處。

【0354】 在某些實施例中，分隔段由一個包含2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖之核苷組成。在某些實施例中，分隔段由一個包含2'-OCH_3糖之核苷組成。在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置7或8或9或10或11或12或13或14處。在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置9或10或11處。在某些實施例中，分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處。

K. 寡核苷酸主鏈

【0355】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸為單鏈經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，至少一個核苷間鍵為經修飾之核苷間鍵。在某些實施例中，各核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

L. 經修飾之核鹼基

【0356】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核鹼基。在某些實施例中，其中經修飾之寡核苷酸包含一個、兩個或三

個經修飾之核鹼基。在某些實施例中，經修飾之核鹼基為5-甲基胞嘧啶。在某些實施例中，SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶各自為5-甲基胞嘧啶。

M1. 5-4-1-5-5經修飾之寡核苷酸

【0357】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：由5個連接之核苷組成之5'翼段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及由5個連接之核苷組成之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0358】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：描述於部分C1、C2或C3中之5'翼段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及描述於部分F1、F2或F3中之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧

啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0359】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含以下序列：**A**、**B**、**C**、**D**、**E**、**F**、**G**、**H**、**I**、**J**、**K**、**L**、**M**、**N**、**O**、**P**、**Q**、**R**、**S**、**T**、**U**、**V**、**W**、**X**、**Y**或**Z**。

M2. 4-5-1-5-5經修飾之寡核苷酸

【0360】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：由4個連接之核苷組成之5'翼段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及由5個連接之核苷組成之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0361】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：部分B1、B2或B3中所描述之5'翼段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及部分F1、F2或F3中所描述之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步

包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0362】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含以下序列：**AA、AB、AC、AD、AE、AF、AG、AH、AI、AJ、AK、AL、AM、AN**或**AO**。

【0363】**AO** (AUS 1493或SEQ ID NO:456)之位置及區段之例示性標註展示於以下。

		5'翼段				第一間隙段					分隔段	第二間隙段					3'翼段				
位置		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SEQ ID NO	AUS #																				
456	AUS 1493	G	C	A	G	a	g	g	t	g	A	a	g	c	g	a	A	+G	T	+G	+C

M3. 5-4-1-6-4經修飾之寡核苷酸

【0364】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：由5個連接之核苷組成之5'翼段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由6個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及由4個連接之核苷組成之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0365】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：部分C1、C2或C3中所描述之5'翼段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間

隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由6個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及部分E1、E2或E3中所描述之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0366】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含以下序列：**AP**、**AQ**、**AR**或**AS**。

M4. 4-5-1-4-6經修飾之寡核苷酸

【0367】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：由4個連接之核苷組成之5'翼段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及由6個連接之核苷組成之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0368】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：部分B1、B2或B3中所描述之5'翼段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間

隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及部分G1、G2或G3中所描述之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0369】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含以下序列：**AT**或**AU**。

M5. 5-4-1-4-6經修飾之寡核苷酸

【0370】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：由5個連接之核苷組成之5'翼段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及由6個連接之核苷組成之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0371】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：部分C1、C2或C3中所描述之5'翼段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間

隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及部分G1、G2或G3中所描述之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0372】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含以下序列：**AV**或**AW**。

M6. 4-5-1-6-4經修飾之寡核苷酸

【0373】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：由4個連接之核苷組成之5'翼段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由6個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及由4個連接之核苷組成之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0374】在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：部分B1、B2或B3中所描述之5'翼段；由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第一間

隙段；在SEQ ID NO: 2之位置10處的分隔段；由6個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成之第二間隙段；及部分E1、E2或E3中所描述之3'翼段。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。在一例示性實施例中，此段落之經修飾之寡核苷酸進一步包含在SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶，各自為5-甲基胞嘧啶；且進一步包含核苷間鍵，其中各者為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0375】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含序列**AX**。

【0376】 在某些實施例中，翼段中的一或多個經修飾之核苷具有經修飾之糖。在某些實施例中，經修飾之糖為雙環糖。在某些實施例中，經修飾之核苷為LNA核苷。在某些實施例中，經修飾之核苷為2'-經取代之核苷。在某些實施例中，2'經取代之核苷包括具有雙環糖修飾之核苷。在某些實施例中，經修飾之核苷為2'-MOE核苷。在某些實施例中，經修飾之核苷為約束乙基(cEt)核苷。在某些實施例中，各翼段中的各經修飾之核苷獨立地為2'-MOE核苷或具有雙環糖修飾之核苷，諸如約束乙基(cEt)核苷或LNA核苷。

【0377】 在某些實施例中，化合物或組合物包含經修飾之寡核苷酸的鹽。

【0378】 在某些實施例中，化合物或組合物進一步包含醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【0379】 在某些實施例中，在經修飾之寡核苷酸之整體上量測，經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與HBV核酸至少60%、65%、70%、75%、

80%、85%、90%、95%或100%互補。在某些實施例中，在經修飾之寡核苷酸之整體上量測，經修飾之寡核苷酸之核鹼基序列與SEQ ID NO: 1至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%互補。

【0380】 在某些實施例中，化合物或經修飾之寡核苷酸為單鏈。

【0381】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸之至少一個核苷包含經修飾之糖。在某些實施例中，至少一個經修飾之糖包含2'-O-甲氧基乙基 (2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3)。在某些實施例中，經修飾之糖包含2'-O-CH_3基團。

【0382】 在某些實施例中，至少一種經修飾之糖為雙環糖。在某些實施例中，至少一種經修飾之糖，雙環糖包含4'-$(CH_2)_n$-O-2'橋，其中n為1或2。在某些實施例中，雙環糖包含4'-CH_2-O-2'橋。在某些實施例中，雙環糖包含4'-CH(CH_3)-O-2'橋。

方法

【0383】 本發明提供治療患有HBV感染或HBV相關疾病、病症或病狀之個體的方法，該等方法包含投與治療有效量的本文所描述之經修飾之寡核苷酸，或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含SEQ ID NO:11至666中任一者之序列，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸。

【0384】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物抑制個體中之HBV mRNA表現。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物抑制個體中之HBV DNA含量。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物抑制個體中之HBV蛋白質含量及/或抗原含量。本發明之經修飾之寡核苷酸向個體投與時可降低HBV

mRNA、DNA或蛋白質(包括HBV抗原，諸如但不限於HBsAg及HbeAg)之含量。

【0385】 本發明提供用於治療個體中HBV相關疾病、病症及/或病狀之方法，該等方法包含向有需要之個體投與治療有效量的如上文所描述之任何醫藥組合物，以便治療HBV相關疾病、病症及病狀。在某些實施例中，個體為哺乳動物。在某些實施例中，個體為人類且HBV相關疾病、病症及病狀為人類B型肝炎病毒之B型肝炎病毒感染。更特定言之，人類B型肝炎病毒可為人類地理基因型中之任一者：A (西北歐(Northwest Europe)、北美洲(North America)、中美洲(Central America))；B (印尼(Indonesia)、中國(China)、越南(Vietnam))；C (東亞(East Asia)、韓國(Korea)、中國、日本(Japan)、波利尼西亞(Polynesia)、越南)；D (地中海區(Mediterranean area)、中東(Middle East)、印度(India))；E (非洲)；F (美洲原住民(Native Americans)、波利尼西亞)；G (美國(United States)、法國(France))；或H (中美洲)。

【0386】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸靶向HBV核酸之區域。在某些實施例中，靶向HBV核酸之區域的此類經修飾之寡核苷酸具有與該HBV核酸之該區域之相等長度的核鹼基部分互補的相鄰核鹼基部分。舉例而言，該部分可為與本文中所列舉之區域之相等長度部分互補的至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個相鄰核鹼基部分。

【0387】 某些實施例提供治療個體之HBV相關疾病、病症或病狀的方法，其包含向有需要之個體投與經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對

其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或本文所描述之醫藥組合物。

【0388】 某些實施例提供降低個體中HBV表現之方法，其包含向該個體投與經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或本文所描述之醫藥組合物。

【0389】 某些實施例提供預防、減輕或治療個體之HBV相關疾病、病症或病狀的方法，其包含向動物投與經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或本文所描述之醫藥組合物。

【0390】 HBV相關疾病、病症或病狀之實例包括但不限於慢性HBV感染、黃疸、肝癌、肝臟發炎、肝纖維化、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎及HBV病毒血症。HBV相關病狀或病症可具有可包括以下任一者或全部的症狀：流感樣疾病、虛弱、疼痛、頭痛、發熱、食慾不振、腹瀉、噁心及嘔吐、身體肝臟區域之疼痛、陶土色或灰色大便、渾身發癢及深色尿液，伴隨著針對B型肝炎病毒、B型肝炎病毒抗原之存在測試為陽性或針對B型肝炎病毒抗原具有特異性之抗體的存在測試為陽性，從而指示HBV相關病狀或病症。

【0391】 某些實施例提供降低個體中HBV mRNA表現之方法，其包含向該個體投與經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或本文所描述之醫藥組合物。在某些實施例中，個體中HBV mRNA表現之降低會預防、減輕或治療HBV相關疾病、病症或病狀。在某些實施例中，個體中HBV mRNA表現之降低會減輕或治療HBV感染。

在某些實施例中，個體中HBV mRNA表現之降低會預防、減輕或治療肝臟疾病。在某些實施例中，HBV mRNA表現降低至少5%、10%、20%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

【0392】 某些實施例提供降低個體中之HBV蛋白質含量的方法，其包含向該個體投與經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或本文所描述之醫藥組合物。在某些實施例中，個體中HBV蛋白質含量之降低會預防、減輕或治療HBV相關疾病、病症或病狀。在某些實施例中，個體中HBV蛋白質含量之降低會減輕或治療HBV感染。在某些實施例中，個體中HBV蛋白質含量之降低會預防、減輕或治療肝臟疾病。在某些實施例中，HBV蛋白質含量降低至少5%、10%、20%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

【0393】 某些實施例提供降低個體中HBV DNA含量之方法，其包含向該個體投與經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或本文所描述之醫藥組合物。在某些實施例中，個體中HBV DNA含量之降低會預防、減輕或治療HBV相關疾病、病症或病狀。在某些實施例中，個體可為哺乳動物，諸如人類，且B型肝炎病毒可為人類B型肝炎病毒。更特定言之，人類B型肝炎病毒可為人類地理基因型中之任一者：A (西北歐、北美洲、中美洲)；B (印尼、中國、越南)；C (東亞、韓國、中國、日本、波利尼西亞、越南)；D (地中海區、中東、印度)；E

(非洲)；F (美洲原住民、波利尼西亞)；G (美國、法國)；或H (中美洲)。在某些實施例中，個體中HBV DNA含量之降低減輕或治療HBV感染。在某些實施例中，個體中HBV DNA含量之降低會預防、減輕或治療肝臟疾病。在某些實施例中，HBV DNA含量降低至少5%、10%、20%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

【0394】 某些實施例提供降低個體中HBV抗原含量之方法，其包含向該個體投與經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或本文所描述之醫藥組合物。在某些實施例中，抗原為HBsAg或HBeAG。在某些實施例中，個體中HBV抗原含量之降低會預防、減輕或治療HBV相關疾病、病症或病狀。在某些實施例中，個體中HBV抗原含量之降低會預防、減輕或治療肝臟疾病。在某些實施例中，HBV抗原含量降低至少5%、10%、20%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

【0395】 某些實施例提供降低感染有B型肝炎病毒之個體中之HBV DNA及HBV抗原的方法，其包含向該個體投與經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或本文所描述之醫藥組合物。在某些實施例中，抗原為HBsAg或HBeAg。在某些實施例中，藉由市售ELISA系統之當前可獲得的偵測極限測定，HBV抗原之量可充分降低以引起血清轉化，定義為在監測HBeAg作為血清轉化之決定因子時血清HBeAg不存在加血清HBeAb存在，或定義為在監測HBsAg作為血清轉化

之決定因子時血清HBsAg不存在。

【0396】 某些實施例提供治療患有HBV相關疾病、病症或病狀之個體的方法，其包含：a)鑑別患有HBV相關疾病、病症或病狀之該個體及b)向該個體投與治療有效量的本文所描述之經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物。在某些實施例中，向個體投與治療有效量的經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物會治療或減少個體之HBV相關疾病、病症或病狀或其症狀。在某些實施例中，HBV相關疾病、病症或病狀為肝臟疾病。在某些實施例中，相關疾病、病症或病狀為慢性HBV感染、黃疸、諸如肝細胞癌之肝癌、肝臟發炎、肝纖維化、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎、HBV病毒血症、肝臟疾病相關移植或其任何組合。

【0397】 某些實施例提供治療患有HBV相關疾病、病症或病狀之個體的方法，其包含：a)鑑別患有HBV相關疾病、病症或病狀之該個體及b)向該個體投與治療有效量的本文所描述之經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物。在某些實施例中，向個體投與治療有效量的經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物會治療或減少個體之HBV相關疾病、病症或病狀或其症狀。在某些實施例中，HBV相關疾病、病症或病狀為肝臟疾病。在某些實施例中，相關疾病、病症或病狀為慢性HBV感染、黃疸、肝癌、肝臟發炎、肝纖維化、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎、HBV病毒血症或肝臟疾病相關移植。

【0398】 在某些實施例中，HBV具有GenBank登錄號U95551.1 **(SEQ ID NO: 3)**中所闡述之序列或其任何變異體或片段。在某些實施例中，HBV具有**SEQ ID NO:667**至**674**中所闡述之序列。

【0399】 在某些實施例中，個體為人類。

【0400】 在某些實施例中，個體為猴，例如食蟹獼猴。

【0401】 在某些實施例中，個體為嚙齒動物，諸如小鼠或大鼠。

【0402】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物指定為第一藥劑。在某些實施例中，方法包含投與第一藥劑及一或多種第二藥劑。在某些實施例中，第一藥劑與一或多種第二藥劑共投與。在某些實施例中，第一藥劑與一或多種第二藥劑依序或同時共投與。在某些實施例中，第一藥劑與一或多種第二藥劑不共投與。

【0403】 在某些實施例中，一或多種第二藥劑亦為本文所述之化合物或組合物。在某些實施例中，一或多種第二藥劑不同於本文所述之化合物或組合物。一或多種第二藥劑之實例包括但不限於抗炎劑、化學治療劑或抗感染劑。在特定實施例中，疾病包含肝癌，且一或多種第二藥劑包含化學治療劑，諸如吉西他濱(Gemcitabine) (Gemzar)、奧沙利鉑(Oxaliplatin) (Eloxatin)、順鉑(Cisplatin)、多柔比星(Doxorubicin)、5-氟尿嘧啶、卡培他濱(Capecitabine) (Xeloda)、或米托蒽醌(Mitoxantrone) (Novantrone)。在特定實施例中，疾病包含肝臟疾病，且一或多種第二藥劑包含皮質類固醇、利尿劑、β-阻斷劑或其組合。

【0404】 本發明之經修飾之寡核苷酸及包含其之醫藥組合物可藉由任何適合投與途徑向個體投與。投與途徑之實例包括非經腸，例如靜脈內、皮內、皮下、經口(例如，吸入)、經皮(局部)、腹膜內(進入體腔)及經黏膜投與。

【0405】 在某些實施例中，投與包含非經腸投與。在某些實施例中，投與包含皮下投與。在某些實施例中，投與包含靜脈內注射或輸注。

【0406】某些實施例提供用於降低感染有B型肝炎病毒之個體之HBV mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量的方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量的如上文所描述之醫藥組合物以便降低B型肝炎病毒感染及B型肝炎抗原，相較於治療前的個體中之HBV mRNA、蛋白質之量及HBV抗原之量。在一些實施例中，個體可為人類，且B型肝炎病毒可為人類B型肝炎病毒。更特定言之，人類B型肝炎病毒可為人類地理基因型中之任一者：A (西北歐、北美洲、中美洲)；B (印尼、中國、越南)；C (東亞、韓國、中國、日本、波利尼西亞、越南)；D (地中海區、中東、印度)；E (非洲)；F (美洲原住民、波利尼西亞)；G (美國、法國)；或H (中美洲)。

【0407】本發明提供用於降低感染有B型肝炎病毒之個體之HBV mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量或其組合的方法，該方法包含向該個體投與治療有效量的如上文所描述的經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物以便降低B型肝炎病毒感染及B型肝炎抗原，相較於治療前的個體中之HBV mRNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量。在某些實施例中，相較於投與經修飾之反義寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%。在某些實施例中，相較於投與經修飾之反義寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少50%。在某些實施例中，相較於投與經修飾之反義寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少60%。在某些實施例中，相較於投與經修飾之反義寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少70%。在某些實施例中，相較於投與經修飾之反義寡核苷酸或

醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少80%。在某些實施例中，相較於投與經修飾之反義寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少90%。

【0408】本發明提供用於降低感染有B型肝炎病毒之個體之HBV mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量的方法，該方法包含向該個體投與治療有效量的如上文所描述的經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物以便降低B型肝炎病毒感染及B型肝炎抗原，相較於治療前的個體中之HBV病毒、mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量，其中相較於投與經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少75%。在某些實施例中，該等方法降低感染有B型肝炎病毒之個體之HBV病毒、mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量，該方法包含向該個體投與治療有效量的如上文所描述的經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物以便降低B型肝炎病毒感染及B型肝炎抗原，相較於治療前的個體中之B型肝炎病毒及HBV抗原之量，其中相較於投與經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少80%。在某些實施例中，該等方法降低感染有B型肝炎病毒之個體之HBV病毒、mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量，該方法包含向該個體投與治療有效量的如上文所描述的經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物以便降低B型肝炎病毒感染及B型肝炎抗原，相較於治療前的個體中之HBV病毒、mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量，其中相較於投與經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少85%。在某些實施例中，該等方法降低感染有B型肝炎病毒之個體之HBV病毒、mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量，該方法包含向該個體投與治療有效量的如上文所描述的經修飾之寡核

苷酸或醫藥組合物以便降低B型肝炎病毒感染及B型肝炎抗原，相較於治療前的個體中之HBV病毒、mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量，其中相較於投與經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少90%。在某些實施例中，該等方法降低感染有B型肝炎病毒之個體之HBV病毒、mRNA、DNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量，該方法包含向該個體投與治療有效量的如上文所描述的經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物以便降低B型肝炎病毒感染、mRNA、蛋白質及/或及B型肝炎抗原，相較於治療前的個體中之HBV mRNA、蛋白質之量及/或HBV抗原之量，其中相較於投與經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物之前的量，mRNA之量降低至少95%。在相關方法中，HBV抗原可為HBsAg或可為HBeAg，且更特定言之，藉由市售ELISA系統之當前可獲得的偵測極限測定，HBV抗原之量可充分降低以引起血清轉化，定義為在監測HBeAg作為血清轉化之決定因子時血清HBeAg不存在加血清HBeAb存在，或定義為在監測HBsAg作為血清轉化之決定因子時血清HBsAg不存在。

【0409】 本發明提供用於促進感染有HBV之哺乳動物中B型肝炎病毒之血清轉化的方法，該方法包含向感染有B型肝炎之個體投與治療有效量的經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或如上文所描述的醫藥組合物；監測個體之血清樣本中HBeAg加HBeAb之存在，或監測個體之血清樣本中HBsAg之存在，使得藉由市售ELISA系統的當前偵測極限測定，在監測HBeAg作為血清轉化之決定因子時血清樣本中HBeAg不存在加HBeAb存在，或在監測HBsAg作為血清轉化之決定因子時血清樣本中之HBsAg不存在為個體中血清轉化之指示。

【0410】某些實施例提供經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；或如本文所描述之醫藥組合物的用途，其用於預防、減輕或治療個體之肝臟疾病或其症狀。

【0411】在一些實施例中，用經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 11至666)處理之細胞的EC_{50}量測為經修飾之寡核苷酸之有效性的代表。在一些實施例中，EC_{50}為約0.1 nM至約250 nM。在一些實施例中，EC_{50}為小於250 nM、小於200 nM、小於150 nM、小於100 nM、小於90 nM、小於80 nM、小於70 nM、小於65 nM、小於60 nM、小於55 nM、小於50 nM、小於49 nM、小於47 nM、小於46 nM、小於45 nM、小於44 nM、小於43 nM、小於42 nM、小於41 nM、小於40 nM、小於39 nM、小於38 nM、小於37 nM、小於36 nM、小於35 nM、小於34 nM、小於33 nM、小於32 nM、小於31 nM、小於30 nM、小於29 nM、小於28 nM、小於27 nM、小於26 nM、小於25 nM、小於24 nM、小於23 nM、小於22 nM、小於21 nM、小於20 nM、小於19 nM、小於18 nM、小於17 nM、小於16 nM、小於15 nM、小於14 nM、小於13 nM、小於12 nM、小於11 nM、小於10 nM、小於9 nM、小於8 nM、小於7 nM、小於6 nM、小於5 nM、小於4 nM、小於3 nM、小於2 nM、小於1nM、小於0.9 nM、小於0.8 nM、小於0.7 nM、小於0.6 nM、小於0.5 nM、小於0.4 nM、小於0.3 nM、小於0.2 nM或小於0.1 nM。

【0412】在一些實施例中，用經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 11至666)處理之細胞之EC_{50}/用參考寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 10)處理之細胞之EC50的比率經計算為降低HBsAg含量之功效的量度。在一

些實施例中，該比率為約0.05至約250。在一些實施例中，EC_{50}比率為小於250、小於150、小於100、小於90、小於80、小於70、小於65、小於60、小於55、小於50、小於49、小於47、小於46、小於45、小於44、小於43、小於42、小於41、小於40、小於39、小於38、小於37、小於36、小於35、小於34、小於33、小於32、小於31、小於30、小於29、小於28、小於27、小於26、小於25、小於24、小於23、小於22、小於21、小於20、小於19、小於18、小於17、小於16、小於15、小於14、小於13、小於12、小於11、小於10、小於9、小於8、小於7、小於6、小於5、小於4、小於3、小於2、小於1、小於0.9、小於0.8、小於0.7、小於0.6、小於0.5、小於0.4、小於0.3、小於0.2或小於0.1。

【0413】 在某些實施例中，如本文所描述之化合物或組合物在遞送至HepG2.2.1細胞時藉助於具有以下活體外IC_{50}中之至少一者而奏效：小於250 nM、小於200 nM、小於150 nM、小於100 nM、小於90 nM、小於80 nM、小於70 nM、小於65 nM、小於60 nM、小於55 nM、小於50 nM、小於49 nM、小於47 nM、小於46 nM。

【0414】 在某些實施例中，如本文所描述之化合物或組合物在遞送至HepG2.2.1細胞時藉助於具有以下活體外IC_{50}中之至少一者而奏效：小於250 nM、小於200 nM、小於100 nM、小於90 nM、小於80 nM、小於70 nM、小於60 nM、小於50 nM、小於40 nM、小於35 nM、小於34 nM、小於33 nM、小於32 nM、小於31 nM。

【0415】 在某些實施例中，如本文所描述之化合物或組合物在遞送至如本文所描述之HepG2.2.1細胞時藉助於具有以下活體外IC_{50}中之至少一者而奏效：小於20 μM、小於10 μM、小於9.5 μM、小於9.0 μM、小於

8.5 μM、小於8.0 μM、小於7.5 μM、小於7.0 μM、小於6.5 μM、小於6.0 μM、小於5.5 μM、小於5.0 μM、小於4.5 μM、小於4.0 μM、小於3.5 μM、小於3.0 μM、小於2.5 μM。

【0416】在一些實施例中，MTT CC25值(nM)用作細胞毒性之量度。在一些實施例中，用本文所描述的經修飾之寡核苷酸處理之細胞之MTT CC25為約10 nM至約250 nM。在一些實施例中，MTT CC25為大於10 nM、大於15 nM、大於20 nM、大於25 nM、大於30 nM、大於35 nM、大於40 nM、大於45 nM、大於50 nM、大於55 nM、大於60 nM、大於65 nM、大於70 nM、大於75 nM、大於80 nM、大於85 nM、大於90 nM、大於95 nM、大於100 nM、大於110 nM、大於120 nM、大於130 nM、大於140 nM、大於150 nM、大於160 nM、大於170 nM、大於180 nM、大於190 nM、大於200 nM、大於210 nM、大於220 nM、大於230 nM、大於240 nM或大於250 nM。

【0417】在一些實施例中，CCK8 CC30 (nM)用作細胞毒性之量度。在一些實施例中，用本文所描述的經修飾之寡核苷酸處理之細胞的CCK8 CC30為約10 nM至約250 nM。在一些實施例中，CCK8 CC30為大於10 nM、大於15 nM、大於20 nM、大於25 nM、大於30 nM、大於35 nM、大於40 nM、大於45 nM、大於50 nM、大於55 nM、大於60 nM、大於65 nM、大於70 nM、大於75 nM、大於80 nM、大於85 nM、大於90 nM、大於95 nM、大於100 nM、大於110 nM、大於120 nM、大於130 nM、大於140 nM、大於150 nM、大於160 nM、大於170 nM、大於180 nM、大於190 nM、大於200 nM、大於210 nM、大於220 nM、大於230 nM、大於240 nM或大於250 nM。

【0418】在一些實施例中，「C/E比率」用作降低HBsAg含量之功效相對於細胞毒性的量度。在一些實施例中，藉由採用經修飾之寡核苷酸之MTT CC25 (nM)/參考寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 10)之MTT CC25 (nM)的比率且將其除以經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 11至666)之HBsAg EC_{50}/參考寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 10)之HBsAg EC50的比率來計算C/E比率。在一些實施例中，藉由採用經修飾之寡核苷酸之CCK8 CC25 (nM)/參考寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 10)之CCK8 CC25 (nM)的比率且將其除以經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 11至666)之HBsAg EC_{50}/參考寡核苷酸(例如，SEQ ID NO: 10)之HBsAg EC50的比率來計算C/E比率。在一些實施例中，C/E比率為約0.01至約50。在一些實施例中，C/E比率為大於1、大於1.1、大於1.2、大於1.3、大於1.4、大於1.5、大於1.6、大於1.7、大於1.8、大於1.9、大於2.0、大於2.1、大於2.2、大於2.3、大於2.4、大於2.5、大於2.6、大於2.7、大於2.8、大於2.9、大於3.0、大於10、大於11、大於12、大於13、大於14、大於15、大於16、大於17、大於18、大於19、大於20、大於21、大於22、大於23、大於24、大於25、大於30、大於35、大於40、大於45或大於50。

【0419】在某些實施例中，藉由以下中之至少一者表明：相較於生理鹽水處理之動物，ALT或AST值增加超過4倍、3倍或2倍，或肝臟、脾臟或腎臟重量增加不超過30%、20%、15%、12%、10%、5%或2%，如本文所描述之化合物或組合物為高度可耐受的。在某些實施例中，藉由相較於生理鹽水處理之動物，ALT或AST不增加表明，如本文所描述之化合物或組合物為高度可耐受的。在某些實施例中，藉由相較於生理鹽水處理之動物，肝臟、脾臟或腎臟重量不增加表明，如本文所描述之化合物或組

合物為高度可耐受的。

【0420】在一些實施例中，相對於用參考化合物(例如，SEQ ID NO: 10)處理之動物，用包含經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO:11至666)之化合物或組合物處理之動物的ALT含量降低約1.1倍至約10倍。在一些實施例中，相對於用參考化合物(例如，SEQ ID NO: 10)處理之動物，用包含經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO:11至666)之化合物或組合物處理之動物的ALT含量降低至少1.25倍。在一些實施例中，相對於用參考化合物(例如，SEQ ID NO: 10)處理之動物，用包含經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO:11至666)之化合物或組合物處理之動物的ALT含量降低1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2.0倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、2.6倍、2.7倍、2.8倍、2.9倍、3.0倍、3.1倍、3.2倍、3.3倍、3.4倍、3.5倍、3.6倍、3.7倍、3.8倍、3.9倍、4.0倍、4.1倍、4.2倍、4.3倍、4.4倍、4.5倍、4.6倍、4.7倍、4.8倍、4.9倍或5.0倍。

【0421】在一些實施例中，相對於用參考化合物(例如，SEQ ID NO: 10)處理之動物，用包含經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO:11至666)之化合物或組合物處理之動物的AST含量降低約1.1倍至約10倍。在一些實施例中，相對於用參考化合物(例如，SEQ ID NO: 10)處理之動物，用包含經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO:11至666)之化合物或組合物處理之動物的AST含量降低至少1.25倍。在一些實施例中，相對於用參考化合物(例如，SEQ ID NO: 10)處理之動物，用包含經修飾之寡核苷酸(例如，SEQ ID NO:11至666)之化合物或組合物處理之動物的AST含量降低1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9

倍、2.0倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、2.6倍、2.7倍、2.8倍、2.9倍、3.0倍、3.1倍、3.2倍、3.3倍、3.4倍、3.5倍、3.6倍、3.7倍、3.8倍、3.9倍、4.0倍、4.1倍、4.2倍、4.3倍、4.4倍、4.5倍、4.6倍、4.7倍、4.8倍、4.9倍或5.0倍。

【0422】某些實施例提供經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或如本文所描述之醫藥組合物的用途，其用於製造用於治療、減輕、延遲或預防動物之HBV相關疾病、病症或病狀的藥劑。

【0423】某些實施例提供經修飾之寡核苷酸，例如包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸，或如本文所描述之醫藥組合物的用途，其用於製造用於治療、減輕、延遲或預防動物之肝臟疾病的藥劑。

套組及製品

【0424】本發明提供包含本文所描述的經修飾之寡核苷酸及包含其之醫藥組合物的套組。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含SEQ ID NO:11至666中任一者之序列，或經修飾之寡核苷酸包含1、2、3、4或5個對其之修飾。

【0425】某些實施例提供一種用於治療、預防或減輕如本文所描述之HBV相關疾病、病症或病狀或其症狀的套組，其中該套組包含：a)如本文所描述之化合物或組合物，例如包含以下之組合物：包含SEQ ID NO:11至666中任一者之序列的經修飾之寡核苷酸，或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸；及視情況b)如本文所描述之額外藥劑或療法。套組可進一步包括使用套組治療、預防或減輕HBV相關疾

病、病症或病狀之說明書或標記。

【0426】 包含經修飾之寡核苷酸的組合物可在封裝於套組中之前經凍乾，或可與醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑一起提供於溶液中。

【0427】 在某些實施例中，套組進一步包含至少一種用於治療HBV相關疾病、病症或病狀之額外藥劑。

給藥及投與

【0428】 本發明提供包含向有需要之個體投與治療有效劑量的經修飾之寡核苷酸(例如，包含SEQ ID NO:11至666中任一者的經修飾之寡核苷酸或包含1、2、3、4或5個對其之修飾的經修飾之寡核苷酸)或包含其之醫藥組合物的方法。

【0429】 在某些實施例中，舉例而言，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物的治療有效劑量包含觀測到至少-0.2、至少-0.3、至少-0.4、至少-0.5、至少-0.7、至少-1.0、至少-1.5、至少-2.0、至少-2.5、至少-3.0、至少-3.5、至少-4.0或至少-4.5之最大log10血清HBsAg降低時的劑量。在一些實施例中，在投與治療有效劑量之後的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35天觀測到最大log10血清HBsAg降低。

【0430】 在某些實施例中，舉例而言，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物的治療有效劑量包含使個體之血清HbsAg含量降低至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%的劑量。在一些實

施例中，在投與治療有效劑量之後的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35天觀測到血清HBsAg降低。

【0431】 在某些實施例中，舉例而言，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物的治療有效劑量包含觀測到至少-0.2、至少-0.3、至少-0.4、至少-0.5、至少-0.7、至少-1.0、至少-1.5、至少-2.0、至少-2.5、至少-3.0、至少-3.5、至少至少-4.0或至少-4.5之最大log10血清HBeAg降低時的劑量。在一些實施例中，在投與治療有效劑量之後的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35天觀測到最大log10血清HBeAg降低。

【0432】 在某些實施例中，舉例而言，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物的治療有效劑量包含使個體之血清HbeAg含量降低至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%的劑量。在一些實施例中，在投與治療有效劑量之後的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35天觀測到血清HBeAg降低。

【0433】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按以下範圍內之劑量向個體投與：10 mg至1500 mg、10 mg至1000 mg、10 mg至900 mg、10 mg至800 mg、10 mg至700 mg、10 mg至600 mg、10 mg至500 mg、10 mg至400 mg、10 mg至300 mg、10 mg至200 mg、10 mg至100 mg、50 mg至1500 mg、50 mg至1000 mg、50 mg至900

mg、50 mg至800 mg、50 mg至700 mg、50 mg至600 mg、50 mg至500 mg、50 mg至400 mg、50 mg至300 mg、50 mg至200 mg、50 mg至100 mg、100 mg至1500 mg、100 mg至1000 mg、100 mg至900 mg、100 mg至800 mg、100 mg至700 mg、100 mg至600 mg、100 mg至500 mg、100 mg至400 mg、100 mg至300 mg、100 mg至200 mg、200 mg至1500 mg、200 mg至1000 mg、200 mg至900 mg、200 mg至800 mg、200 mg至700 mg、200 mg至600 mg、200 mg至500 mg、200 mg至400 mg、200 mg至300 mg、300 mg至1500 mg、300 mg至1000 mg、300 mg至900 mg、300 mg至800 mg、300 mg至700 mg、300 mg至600 mg、300 mg至500 mg或300 mg至400 mg經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按50 mg至1500 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按50 mg至1000 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按50 mg至700 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按50 mg至500 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按50 mg至450 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按50 mg至300 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按50 mg至200 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按100 mg至1500 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑

量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按100 mg至1000 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按100 mg至700 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按100 mg至500 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按100 mg至450 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按100 mg至300 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按100 mg至200 mg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。

【0434】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按以下範圍內之劑量向個體投與：0.01 mg/kg至30.0 mg/kg、0.01 mg/kg至27.0 mg/kg、0.01 mg/kg至25.0 mg/kg、0.01 mg/kg至22.0 mg/kg、0.01 mg/kg至20.0 mg/kg、0.01 0.01 mg/kg至15.0 mg/kg、0.01 mg/kg至10.0 mg/kg、0.01 mg/kg至8.0 mg/kg、0.01 mg/kg至5.0 mg/kg、0.01 mg/kg至4.0 mg/kg、0.01 mg/kg至3.0 mg/kg、0.01 mg/kg至2.0 mg/kg、0.01 mg/kg至1.0 mg/kg、0.01 mg/kg至0.5 mg/kg、0.01 mg/kg至0.1 mg/kg、0.1 mg/kg至30.0 mg/kg、0.1 mg/kg至27.0 mg/kg、0.1 mg/kg至25.0 mg/kg、0.1 mg/kg至22.0 mg/kg、0.1 mg/kg至20.0 mg/kg、0.1 mg/kg至18.0 mg/kg、0.1 mg/kg至15.0 mg/kg、0.1 mg/kg至12.0 mg/kg、0.1 mg/kg至10.0 mg/kg、0.1 mg/kg至8.0 mg/kg、0.1 mg/kg至5.0 mg/kg、0.1 mg/kg至4.0 mg/kg、0.1 mg/kg至3.0 mg/kg、0.1 mg/kg至2.0

mg/kg、0.1 mg/kg至1.0 mg/kg、0.1 mg/kg至0.5 mg/kg、1.0 mg/kg至30.0 mg/kg、1.0 mg/kg至27.0 mg/kg、1.0 mg/kg至25.0 mg/kg、1.0 mg/kg至22.0 mg/kg、1.0 mg/kg至20.0 mg/kg、1.0 mg/kg至18.0 mg/kg、1.0 mg/kg至15.0 mg/kg、1.0 mg/kg至12.0 mg/kg、1.0 mg/kg至10.0 mg/kg、1.0 mg/kg至8.0 mg/kg、1.0 mg/kg至5.0 mg/kg、1.0 mg/kg至4.0 mg/kg、1.0 mg/kg至3.0 mg/kg、1.0 mg/kg至2.0 mg/kg、5.0 mg/kg至30.0 mg/kg、5.0 mg/kg至27.0 mg/kg、5.0 mg/kg至25.0 mg/kg、5.0 mg/kg至22.0 mg/kg、5.0 mg/kg至20.0 mg/kg、5.0 mg/kg至18.0 mg/kg、5.0 mg/kg至15.0 mg/kg、5.0 mg/kg至10.0 mg/kg、5.0 mg/kg至7.0 mg/kg、10.0 mg/kg至30.0 mg/kg、10.0 mg/kg至27.0 mg/kg、10.0 mg/kg至25.0 mg/kg、10.0 mg/kg至22.0 mg/kg、10.0 mg/kg至20.0 mg/kg、10.0 mg/kg至18.0 mg/kg、10.0 mg/kg至15.0 mg/kg、15.0 mg/kg至30.0 mg/kg、15.0 mg/kg至25.0 mg/kg、15.0 mg/kg至20.0 mg/kg、20 mg/kg至30 mg/kg或25 mg/kg至30 mg/kg經修飾之寡核苷酸。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按0.01 mg/kg至30 mg/kg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按0.1 mg/kg至25 mg/kg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按1.0 mg/kg至20 mg/kg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按5.0 mg/kg至20 mg/kg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按1.0 mg/kg至15 mg/kg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。在某些實施例中，經

修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物按1.0 mg/kg至5.0 mg/kg經修飾之寡核苷酸範圍內之劑量向個體投與。

【0435】 在某些實施例中，每天、每2天、每3天、每4天、每5天、每6天、每7天、每8天、每9天、每10天、每11天、每12天、每13天、每2週、每3週、每4週、每5週、每6週、每7週、每8週、每9週、每10週、每11週、每12週、每13週、每2個月、每3個月或每4個月向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。

【0436】 在某些實施例中，每天、每2天、每3天天每4天、每5天、每6天、每7天、每8天、每9天、每10天、每兩週、每三週或每月向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。

【0437】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物向個體投與至少1週、至少2週、至少3週、至少1個月、至少2個月、至少3個月、至少4個月、至少5個月、至少6個月、至少7個月、至少8個月、至少9個月、至少10個月、至少11個月、至少1年、至少1.5年、至少2年、至少3年、至少4年或至少5年。

【0438】 在某些實施例中，向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物直至達成特定結果，例如個體之血清中之HBsAg及/或HbeAg之含量降低。在某些實施例中，向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物持續直至個體之血清中之HBsAg及/或HbeAg相較於投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物之前降低至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%。

【0439】 在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物向個體投與一天一次、一天兩次、一天三次或一天四次。

【0440】在某些實施例中，每天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每兩天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每三天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每四天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每五天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每六天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每七天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每八天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每九天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每十天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每十一天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每十二天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每十三天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每十四天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每三週向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每月向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每2個月向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每3個月向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每4個月向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每5個月向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每6個月向個體投與經修飾之寡

核苷酸或包含其之醫藥組合物。在某些實施例中，每年向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物兩次或更多次。在某些實施例中，每兩年向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物兩次或過多次。在某些實施例中，每兩年或更多年向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物兩次或更多次。

【0441】 在某些實施例中，每1至30天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每1至22天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每1至15天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每1至8天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每1至5天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每1至4天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每1至3天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每10至20天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每5至15天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。在某些實施例中，每15至30天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物一次。

【0442】 在某些實施例中，每36小時投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每48小時投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每60小時投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每72小時投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施

例中，每84小時投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每96小時投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每5天投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每6天投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每7天投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每8至10天投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每10至12天投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每12至15天投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每15至25天投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。在某些實施例中，每20至30天投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物至少一次。

【0443】 在一些實施例中，投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物包含停藥期(dosing holiday)。舉例而言，每三天向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物，接著一週、兩週、三週或一個月不投與，接著恢復給藥。一般熟習此項技術者將理解此停藥期為例示性的。其他持續時間及頻率之停藥期涵蓋在本發明之範疇內。作為另一實例，可向個體投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物直至HBsAg或HbeAg之含量降至低於某一臨限值，或在個體中未偵測到HBV感染，接著為停藥期，且在再次偵測到個體之血清中之HBsAg或HbeAg時恢復給藥。

【0444】 在某些實施例中，向個體投與單個一次劑量的經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。在其他實施例中，向個體投與多個劑量的

經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物。

【0445】 在某些實施例中，投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物可包含以下給藥排程：最初更頻繁地投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物，接著不太頻繁地給藥。此給藥排程具有優勢，原因在於其可用於維持本文所描述的經修飾之寡核苷酸的穩態肝臟濃度。舉例而言，若經修飾之寡核苷酸之肝臟半衰期為3至4週，則包含在第1天及第4天之負載劑量接著在第8天(例如，第8天、第15天及第22天等)開始之每週維持劑量的初始給藥排程可用於達成本發明之經修飾之寡核苷酸的穩態肝臟濃度。

【0446】 在某些實施例中，投與經修飾之寡核苷酸或包含其之醫藥組合物包含負載劑量，接著為負載維持劑量。

【0447】 術語「負載劑量」係指除給藥方案以外投與或高於給藥方案中之維持劑量的經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物的一或多個劑量。如本文中所使用，「負載劑量」可指經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物的一或多個劑量，其相比於作為給藥方案之部分投與的經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物的劑量，為相同的濃度或較低濃度(在除規律給藥方案以外的投與時)或較高濃度(在代替規律給藥方案投與時)。在給藥方案中，負載劑量亦可比維持劑量更頻繁地投與。

【0448】 如本文中所使用，術語「維持劑量」係指治療劑之重複規律投與。如本文中所使用之維持劑量不包括負載劑量，該負載劑量在一些實施例中可在維持劑量之外(例如，之前)投與。

【0449】 在包含負載劑量及維持劑量之例示性給藥方案中，經修飾之寡核苷酸或醫藥組合物係以較高負載劑量接著較低維持劑量投與。舉例

而言，負載劑量可比維持劑量高約1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2.0倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、3.0倍、3.5倍、4.0倍、4.5倍或5倍。替代地或另外，負載劑量可比維持劑量更頻繁地投與。舉例而言，負載劑量可每天、每2天、每3天、每4天或每5天投與持續至少1、2、3、4或5個劑量，接著為每週、每10天、每14天及類似者之維持劑量。熟習此項技術者將瞭解，若需要，已根據維持給藥排程給與之個體可再次以一或多個負載劑量給與。作為另一例示性給藥排程，個體可在第1天及第4天投與負載劑量，接著在第8天投與每週維持劑量。

反義化合物

【0450】寡聚化合物包括但不限於寡核苷酸、寡核苷、寡核苷酸類似物、寡核苷酸模擬物、反義化合物、反義寡核苷酸及siRNA。寡聚化合物對於目標核酸而言可為「反義」，意謂能夠經由氫鍵結與目標核酸雜交。

【0451】在某些實施例中，反義化合物具有核鹼基序列，該核鹼基序列沿5'至3'方向書寫時包含其靶向之目標核酸之目標區段的反向補體。在某些此類實施例中，反義寡核苷酸具有核鹼基序列，該核鹼基序列沿5'至3'方向書寫時包含其靶向之目標核酸之目標區段之反向補體。

【0452】在某些實施例中，靶向HBV核酸之反義寡核苷酸可縮短或截短。舉例而言，單個子單元可自5'端缺失(5'截短)，或替代地自3'端缺失(3'截短)。靶向HBV核酸之縮短或截短反義化合物可自反義化合物之5'端缺失兩個子單元，或替代地可自反義化合物之3'端缺失兩個子單元。替代地，缺失之核苷可分散於整個反義化合物中，例如自5'端缺失之一個核苷

且自3'端缺失之一個核苷的反義化合物中。

【0453】 當延長之反義化合物中存在單個額外子單元時，該額外子單元可位於反義化合物之5'或3'端處。當存在兩個或更多個額外子單元時，例如在反義化合物之5'端添加(5'添加)或替代地在3'端添加兩個子單元的反義化合物中，添加之子單元可彼此相鄰。替代地，添加之子單元可分散於整個反義化合物中，例如在5'端添加一個子單元及在3'端添加一個子單元的反義化合物中。

【0454】 可能增加或減少反義化合物(諸如反義寡核苷酸)之長度，及/或引入錯配鹼基而不消除活性。舉例而言，在Woolf等人(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992)中，在卵母細胞注射模型中測試一系列長度為13至25個核鹼基之反義寡核苷酸誘導目標RNA之裂解的能力。在反義寡核苷酸之末端附近具有8或11個錯配鹼基的長度為25個核鹼基之反義寡核苷酸能夠導引目標mRNA之特異性裂解，但相比於不含錯配之反義寡核苷酸在較低程度。類似地，使用13個核鹼基反義寡核苷酸，包括具有1或3個錯配之彼等反義寡核苷酸實現目標特異性裂解。

【0455】 Gautschi等人(*Natl. Cancer Inst.* 93:463-471, March 2001)顯示與bcl-2 mRNA具有100%互補性且具有與bc1-xL mRNA之3個錯配的寡核苷酸在活體外及活體內降低bcl-2及bcl-xL之表現的能力。此外，此寡核苷酸顯示有效的活體內抗腫瘤活性。

【0456】 Maher及Dolnick *(Nuc. Acid. Res.* 16:3341-3358, 1988)測試一系列串聯14個核鹼基反義寡核苷酸以及分別由兩個或三個串聯反義寡核苷酸之序列構成的28及42個核鹼基反義寡核苷酸阻止人類DHFR在兔網狀紅血球分析中之轉譯的能力。三個單獨的14個核鹼基反義寡核苷酸中之

每一者能夠抑制轉譯，但相比於28或42個核鹼基反義寡核苷酸在更適度的程度。

反義化合物模體

【0457】 在某些實施例中，靶向HBV核酸之反義化合物在模式或模體中配置有化學修飾之子單元，以賦予反義化合物諸如以下之特性：抑制活性增強、針對目標核酸之結合親和力增加或對活體內核酸酶之降解的抗性。

【0458】 嵌合反義化合物通常含有至少一個經修飾以賦予對核酸酶降解之抗性增加、細胞攝取增加、針對目標核酸之結合親和力增加及/或抑制活性增加的區域。嵌合反義化合物之第二區域可視情況充當裂解RNA:DNA雙螺旋之RNA股的細胞核酸內切酶RNA酶H的受質。

【0459】 具有間隙體模體之反義化合物視為嵌合反義化合物。在間隙體中，具有複數個支援RNA酶H裂解之核苷酸的內部區域定位在外部區域之間，該等外部區域具有複數個在化學上不同於該內部區域之核苷的核苷酸。在反義寡核苷酸具有間隙體模體的情況下，間隙段通常充當核酸內切酶裂解之受質，而翼段包含經修飾之核苷。在某些實施例中，間隙體之區域係由包含各不同區域之糖部分類型分化。用以分化間隙體之區域的糖部分類型在一些實施例中可包括β-D-核糖核苷、β-D-去氧核糖核苷、2'-經修飾之核苷(此類2'-經修飾之核苷可包括2'-MOE及2'-O-CH_3以及其他)及雙環糖修飾之核苷(此類雙環糖修飾之核苷可包括具有約束乙基之彼等)。在某些實施例中，翼中之核苷可包括若干經修飾之糖部分，包括例如2'-MOE；及雙環糖部分，諸如約束乙基或LNA。在某些實施例中，翼可包括若干經修飾之糖部分及未修飾之糖部分。在某些實施例中，翼可包

括2'-MOE核苷、諸如約束乙基核苷或LNA核苷之雙環糖部分及2'-去氧核苷之多種組合。

【0460】 各不同區域可包含均一的糖部分、變化或交替的糖部分。翼-間隔-翼模體常描述為「X-Y-Z」，其中「X」表示5'翼之長度，「Y」表示間隙之長度且「Z」表示3'翼之長度。「X」及「Z」可包含均一、變化或交替的糖部分。在某些實施例中，「X」及「Y」可包括一或多個2'-。「Y」可包含2'-去氧核苷。如本文中所使用，描述為「X-Y-Z」之間隙體具有使得間隙緊鄰5'-翼及3'翼中之每一者而定位的組態。因此，5'-翼與間隙或間隙與3'-翼之間不存在插入核苷酸。本文所描述之反義化合物中之任一者可具有間隙體模體。在某些實施例中，「X」及「Z」係相同的；在其他實施例中，其係不同的。在某些實施例中，「Y」係在8與15個核苷之間。X、Y或Z可為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30或更多個核苷中之任一者。

目標核酸、目標區域及核苷酸序列

【0461】 在某些實施例中，編碼HBV之核苷酸序列包括但不限於以下：GENBANK登錄號U95551.1 (作為SEQ ID NO: 1併入本文中)。

【0462】 應理解，本文所含有之實例中各SEQ ID NO中所闡述之序列與對糖部分、核苷間鍵或核鹼基之任何修飾無關。因此，由SEQ ID NO定義之反義化合物可獨立地包含對糖部分、核苷間鍵或核鹼基之一或多個修飾。

【0463】 在某些實施例中，目標區域為目標核酸在結構上限定的區域。舉例而言，目標區域可涵蓋3' UTR、5' UTR、外顯子、內含子、外顯子/內含子連接點、編碼區、轉譯起始區、轉譯終止區或其他限定的核酸

區域。HBV在結構上限定的區域可藉由自諸如NCBI之序列資料庫的登錄號獲得且此資訊以引用之方式併入本文中。在某些實施例中，目標區域可涵蓋自目標區域內之一個目標區段之5'目標位點至同一目標區域內之另一目標區段之3'目標位點的序列。

【0464】 靶向包括與反義化合物雜交之至少一個目標區段的測定，使得產生所要作用。在某些實施例中，所要作用為mRNA目標核酸含量降低。在某些實施例中，所要作用為由目標核酸編碼之蛋白質之含量降低或與目標核酸相關之表型變化。

【0465】 目標區域可含有一或多個目標區段。目標區域內之多個目標區段可重疊。替代地，其可不重疊。在某些實施例中，目標區域內之各目標區段由不超過約300個核苷酸分隔開。在某些實施例中，目標區域內之各目標區段由多個核苷酸(目標核酸上之約、不超過、不超過約250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20或10個核苷酸或由前述值中之任兩者界定之範圍)分隔開。在某些實施例中，目標區域內之各目標區段由目標核酸上之不超過或不超過約5個核苷酸分隔開。在某些實施例中，目標區段為連續的。涵蓋由本文所列出的起始核酸為5'目標位點或3'目標位點中之任一者的範圍界定之目標區域。

【0466】 適合之目標區段可發現在5' UTR、編碼區、3' UTR、內含子、外顯子或外顯子/內含子連接點內。含有起始密碼子或終止密碼子之目標區段亦為適合之目標區段。適合之目標區段可特定地排除某一結構上限定的區域，諸如起始密碼子或終止密碼子。

【0467】 確定適合之目標區段可包括比較目標核酸之序列與整個基因體中之其他序列。舉例而言，BLAST演算法可用於鑑別不同核酸之間

的相似區域。此比較可防止選擇可以非特異性方式與除所選目標核酸外之序列(亦即，非目標或脫靶序列)雜交的反義化合物序列。

【0468】 在活性目標區域內可存在反義化合物之活性變化(例如，如由目標核酸含量之降低百分比所定義)。在某些實施例中，HBV mRNA含量之降低指示HBV表現之抑制。HBV蛋白質之含量降低亦指示目標mRNA表現之抑制。此外，表型變化指示HBV表現之抑制。在某些實施例中，疲勞減少、流感樣症狀減少食慾增加、噁心減少、關節疼痛減少、黃疸減少、腹部疼痛減少、虛弱減輕、體重減輕降低、男性乳房增大降低、手掌皮疹減少、血液凝固困難降低、肝硬化減輕、皮膚上之蜘蛛狀血管減少、維生素A及D吸收增加、腫瘤生長減少、腫瘤體積減小、頭痛減輕、發熱減輕、腹瀉減輕、身體肝臟區域之疼痛減輕、陶土色或灰色大便減少、發癢減輕、深色尿液減少及噁心及嘔吐減輕可指示HBV表現之抑制，在某些實施例中，與HBV相關病狀、疾病及病症相關之症狀的改善可指示HBV表現之抑制。在某些實施例中，肝硬化減輕指示HBV表現之抑制。在某些實施例中，肝癌標記物之減少可指示HBV表現之抑制。

雜交

【0469】 在一些實施例中，在本文揭示之反義化合物與HBV核酸之間發生雜交。雜交之最常見機制涉及核酸分子之互補核鹼基之間的氫鍵結(例如，華特生-克里克(Watson-Crick)、胡斯坦(Hoogsteen)或逆向胡斯坦氫鍵結)。

【0470】 雜交可在不同條件下發生。嚴格條件為序列依賴性的且係藉由待雜交之核酸分子的性質及組成來確定。

【0471】 確定序列是否可與目標核酸特異性雜交之方法為此項技術

中熟知的。在某些實施例中，本文提供之反義化合物可與HBV核酸特異性雜交。

互補

【0472】 當反義化合物之足夠數目個核鹼基可與目標核酸之對應核鹼基氫鍵結，使得將產生所要作用(例如，諸如HBV核酸之目標核酸之反義抑制)時，反義化合物與目標核酸彼此互補。

【0473】 可容許反義化合物與HBV核酸之間的非互補核鹼基，其限制條件為反義化合物仍能夠與目標核酸特異性地雜交。此外，反義化合物可在HBV核酸之一或多個區段上雜交，使得插入或相鄰區段不涉及雜交事件(例如，環結構、錯配或髮夾結構)。

【0474】 在某些實施例中，本文提供之反義化合物或其特定部分與HBV核酸、目標區域、目標區段或其特定部分為或至少為70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%互補。反義化合物與目標核酸之互補百分比可使用常規方法來測定。

【0475】 舉例而言，其中反義化合物之18/20核鹼基與目標區域互補且將因此特異性雜交之反義化合物將呈現90%互補性。在此實例中，其餘非互補核鹼基可經叢集或穿插有互補核鹼基，且無需彼此鄰接或與互補核鹼基鄰接。因此，長度為18個核鹼基、具有四個非互補核鹼基、側接有與目標核酸完全互補之兩個區域的反義化合物將與目標核酸具有77.8%整體互補性且因此將屬於本發明之範疇內。通常可使用此項技術中已知之BLAST程式(基礎局部比對搜尋工具)或PowerBLAST程式來測定反義化合物與目標核酸之一區域的互補百分比(Altschul等人，*J. Mol. Biol.*, 1990,

215, 403-410；Zhang及Madden，Genome Res., 1997, 7, 649-656)。可藉由例如間隙程式(Wisconsin Sequence Analysis Package, 第8版，Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.)使用默認設置(其使用Smith及Waterman之演算法) (Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482 489)測定同源性百分比、序列一致性百分比或互補性百分比。

【0476】 在某些實施例中，本文提供之反義化合物或其特定部分與目標核酸或其特定部分完全互補(亦即100%互補)。舉例而言，反義化合物可與HBV核酸或其目標區域或目標區段或目標序列完全互補。如本文中所使用，「完全互補」意謂反義化合物之各核鹼基能夠與目標核酸之對應核鹼基進行精確鹼基配對。舉例而言，20個核鹼基之反義化合物與400個核鹼基長之目標序列完全互補，只要該目標核酸中存在與該反義化合物完全互補之對應20個核鹼基部分。完全互補亦可用於指代第一及/或第二核酸之特定部分。舉例而言，30個核鹼基反義化合物之20個核鹼基部分可與長度為400個核鹼基之目標序列「完全互補」。若目標序列具有對應的20個核鹼基部分，其中各核鹼基與反義化合物之20個核鹼基部分互補，則30個核鹼基寡核苷酸之20個核鹼基部分與目標序列完全互補。同時，視反義化合物之其餘10個核鹼基是否亦與目標序列互補而定，整個30個核鹼基反義化合物可與或可不與目標序列完全互補。

【0477】 非互補核鹼基之位置可在反義化合物之5'端或3'端處。替代地，一或多個非互補核鹼基可在反義化合物之內部位置處。當存在兩個或更多個非互補核鹼基時，其可為鄰接(亦即連接)或非鄰接的。在一個實施例中，非互補核鹼基位於間隙體反義寡核苷酸之翼段中。

【0478】 在某些實施例中，長度為或至多為11、12、13、14、15、

16、17、18、19或20個核鹼基之反義化合物相對於目標核酸(諸如HBV核酸)或其特定部分包含不超過4個、不超過3個、不超過2個或不超過1個非互補核鹼基。在某些實施例中，長度為或至多為11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30個核鹼基之反義化合物相對於目標核酸(諸如HBV核酸)或其特定部分包含不超過6個不超過5個、不超過4個、不超過3個、不超過2個或不超過1個非互補核鹼基。

【0479】 所提供之反義化合物亦包括與目標核酸之一部分互補的彼等反義化合物。如本文中所使用，「部分」係指目標核酸之區域或區段內之限定數目個鄰接(亦即連接)核鹼基。「部分」亦可指反義化合物之限定數目個鄰接核鹼基。在某些實施例中，反義化合物與目標區段之至少8個核鹼基部分互補。在某些實施例中，反義化合物與目標區段之至少9個核鹼基部分互補。在某些實施例中，反義化合物與目標區段之至少10個核鹼基部分互補。在某些實施例中，反義化合物與目標區段之至少11個核鹼基部分互補。在某些實施例中，反義化合物與目標區段之至少12個核鹼基部分互補。在某些實施例中，反義化合物與目標區段之至少13個核鹼基部分互補。在某些實施例中，反義化合物與目標區段之至少14個核鹼基部分互補。在某些實施例中，反義化合物與目標區段之至少15個核鹼基部分互補。亦涵蓋與目標區段之至少9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多個核鹼基部分或由此等值中之任兩者限定之範圍互補的反義化合物。

一致性

【0480】 本文提供之反義化合物亦可與特定核苷酸序列、SEQ ID

NO或化合物或其部分具有限定的一致性百分比。如本文中所使用，若反義化合物具有相同的核鹼基配對能力，則其與本文中所揭示之序列一致。舉例而言，由於尿嘧啶及胸苷兩者均與腺嘌呤配對，故所揭示之DNA序列中含有代替胸苷之尿嘧啶的RNA應視為與該DNA序列一致。亦涵蓋本文所描述之反義化合物之縮短及延長型式以及相對於本文所提供之反義化合物具有不一致鹼基之化合物。不一致鹼基可彼此相鄰或分散於整個反義化合物中。根據相對於與其進行比較之序列具有一致鹼基配對的鹼基數目來計算反義化合物之一致性百分比。

【0481】 如本文中所使用，「互補」聚核苷酸為根據標準華特生-克里克互補規則能夠進行鹼基配對之彼等聚核苷酸。特定言之，嘌呤將與嘧啶鹼基配對以形成在DNA的情況下鳥嘌呤與胞嘧啶配對(G:C)及腺嘌呤與胸腺嘧啶配對(A:T)，或在RNA的情況下腺嘌呤與尿嘧啶配對(A:U)的組合。舉例而言，序列「A-G-T」結合至互補序列「T-C-A」。應理解，兩個聚核苷酸可彼此雜交，即使其彼此不完全互補，其限制條件為每一者具有至少一個實質上與另一者互補的區域。

【0482】 如本文中所使用，術語「實質上互補」或「部分互補」意謂兩個核酸序列至少在其核苷酸之約50%、60%、70%、80%或90%上互補。

【0483】 在一些實施例中，兩個核酸序列可至少在其核苷酸之85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更多上互補。在一些實施例中，兩個核酸序列可在60%至100%互補之間、在70%至100%互補之間、在80%與100%互補之間、在90%與100%互補之間、在60%至90%互補之間、在60%至80%互補之間、在60%與70%互補之間、在70%與90%

互補之間、在70%與80%互補之間、在80%與100%互補之間或在80%與90%互補之間。

【0484】 術語「實質上互補」及「部分互補」亦可意謂兩個核酸序列可在高度嚴格條件下雜交，且此類條件為此項技術中熟知的。

【0485】 如本文中所使用，術語「一致性」意謂序列如下進行彼此比較。為測定兩個核酸序列之一致性百分比，可首先將序列相對於彼此進行對準，隨後使此等序列之比較成為可能。對於此情況，例如可將間隙插入至第一核酸序列之序列中且可將核苷酸與第二核酸序列之對應位置進行比較。若第一核酸序列中之位置由第二序列中之位置處的相同核苷酸佔據，則兩個序列在此位置處為一致的。兩個序列之間的一致性百分比為一致位置之數目除以所探究序列中比較之所有位置之數目的函數。

【0486】 針對測試順序與參考序列之比對區段的「一致性百分比」為兩個比對序列共用之一致組分除以參考序列區段中之總組分數目(亦即，整個參考序列或參考序列之較小限定部分)的百分比。

【0487】 兩個序列之一致性百分比可藉助於數學算法測定。可用於比較兩個序列之數學算法之較佳但非限制性實例為Karlin等人 (1993), PNAS USA, 90:5873-5877之算法。此算法整合於NBLAST程式中，藉由該程式可鑑別於本發明之序列具有所需一致性的序列。為獲得間隙比對，如本文所描述，可使用「間隙式BLAST」程式，如Altschul等人(1997), Nucleic Acids Res, 25:3389-3402中所描述。若使用BLAST及間隙式BLAST程式，則可使用特定程式(例如，NBLAST)之預設參數。可使用「遺傳計算小組(Genetic Computing Group)」之GAP (全域比對程式(global alignment program))版本9使用具有−12之間隙開放罰分(針對間隙

之第一個零)及-4之空位延伸罰分(針對間隙中之各額外連續的零)的預設(BLOSUM62)矩陣(值-4至+11)進一步比對該等序列。在比對之後，藉由以所主張序列中核酸之百分比含量形式表示一致數目來計算一致性百分比。亦可在必要時對編碼之胺基酸序列相應地使用經描述以測定兩個核酸序列之一致性百分比的方法。

【0488】 適用於測定序列一致性之方法亦揭示於巨型計算機指南(Guide to Huge Computers) (Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego (1994))以及Carillo, H.及Lipton, D. (Applied Math48:1073(1988))中。更特定言之，用於確定序列一致性之較佳電腦程式包括但不限於可自National Center Biotechnology Information (NCBI) at the National Library of Medicine, National Institute of Health, Bethesda, Md. 20894公開獲得的鹼基局部比對檢索工具(Basic Local Alignment Search Tool；BLAST)程式；參見BLAST手冊，Altschul等人, NCBI, NLM, NIH；(Altschul等人, J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990))；BLAST程式之版本2.0或更高版本允許將間隙(缺失及插入)引入比對中；對於，BLASTX可用於測定序列一致性；且對於聚核苷酸序列，BLASTN可用於測定序列一致性。一致性百分比可為70%一致性或更大，例如，至少70%一致性、至少75%一致性、至少80%一致性、至少85%一致性、至少90%一致性、至少95%一致性、至少98%一致性、至少99%一致性或100%一致性。

修飾

【0489】 核苷為鹼基-糖組合。核苷之核鹼基(亦稱為鹼基)部分通常為雜環鹼基部分。核苷酸為進一步包括共價連接至核苷之糖部分之磷酸酯基的核苷。對於包括呋喃戊醣基糖之彼等核苷，磷酸酯基可連接至糖之

2'、3'或5'羥基部分。經由相鄰核苷彼此之共價鍵聯以形成線性聚合寡核苷酸而形成寡核苷酸。在寡核苷酸結構內，磷酸酯基通常稱為形成寡核苷酸之核苷間鍵。

【0490】 對反義化合物之修飾涵蓋對核苷間鍵、糖部分或核鹼基之取代或變化。經修飾之反義化合物由於合乎需要的特性(諸如細胞吸收增強、針對核酸目標之親和力增強、在存在核酸酶之情況下穩定性增加，或抑制活性增加)而通常優於天然形式。

【0491】 化學修飾之核苷亦可用於增加縮短或截短反義寡核苷酸針對其目標核酸之結合親和力。因此，可通常獲得於具有此類化學修飾核苷之較短反義化合物相當的結果。

經修飾之核苷間鍵

【0492】 RNA及DNA之天然存在之核苷間鍵為3'至5'磷酸二酯鍵。具有一或多個經修飾(亦即非天然存在之)核苷間鍵的反義化合物由於合乎需要的特性(諸如細胞吸收增強、針對目標核酸之親和力增強及在存在核酸酶之情況下的穩定性增加)而通常優於具有天然存在之核苷間鍵的反義化合物被選擇。

【0493】 具有經修飾之核苷間鍵的寡核苷酸包括保留磷原子之核苷間鍵及不具有磷原子之核苷間鍵。代表性含磷之核苷間鍵包括但不限於磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、胺基磷酸酯及硫代磷酸酯)。含磷及不含磷之鍵的製備方法為熟知的。

【0494】 在某些實施例中，靶向HBV核酸之反義化合物包含一或多個經修飾之核苷間鍵。在某些實施例中，經修飾之核苷間鍵為硫代磷酸酯鍵。在某些實施例中，反義化合物之各核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

經修飾之糖部分

【0495】 本文提供之反義化合物可視情況含有一或多個其中糖基已經修飾之核苷。此類糖修飾之核苷可賦予反義化合物增強的核酸酶穩定性、增加的結合親和力或某些其他有益生物特性。在某些實施例中，核苷包含化學修飾之核呋喃醣環部分。化學修飾之核呋喃醣環之實例包括但不限於添加取代基(包括5'及2'取代基)；橋接非成對環原子以形成雙環核酸(BNA)；用S、N(R)或C(R^1)(R^2)(R=H、C_1-C_{12}烷基或保護基)置換核糖基環氧原子；及其組合。化學修飾之糖之實例包括2'-F-5'-甲基取代之核苷(針對其他揭示之5',2'-雙取代之核苷，參見公開於8/21/08之PCT國際申請案WO 2008/101157)、用S置換核糖基環氧原子及2'-位置處之其他取代(參見，公開於2005年6月16日之公開美國專利申請案US2005/0130923)或替代地BNA之5'-取代(參見，公開於11/22/07之PCT國際申請案WO 2007/134181，其中LNA經例如5'-甲基或5'-乙烯基取代)。

【0496】 具有經修飾糖部分之核苷之實例包括但不限於包含5'-乙烯基、5'-甲基(R或S)、4'-S、2'-F、2'-OCH_3及2'-$O(CH_2)_2OCH_3$取代基之核苷。在2'位置處之取代基亦可選自：烯丙基、胺基、疊氮基、硫基、O-烯丙基、O-C_1-C_{10}烷基、OCF_3、$O(CH_2)_2SCH_3$、$O(CH_2)_2$-O-N(R^m)(R^n)及O-CH_2-C(=O)-N(R^m)(R^n)，其中各R^m及R^n獨立地為H或經取代或未經取代之C_1-C_{10}烷基。

【0497】 如本文中所使用，「雙環核苷」係指包含雙環糖部分的經修飾之核苷。雙環核苷之實例包括但不限於包含4'核糖基環原子與2'核糖基環原子之間的橋的核苷。在某些實施例中，本文提供之反義化合物包括一或多個雙環核苷，其中橋包含4'至2'雙環核苷。此類4'至2'雙環核苷之實

例包括但不限於下式中之一者：4'-(CH_2)-O-2' (LNA)；4'-(CH_2)-S-2；4'-(CH_2)$_2$-O-2' (ENA)；4'-CH(CH_3)-O-2' (cEt)及4'-CH(CH_2OCH_3)-O-2'及其類似物(參見2008年7月15日頒佈之美國專利7,399,845)；4'-C(CH_3)(CH_3)-O-2'及其類似物(參見2009年1月8日公開之公開PCT國際申請案WO2009/006478)；4'-CH_2-N(OCH_3)-2'及其類似物(參見2008年12月11日公開之公開PCT國際申請案WO2008/150729)；4'-CH_2-O-N(CH_3)-2'(參見2004年9月2日公開之公開美國專利申請案US2004/0171570)；4'-CH_2-N(R)-O-2'，其中R 為H、C_1-C_{12}烷基或保護基(參見2008年9月23日頒佈之美國專利7,427,672)；4'-CH_2-C(H)(CH_3)-2' (參見Chattopadhyaya等人, *J. Org.* Chem.,2009, *74,* 118-134)；及4'-CH_2-C(=CH_2)-2'及其類似物(參見2008年12月8日公開之公開PCT國際申請案WO 2008/154401)。另外參見例如：Singh等人, *Chem. Commun.,* 1998, *4,* 455-456；Koshkin等人, *Tetrahedron,* 1998, *54,* 3607-3630；Wahlestedt等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.,* 2000, *97,* 5633-5638；Kumar等人, *Bioorg. Med. Chem. Lett.,* 1998, 8, 2219-2222；Singh等人, *J. Org. Chem.,* 1998, *63,* 10035-10039；Srivastava等人, *J. Am. Chem. Soc., 129(26)* 8362-8379 (Jul. 4, 2007)；Elayadi等人, *Curr. Opinion Invens. Drugs,* 2001, *2,* 558-561；Braasch等人, *Chem. Biol.,* 2001, *8,* 1-7；Orum等人, *Curr. Opinion Mol. Ther.,* 2001, 3, 239-243；美國專利第U.S. 6,670,461號、第7,053,207號、第6,268,490號、第6,770,748號、第6,794,499號、第7,034,133號、第6,525,191號、第7,399,845號；公開之PCT國際申請案WO 2004/106356、WO 94/14226、WO 2005/021570及WO 2007/134181；美國專利公開案第US2004/0171570號、第

US2007/0287831號及第US2008/0039618號；及美國專利序列第12/129,154號、第60/989,574號、第61/026,995號、第61/026,998號、第61/056,564號、第61/086,231號、第61/097,787號及第61/099,844號；及PCT國際申請案第PCT/US2008/064591號、第PCT/US2008/066154號及PCT/US2008/068922。前述雙環核苷中之每一者可製備具有一或多個立體化學糖組態，包括例如α-L-核呋喃醣及β-D-核呋喃醣(參見PCT國際申請案PCT/DK98/00393，於1999年3月25日公開為WO 99/14226)。

【0498】 在某些實施例中，BNA核苷之雙環糖部分包括但不限於在呋喃戊醣基糖部分之4'及2'位置之間具有至少一個橋的化合物，其中此類橋獨立地包含1或2至4個獨立地選自以下之連接基團：$-[C(R^a)(R^b)]_n-$、$-C(R^a)=C(R^b)-$、$-C(R^a)=N-$、$-C(=NR^a)-$、$-C(=O)-$、$-C(=S)-$、$-O-$、$-Si(R^a)_2-$、$-S(=O)_x-$及$-N(R^a)-$；

其中：

x為0、1或2；

n為1、2、3或4；

各R^a及R^b獨立地為H、保護基、羥基、C_1-C_{12}烷基、經取代之C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、經取代之C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、經取代之C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}芳基、經取代之C_5-C_{20}芳基、雜環基、經取代之雜環基、雜芳基、經取代之雜芳基、C_5-C_7脂環基、經取代之C_5-C_7脂環基、鹵素、OJ^1、NJ^1J^2、SJ^1、N_3、$COOJ^1$、醯基(C(=O)-H)、經取代之醯基、CN、磺醯基($S(=O)_2$-J^1)或磺基(S(=O)-J^1)；且

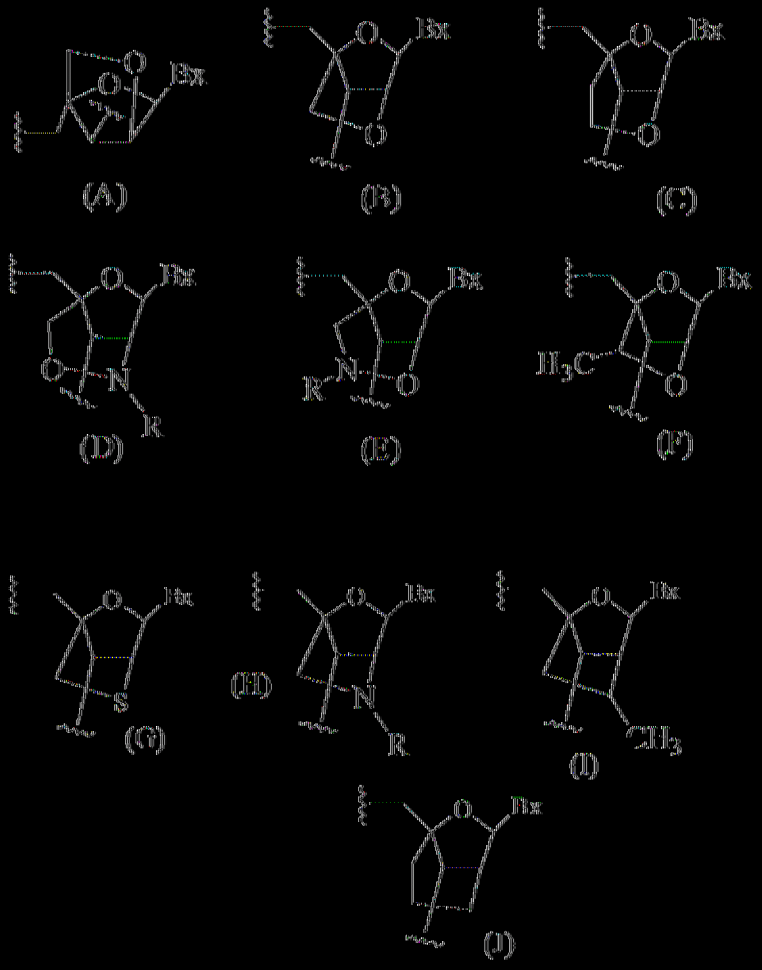
且各J_1及J_2獨立地為H、C_1-C_{12}烷基、經取代之C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、經取代之C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、經取代之C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}

芳基、經取代之C_5-C_{20}芳基、醯基(C(=O)-H)、經取代之醯基、雜環基、經取代之雜環基、C_1-C_{12}胺基烷基、經取代之C_1-C_{12}胺基烷基或保護基。

【0499】在某些實施例中，雙環糖部分之橋為-[C(R^a)(R^b)]$_n$-、-[C(R^a)(R^b)]$_n$-O-、-C(R^a)(R^b)-N(R)-O-或-C(R^a)(R^b)-O-N(R)-。在某些實施例中，橋為4'-CH_2-2'、4'-(CH_2)$_2$-2'、4'-(CH_2)$_3$-2'、4'-CH_2-O-2'、4'-(CH_2)$_2$-O-2'、4'-CH_2-O-N(R)-2'及4'-CH_2-N(R)-O-2'-，其中各R獨立地為H、保護基或C_1-C_{12}烷基。

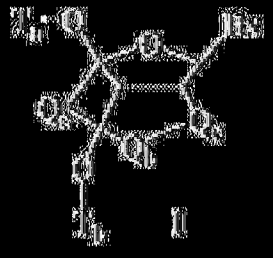
【0500】在某些實施例中，雙環核苷由異構組態進一步定義。舉例而言，包含4'-2'亞甲基-氧基橋之核苷可呈α-L組態或呈β-D組態。先前，α-L-亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') BNA已併入至展示反義活性之反義寡核苷酸中(Frieden等人, *Nucleic Acids Research,* 2003, *21,* 63 6563 72)。

【0501】在某些實施例中，雙環核苷包括但不限於(A) α-L-亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') BNA、(B) β-D-亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') BNA、(C)伸乙基氧基(4'-(CH_2)$_2$-O-2') BNA、(D)胺氧基(4'-CH_2-O-N(R)-2') BNA、(E)氧胺基(4'-CH_2 -N(R)-O-2') BNA、(F)甲基(亞甲基氧基) (4'-CH(CH_3)-O-2') BNA、(G)亞甲基-硫基(4'-CH_2-S-2') BNA、(H)亞甲基-胺基(4'-CH_2 -N(R)-2') BNA、(I)甲基碳環(4'-CH_2 -CH(CH_3)-2') BNA及(J)伸丙基碳環(4'-(CH_2)$_3$-2') BNA，如下文所描繪。



其中Bx為鹼基部分且R獨立地為H、保護基或C_1-C_{12}烷基。

[0502] 在某些實施例中，雙環核苷係根據式I：



其中：

Bx為雜環鹼基部分；

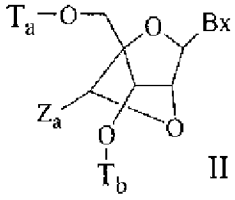
Q^a Q^b Q^c 為 CH_2-$N(R_c)$-CH_2、$C(=O)$-$N(R^c)$-CH_2、CH_2-O-$N(R^c)$、CH_2-$N(R^c)$-O或$N(R^c)$-O-CH_2；

R^c為C_1-C_{12}烷基或胺基保護基；且

T^a及T^b各自獨立地為H、羥基保護基、結合基團、反應性磷基團、磷

部分或與載劑介質之共價連接。

【0503】 在某些實施例中，雙環核苷具有式II：



II

其中

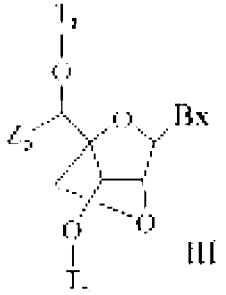
Bx為雜環鹼基部分；

T^a及T^b各自獨立地為H、羥基保護基、結合基團、反應性磷基團、磷部分或與載劑介質之共價連接；

Z_a為C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、經取代之C_1-C_6烷基、經取代之C_2-C_6烯基、經取代之C_2-C_6炔基、醯基、經取代之醯基、經取代之醯胺、硫醇或經取代之硫基。

【0504】 在一個實施例中，各經取代之基團獨立地經取代基單或多取代，該等取代基獨立地選自鹵素、側氧基、羥基、OJ^c、NJ^cJ^d、SJ^c、N_3、$OC(=X)J^c$及$NJ^eC(=X)NJ^cJ^d$，其中各J^c、J^d及J^e獨立地為H、C_1-C_6烷基或經取代之C_1-C_6烷基，且X為O或NJ^c。

【0505】 在某些實施例中，雙環核苷具有式III：



III

其中：

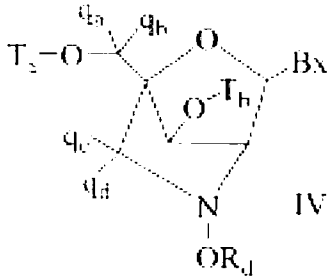
Bx為雜環鹼基部分；

T^a及T^b各自獨立地為H、羥基保護基、結合基團、反應性磷基團、磷

部分或與載劑介質之共價連接；

Z^b為C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、經取代之C_1-C_6烷基、經取代之C_2-C_6烯基、經取代之C_2-C_6炔基或經取代之醯基(C(=O)-)。

【0506】 在某些實施例中，雙環核苷具有式IV：



IV

其中：

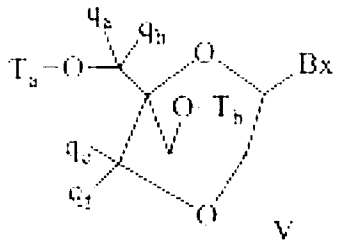
Bx為雜環鹼基部分；

T^a及T^b各自獨立地為H、羥基保護基、結合基團、反應性磷基團、磷部分或與載劑介質之共價連接；

R^d為C_1-C_6烷基、經取代之C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、經取代之C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基或經取代之C_2-C_6炔基；

各q^a、q^b、q^c及q^d獨立地為H、鹵素、C_1-C_6烷基、經取代之C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、經取代之C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、經取代之C_2-C_6炔基、C_1-C_6烷氧基、經取代之C_1-C_6烷氧基、醯基、經取代之醯基、C_1-C_6胺基烷基或經取代之C_1-C_6胺基烷基。

【0507】 在某些實施例中，雙環核苷具有式V：



V

其中

Bx為雜環鹼基部分；

T^a及T^b各自獨立地為H、羥基保護基、結合基團、反應性磷基團、磷部分或與載劑介質之共價連接；

q^a、q^b、q^e及q^f各自獨立地為氫、鹵素、C_1-C_{12}烷基、經取代之C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、經取代之C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、經取代之C_2-C_{12}炔基、C_1-C_{12}烷氧基、經取代之C_1-C_{12}烷氧基、OJ^j、SJ^j、SOJ^j、SO_2J^j、NJ^jJ^k、N_3、CN、$C(=O)OJ^j$、$C(=O)NJ^jJ^k$、$C(=O)J^j$、O-$C(=O)NJ^jJ^k$、$N(H)C(=NH)NJ^jJ^k$、$N(H)C(=O)NJ^jJ^k$或$N(H)C(=S)NJ^jJ^k$；

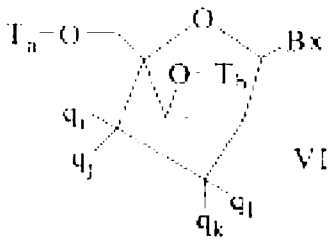
或q^e及q^f一起為$=C(q^g)(q^h)$；

q^g及q^h各自獨立地為H、鹵素、C_1-C_{12}烷基或經取代之C_1-C_{12}烷基。

【0508】已描述亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') BNA單體腺嘌呤、胞嘧啶、鳥嘌呤、5-甲基-胞嘧啶、胸腺嘧啶及尿嘧啶之合成及製備以及其寡聚及核酸識別特性(參見例如Koshkin等人, Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630)。BNA及其製備亦描述於WO 98/39352及WO 99/14226中。

【0509】亦製備亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') BNA、亞甲基氧基(4'-CH_2-O-2') BNA及2'-硫基-BNA之類似物(參見例如Kumar等人, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222)。亦已描述包含寡脫氧核苷酸雙螺旋體作為核酸聚合酶之受質的鎖核苷類似物的製備(參見例如Wengel等人, WO 99/14226)。此外，此項技術中已描述一種新穎構形受限的高親和力寡核苷酸類似物2'-胺基-BNA之合成(參見例如Singh等人, J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039)。另外，已製備出2'-胺基-BNA及2'-甲胺基-BNA，且先前已報導其與互補RNA及DNA股之雙螺旋體的熱穩定性。

【0510】在某些實施例中，雙環核苷具有式VI：



其中：

Bx為雜環鹼基部分；

T^a及T^b各自獨立地為H、羥基保護基、結合基團、反應性磷基團、磷部分或與載劑介質之共價連接；

各q^i、q^j、q^k及q^l獨立地為H、鹵素、C_1-C_{12}烷基、經取代之C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、經取代之C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、經取代之C_2-C_{12}炔基、C_1-C_{12}烷氧基、經取代之C_1-C_{12}烷氧基、OJ^j、SJ^j、SOJ^j、SO_2J^j、NJ^jJ^k、N_3、CN、$C(=O)OJ^j$、$C(=O)NJ^jJ^k$、$C(=O)J^j$、$O\text{-}C(=O)NJ^jJ^k$、$N(H)C(=NH)NJ^jJ^k$、$N(H)C(=O)NJ^jJ^k$或$N(H)C(=S)NJ^jJ^k$；且

q^i及q^j或q^l及q^k一起為$=C(q^g)(q^h)$，其中q^g及q^h各自獨立地為H、鹵素、C_1-C_{12}烷基或經取代之C_1-C_{12}烷基。

【0511】已描述一種具有4'-$(CH_2)_3$-2'橋及烯基類似橋4'-CH=CH-CH_2-2'之碳環雙環核苷(參見例如Frier等人, *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 44294443及Albaek等人, *J. Org. Chem.*, 2006, 71, 7731-7740)。亦已描述碳環雙環核苷之合成及製備以及其寡聚及生物化學研究(參見例如Srivastava等人, *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129(26), 8362-8379)。

【0512】如本文中所使用，「雙環核苷」係指包含連接糖環之兩個碳原子的橋，藉此形成雙環糖部分的核苷。在某些實施例中，橋連接糖環之2'碳及另一碳。

【0513】如本文中所使用，「4'-2'雙環核苷」或「4'至2'雙環核

苷」係指雙環核苷，其包含包括連接2'碳原子及4'碳原子之橋的呋喃醣環。

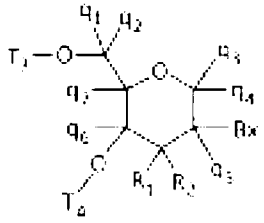
【0514】 如本文中所使用，「單環核苷」係指包含不為雙環糖部分之經修飾糖部分的核苷。在某些實施例中，核苷之糖部分或糖部分類似物可在任何位置經修飾或經取代。

【0515】 如本文中所使用，「2'-經修飾之糖」意謂在2'位置經修飾之呋喃醣基糖。在某些實施例中，此類修飾包括選自以下之取代基：鹵化物，包括(但不限於)經取代及未經取代之烷氧基、經取代及未經取代之硫烷基、經取代及未經取代之胺基烷基、經取代及未經取代之烷基、經取代及未經取代之烯丙基以及經取代及未經取代之炔基。在某些實施例中，2'修飾係選自包括但不限於以下之取代基：$O[(CH_2)_nO]_mCH_3$、$O(CH_2)_nNH_2$、$O(CH_2)_nCH_3$、$O(CH_2)_nONH_2$、$OCH_2C(=O)N(H)CH_3$及$O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3]_2$，其中n及m為1至約10。其他2'-取代基亦可選自：C_1-C_{12}烷基；經取代之烷基；烯基；炔基；烷芳基；芳烷基；O-烷芳基或O-芳烷基；SH；SCH_3；OCN；Cl；Br；CN；CF_3；OCF_3；$SOCH_3$；SO_2CH_3；ONO_2；NO_2；N_3；NH_2；雜環烷基；雜環烷芳基；胺基烷胺基；聚烷基胺基；經取代之矽烷基；RNA分裂基團；報導基團；嵌入劑；用於改良藥物動力學特性之基團；及用於改良反義化合物之藥力學特性的基團，及具有類似特性之其他取代基。在某些實施例中，經修飾之核苷包含2'-MOE側鏈(Baker等人, *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 11944-12000)。此類2'-MOE取代已描述為相比於未經修飾之核苷及其他經修飾之核苷(諸如2'-O-甲基、O-丙基及O-胺基丙基)具有改良的結合親和力。具有2'-MOE取代基之寡核苷酸亦已展示為具有用於活體內用途之有前景

特徵的基因表現反義抑制劑(參見例如Martin, Helv. *Chim. Acta*, 1995, 78, 486-504；Altmann等人, *Chimia*, 1996, 50, 168-176；Altmann等人, *Biochem. Soc. Trans.*, 1996, 24, 630-637；及Altmann等人, *Nucleosides Nucleotides*, 1997, 16, 917-926)。

【0516】 如本文中所使用，「經修飾之四氫哌喃核苷」或「經修飾之THP核苷」意謂具有取代正常核苷中之呋喃戊醣基殘基的六員四氫哌喃「糖」(糖替代物)的核苷。經修飾之THP核苷包括但不限於在此項技術中稱作己糖醇核酸(HNA)、anitol核酸(ANA)、甘露糖醇核酸(MNA) (參見Leumann, CJ. *Bioorg. Med. & Chem.*, 2002, 10, 841-854)、氟HNA (F-HNA)或具有式X之彼等化合物的核苷：

其中對於該至少一個具有式X之四氫哌喃核苷模擬物中之各者獨立地：



X

Bx為雜環鹼基部分；

T^3及T^4各自獨立地為連接四氫哌喃核苷類似物於反義化合物之核苷間連接基團，或T^3及T^4中之一者為連接四氫哌喃核苷類似物與反義化合物之核苷間連接基團且T^3及T^4中之另一者為H、羥基保護基、連接之結合基團，或5'或3'端基團；

q^1、q^2、q^3、q^4、q^5、q^6及q^7各自獨立地為H、C_1-C_6烷基、經取代之C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、經取代之C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基或經取代之C_2-C_6炔基；且

R^1及R^2中之一者為氫且另一者係選自鹵素、經取代或未經取代之烷氧基、NJ^1J^2、SJ^1、N_3、$OC(=X)J^1$、$OC(=X)NJ^1J^2$、$NJ^3C(=X)NJ^1J^2$及CN，其中X為O、S或NJ^1，且各J^1、J^2及J^3獨立地為H或C_1-C_6烷基。

【0517】在某些實施例中，提供式X之經修飾之THP核苷，其中q^m、q^n、q^p、q^r、q^s、q^t及q^u各自為H。在某些實施例中，q^m、q^n、q^p、q^r、q^s、q^t及q^u中之至少一者不為H。在某些實施例中，q^m、q^n、q^p、q^r、q^s、q^t及q^u中之至少一者為甲基。在某些實施例中，提供式X之THP核苷，其中R^1及R^2中之一者為F。在某些實施例中，R^1為氟基且R^2為H，R^1為甲氧基且R^2為H，且R^1為甲氧基乙氧基且R^2為H。

【0518】如本文中所使用，「2'-經修飾之核苷」或「2'-經取代之核苷」係指包含糖之核苷，該糖包含呋喃醣環之2'位置處除H或OH外的取代基。2'-經修飾之核苷包括但不限於雙環核苷，其中連接糖環之兩個碳原子的橋連接糖環之2'碳及另一碳；及具有非橋接2'-取代基之核苷，諸如烯丙基、胺基、疊氮基、硫基、O-烯丙基、O-C_1-C_{10}烷基、-OCF_3、O-$(CH_2)_2$-OCH_3、2'-$O(CH_2)_2SCH_3$、O-$(CH_2)_2$-O-$N(R^m)(R^n)$或O-CH_2-$C(=O)$-$N(R^m)(R^n)$，其中各R^m及R^n獨立地為H或經取代或未經取代之C_1-C_{10}烷基。2'-經修飾之核苷可進一步包含例如在糖之其他位置處及/或在核鹼基處的其他修飾。

【0519】如本文中所使用，「2'-F」係指在2'位置處包含氟基之糖。

【0520】如本文中所使用，「2'-OMe」或「2'-OCH_3」或「2'-O-甲基」各自係指包含糖之核苷，該糖在糖環之2'位置處包含-OCH_3基團。

【0521】如本文中所使用，「寡核苷酸」係指包含複數個連接之核

苷之化合物。在某些實施例中，複數個核苷中之一或多者經修飾。在某些實施例中，寡核苷酸包含一或多個核糖核苷(RNA)及/或去氧核糖核苷(DNA)。

【0522】 許多其他二環及三環糖替代物環系統在此項技術中亦為已知的，其可用於修飾併入至反義化合物中之核苷(參見例如綜述文章：Leumann, J. C, *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 2002, *10,* 841-854)。此類環系統可經歷各種其他取代以增強其性。

【0523】 用於製備經修飾之糖的方法為熟習此項技術者所熟知。

【0524】 在具有經修飾之糖部分的核苷酸中，核鹼基部分(天然的、經修飾的或其組合)維持於適當之核酸目標雜交。

【0525】 在某些實施例中，反義化合物包含一或多個具有經修飾之糖部分的核苷酸。在某些實施例中，經修飾之糖部分為2'-MOE。在某些實施例中，2'-MOE修飾之核苷酸配置在間隙體模體中。在某些實施例中，經修飾之糖部分為cEt。在某些實施例中，cEt修飾之核苷酸配置在間隙體模體之翼中。

用於調配醫藥組合物之組合物及方法

【0526】 反義寡核苷酸可與醫藥學上可接受之活性或惰性物質摻合以用於製備醫藥組合物或調配物。用於調配醫藥組合物之組合物及方法視多種準則而定，該等準則包括但不限於投與途徑、疾病程度或待投與之劑量。

【0527】 可藉由將靶向HBV核酸之反義化合物與適合的醫藥學上可接受之稀釋劑或載劑組合而將該反義化合物用於醫藥組合物中。醫藥學上可接受之稀釋劑包括磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。PBS為適用於待非經腸遞送

之組合物的稀釋劑。因此，在一個實施例中，本文所描述之方法中採用包含靶向HBV核酸之反義化合物及醫藥學上可接受之稀釋劑的醫藥組合物。在某些實施例中，醫藥學上可接受之稀釋劑為PBS。在某些實施例中，反義化合物為反義寡核苷酸。

【0528】 包含反義化合物之醫藥組合物涵蓋任何醫藥學上可接受之鹽、酯或此類酯之鹽，或任何其他寡核苷酸在投與動物(包括人類)後能夠(直接地或間接地)提供生物活性代謝物或其殘餘物。因此，例如，本發明亦係關於反義化合物之醫藥學上可接受之鹽、前藥、此類前藥之醫藥學上可接受之鹽及其他生物等效物。適合的醫藥學上可接受之鹽包括但不限於鈉鹽及鉀鹽。

【0529】 前藥可包括將額外核苷併入反義化合物之一端或兩端處，該等核苷在體內藉由內源性核酸酶裂解，以形成活性反義化合物。

【0530】 本發明提供醫藥組合物，其包含本發明之經修飾寡核苷酸及醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含SEQ ID NO:11至666中任一者之序列。在一些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含SEQ ID NO:11至666中任一者之序列及1、2、3、4或5個對其之修飾，如本文所描述。

【0531】 經修飾之寡核苷酸可與醫藥學上可接受之活性或惰性物質摻合以用於製備醫藥組合物或調配物。用於調配醫藥組合物之組合物及方法視多個準則而定，該等準則包括但不限於投與途徑、疾病程度或待投與之劑量。

【0532】 本發明之醫藥組合物可視情況包含治療劑、醫藥劑、載劑、佐劑、分散劑、稀釋劑及類似者。

【0533】 可藉由將靶向HBV核酸之反義化合物與適合的醫藥學上可接受之稀釋劑或載劑組合而將該反義化合物用於醫藥組合物中。醫藥學上可接受之稀釋劑包括磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。PBS為適用於待非經腸遞送之組合物的稀釋劑。因此，在一個實施例中，本文所描述之方法中採用包含靶向HBV核酸之反義化合物及醫藥學上可接受之稀釋劑的醫藥組合物。在某些實施例中，醫藥學上可接受之稀釋劑為PBS。在某些實施例中，反義化合物為反義寡核苷酸。

【0534】 包含經修飾之寡核苷酸的醫藥組合物可涵蓋任何醫藥學上可接受之鹽、酯或此類酯之鹽，或任何其他寡核苷酸在投與動物(包括人類)後能夠(直接地或間接地)提供生物活性代謝物或其殘餘物。因此，例如，本發明亦係關於反義化合物之醫藥學上可接受之鹽、前藥、此類前藥之醫藥學上可接受之鹽及其他生物等效物。適合的醫藥學上可接受之鹽包括但不限於鈉鹽及鉀鹽。

【0535】 調配為前藥的經修飾之寡核苷酸涵蓋在本發明之範疇內。前藥可包括將額外核苷併入反義化合物之一端或兩端處，該等核苷在體內藉由內源性核酸酶裂解，以形成活性反義化合物。

【0536】 醫藥組合物可含有上文所論述之試劑中任一者，及醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑中之一或多者。

【0537】 「醫藥組合物」為包含本文所描述的經修飾之寡核苷酸的調配物，呈適用於向個體投與之形。在某些實施例中，醫藥組合物呈散裝或單位劑型。單位劑型為多種形式中之任一者，包括例如膠囊、IV袋、錠劑、單次使用注射器、氣霧劑吸入劑或小瓶上之單泵。組合物之單位劑型中之活性成分(例如，經修飾之寡核苷酸之調配物)的數量為有效量且根據

所涉及之特定治療而變化。熟習此項技術者將瞭解，有時需要取決於患者之年齡及病狀對劑量進行常規改變。劑量將亦視投與途徑而定。涵蓋各種途徑，包括經口、經肺、經直腸、非經腸、經皮、經皮下、經靜脈內、經肌肉內、經腹膜內、經吸入、經頰、經舌下、經胸膜內、經鞘內、經鼻內及其類似途徑。局部或經皮投與本發明化合物之劑型包括散劑、噴霧劑、軟膏、糊劑、乳膏、洗劑、凝膠、溶液、貼片及吸入劑。在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸在無菌條件下與醫藥學上可接受之載劑及所需的任何防腐劑、緩衝劑或推進劑混合。

【0538】「醫藥學上可接受之賦形劑(Pharmaceutically acceptable excipient)」意謂可用於製備醫藥組合物之賦形劑，其一般安全、無毒及既非生物學上亦非其他方面不合需要的，且包括獸醫用途以及人類醫藥用途可接受之賦形劑。如本說明書中所使用之「醫藥學上可接受之賦形劑」包括一種及多於一種此類賦形劑。

【0539】醫藥組合物經調配可與其預期投與途徑相容。投與途徑之實例包括非經腸，例如靜脈內、皮內、皮下、經口(例如，吸入)、經皮(局部)、腹膜內(進入體腔)及經黏膜投與。用於非經腸、皮內、腹膜內或皮下施用之溶液或懸浮液可包括以下組分：無菌稀釋劑，諸如注射用水、鹽水溶液、不揮發性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶劑；抗菌劑，諸如苯甲醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，諸如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，諸如乙二胺四乙酸；緩衝劑，諸如乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽；及張力調節劑，諸如氯化鈉或右旋糖。pH可用酸或鹼，諸如鹽酸或氫氧化鈉加以調節。非經腸或皮下製劑可封裝於由玻璃或塑膠製成的安瓿、拋棄式注射器或多劑量小瓶中。此等製劑可含有使得調配物與預期接

受者之血液等張的抗氧化劑、緩衝劑、殺菌素及溶質。水性及非水性無菌懸浮液可包括懸浮劑及增稠劑。可使調配物存於單位劑量或多劑量容器(例如密封安瓿、注射器及小瓶)中，且可在經冷凍乾燥(凍乾)條件下儲存，僅需要在即將使用之前添加無菌液體載劑(例如生理鹽水或注射用水)。

【0540】 本文所描述之醫藥組合物可以通常已知之方式例如藉助於習知混合、溶解、粒化、製糖衣藥丸、水磨、乳化、囊封、覆埋或凍乾製程製造。醫藥組合物可以習知方式使用一或多種醫藥學上可接受之載劑，包含有助於將活性劑加工成可以在醫藥學上使用之製劑的賦形劑及/或助劑來調配。當然，適當的調配物視所選投與途徑而定。

【0541】 適於可注射使用之醫藥組合物包括無菌水溶液(在水溶性情況下)或分散液及用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液之無菌粉末。對於靜脈內投與，適合載劑包括生理鹽水、抑菌水、Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。在所有情況下，該組合物必須為無菌的且流動性應達到存在易注射性之程度。其在製造及儲存條件下必須穩定，且必須保護其免遭諸如細菌及真菌之微生物之污染作用。載劑亦可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液體聚乙二醇，及類似者)及其適合混合物之溶劑或分散介質。舉例而言，可藉由使用包衣(諸如卵磷脂)、藉由維持就分散液而言所需粒徑及藉由使用界面活性劑來維持適當之流動性。可藉由例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞及其類似物之各種抗微生物及抗真菌劑來實現阻止微生物作用。在許多情況下，組合物中將較佳包括等張劑，例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇及山梨糖醇)及氯化鈉。可注射組合物中之經延長吸收可

藉由在組合物中包括例如單硬脂酸鋁及明膠之吸收延遲劑來實現。

【0542】 經口組合物一般包括惰性稀釋劑或可食用的醫藥學上可接受之載劑。其可封裝於明膠膠囊中或壓縮成錠劑。出於經口治療性投與之目的，活性化合物可併有賦形劑且以錠劑、糖衣錠或膠囊形式使用。亦可使用適用作漱口水之流體載劑製備口服組合物，其中流體載劑中之藥劑經口施加且漱口並且吐出或吞咽。可包括醫藥學上相容的黏合劑及/或佐劑材料作為組合物之一部分。錠劑、丸劑、膠囊、糖衣錠及其類似物可含有以下成分或具有類似性質之藥劑中之任一者：黏合劑，諸如微晶纖維素、黃蓍膠或明膠；賦形劑，諸如澱粉或乳糖；崩解劑，諸如褐藻酸、澱粉羥基乙酸鈉或玉米澱粉；潤滑劑，諸如硬脂酸鎂或斯特羅特斯(Sterotes)；滑動劑，諸如膠狀二氧化矽；甜味劑，諸如蔗糖或糖精；或調味劑，諸如胡椒薄荷、水楊酸甲酯或橙調味劑。

【0543】 對於藉由吸入進行之投藥，藥劑係以氣霧劑噴霧之形式由按壓容器或分配器遞送，該容器或分配器含有適合的推進劑(例如諸如二氧化碳之氣體)或噴灑器。

【0544】 醫藥組合物可用將防止經修飾之寡核苷酸自體內快速排除的醫藥學上可接受之載劑製備，諸如控制釋放型調配物，包括植入物及微囊封遞送系統。可使用可生物降解的生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。用於製備此類調配物之方法對於熟習此項技術者顯而易見，且材料可在商業上獲得。脂質體懸浮液(包括靶向具有針對病毒抗原之單株抗體的經感染細胞的脂質體)亦可用作醫藥學上可接受之載劑。此等物質可根據熟習此項技術者已知之方法製備，例如如美國專利第4,522,811號中所描述。

【0545】 為了易於投與及劑量均一性，按單位劑型來調配經口或非經腸組合物為尤其有利的。如本文中所使用之單位劑型係指適合作為用於待治療之個體之單位劑量的物理離散單位。各單位含有與所需醫藥載劑相關聯之經計算以產生所要治療作用的預定量之經修飾之寡核苷酸。本發明之單位劑型的規格藉由且直接視活性藥劑之獨特特徵及待實現之特定治療作用而規定。

【0546】 醫藥組合物可與投藥說明書一起包括於容器、包裝或分配器中。

【0547】 醫藥學上可接受之鹽的實例包括但不限於鹼性殘基(諸如胺)之無機酸鹽或有機酸鹽；酸性殘基(諸如羧酸)之鹼金屬鹽或有機鹽；以及其類似物。醫藥學上可接受之鹽包括母化合物與例如無毒無機酸或無毒有機酸形成之習知無毒鹽或四級銨鹽。

【0548】 用於調配及投與本發明之所揭示組合物的技術可見於Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 第19版, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995)中。

【0549】 除非另外指明，否則本文所使用之所有百分比及比率均以重量計。本發明之其他特徵及優點自不同實例顯而易見。所提供之實例說明適用於實踐本發明之不同組分及方法。該等實例不限制所主張之發明。基於本發明，熟習此項技術者可鑑別且採用適用於實踐本發明之其他組分及方法。本發明之經修飾寡核苷酸可共價連接至一或多個增強所得反義寡核苷酸之活性、細胞分佈或細胞吸收的部分或結合物。典型的結合基團包括膽固醇部分及脂質部分。額外的結合基團包括碳水化合物、磷脂、生物素、啡吩、葉酸、啡啶、蒽醌、吖啶、螢光素、若丹明、香豆素及染料。

【0550】 經修飾之寡核苷酸亦可經修飾以具有一或多個穩定基團，該等穩定基團通常連接至反義化合物之一或兩個末端以增強諸如核酸酶穩定性之特性。穩定基團中包括端帽結構。此等末端修飾保護具有末端核酸之反義化合物免於核酸外切酶降解，且可有助於在細胞內遞送及/或定位。端帽可存在於5'-端(5'-端帽)處或3'-端(3'-端帽)處，或可存在於兩個末端上。端帽結構為此項技術中熟知的且包括例如反向去氧無鹼基端帽。可用於封端反義化合物之一或兩個末端以賦予核酸酶穩定性的其他3'及5'-穩定基團包括2003年1月16日公開之WO 03/004602中揭示之彼等。

【0551】 本發明之經修飾之寡核苷酸可囊封於粒子內或併入粒子表面上。在某些實施例中，粒子為奈米粒子。例示性奈米粒子包括脂質體、微胞、基於聚合物之奈米粒子、基於脂質-聚合物之奈米粒子及聚合物微胞。

【0552】 在某些實施例中，奈米粒子包含脂質體。脂質體為具有至少一個脂質雙層及在一些實施例中水性核心的球形囊泡。在一些實施例中，脂質體之脂質雙層可包含磷脂。磷脂之例示性但非限制性實例為磷脂醯膽鹼，但脂質雙層可包含額外脂質，諸如磷脂醯乙醇胺。脂質體可為多層，亦即由若干層狀相脂質雙層組成，或具有單個脂質雙層之單層脂質體。脂質體可製成使其成為吞噬作用之可行目標的特定大小範圍。脂質體之尺寸可介於20 nm至100 nm、100 nm至400 nm、1 μM及更大或200 nm至3 μM。類脂質及基於脂質之調配物的實例提供於美國公開申請案20090023673中。在其他實施例中，一或多種脂質為一或多種陽離子脂質。熟習此項技術者將識別何種脂質體適合於封裝本文所描述之經修飾之寡核苷酸。

【0553】 在某些實施例中，奈米粒子包含微胞。微胞為界面活性劑分子之聚集體。例示性微胞包含兩親媒性巨分子、聚合物或共聚物於水溶液中之聚集體，其中親水性頭部部分接觸周圍溶劑，而疏水性尾部區域螯合在微胞之中心中。

【0554】 在某些實施例中，奈米粒子包含基於聚合物之奈米粒子。基於聚合物之奈米粒子包含一或多種聚合物，諸如聚酯、聚(原酸酯)、聚(乙烯亞胺)、聚(己內酯)、聚酸酐、聚(丙烯酸)、聚乙交酯或聚(胺基甲酸酯)。在另其他實施例中，一或多種聚合物包含聚(乳酸) (PLA)或聚(乳酸-共-乙醇酸) (PLGA)。在例示性實施例中，一或多種聚合物包含聚烷二醇，諸如聚乙二醇(PEG)；或聚環氧烷，諸如聚環氧乙烷(PEO)。

【0555】 在一些實施例中，奈米粒子或其某一部分可降解。在其他實施例中，奈米粒子之脂質及/或聚合物可降解。

結合之反義化合物

【0556】 反義化合物可共價連接至一或多個增強所得反義寡核苷酸之活性、細胞分佈或細胞吸收的部分或結合物。典型的結合基團包括膽固醇部分及脂質部分。額外的結合基團包括碳水化合物、磷脂、生物素、啡啉、葉酸、啡啶、蒽醌、吖啶、螢光素、若丹明、香豆素及染料。

【0557】 反義化合物亦可經修飾以具有一或多個穩定基團，該等穩定基團通常連接至反義化合物之一或兩個末端以增強諸如核酸酶穩定性之特性。穩定基團中包括端帽結構。此等末端修飾保護具有末端核酸之反義化合物免於核酸外切酶降解，且可有助於在細胞內遞送及/或定位。端帽可存在於5'-端(5'-端帽)處或3'-端(3'-端帽)處，或可存在於兩個末端上。端帽結構為此項技術中熟知的且包括例如反向去氧無鹼基端帽。可用於封端

反義化合物之一或兩個末端以賦予核酸酶穩定性的其他3'及5'-穩定基團包括2003年1月16日公開之WO 03/004602中揭示之彼等。

細胞培養及反義化合物處理

【0558】 可在多種細胞類型中活體外測試反義化合物對HBV核酸之含量、活性或表現的影響。用於此分析之細胞類型購自商業供應商(*例如*，American Type Culture Collection，Manassus, VA；Zen-Bio, Inc.，Research Triangle Park，NC；Clonetics Corporation，Walkersville，MD)且根據供應商之說明書使用可商購的試劑(例如Invitrogen Life Technologies，Carlsbad，CA)培養。說明性細胞類型包括但不限於HuVEC細胞、b.END細胞、HepG2細胞、Hep3B細胞及初代肝細胞。

反義寡核苷酸之活體外測試

【0559】 本文描述用反義寡核苷酸處理細胞之方法，該等反義寡核苷酸可經恰當修飾以用於其他反義化合物處理。

【0560】 當細胞在培養物中達至約60-80%匯合時，可用反義寡核苷酸處理細胞。

【0561】 常用於將反義寡核苷酸引入經培養細胞中之一種試劑包括陽離子脂質轉染劑LIPOFECTIN (Invitrogen，Carlsbad，CA)。反義寡核苷酸可與含LIPOFECTIN之OPTI-MEM 1 (Invitrogen，Carlsbad，CA)混合以達成反義寡核苷酸之所需最終濃度及可介於每100 nM反義寡核苷酸2至12 μg/mL範圍內的LIPOFECTIN濃度。

【0562】 用於將反義寡核苷酸引入經培養細胞中之另一種試劑包括LIPOFECTAMINE (Invitrogen，Carlsbad，CA)。將反義寡核苷酸與含LIPOFECTAMINE之OPTI-MEM 1減血清培養基(Invitrogen，Carlsbad，

CA)混合以達成反義寡核苷酸之所需濃度及可介於每100 nM反義寡核苷酸2至12 μg/mL範圍內之LIPOFECTAMINE濃度。

【0563】 用於將反義寡核苷酸引入經培養細胞中之另一技術包括電穿孔。

【0564】 藉由常規方法用反義寡核苷酸處理細胞。可在反義寡核苷酸處理之後16至24小時收集細胞，此時藉由此項技術中已知及本文描述之方法量測目標核酸之RNA或蛋白質含量。一般而言，當以多次重複進行處理時，資料呈現為重複處理之平均值。

【0565】 所使用之反義寡核苷酸之濃度根據細胞株而變化。判定用於特定細胞株之最佳反義寡核苷酸濃度之方法為此項技術中熟知的。當用LIPOFECTAMINE轉染時，反義寡核苷酸通常以1 nM至300 nM範圍內之濃度使用。當使用電穿孔轉染時，反義寡核苷酸以625至20,000 nM範圍內之較高濃度使用。

RNA分離

【0566】 可對總細胞RNA或聚(A)+mRNA進行RNA分析。RNA分離方法為此項技術中所熟知。RNA使用此項技術中熟知之方法製備，例如根據製造商建議之方案使用TRIZOL試劑(Invitrogen，Carlsbad，CA)。

對目標含量或表現之抑制之分析

【0567】 可以此項技術中已知之多種方式分析HBV核酸之含量或表現之抑制。舉例而言，目標核酸含量可藉由例如北方墨點分析、競爭性聚合酶鏈反應(PCR)或定量即時PCR定量。可對總細胞RNA或聚(A)+mRNA進行RNA分析。RNA分離方法為此項技術中所熟知。北方墨點分析在此

項技術中亦為常規的。定量即時PCR可便利地使用可商購之ABI PRISM 7600、7700或7900序列偵測系統實現，該等序列偵測系統可購自PE-Applied Biosystems，Foster City，CA且根據製造商之說明使用。

目標RNA含量之定量即時PCR分析

【0568】 目標RNA含量之定量可根據製造商之說明書藉由定量即時PCR使用ABI PRISM 7600、7700或7900序列偵測系統(PE-Applied Biosystems，Foster City，CA)實現。定量即時PCR方法為此項技術中所熟知。

【0569】 在即時PCR之前，對經分離之RNA進行反轉錄酶(RT)反應，其產生隨後用作用於即時PCR擴增之受質的互補DNA (cDNA)。在同一樣本槽中依序進行RT及即時PCR反應。RT及即時PCR試劑可獲自Invitrogen (Carlsbad, CA)。RT即時PCR反應藉由熟習此項技術者熟知之方法進行。

【0570】 藉由即時PCR獲得之基因(或RNA)目標量使用表現恆定之基因(諸如親環蛋白A)之表現量，或藉由使用RIBOGREEN (Invitrogen, Inc. Carlsbad, CA)定量總RNA來標準化。親環蛋白A表現藉由即時PCR、藉由與目標同時運行、多路調變或分別運行定量。使用RIBOGREEN RNA定量試劑(Invetrogen, Inc. Eugene, OR)定量總RNA。藉由RIBOGREEN之RNA定量之方法教示於Jones, L.J.等人(Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374)中。將CYTOFLUOR 4000儀器(PE Applied Biosystems)用於量測RIBOGREEN螢光。

【0571】 探針及引物經設計以與HBV核酸雜交。設計即時PCR探針及引物之方法為此項技術中所熟知，且可包括使用軟體，諸如PRIMER

EXPRESS軟體(Applied Biosystems，Foster City，CA)。

目標DNA含量之定量即時PCR分析

【0572】 目標DNA含量之定量可根據製造商之說明書藉由定量即時PCR使用ABI PRISM 7600、7700或7900序列偵測系統(PE-Applied Biosystems，Foster City，CA)實現。定量即時PCR方法為此項技術中所熟知。

【0573】 藉由即時PCR獲得之基因(或DNA)目標量使用表現恆定之基因(諸如親環蛋白A)之表現量，或藉由使用RIBOGREEN (Invitrogen, Inc. Carlsbad, CA)定量總DNA來標準化。親環蛋白A表現藉由即時PCR、藉由與目標同時運行、多路調變或分別運行定量。使用RIBOGREEN RNA定量試劑(Invetrogen, Inc. Eugene, OR)定量總DNA。藉由RIBOGREEN之DNA定量之方法教示於Jones, L.J.等人(Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374)中。將CYTOFLUOR 4000儀器(PE Applied Biosystems)用於量測RIBOGREEN螢光。

【0574】 探針及引物經設計以與HBV核酸雜交。設計即時PCR探針及引物之方法為此項技術中所熟知，且可包括使用軟體，諸如PRIMER EXPRESS軟體(Applied Biosystems，Foster City，CA)。

蛋白質含量之分析

【0575】 HBV核酸之反義抑制可藉由量測HBV蛋白質含量來評估。HBV之蛋白質含量可以此項技術中熟知的多種方式評估或定量，該等方式諸如免疫沈澱、西方墨點分析(免疫墨點法)、酶聯免疫吸附分析(ELISA)、定量蛋白質分析、蛋白質活性分析(例如，凋亡蛋白酶活性分析)、免疫組織化學、免疫細胞化學或螢光活化細胞分選(FACS)。針對目

標之抗體可經鑑別且獲自多種來源，諸如抗體之MSRS目錄(Aerie Corporation，Birmingham，MI)，或可經由此項技術中熟知之習知單株或多株抗體產生方法來製備。

反義化合物之活體內測試

【0576】在動物中測試反義化合物(例如反義寡核苷酸)以評估其抑制HBV之表現且產生表型變化的能力。可在正常動物中或在實驗疾病模型中進行測試。對於向動物投藥，反義寡核苷酸經調配於醫藥學上可接受之稀釋劑，諸如磷酸鹽緩衝鹽水中。投與包括非經腸投與途徑，諸如腹膜內、靜脈內、皮下、鞘內及腦室內。投與亦包括眼內及肌內投與途徑。反義寡核苷酸劑量及給藥頻率之計算在熟習此項技術者之能力範圍內，且視諸如投與途徑及動物體重之因素而定。在用反義寡核苷酸處理一段時間後，自肝臟組織分離RNA且量測HBV核酸表現之變化。亦量測HBV DNA含量之變化。亦量測HBV蛋白質含量之變化。亦量測HBV HBeAg含量之變化。亦量測HBV HBsAg含量之變化。

某些適應症

【0577】在某些實施例中，本文提供治療個體之方法、化合物及組合物，其包含投與本文所提供之一或多種醫藥組合物。在某些實施例中，個體患有HBV相關病狀。在某些實施例中，HBV相關病狀包括但不限於慢性HBV感染、D型肝炎病毒(HDV)感染(例如，雙重感染有HBV之個體)、發炎、纖維化、肝硬化、肝癌、血清肝炎、黃疸、肝癌、肝臟發炎、肝纖維化、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎及HBV病毒血症。在某些實施例中，HBV相關病狀可具有可包括以下任一者或全部：流感樣疾病、虛弱、疼痛、頭痛、發熱、

食慾不振、腹瀉、黃疸、噁心及嘔吐、身體肝臟區域之疼痛、陶土色或灰色大便、渾身發癢及深色尿液，伴隨著針對B型肝炎病毒、B型肝炎病毒抗原之存在測試為陽性或針對B型肝炎病毒抗原具有特異性之抗體的存在測試為陽性。在某些實施例中，個體處於HBV相關病狀之風險下。此包括具有一或多種罹患HBV相關病狀之風險因素的個體，該等因素包括性暴露於感染有B型肝炎病毒之個體、與患有終身B型肝炎病毒感染之個體生活在同一個家、暴露於感染有B型肝炎病毒之人類血液、注塑違禁藥物、患有血友病之人及訪視常見B型肝炎之地區。在某些實施例中，個體已鑑別為需要治療HBV相關病狀。在某些實施例中，本文提供用於防治性地降低個體中之HBV表現的方法。某些實施例包括藉由向有需要之個體投與治療有效量的靶向HBV核酸之反義化合物來治療該個體。

【0578】 由於重疊傳播途徑，許多人已暴露於B型肝炎病毒(HBV)及C型肝炎病毒(HCV)，且較小比例為長期感染有兩種病毒，尤其在諸如亞洲之HBV為地方病的之區域中。估計表明高達10%的患有HCV之人亦可患有HBV，而可能20%的患有HBV之人雙重感染有HCV。然而，尚未充分研究B型肝炎或B型肝炎及I-IBV-HCV共感染個體之治療。治療因HCV及HBV呈現抑制彼此複製之事實而複雜化(儘管並非所有研究觀測到此相互作用)。因此，完全抑制HBV之治療可能潛在地允許HCV再出現，或反之亦然。因此，本文所描述之化合物及組合物可有利地用於治療感染有HBV及HCV兩者的患者。用於C型肝炎(HCV)之例示性治療選項包括干擾素，例如干擾素α-2b、干擾素α-2a及干擾素alphacon-1。可使用聚乙二醇化干擾素(連接至聚乙二醇部分之干擾素，其改良其藥物動力學概況)實現不太頻繁的干擾素給藥。與干擾素α-2b (聚乙二醇化及非聚乙二醇化)及

利巴韋林(ribavirin)之組合療法亦展示對一些患者群體奏效。當前研發之其他藥劑包括HCV RNA複製抑制劑(例如，ViroPharma之VP50406系列)、HCV反義藥劑、HCV治療性疫苗、HCV蛋白酶抑制劑、HCV解螺旋酶抑制劑及HCV抗體治療劑(單株或多株)。

【0579】 在某些實施例中，用本文所描述之方法、化合物及組合物治療適用於預防與B型肝炎病毒之存在相關的HBV相關病狀。在某些實施例中，用本文所描述之方法、化合物及組合物治療適用於預防HBV相關病狀。

【0580】 在一個實施例中，投與治療有效量的靶向HBV核酸之反義化合物伴隨著監測個體之血清中之HBV mRNA含量以判定個體對投與該反義化合物之反應。在某些實施例中，投與治療有效量的靶向HBV核酸之反義化合物伴隨著監測個體之血清中之HBV DNA含量以判定個體對投與該反義化合物之反應。在某些實施例中，投與治療有效量的靶向HBV核酸之反義化合物伴隨著監測個體之血清中之HBV蛋白質含量以判定個體對投與該反義化合物之反應。在某些實施例中，投與治療有效量的靶向HBV核酸之反義化合物伴隨著監測個體之血清中之HBV S抗原(HBsAg)含量以判定個體對投與該反義化合物之反應。在某些實施例中，投與治療有效量的靶向HBV核酸之反義化合物伴隨著監測個體之血清中之HBV E抗原(HBeAg)含量以判定個體對投與該反義化合物之反應。由醫師使用個體對投與反義化合物之反應來判定治療性干預之量及持續時間。

【0581】 在某些實施例中，投與靶向HBV核酸之反義化合物使得HBV表現降低至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%，或由此

等值中之任兩者界定的範圍。在某些實施例中，投與靶向HBV核酸之反義化合物使得與HBV相關病狀相關之症狀減少及血液中之HBV相關標記物減少。在某些實施例中，投與HBV反義化合物使HBV RNA含量、HBV DNA含量、HBV蛋白質含量、HBsAg含量或HBeAg含量降低至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%，或由此等值中之任兩者界定的範圍。

【0582】 在某些實施例中，包含靶向HBV之反義化合物的醫藥組合物用於製備用於治療罹患或易患HBV相關病狀之患者的藥劑。

某些組合療法

【0583】 在某些實施例中，本文所提供之一或多種醫藥組合物與一或多種其他醫藥劑一起共投與。在某些實施例中，此類一或多種其他醫藥劑經設計以治療與本文所提供之一或多種醫藥組合物相同的疾病、病症或病狀。在某些實施例中，此類一或多種其他醫藥劑經設計以治療與本文所提供之一或多種醫藥組合物不同的疾病、病症或病狀。

【0584】 在某些實施例中，此類一或多種其他醫藥劑經設計以治療本文所提供之一或多種醫藥組合物的非所要副作用。在某些實施例中，本文所提供之一或多種醫藥組合物與另一醫藥劑一起共投與以治療其他醫藥劑之非所要作用。在某些實施例中，本文所提供之一或多種醫藥組合物與另一醫藥劑一起共投與以產生組合作用。在某些實施例中，本文所提供之一或多種醫藥組合物與另一醫藥劑一起共投與以產生協同作用。

【0585】 在某些實施例中，本文所提供之一或多種醫藥組合物及一或多種其他醫藥劑同時投與。在某些實施例中，本文所提供之一或多種醫

藥組合物及一或多種其他醫藥劑在不同時間投與。在某些實施例中，本文所提供之一或多種醫藥組合物及一或多種其他醫藥劑一起製備於單一調配物中。在某些實施例中，本文所提供之一或多種醫藥組合物及一或多種其他醫藥劑經分開製備。

所列舉之實施例

【0586】 雖然已說明且描述各種特定實施例，但應瞭解可在不偏離本發明之精神及範疇的情況下做出各種改變。本發明藉由以下闡述之經編號實施例來例示：

集合I：

【0587】 實施例I-1. 一種包含具有20個連接之核苷之經修飾之寡核苷酸的化合物，該經修飾之寡核苷酸由以下組成：

第一間隙段，其由連接之核苷組成；

第二間隙段，其由連接之核苷組成；

分隔段，其由連接至第一間隙段及第二間隙段之核苷組成；

5'翼段，其由連接之核苷組成；及

3'翼段，其由連接之核苷組成；

其中第一間隙段、分隔段及第二間隙段位於5'翼段與3'翼段之間；

其中第一間隙段連接至5'翼段，且第二間隙段連接至3'翼段

其中第一間隙段、分隔段及第二間隙段連在一起由8至12個連接之核苷組成。

【0588】 實施例I-2. 如實施例I-1之化合物，其中第一間隙段由具有2'-去氧糖的連接之核苷組成。

【0589】 實施例I-3. 如實施例I-1或I-2之化合物，其中第二間隙段由

具有2'-去氧糖的連接之核苷組成。

【0590】 實施例I-4. 如前述實施例之化合物，其中分隔段由一哦包含2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖或2'-OCH_3糖之核苷組成。

【0591】 實施例I-5. 如前述實施例之化合物，其中5'翼段中之至少一個核苷包含2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖。

【0592】 實施例I-6. 如前述實施例之化合物，其中3'翼段中之至少一個核苷包含2'-O$(CH_2)_2$-OCH_3糖。

【0593】 實施例I-7. 如前述實施例之化合物，其中經修飾之寡核苷酸與HBV核酸至少75%、或至少80%、或至少85%、或至少90%、或至少95%或100%互補。

【0594】 實施例I-8. 如前述實施例之化合物，其中經修飾之寡核苷酸具有SEQ ID NO: 2 (GCAGA GGTGA AGCGA AGTGC)之核鹼基序列。

【0595】 實施例I-9. 如前述實施例之化合物，其中經修飾之寡核苷酸為單鏈經修飾之寡核苷酸。

【0596】 實施例I-10. 如前述實施例之化合物，其中至少一個核苷間鍵為經修飾之核苷間鍵。

【0597】 實施例I-11. 如實施例I-10之化合物，其中各核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0598】 實施例I-12. 如前述實施例之化合物，其中經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核鹼基。

【0599】 實施例I-13. 如前述實施例之化合物，其中經修飾之寡核苷酸包含一個、兩個或三個經修飾之核鹼基。

【0600】 實施例I-14. 如實施例I-12或I-13之化合物，其中經修飾之核鹼基為5-甲基胞嘧啶。

【0601】 實施例I-15. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶各自為5-甲基胞嘧啶。

【0602】 實施例I-16. 如前述實施例之化合物，其中5'翼段中之各核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖。

【0603】 實施例I-17. 如前述實施例之化合物，其中3'翼段中之各核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖。

【0604】 實施例I-18. 如實施例I-1至I-15之化合物，其中5'翼段包含具有2'-去氧糖之核苷。

【0605】 實施例I-19. 如實施例I-18之化合物，其中5'翼段中之其他核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖。

【0606】 實施例I-20. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之位置2處的核苷包含2'-去氧糖。

【0607】 實施例I-21. 如實施例I-1之化合物，其中5'翼段進一步包含兩個各自具有2'-去氧糖之核苷。

【0608】 實施例I-22. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之位置2及5處的核苷包含2'-去氧糖。

【0609】 實施例I-23. 如實施例I-1之化合物，其中3'翼段包含具有2'-去氧糖之核苷。

【0610】 實施例I-24. 如實施例I-23之化合物，其中3'翼段中之其他核苷包含2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3糖。

【0611】 實施例I-25. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之

位置16處的核苷包含2'-去氧糖。

【0612】 實施例I-26. 如實施例I-1之化合物，其中5'翼段中之一個、兩個、三個或四個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0613】 實施例I-27. 如實施例I-26之化合物，其中5'翼段中之兩個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0614】 實施例I-28. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之位置1及3處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0615】 實施例I-29. 如實施例I-1之化合物，其中3'翼段中之一個、兩個、三個或四個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0616】 實施例I-30. 如實施例I-29之化合物，其中3'翼段中之兩個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0617】 實施例I-31. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之位置17及18處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0618】 實施例I-32. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之位置16及19處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0619】 實施例I-33. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之位置17及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0620】 實施例I-34. 如實施例I-29之化合物，其中3'翼段中之三個核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0621】 實施例I-35. 如實施例I-1之化合物，其中SEQ ID NO: 2之位置17、19及20處的核苷包含4'-CH_2-O-2'糖。

【0622】 實施例I-36. 如前述實施例之化合物，其中第一間隙段由1、2、3、4、5、6、7或8個連接之核苷組成。

【0623】 實施例I-37. 如前述實施例之化合物，其中第一間隙段由4或5個連接之核苷組成。

【0624】 實施例I-38. 如前述實施例之化合物，其中第一間隙段由4個連接之核苷組成。

【0625】 實施例I-39. 如前述實施例之化合物，其中第二間隙段由1、2、3、4、5、6、7或8個連接之核苷組成。

【0626】 實施例I-40. 如前述實施例之化合物，其中第二間隙段由5或6個連接之核苷組成。

【0627】 實施例I-41. 如前述實施例之化合物，其中第二間隙段由5個連接之核苷組成。

【0628】 實施例I-42. 如前述實施例之化合物，其中分隔段在SEQ ID NO: 2之位置7或8或9或10或11或12或13或14處。

【0629】 實施例I-43. 如前述實施例之化合物，其中分隔段在SEQ ID NO: 2之位置9或10或11處。

【0630】 實施例I-44. 如前述實施例之化合物，其中分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處。

【0631】 實施例I-45. 如實施例I-1之化合物，其中

5'翼段由5個連接之核苷組成；且

3'翼段由5個連接之核苷組成；

第一間隙段由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；

第二間隙段由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；

分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處；

SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶各自為5-甲基胞嘧啶

各核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0632】 實施例I-46. 如實施例I-1之化合物，其中

5'翼段由4個連接之核苷組成；且

3'翼段由5個連接之核苷組成；

第一間隙段由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；

第二間隙段由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；

分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處；

SEQ ID NO: 2之位置2、13及20處的胞嘧啶各自為5-甲基胞嘧啶；

各核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0633】 實施例I-47. 如實施例I-1之化合物，其中

5'翼段由5個連接之核苷組成；且

3'翼段由4個連接之核苷組成；

第一間隙段由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；

第二間隙段由6個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；且

分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處；

各核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0634】 實施例I-48. 如實施例I-1之化合物，其中

5'翼段由4個連接之核苷組成；且

3'翼段由6個連接之核苷組成；

第一間隙段由5個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；

第二間隙段由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；且

分隔段在SEQ ID NO: 2之位置10處；

各核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0635】 實施例I-49. 如實施例I-1之化合物，其中

5'翼段由5個連接之核苷組成；且

3'翼段由6個連接之核苷組成；

第一間隙段由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；

第二間隙段由4個具有2'-去氧糖的連接之核苷組成；

各核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0636】 實施例I-50. 如實施例I-1之化合物，其中經修飾之寡核苷酸具有選自由以下組成之群的序列：A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、K、L、M、N、O、P、Q、R、S、T、U、V、W、X、Y、Z、AA、AB、AC、AD、AE、AF、AG、AH、AI、AJ、AK、AL、AM、AN、AO、AP、AQ、AR、AS、AT、AU、AV、AW及AX。

【0637】 實施例I-51. 一種組合物，其包含如實施例I-1至I-50中任一項之化合物或其鹽及至少一種醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【0638】 實施例I-52. 一種方法，其包含向動物投與如實施例I-1至I-51中任一項之化合物或組合物。

【0639】 實施例I-53. 如實施例I-52之方法，其中動物為人類。

【0640】 實施例I-54. 如實施例I-52之方法，其中投與化合物預防、治療、減輕或減緩HBV相關疾病、病症或病狀之進展。

【0641】 實施例I-55. 如實施例I-54之方法，其中該疾病、病症或病狀為肝臟疾病。

【0642】 實施例I-56. 如實施例I-54之方法，其中該疾病、病症或病狀為黃疸、肝臟發炎、肝纖維化、發炎、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎、HBV感染、HBV病毒血症

或肝臟疾病相關移植。

【0643】 實施例I-57. 如實施例I-54之方法，其中該疾病或病狀為過度增生性病狀。

【0644】 實施例I-58. 如實施例I-57之方法，其中過度增生性病狀為肝癌。

【0645】 實施例I-59. 一種降低動物中之HBV抗原含量的方法，其包含向該動物投與如實施例I-1至I-51中任一項之化合物或組合物。

【0646】 實施例I-60. 如實施例I-59之方法，其中HBsAg含量降低。

【0647】 實施例I-61. 如實施例I-59之方法，其中HBeAg含量降低。

【0648】 實施例I-62. 如實施例I-59之方法，其中動物為人類。

集合II:

【0649】 實施例II-1. 一種包含經修飾之寡核苷酸的化合物，該經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - W2 3' (式I)

其中：

W1為5'翼段；

W2為3'翼段；

G1為第一間隙段；

S1為第一分隔段；

G2為第二間隙段；

-為核苷間鍵；且

寡核苷酸之至少一個核苷經修飾。

【0650】 實施例II-2. 如實施例II-1之化合物，其中經修飾之寡核苷

酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - W2 3' (式II)

其中：

S2為第二分隔段；且

G3為第三間隙段。

【0651】 實施例II-3. 如實施例II-2之化合物，其中經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - W2 3' (式III)

其中：

S3為第三分隔段；且

G4為第四間隙段。

【0652】 實施例II-4. 如實施例II-3之化合物，其中經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - W2 3' (式IV)

其中：

S4為第四分隔段；且

G5為第五間隙段。

【0653】 實施例II-5. 如實施例II-4之化合物，其中經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - S5 - G6 - W2 3' (式V)

其中：

S5為第五分隔段；且

G6為第六間隙段。

【0654】 實施例II-6. 如實施例II-5之化合物，其中經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - S5 - G6 - S6 - G7 - W2 3' (式VI)

其中：

S6為第六分隔段；且

G7為第七間隙段。

【0655】 實施例II-7. 如實施例II-1至II-6中任一項之化合物，其中W1包含一或多個連接之去氧核苷。

【0656】 實施例II-8. 如實施例II-1至II-7中任一項之化合物，其中W2包含一或多個連接之去氧核苷。

【0657】 實施例II-9. 如實施例II-1至II-8中任一項之化合物，其中W1包含2至25個連接之核苷。

【0658】 實施例II-10. 如實施例II-1至II-9中任一項之化合物，其中W2包含2至35個連接之核苷。

【0659】 實施例II-11. 如實施例II-1至II-10中任一項之化合物，其中G1包含1至10個連接之去氧核苷。

【0660】 實施例II-12. 如實施例II-1至II-11中任一項之化合物，其中G2包含1至10個連接之去氧核苷。

【0661】 實施例II-13. 如實施例II-1至II-12中任一項之化合物，其中S1包含1至3個連接之核苷。

【0662】 實施例II-14. 如實施例II-2至II-13中任一項之化合物，其

中G3包含1至10個連接之去氧核苷。

【0663】 實施例II-15. 如實施例II-2至II-14中任一項之化合物，其中S2包含1至3個連接之核苷。

【0664】 實施例II-16. 如實施例II-3至II-15中任一項之化合物，其中G4包含1至10個連接之去氧核苷。

【0665】 實施例II-17. 如實施例II-3至II-16中任一項之化合物，其中S3包含1或2個連接之核苷。

【0666】 實施例II-18. 如實施例II-4至II-17中任一項之化合物，其中G5包含1至10個連接之去氧核苷。

【0667】 實施例II-19. 如實施例II-4至II-17中任一項之化合物，其中S4包含1至3個連接之核苷。

【0668】 實施例II-20. 如實施例II-5至II-19中任一項之化合物，其中G6包含1至10個連接之去氧核苷。

【0669】 實施例II-21. 如實施例II-5至II-19中任一項之化合物，其中S5包含1至3個連接之核苷。

【0670】 實施例II-22. 如實施例II-6至II-21中任一項之化合物，其中G7包含1至10個連接之去氧核苷。

【0671】 實施例II-23. 如實施例II-6至II-22中任一項之化合物，其中S6包含1至3個連接之核苷。

【0672】 實施例II-24. 如實施例II-1至II-23中任一項之化合物，其中寡核苷酸之長度為18至50個核鹼基。

【0673】 實施例II-25. 如實施例II-1至II-23中任一項之化合物，其中寡核苷酸之長度為至少20個核鹼基。

【0674】 實施例II-26. 如實施例II-1至II-23中任一項之化合物，其中寡核苷酸之長度為20個核鹼基。

【0675】 實施例II-27. 如實施例II-1之化合物，其中寡核苷酸之長度為20個連接之核鹼基。

【0676】 實施例II-28. 如實施例II-27之化合物，其中W1包含4個連接之核苷。

【0677】 實施例II-29. 如實施例II-27之化合物，其中W1包含5個連接之核苷。

【0678】 實施例II-30. 如實施例II-27至II-29中任一項之化合物，其中G1包含4個連接之去氧核苷。

【0679】 實施例II-31. 如實施例II-27至II-29中任一項之化合物，其中G1包含5個連接之去氧核苷。

【0680】 實施例II-32. 如實施例II-27至II-29中任一項之化合物，其中G1包含6個連接之去氧核苷。

【0681】 實施例II-33. 如實施例II-27至II-32中任一項之化合物，其中G2包含4個連接之去氧核苷。

【0682】 實施例II-34. 如實施例II-27至II-32中任一項之化合物，其中G2包含5個連接之去氧核苷。

【0683】 實施例II-35. 如實施例II-27至II-32中任一項之化合物，其中G2包含6個連接之去氧核苷。

【0684】 實施例II-36. 如實施例II-27至II-33中任一項之化合物，其中S1包含至少一個連接之核苷。

【0685】 實施例II-37. 如實施例II-27至II-35中任一項之化合物，其

中W2包含5個連接之核苷。

【0686】 實施例II-38. 如實施例II-27至II-35中任一項之化合物，其中W2包含6個連接之核苷。

【0687】 實施例II-39. 如實施例II-27至II-38中任一項之化合物，其中S1在寡核苷酸之位置10處。

【0688】 實施例II-40. 如實施例II-39之化合物，其中W1包含4個連接之核苷，G1包含5個連接之去氧核苷，S1包含1個連接之核苷，G2包含5個連接之去氧核苷，且W2包含5個連接之核苷。

【0689】 實施例II-41. 如實施例II-1之化合物，其中W1包含4至6個連接之核苷。

【0690】 實施例II-42. 如實施例II-41之化合物，其中W2包含4至6個連接之核苷。

【0691】 實施例II-43. 如實施例II-41至II-42中任一項之化合物，其中G1包含1至6個連接之去氧核苷。

【0692】 實施例II-44. 如實施例II-41至II-43中任一項之化合物，其中G2包含1至6個連接之去氧核苷。

【0693】 實施例II-45. 如實施例II-41至II-44中任一項之化合物，其中G3包含1至6個連接之去氧核苷。

實施例II-46. 如實施例II-41至II-45中任一項之化合物，其中S1包含至少一個連接之核苷。

【0694】 實施例II-47. 如實施例II-41至II-46中任一項之化合物，其中G1-S1-G2之長度在8與12個核鹼基長度之間。

【0695】 實施例II-48. 如實施例II-1至II-47中任一項之化合物，其

中G1、G2、G3、G4、G5、G6及G7中之任一者或多者包含核苷，該核苷包含對2'-去氧核苷之修飾。

【0696】 實施例II-49. 如實施例II-48之化合物，其中G1、G2、G3、G4、G5、G6及G7中之任一者或多者包含核苷，該核苷包含2'-去氧5-甲基胞苷糖修飾。

【0697】 實施例II-50. 如實施例II-1至II-49中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾。

【0698】 實施例II-51. 如實施例II-1至II-49中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含5-甲基胞苷。

【0699】 實施例II-52. 如實施例II-1至II-49中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾。

【0700】 實施例II-53. 如實施例II-1至II-52中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-OH糖修飾。

【0701】 實施例II-54. 如實施例II-1至II-53中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。

【0702】 實施例II-55. 如實施例II-1至II-54中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)糖修飾。

【0703】 實施例II-56. 如實施例II-1至II-55中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含乙二醇核酸(GNA)。

【0704】 實施例II-57. 如實施例II-1至II-56中任一項之化合物，其

中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含LNA。

【0705】 實施例II-58. 如實施例II-1至II-57中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-去氧糖修飾。

【0706】 實施例II-59. 如實施例II-58之化合物，其中2'-去氧糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2及/或5處。

【0707】 實施例II-60. 如實施例II-1至II-59中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾。

【0708】 實施例II-61. 如實施例II-60之化合物，其中2'-O-甲氧基乙基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置1、2、3、4及/或5處。

【0709】 實施例II-62. 如實施例II-1至II-61中任一項之化合物，其中W1包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處的2'-O-甲氧基乙基5-甲基胞苷。

【0710】 實施例II-63. 如實施例II-1至II-62中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾。

【0711】 實施例II-64. 如實施例II-63之化合物，其中2'-O-甲基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置1、2、3、4及/或5處。

【0712】 實施例II-65. 如實施例II-63之化合物，其中W1包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處的2'-O-甲基5-甲基胞苷。

【0713】 實施例II-66. 如實施例II-1至II-65中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。

【0714】 實施例II-67. 如實施例II-1至II-66中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)修飾。

【0715】 實施例II-68. 如實施例II-1至II-67中任一項之化合物，其

中W1包含乙二醇核酸(GNA)。

【0716】 實施例II-69. 如實施例II-1至II-67中任一項之化合物，其中GNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處。

【0717】 實施例II-70. 如實施例II-1至II-69中任一項之化合物，其中W1包含經修飾之核苷且其中經修飾之核苷為鎖核酸(LNA)。

【0718】 實施例II-71. 如實施例II-70之化合物，其中LNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置1及/或3處。

【0719】 實施例II-72. 如實施例II-1至II-71中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-去氧糖修飾。

【0720】 實施例II-73. 如實施例II-72之化合物，其中2'-去氧糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置15及/或16處。

【0721】 實施例II-74. 如實施例II-1至II-73中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾。

【0722】 實施例II-75. 如實施例II-74之化合物，其中2'-O-甲氧基乙基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置15、16、17、18、19及/或20處。

【0723】 實施例II-76. 如實施例II-74之化合物，其中W2包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置20處的2'-O-甲氧基乙基5-甲基胞苷。

【0724】 實施例II-77. 如實施例II-1至II-76中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾。

【0725】 實施例II-78. 如實施例II-77之化合物，其中2'-O-甲基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置15、16、17、18、19及/或20處。

【0726】 實施例II-79. 如實施例II-77之化合物，其中W2包含在對應

於SEQ ID NO: 2之序列之位置20處的2'-O-甲基5-甲基胞苷。

【0727】 實施例II-80. 如實施例II-1至II-79中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。

【0728】 實施例II-81. 如實施例II-1至II-80中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)修飾。

【0729】 實施例II-82.如實施例II-1至II-81中任一項之化合物，其中W2包含經修飾之核苷且其中該經修飾之核苷為乙二醇核酸(GNA)。

【0730】 實施例II-83. 如實施例II-1至II-82中任一項之化合物，其中W2包含經修飾之核苷且其中經修飾之核苷為鎖核酸(LNA)。

【0731】 實施例II-84. 如實施例II-83之化合物，其中LNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置16、17、18、19及/或20處。

【0732】 實施例II-85. 如實施例II-1至II-84中任一項之化合物，其中至少一個核苷間鍵為磷酸二酯鍵。

【0733】 實施例II-86. 如實施例II-1至II-85中任一項之化合物，其中至少一個核苷間鍵為經修飾之核苷間鍵。

【0734】 實施例II-87. 如實施例II-86之化合物，其中經修飾之核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【0735】 實施例II-88. 如實施例II-1至II-86中任一項之化合物，其中寡核苷酸與HBV基因體之聚核苷酸序列之一部分互補。

【0736】 實施例II-89. 如實施例II-88之化合物，其中HBV基因體為HBV GT-A、GT-B、GT-C、GT-D、GT-E、GT-F、GT-G或GT-H之基因體。

【0737】 實施例II-90. 如實施例II-88之化合物，其中寡核苷酸與

SEQ ID NO: 3及667至674中任一者之聚核苷酸序列之一部分至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%互補。

【0738】 實施例II-91. 如實施例II-88之化合物，其中寡核苷酸與SEQ ID NO: 1、4及675至838中任一者之聚核苷酸序列互補。

【0739】 實施例II-92. 如實施例II-1至II-91中任一項之化合物，其中寡核苷酸包含對應於SEQ ID NO: 2之序列之核鹼基序列。

【0740】 實施例II-93. 一種化合物，其包含SEQ ID NO:11至666中任一者之經修飾之寡核苷酸，或包含至少1、2、3、4或5個對其之其他修飾的寡核苷酸。

【0741】 實施例II-94. 一種化合物，其包含SEQ ID NO:11至666中任一者之經修飾之寡核苷酸，或與其具有至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%序列一致性的寡核苷酸。

【0742】 實施例II-95. 一種醫藥組合物，其包含如實施例II-1至II-94中任一項之化合物或其鹽及至少一種醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【0743】 實施例II-96. 一種調配物，其包含約100 mg/mL、150 mg/mL或200 mg/mL之化合物，該化合物包含SEQ ID NO:456之經修飾之寡核苷酸序列或包含至少1、2、3、4或5個對其之其他修飾的寡核苷酸。

【0744】 實施例II-97. 一種降低個體之HBV抗原含量之方法，其包含向該個體投與如實施例II-1至II-94中任一項之化合物、如實施例II-95之組合物或如實施例II-96之調配物。

【0745】 實施例II-98. 如實施例II-97之方法，其中HBV抗原為HBsAg或HBeAg。

【0746】 實施例II-99. 如實施例II-97之方法，其中HBeAg含量降低。

【0747】 實施例II-100. 如實施例II-97之方法，其中HBsAg含量降低。

【0748】 實施例II-101. 如實施例II-97之方法，其中相對於投與包含SEQ ID NO: 10之經修飾之寡核苷酸序列之組合物的個體，HBsAg含量降低至少約1.25倍。

【0749】 實施例II-102. 如實施例II-97之方法，其中相對於投與包含SEQ ID NO: 10之經修飾之寡核苷酸序列之組合物的個體，HBsAg含量降低約2倍至約10倍。

【0750】 實施例II-103. 一種降低患有HBV之個體之肝毒性及/或持久性的方法，其包含向個體投與如實施例II-1至94中任一項之化合物、如實施例II-95之組合物或如實施例II-96之調配物。

【0751】 實施例II-104. 如實施例II-103之方法，其中相對於投與包含SEQ ID NO: 10之經修飾之寡核苷酸序列之組合物的個體，ALT、ALP及/或AST含量視情況降低至少約1.25倍。

【0752】 實施例II-105. 一種預防、治療、減輕或減緩HBV相關疾病、病症或病狀之進展的方法，其包含向個體投與如實施例II-1至II-94中任一項之化合物、如實施例II-95之組合物或如實施例II-96之調配物。

【0753】 實施例II-106. 如實施例II-97至II-105中任一項之方法，其中向個體投與至少一個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個劑量之化合物、組合物或調配物。

【0754】 實施例II-107. 如實施例II-97至II-106中任一項之方法，其

中個體在第1天、第4天及第8天向給藥。

【0755】 實施例II-108. 如實施例II-107之方法，其中個體在第8天後每週給藥一次。

【0756】 實施例II-109. 如實施例II-97至II-108中任一項之方法，其中個體在至少第1天、第4天及第8天、第15天及第22天給藥。

【0757】 實施例II-110. 如實施例II-107至II-109中任一項之方法，其中各劑量之量為實質上相同的量。

【0758】 實施例II-111. 如實施例II-97至II-110中任一項之方法，其中劑量為約30 mg至約600 mg。

【0759】 實施例II-112. 如實施例II-97至II-110中任一項之方法，其中劑量為約100 mg至約500 mg。

【0760】 實施例II-113. 如實施例II-97至II-110中任一項之方法，其中劑量為約100 mg、約150 mg、約200 mg、約250 mg、約300 mg、約450 mg或約500 mg。

【0761】 實施例II-114. 如實施例II-97至II-113中任一項之方法，其中向個體投與係非經腸進行。

【0762】 實施例II-115. 如實施例II-97至II-113中任一項之方法，其中向個體投與係皮下進行。

【0763】 實施例II-116. 如實施例II-97至II-113中任一項之方法，其中向個體投與係經皮進行。

【0764】 實施例II-117. 如實施例II-97至II-113中任一項之方法，其中向個體投與係眼內進行。

【0765】 實施例II-118. 如實施例II-97至II-113中任一項之方法，其

中向個體投與係肌內進行。

【0766】 實施例II-119. 如實施例II-97至II-113中任一項之方法，其中向個體投與係靜脈內進行。

【0767】 實施例II-120. 如實施例II-97至II-115中任一項之方法，方法進一步包含向個體投與至少第二藥劑。

【0768】 實施例II-121. 如實施例II-97至II-120中任一項之方法，其中疾病、病症或病狀為肝臟疾病、病症或病狀。

【0769】 實施例II-122. 如實施例II-121之方法，其中疾病、病症或病狀為黃疸、肝臟發炎、肝纖維化、發炎、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎、HBV感染、HBV病毒血症或肝臟疾病相關移植。

【0770】 實施例II-123. 如實施例II-121之方法，其中疾病或病狀為過度增生性病狀，視情況為肝癌。

【0771】 實施例II-124. 如實施例II-97至II-120中任一項之方法，其中疾病、病症或病狀為D型肝炎病毒感染(HDV)，其中個體雙重感染有HBV。

【0772】 實施例II-125. 如實施例II-97至II-124中任一項之方法，其中個體為人類。

實例

非限制性揭示內容及參考文獻併入

【0773】 儘管已根據某些實施例具體描述本文所述之某些化合物、組合物及方法，但以下實例僅用於說明本文所述之化合物且並不意欲限制該等化合物。本申請案中所列舉之各參考文獻以全文引用之方式併入本文

中。

實例1：經修飾之寡核苷酸序列及製備方法

【0774】 本發明之經修飾之寡核苷酸(替代地稱為增強的反義寡核苷酸[eASO])的結構展示於表1.1及表1.2中(**圖1至圖2**)。表1.1展示描繪經修飾之寡核苷酸之各位置處的個別修飾的圖例。表1.2展示各經修飾之寡核苷酸按位置編號比對的序列。

【0775】 合成：使用固相合成來產生寡核苷酸。此意謂在製備寡核苷酸時，將其繫栓至固體表面。換言之，在固相合成內，待組裝之寡核苷酸經由其3'-端羥基共價鍵結至固體載體材料且在鏈組裝之整個過程中仍與其附接。此合成方法開始於最3'-端核苷酸且繼續進行由四個步驟構成之一系列循環，重複該四個步驟直至連接最5'-端核苷酸。此等四個步驟為**圖3**中展示且下文陳述之去保護(A)、縮合(B)、封端(C)及氧化(D)：

步驟1：移除連接至CPG單體上之第一鹼基之5'-OH基團的DMTr，且準備連接下一個新的鹼基；

步驟2：激活新的鹼基單體且準備與第一鹼基反應；

步驟3：第二鹼基與第一鹼基進行偶合反應；

步驟4：將尚未反應之第一鹼基之5'-OH封端，以使得其將不再參與反應；

步驟5：將核苷亞磷酸酯氧化成更穩定的核苷磷酸酯；

步驟6：重複步驟1至步驟5之循環直至合成所需寡聚DNA序列為止。

【0776】 胺解--所合成之寡核苷酸以化學方式自固體載體(CPG)裂解，且藉由胺解移除保護基。

【0777】 純化--經修飾之引物純化方法如下：

(1) PAGE純化：使用變性聚丙烯醯胺凝膠電泳以分離引物DNA，隨後自凝膠回收目標DNA。純化DNA之純度大於90%。

(2) HPLC純化：使用高效液相層析之原理將引物DNA純化至純度大於90%。

實例2：HepG2.2.15細胞中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0778】 經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用藉由量測HepG2.2.15細胞中B型肝炎病毒(HBV)表面抗原(HBsAg)及HBV e抗原(HBeAg)之含量來評估。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1463**、**AUS1476/AUS1493**、**AUS1494**、**AUS1466/AUS1495**。

【0779】 可穩定表現HBsAg及HBeAg之HepG2.2.15細胞係購自中國典型培養物保藏中心(CCTCC號GDC0141)。經修飾之寡核苷酸溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水或不含RNA酶之雙重蒸餾H_2O (dd H_2O)中以製成50 μM之目標溶液來製備。

【0780】 經修飾之寡核苷酸藉由逆向轉染作用於HepG2.2.15細胞。首先，製備每100μl懸浮液中具有3.5×10^5個細胞之濃度的細胞懸浮液。細胞培養盤在每孔中覆蓋有30至50μl鼠尾膠原蛋白I (3 mg/mL) (Gibco)。一小時後移除過量液體。P3000 (Invitrogen)及Lipofectamine® 3000試劑(Invitrogen)隨後用Opti-MEM™ I減血清培養基(Gibco)稀釋，與經稀釋之化合物混合，且隨後使其在室溫下靜置10分鐘。將P3000、Lipo3000及Opti-MEM之10 ul轉染劑混合物及100ul細胞懸浮液添加至各孔中。將混合物用移液管移取4或5次且將培養盤置放於37℃培育箱中。

【0781】 細胞上清液中之HBsAg含量使用購自Autobio Diagnostics (China)之HBsAg ELISA套組(批次號：20201116)來量測。根據製造商之

說明書量測HBsAg含量。

【0782】 細胞增殖毒性藉由CCK8套組來量測。簡言之，在經修飾之寡核苷酸處理之後48小時謹慎地移除細胞上清液。根據製造商之說明書將100μl CCK-8溶液添加至各孔中。將盤置放於37℃培育箱中60min或90min且藉由酶標記分析儀(Perlong DNM-9602)量測各樣本中之吸光度值。

【0783】 提供化合物之資料。EC50對於**AUS1233/AUS1138**為1.45 (nM) ±0.21、對於**AUS1463**為0.32 ± 0.11、對於**AUS1494**為0.28 ± 0.09、對於**AUS1476/AUS1493**為0.24 ± 0.07、對於**AUS1466/AUS1495**為0.54 ± 0.21；CC50 (nM)對於**AUS1233/AUS1138**為61.98 ±9.32、對於**AUS1463**為57.61 ± 6.14、對於**AUS1494**為72.91 ± 9.95、對於**AUS1476/AUS1493**為74.73±8.67、對於**AUS1466/AUS1495**為72.36 ± 11.77。**AUS1463**、**AUS1494**、**AUS1476/AUS1493**、**AUS1466/AUS1495**降低HBV抗病毒活性EC50 (nM)值比**AUS1233/AUS1138**低2.5至4倍且具有與**AUS1233/AUS1138**類似的細胞毒性值CC50 (nM)。

化合物	AUS1233/AUS1138	AUS1463	AUS1494	AUS1476/ AUS1493	AUS1466/ AUS1495
EC50(nM)	1.45±0.21	0.32±0.11	0.28±0.09	0.24±0.07	0.54±0.21
CC50(nM)	61.98±9.32	57.61±6.14	72.91±9.95	74.73±8.67	72.36±11.77

實例3：基因型C HBV轉殖基因小鼠中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0784】 此研究評估經修飾之寡核苷酸對基因型C HBV (HBV-GTC)轉殖基因小鼠中HBsAg之血清含量的影響。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1463**、**AUS1466/AUS1495**、**AUS1494**、**AUS1476/AUS1493**及**AUS1441**。各化合物以30 mg/kg藉由皮下注射(SC)向小鼠給與一次。投與標準生理鹽水及**AUS1233**、

AUS1138分別作為陰性對照及陽性對照。

【0785】 此研究評估經修飾之寡核苷酸對基因型C HBV (HBV-GTC)轉殖基因小鼠中HBsAg之血清含量的影響。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1463**、**AUS1466/AUS1495**、**AUS1494**、**AUS1476/AUS1493**及**AUS1441**。各化合物以30 mg/kg藉由皮下注射(SC)向小鼠給與一次。投與標準生理鹽水及**AUS1233**、**AUS1138**分別作為陰性對照及陽性對照。

【0786】 由具有1.0倍長度之HBV C1亞型基因體的5至7週齡雄性C57BL/6小鼠製備的HBV轉殖基因小鼠在肝臟中穩定表現HBsAg。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0787】 在此研究中，**AUS1233/AUS1138**用作參考化合物。HBsAg ELISA套組係購自Autobio Diagnostics。使用化學螢光免疫分析分析儀(儀器模型：LUMO)在Autobio進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0788】 給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為3 mg/ml之目標濃度來製備。

【0789】 動物給藥--總體研究設計展示於**圖4**中。將雄性HBV轉殖基因小鼠隨機分成具有4隻小鼠之組。藉由皮下注射向各組給與30 mg/kg及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。

【0790】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放

於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0791】血清樣本中之血清HBsAg含量使用購自Autobio Diagnostics之HBsAg ELISA套組(批次號：20201116)來量測。簡言之，將50μl之10倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0792】藉由ELISA量測血清樣本中之HBsAg含量。最大log10血清HBsAg降低對於**AUS1233**、**AUS1138**為-0.494 ± 0.173，對於**AUS1463**為-1.66 ± 0.52、對於**AUS1466/AUS1495**為-1.43 ± 0.12、對於**AUS1494**為-1.22 ± 0.39、對於**AUS1476/AUS1493**為-1.47 ± 0.26，且對於**AUS1441**為-1.48 ± 0.27。所有處理組之體重變化與生理鹽水組相當。結果顯示本發明經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用遠佳於**AUS1233**、**AUS1138**。

實例4：基因型D HDI-HBV攜帶小鼠中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0793】此研究評估經修飾之寡核苷酸對HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量的作用。HBV HDI小鼠模型基於將PreS2/S質體流體動力注射至C57BL/6小鼠中。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1468**、**AUS1469**、**AUS1470**、**AUS1471**、**AUS1472**、**AUS1458**、**AUS1459**、**AUS1426**、**AUS1427/AUS1461**、**AUS1462**、**AUS1463**、**AUS1464**、**AUS1465**、**AUS1466/AUS1495**及**AUS1467**。各化合物以40 mg/kg藉由SC給與一次。投與標準生理鹽水及**AUS1233**、**AUS1138**分別作為陰性對照及陽性對照。藉由ELISA量測血

清樣本中之HBsAg含量及血清丙胺酸胺基轉移酶(ALT)含量。

【0794】 此研究評估經修飾之寡核苷酸對HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量的影響。HBV HDI小鼠模型基於將PreS2/S質體流體動力注射至雄性C57BL/6小鼠中。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1468**、**AUS1469**、**AUS1470**、**AUS1471**、**AUS1472**、**AUS1458**、**AUS1459**、**AUS1426**、**AUS1427/AUS1461**、**AUS1462**、**AUS1463**、**AUS1464**、**AUS1465**、**AUS1466/AUS1495**及**AUS1467**。各化合物以40 mg/kg藉由SC給與一次。投與標準生理鹽水及**AUS1233**、**AUS1138**分別作為陰性對照及陽性對照。藉由ELISA量測血清樣本中之HBsAg含量及血清丙胺酸胺基轉移酶(ALT)含量。

【0795】 HBsAg ELISA套組係購自Autobio Diagnostics (China)。ALT ELISA套組係購自Elabscience Biotechnology Co., Ltd (China)。標準生理鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之化學螢光免疫分析分析儀進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0796】 給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為4 mg/ml之目標濃度來製備。

動物給藥--總體研究設計展示於圖5中。將雄性HDI-HBV攜帶小鼠隨機分成各組。向各組給與40 mg/kg及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。在Eyoung之動物實驗室進行HDI建模之後的28天經由SC向HBsAg-陽性小鼠給藥。

【0797】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第14天及第21

天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0798】血清樣本中之血清HBsAg含量使用購自Autobio Diagnostics (China)之HBsAg ELISA套組(批次號：20201116)來量測。簡言之，將50μl之25倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0799】血清ALT含量使用購自Elabscience Biotechnology Co., Ltd (China)之ALT ELISA套組(編號：E-BC-K235-M)來量測。簡言之，將50μl之2倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0800】最大log10血清HBsAg降低對於**AUS1233/AUS1138**為1.03 ± 0.23，且對於**AUS1468**為2.29 ± 0.25、對於**AUS1469**為2.26 ± 0.46、對於**AUS1470**為2.30 ± 0.39、對於**AUS1471**為2.59 ± 0.39、對於**AUS1472**為2.59 ± 0.26、對於**AUS1458**為2.82 ± 0.72、對於**AUS1459**為2.46 ± 0.52、對於**AUS1426**為2.57 ± 0.42、對於**AUS1427/AUS1461**為2.51 ± 0.37、對於**AUS1462**為2.12 ± 0.21、對於**AUS1463**為2.03 ± 0.14、對於**AUS1464**為2.77 ± 1.22、對於**AUS1465**為2.33 ± 1.10、對於**AUS1466/AUS1495**為1.90 ± 0.10且對於**AUS1467**為1.96 ± 0.35。對於所有化合物，所有樣本中之血清ALT含量< 42 IU/L，指示肝臟未受損。所有處理組之體重變化與生理鹽水組相當。

實例5：C57BL/6小鼠中經修飾之寡核苷酸的急性毒性作用

【0801】此研究評估經修飾之寡核苷酸對C57BL/6小鼠中之血清丙

胺酸胺基轉移酶(ALT)及天冬胺酸胺基轉移酶(AST)含量的急性毒性作用。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1472**、**AUS1427/AUS1461**、**AUS1463**。各化合物在第0天、第2天及第4天以60 mg/kg藉由皮下注射(SC)給與三次。標準生理鹽水用作陰性對照。藉由HITACHI AUTOMATIC ANALYZER 3100量測全血樣本中之血液常規。藉由酶聯免疫吸附分析(ELISA)量測血清樣本中之丙胺酸胺基轉移酶(ALT)及天冬胺酸胺基轉移酶(AST)含量。

【0802】雄性C57BL/6小鼠係購自Shanghai SLAC Laboratory Animal CO., Ltd (China)。將小鼠維持在Hagnzhou Eyoung Biotechnology Co., Ltd (China)之BSL-2+動物設施中的無特定病原體條件下。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0803】ALT及AST ELISA套組係購自Elabscience Biotechnology Co., Ltd (China)。標準生理鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之酶免疫分析分析儀進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0804】給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為6 mg/ml之目標濃度來製備。

【0805】總體研究設計展示於圖6中。將雄性C57BL/6小鼠隨機分成各組。各化合物藉由SC在第0天、第2天及第4天給與三次，以60 mg/kg及10 μl/g體重之劑量體積或等體積之標準生理鹽水作為對照。

【0806】在給藥後第5天、第7天、第10天、第14天、第17天及第21

天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。在給藥後第17天自大腿靜脈獲取約50 μl血液樣本。血液樣本藉由EDTA-2Na抗凝血劑進行抗凝且稀釋。將獲得之抗凝血劑血液稀釋樣本儲存於4℃冰箱中以用於血液常規分析。

【0807】 血清ALT含量使用購自Elabscience Biotechnology Co., Ltd (China)之ALT ELISA套組(編號：E-BC-K235-M)來量測。簡言之，將50μl之2倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0808】 最大血清ALT對於**AUS1233/AUS1138**為53.3 (IU/L) ±16.0、對於**AUS1472**為29.3 ± 8.2、對於**AUS1427/AUS1461**為44.9 ± 22.0、對於AUS1463為16.1 ± 4.8。最大血清AST (IU/L)對於**AUS1233/AUS1138**為27.4 ± 7.9、對於**AUS1472**為18.3 ± 5.5、對於**AUS1427/AUS1461**為19.0 ± 5.4、對於**AUS1463**為14.3 ± 3.4。所有處理組中肝臟及脾臟與體重之比率與生理鹽水組不相當。所有處理組之體重變化與生理鹽水組相當。最大血清ALT及AST之結果展示經修飾之寡核苷酸具有比**AUS1233/AUS1138**更佳的藥物安全性。

實例6：pAAV-1.2HBV-GTA HDI-HBV攜帶小鼠中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0809】 此研究評估經修飾之寡核苷酸對HBV轉殖基因小鼠中HBsAg之血清含量的影響。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1444**、**AUS1458**、**AUS1459**、**AUS1460**、

AUS1427/AUS1461、**AUS1462**、**AUS1463**、**AUS1464**、**AUS1465**、**AUS1463**、**AUS1467**、**AUS1468**、**AUS1470**、**AUS1471**、**AUS1472**、**AUS1473**、**AUS1474**、**AUS1475**、**AUS1476/AUS1493**、**AUS1478**、**AUS1479**、**AUS1489**、**AUS1490**、**AUS1443**及**AUS1322**。各化合物以40 mg/kg藉由SC給與一次。投與標準生理鹽水作為陰性對照。藉由ELISA量測血清樣本中之HBsAg含量。

【0810】雄性C57BL/6小鼠係購自Shanghai SLAC Laboratory Animal CO., Ltd (China)。藉由流體動力注射含有1.2倍長度之HBV序列的pAAV-1.2HBV-GTA質體來構築HDI-HBV小鼠模型。在注射後第18天使用HBsAg-陽性小鼠。將小鼠維持在Hagnzhou Eyoung Biotechnology Co., Ltd (China)之BSL-2+動物設施中的無特定病原體條件下。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0811】在此研究中，**AUS1233/AUS1138**用作參考化合物。HBsAg ELISA套組係購自Autobio Diagnostics (China)。標準生理鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之化學螢光免疫分析分析儀(儀器模型：LUMO)進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0812】給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為4 mg/ml之目標濃度來製備。

【0813】動物給藥：總體研究設計展示於圖7中。將雄性HDI-HBV攜帶小鼠隨機分成各組。向各組給與40 mg/kg及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。在Eyoung之動物實驗

室進行HDI建模之後的18天經由SC向HBsAg-陽性小鼠給藥。

【0814】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天及第21天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0815】 血清樣本中之血清HBsAg含量使用購自Autobio Diagnostics (China)之HBsAg ELISA套組(批次號：20201116)來量測。簡言之，將50μl之25倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0816】 最大log10血清HBsAg降低對於**AUS1233/AUS1138**為-0.774 ± 0.111、對於**AUS1444**為-3.61 ± 1.65、對於**AUS1458**為-2.72 ± 1.24、對於**AUS1459**為-1.27 ± 0.21、對於**AUS1460**為-2.06 ± 1.78、對於**AUS1427/AUS1461**為-1.21 ± 0.35、對於**AUS1462**為-2.09 ± 2.23、對於**AUS1463**為-2.06 ± 0.05、對於**AUS1464**為-1.70 ± 1.39、對於**AUS1465**為-2.09±1.70、對於**AUS1463**為-1.38 ± 0.53、對於**AUS1467**為-2.80 ± 2.11、對於**AUS1468**為-0.844 ± 0.262、對於**AUS1470**為-0.910 ± 0.259、對於**AUS1471**為-0.814 ± 0.156、對於**AUS1472**為-1.95 ± 1.60、對於**AUS1473**為-1.87 ± 1.82、對於**AUS1474**為-1.59 ± 1.73、對於**AUS1475**為-3.06 ± 0.85、對於**AUS1476/AUS1493**為-2.79 ± 1.63、對於**AUS1478**為-1.16 ± 0.94、對於**AUS1479**為-0.903 ± 0.164、對於**AUS1489**為-1.64 ± 0.18、對於**AUS1490**為-1.58 ± 1.15、對於**AUS1443**為-2.94 ± 0.78且對於**AUS1322**為-3.10 ± 0.70。所有處理組之體重變化與生理鹽水組相當。結果顯示經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用遠佳於**AUS1233/AUS1138**。

實例7：C57BL/6小鼠中經修飾之寡核苷酸的急性毒性測試

【0817】此研究評估經修飾之寡核苷酸對C57BL/6小鼠中之血清丙胺酸胺基轉移酶(ALT)含量的急性毒性作用。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1322**、**AUS1465**、**AUS1466/AUS1495**、**AUS1467**、**AUS1468**、**AUS1469**、**AUS1470**、**AUS1471**、**AUS1472**、**AUS1473**、**AUS1474**、**AUS1475**、**AUS1476/AUS1493**、**AUS1477**、**AUS1478**、**AUS1479**、**AUS1488/AUS1497**、**AUS1489**、**AUS1490**。各化合物以60 mg/kg在第0天、第2天及第4天藉由SC給與三次。投與標準生理鹽水作為陰性對照。藉由酶聯免疫吸附分析(ELISA)量測血清樣本中之ALT含量。

【0818】雄性C57BL/6小鼠係購自Shanghai SLAC Laboratory Animal CO., Ltd (China)。將小鼠維持在Hagnzhou Eyoung Biotechnology Co., Ltd (China)之BSL-2+動物設施中的無特定病原體條件下。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0819】ALT ELISA套組係購自Elabscience Biotechnology Co., Ltd (China)。標準生理鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之酶免疫分析分析儀進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0820】給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為6 mg/ml之目標濃度來製備。

【0821】總體研究設計展示於圖8中。將雄性C57BL/6 WT小鼠隨機分成各組。藉由皮下注射向各組給與60 mg/kg及10 ml/kg體重之劑量體積

的一種化合物三次劑量，或等體積之標準生理鹽水作為對照。在Eyoung之動物實驗室經由SC向所有小鼠給藥。

【0822】 在給藥後第5天、第7天、第10天、第14天、第17天及第21天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0823】 最大血清ALT含量對於**AUS1233/AUS1138**為30.4 ± 14.8、對於**AUS1322**為335 ± 13、對於**AUS 1499**為10.7 ± 0.5、對於**AUS1466/AUS1495**為10.6 ± 1.4、對於AUS1467為11.8 ± 0.9、對於**AUS1468**為11.8 ± 3.8、對於**AUS1469**為9.16 ± 1.69、對於**AUS1470**為12.5 ± 1.1、對於**AUS1471**為11.8 ± 2.3、對於**AUS1472**為12.5 ± 1.1、對於**AUS1473**為16.6 ± 8.3、對於**AUS1474**為12.8 ± 2.5、對於**AUS1475**為13.5 ± 2.4、對於**AUS1476/AUS1493**為14.7 ± 2.6、對於**AUS1477**為15.1 ± 1.1、對於**AUS1478**為14.2 ± 0.6、對於**AUS1479**為13.1 ± 3.7、對於**AUS1488/AUS1497**為10.3 ± 1.3、對於**AUS1489**為14.6 ± 4.5、對於**AUS1490**為58.4 ± 13.5。除了**AUS1322**以外，所有處理組之體重變化與生理鹽水組相當。**AUS1322**在第14天下降3.75%。最大血清ALT含量之結果展示經修飾之寡核苷酸的安全性遠佳於**AUS1233/AUS1138**。

實例8：pcDNA3.1-preS2-GTD HDI-HBV小鼠中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0824】 此研究評估經修飾之寡核苷酸對HDI HBV GTD攜帶小鼠中HBsAg之血清含量的影響。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**、**AUS1463**、**AUS1476/AUS1493**。各化合物以15或

45 mg/kg藉由SC給與一次。投與標準生理鹽水作為陰性對照。藉由ELISA量測血清樣本中之HBsAg含量。

【0825】 雄性C57BL/6小鼠係購自Shanghai SLAC Laboratory Animal CO., Ltd (China)。藉由流體動力注射含有HBV序列之preS2的pcDNA3.1-preS2-GTD質體來構築HDI-HBV小鼠模型。在注射後第23天使用HBsAg-陽性小鼠。將小鼠維持在Hagnzhou Eyoung Biotechnology Co., Ltd (China)之BSL-2+動物設施中的無特定病原體條件下。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0826】 HBsAg ELISA套組係購自Autobio Diagnostics (China)。標準生理鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之化學螢光免疫分析分析儀(儀器模型：LUMO)進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0827】 給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為1.5及4.5 mg/ml之目標濃度來製備。

【0828】 總體研究設計展示於圖9中。將雄性HDI-HBV GTD攜帶小鼠隨機分成各組。向各組給與15或45 mg/kg及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。在Eyoung之動物實驗室進行HDI建模之後的23天經由SC向HBsAg-陽性小鼠給藥。

【0829】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第26天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以

獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0830】血清樣本中之血清HBsAg含量使用購自Autobio Diagnostics (China)之HBsAg ELISA套組(批次號：20201116)來量測。簡言之，將50μl之25倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0831】最大log10血清HBsAg降低對於**AUS1233/AUS1138** (15)為-0.482 ± 0.153 log10、對於**AUS1463** (15)為-0.917 ± 0.258、對於**AUS1476/AUS1493** (15)為-0.891 ± 0.107、對於**AUS1233/AUS1138** (45)為 -1.95±1.13、對於**AUS1463** (45)為 -2.04±0.28 且對於**AUS1476/AUS1493** (45)為-1.86 ± 0.19。所有處理組之體重變化與生理鹽水組相當。結果顯示GTD HDI-HBV小鼠中經修飾之寡核苷酸(**AUS1463**及**AUS1476/AUS1493**)之抗病毒作用等於或更佳於**AUS1233/AUS1138**。

實例9：pcDNA3.1-preS2-GTA HDI-HBV攜帶小鼠中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0832】此研究評估經修飾之寡核苷酸對HDI-HBV攜帶小鼠中HBsAg之血清含量的影響。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**及**AUS1476/AUS1493**。各化合物以15或45 mg/kg藉由SC給與一次。投與標準生理鹽水作為陰性對照。藉由ELISA量測血清樣本中之HBsAg含量。

【0833】雄性C57BL/6小鼠係購自Shanghai SLAC Laboratory Animal CO., Ltd (China)。藉由流體動力注射含有HBV序列之preS2的pcDNA3.1-preS2-GTA質體來構築HDI-HBV小鼠模型。在注射後第23天

使用HBsAg-陽性小鼠。將小鼠維持在Hagnzhou Eyoung Biotechnology Co., Ltd (China)之BSL-2+動物設施中的無特定病原體條件下。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0834】 HBsAg ELISA套組係購自Autobio Diagnostics (China)。標準生理鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之化學螢光免疫分析分析儀(儀器模型：LUMO)進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0835】 給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為1.5及4.5 mg/ml之目標濃度來製備。

【0836】 總體研究設計展示於圖10中。將雄性HDI-HBV攜帶小鼠隨機分成各組。向各組給與15或45 mg/kg及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。在Eyoung之動物實驗室進行HDI建模之後的23天經由SC向HBsAg-陽性小鼠給藥。

【0837】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第26天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0838】 血清樣本中之血清HBsAg含量使用購自Autobio Diagnostics (China)之HBsAg ELISA套組(批次號：20201116)來量測。簡言之，將50μl之20倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商

之說明書量測HBsAg含量。

【0839】 最大log10血清HBsAg降低對於**AUS1233/AUS1138** (15)為-0.304 ± 0.077 log10、對於**AUS1476/AUS1493** (15)為-0.592 ± 0.094、對於**AUS1233**、**AUS1138** (45)為-0.842 ± 0.127，且對於**AUS1476/AUS1493** (45)為-1.76 ± 0.10。所有處理組之體重變化與生理鹽水組相當。結果顯示，GTA HDI-HBV攜帶小鼠中不同劑量之**AUS1476/AUS1493**的功效更佳於**AUS1233/AUS1138**。

實例10：基因型A HBV轉殖基因小鼠中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0840】 此研究評估經修飾之寡核苷酸對HBV轉殖基因小鼠中HBsAg之血清含量的影響。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**及**AUS1476/AUS1493**。各化合物以45 mg/kg藉由SC給與一次。投與標準生理鹽水及**AUS1233/AUS1138**分別作為陰性對照及陽性對照。藉由酶聯免疫吸附分析(ELISA)量測血清樣本中之HBsAg含量及HBeAg含量。最大log10血清HBsAg降低對於**AUS1233/AUS1138**為-1.768 ±0.16 log10且對於**AUS1476/AUS1493**為-2.483±0.27。所有處理組之體重變化與生理鹽水組相當。

【0841】 由具有1.2倍長度之HBV A亞型基因體的5至7週齡雄性及雌性C57BL/6小鼠製備的HBV轉殖基因小鼠在肝臟中穩定表現HBsAg。小鼠係獲自Xiamen University且飼養在浙江中醫藥大學(Zhejiang Chinese Medical University) (China)之BSL-2+動物設施的無特定病原體條件下。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0842】 HBsAg ELISA套組係購自Autobio Diagnostics (China)。HBeAg ELISA套組係購自Beijing BGI-BGIN Biotech (China)。標準生理

鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之化學螢光免疫分析分析儀(儀器模型：LUMO)及Pulangbio之微量盤讀取器進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0843】給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為4.5 mg/ml之目標濃度來製備。

【0844】總體研究設計展示於圖11中。將雄性及雌性HBV轉殖基因小鼠隨機分成各組。向各組給與45 mg/kg及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。在Eyoung之動物實驗室經由SC向所有小鼠給藥。

【0845】在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第29天自大腿靜脈獲取約80 µl血液樣品。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0846】血清樣本中之血清HBsAg含量使用購自Autobio Diagnostics (China)之HBsAg ELISA套組(批次號：20201116)來量測。簡言之，將50µl之20倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0847】最大log10血清HBsAg降低對於**AUS1233/AUS1138**為-1.79 ± 0.16 log10且對於**AUS1463**為-2.25 ± 0.28，且對於**AUS1476/AUS1493**為-2.21 ± 0.27。結果顯示，GTA HBV轉殖基因小鼠

中**AUS1476/AUS1493**之功效更佳於**AUS1233/AUS1138**。

實例11：AAV-HBV攜帶小鼠(GTD)中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0848】此研究評估經修飾之寡核苷酸對AAV HBV小鼠中HBsAg之血清含量的影響。HBV HDI小鼠模型基於將AAV-HBV質體流體動力注射至雄性C57BL/6小鼠中。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括**AUS1233/AUS1138**及**AUS1476/AUS1493**。各化合物分別以15 mg/kg、45 mg/kg及90 mg/kg藉由SC給與一次。投與標準生理鹽水及**AUS1233/AUS1138**分別作為陰性對照及陽性對照。藉由ELISA量測在血清樣本中之HBsAg、HBeAg及ALT含量。藉由即時PCR使用Taqman探針量測血清樣本中之HBV DNA含量。

【0849】雄性AAV HBV-GTD C57BL/6小鼠係來自浙江大學第一醫院(The First Hospital of Zhejiang University)。藉由注射含有HBV序列1×10^{11} vg AAV-GTD質體來構築HDI-HBV小鼠模型。將小鼠維持在浙江大學第一醫院的BSL-2+動物設施中的無特定病原體條件下。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0850】HBsAg ELISA套組係購自Autobio Diagnostics (China)。ALT及AST ELISA套組係購自Elabscience Biotechnology Co., Ltd (China)。標準生理鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之化學螢光免疫分析分析儀(儀器模型：LUMO)進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0851】給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為1.5 mg/ml、4.5 mg/ml及9

mg/ml之目標濃度來製備。

【0852】 動物給藥。總體研究設計展示於圖12中。將雄性AAV-HBV攜帶小鼠隨機分成各組。向小鼠分別給與15 mg/kg、45 mg/kg及90 mg/kg的一種化合物。10 ml/kg體重之劑量體積或等體積之標準生理鹽水用作對照。

【0853】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0854】 血清樣本中之血清HBsAg含量使用購自Autobio Diagnostics (China)之HBsAg ELISA套組(批次號：20201116)來量測。簡言之，將50μl之20倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0855】 最大log10血清HBsAg降低對於**AUS1233/AUS1138** (15)為-0.413 ± 0.309 log10、對於**AUS1476/AUS1493** (15)為-0.736 ± 0.481、對於**AUS1233/AUS1138** (45)為-1.274 ± 0.456、對於**AUS1476/AUS1493**為-1.713 ± 0.585、對於**AUS1233/AUS1138** (90)為-1.724 ± 0.194、對於**AUS1476/AUS1493**為-2.394 ± 0.408。結果顯示，AAV-HBV攜帶小鼠(GTD)中**AUS1476/AUS1493**之功效更佳於**AUS1233/AUS1138**。

實例12：C57BL/6小鼠中經修飾之寡核苷酸的急性毒性作用

【0856】 此研究評估經修飾之寡核苷酸對C57BL/6小鼠中之血清ALT及AST含量的急性毒性作用。此研究中使用的經修飾之寡核苷酸包括

AUS1233/AUS1138、**AUS1463**、**AUS1476/AUS1493**。各化合物以60 mg/kg在第0天、第2天及第4天藉由SC給與三次。標準生理鹽水用作陰性對照。藉由HITACHI AUTOMATIC ANALYZER 3100量測全血樣本中之血液常規。藉由ELISA量測血清樣本中之ALT及AST含量。

【0857】雄性C57BL/6小鼠係購自Shanghai SLAC Laboratory Animal CO., Ltd (China)。將小鼠維持在Hagnzhou Eyoung Biotechnology Co., Ltd (China)之BSL-2+動物設施中的無特定病原體條件下。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0858】ALT及ELISA套組係購自Elabscience Biotechnology Co., Ltd (China)。標準生理鹽水係購自Beijing Sanyao Science & Technology Development (China)。使用Autobio之酶免疫分析分析儀進行ELISA。用Thermo Fisher Scientific (USA)之製備型超離心機進行血液之離心。

【0859】給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成20 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為6 mg/ml及15 mg/ml之目標濃度來製備。

【0860】動物給藥--總體研究設計展示於圖13中。將雄性C57BL/6小鼠隨機分成各組。各化合物在第0天、第2天及第4天以60 mg/kg藉由皮下注射(SC)及10 μl/g體重之劑量體積給與三次，或等體積之標準生理鹽水作為對照。

【0861】在給藥後第7天、第14天、第17天、第21天及第27天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步分析。

【0862】 在給藥後第17天自大腿靜脈獲得約50 μl之血液樣本。血液樣本藉由EDTA-2Na抗凝血劑進行抗凝且進行稀釋。將獲得之抗凝血劑血液稀釋樣本儲存於4℃冰箱中以用於血液常規分析。

【0863】 分析--血清ALT含量使用購自Elabscience Biotechnology Co.,Ltd (China)之ALT ELISA套組(編號：E-BC-K235-M)來量測。簡言之，將50μl之2倍稀釋小鼠血清或標準物添加至96孔盤中，根據製造商之說明書量測HBsAg含量。

【0864】 血清ALT及AST含量之結果展示本發明經修飾之寡核苷酸具有比**AUS1233/AUS1138**更高的安全水準。

實例13：HepG2.2.15細胞中eASO化合物之抗病毒作用

【0865】 eASO化合物之抗病毒作用藉由量測HepG2.2.15細胞中B型肝炎病毒(HBV)表面抗原(HBsAg)及HBV e抗原(HBeAg)之含量來評估。HBsAg含量係藉由化學螢光免疫分析量測，HBeAg含量係藉由ELISA分析量測且細胞存活率係藉由MTT細胞增殖分析測定。計算結果表示為平均值及SD。

【0866】 可穩定表現HBsAg及HBeAg之HepG2.2.15細胞係購自中國典型培養物保藏中心(CCTCC號GDC0141)。eASO化合物溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水或不含RNA酶之雙重蒸餾H_2O (dd H_2O)中以製成50 μM之目標儲備溶液來製備。

【0867】 eASO化合物設定為一系列濃度(0、0.037、0.11、0.34、1、3.1、9.3、27.8、83.3、250 nM)且藉由逆向轉染作用於HepG2.2.15細胞。首先，96孔細胞培養盤之每孔覆蓋有50 ul鼠尾膠原蛋白I且一小時後將其移除。其次，P3000及Lipofectamine® 3000試劑用Opti-MEM™減血

清培養基稀釋且與連續稀釋化合物溶液混合，接著在室溫下培育10分鐘。第三，將P3000、Lipo3000及eASO之10 ul轉染劑混合物及具有3.5×10^{5}個細胞之濃度的100ul細胞懸浮液添加至各孔中。

【0868】 將混合物用移液管移取4或5次且將培養盤置放於37℃培育箱中。在逆向轉染24h之後，用新鮮細胞培養基更換培養基。在培養48h之後，收集上清液以用於偵測。將剩餘細胞用於細胞存活率測試。所得資料以EC50 (nM)及MTT CC25 (nM)形式呈現於**表14.1**中。藉由用AUS1010至AUS1714 (SEQ ID NO:11至666)中任一者的經修飾之寡核苷酸處理後測定的EC50值除以用AUS1233 (SEQ ID NO: 10)之參考寡核苷酸處理後測定的EC50值來計算EC50 (nM)比率。較低EC50比率值表明經修飾之寡核苷酸相對於參考寡核苷酸降低HBsAg含量之能力增加。藉由用AUS1010至AUS1714 (SEQ ID NO:11至666)中任一者的經修飾之寡核苷酸處理後測定的MTT CC25值除以用AUS1233 (SEQ ID NO: 10)之參考寡核苷酸處理後的MTT CC25值來計算MTT CC25 (nM)比率。較高MTT CC25比率表明相對於參考寡核苷酸之細胞存活率增加。藉由MTT CC25比率值除以EC50值來計算C/E比率。較高C/E比率表明HBsAg含量平衡降低同時維持高細胞存活率。

實例14：HepG2.2.15細胞中eASO化合物之抗病毒作用

【0869】 eASO化合物之抗病毒作用藉由量測HepG2.2.15細胞中B型肝炎病毒(HBV)表面抗原(HBsAg)及HBV e抗原(HBeAg)之含量來評估。HBsAg含量係藉由化學螢光免疫分析量測，HBeAg含量係藉由ELISA分析量測且細胞存活率係藉由CCK-8細胞增殖分析測定。計算結果表示為平均值及SD。

【0870】 可穩定表現HBsAg及HBeAg之HepG2.2.15細胞係購自中國典型培養物保藏中心(CCTCC號GDC0141)。eASO化合物溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水或不含RNA酶之雙重蒸餾H2O (dd H2O)中以製成50 μM之目標儲備溶液來製備。

【0871】 eASO化合物設定為一系列濃度(0、0.037、0.11、0.34、1、3.1、9.3、27.8、83.3、250 nM)且藉由逆向轉染作用於HepG2.2.15細胞。首先，96孔細胞培養盤之每孔覆蓋有50 ul鼠尾膠原蛋白I且一小時後將其移除。其次，P3000及Lipofectamine® 3000試劑用Opti-MEM™減血清培養基稀釋且與連續稀釋化合物溶液混合，且將其在室溫下培育10分鐘。第三，將P3000、Lipo3000及eASO之10 ul轉染劑混合物及具有3.5×10^5個細胞之濃度的100ul細胞懸浮液添加至各孔中。將混合物用移液管移取4或5次且將培養盤置放於37℃培育箱中。在逆向轉染24h之後，用新鮮細胞培養基更換培養基。48h之後，收集上清液以用於HBsAg偵測。對於細胞存活率測試，在逆向轉染48h後移除細胞上清液，且添加CCK-8試劑以偵測吸光度。所得資料呈現於**表14.1**中，藉由用AUS1010至AUS1714 (SEQ ID NO:11至666)中任一者的經修飾之寡核苷酸處理後測定的EC50值除以用AUS1233 (SEQ ID NO: 10)之參考寡核苷酸處理後測定的EC50值來計算EC50 (nM)比率。較低EC50比率值表明經修飾之寡核苷酸相對於參考寡核苷酸降低HBsAg含量之能力增加。藉由用AUS1010至AUS1714 (SEQ ID NO:11至666)中任一者的經修飾之寡核苷酸處理後測定的CCK8 CC30值除以用AUS1233 (SEQ ID NO: 10)之參考寡核苷酸處理後測定的CCK8 CC30值來計算CCK8 CC30比率。較高CCK8 CC30比率表明相對於參考寡核苷酸之細胞存活率增加。藉由CCK8 CC30比率值除以EC50值來計算C/E比率。較高C/E比率表明HBsAg含量平衡降低同時

維持高細胞存活率。

表14.1：藉由MMT及/或CCK8增殖分析HepG2.2.15細胞中之eASO化合物的抗病毒作用

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
12	AUS1011	2.9	0.1	0.050
13	AUS1012	>250	>250	
14	AUS1013	39.19	>250	
15	AUS1014	>250	>250	
16	AUS1015	1.84	>250	
18	AUS1017	5.5	2.6	0.47
33	AUS1036	10.75	2.30	0.21
34	AUS1037	1.69	2.23	1.32
35	AUS1038	1.53	1.39	0.91
36	AUS1039	8.14	2.35	0.29
37	AUS1042	2.38	1.57	0.66
38	AUS1043	1.41	1.51	1.07
39	AUS1044	2.47	1.09	0.44
40	AUS1045	3.09	1.49	0.48
41	AUS1046	3.65	2.13	0.58
42	AUS1049	1.42	2.11	1.49
43	AUS1050	0.90	1.65	1.83
44	AUS1051	1.66	2.14	1.30
45	AUS1052	1.54	1.18	0.77
46	AUS1053	1.86	1.16	0.62
47	AUS1054	2.16	0.89	0.41
48	AUS1055	2.25	0.54	0.24
49	AUS1056	2.32	1.51	0.65
50	AUS1057	1.33	0.80	0.60
51	AUS1058	1.64	0.95	0.58
52	AUS1059	2.14	0.75	0.35
53	AUS1060	2.19	1.33	0.61
54	AUS1061	1.05	0.82	0.78
55	AUS1062	2.84	2.09	0.74
56	AUS1063	5.26	1.88	0.36
57	AUS1064	6.19	2.45	0.40
58	AUS1065	2.50	1.66	0.66
59	AUS1066	2.50	2.28	0.91
60	AUS1067	3.67	1.60	0.44
61	AUS1068	2.61	1.50	0.57
62	AUS1069	1.72	1.11	0.64
63	AUS1070	1.90	1.43	0.75
64	AUS1071	2.54	2.34	0.92
65	AUS1072	2.80	2.36	0.84
66	AUS1073	1.65	1.20	0.72

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
67	AUS1074	3.41	1.03	0.30
68	AUS1075	5.06		
69	AUS1076	1.55		
70	AUS1077	1.83		
71	AUS1078	2.66	1.26	0.48
72	AUS1079	3.94	1.45	0.37
73	AUS1081	2.95	1.20	0.41
74	AUS1082	2.03	0.54	0.27
75	AUS1083	1.98	0.69	0.35
76	AUS1084	3.71	>250	
77	AUS1085	2.41	>250	
78	AUS1086	3.68	>250	
79	AUS1087	5.59	>250	
80	AUS1088	4.93	>250	
81	AUS1089	2.81	>250	
82	AUS1090	2.07	>250	
83	AUS1091	2.08	0.94	0.45
84	AUS1092	9.62	>250	
85	AUS1093	7.07	>250	
86	AUS1094	2.83	>250	
87	AUS1095	2.42	>250	
88	AUS1096	1.87	>250	
89	AUS1097	1.59	>250	
90	AUS1098	1.70	>250	
91	AUS1099	1.55	>250	
92	AUS1100	1.75	>250	
93	AUS1101	5.73	>250	
94	AUS1102	17.14	>250	
96	AUS1105	1.24	0.88	0.71
97	AUS1106	1.80	1.06	0.59
98	AUS1107	2.63	1.37	0.52
99	AUS1108	1.78	0.93	0.52
100	AUS1109	1.21	0.85	0.71
101	AUS1110	2.16	1.14	0.53
102	AUS1111	2.66	1.64	0.62
103	AUS1112	2.18	1.13	0.52
104	AUS1113	1.82	1.13	0.62
105	AUS1114	1.66	1.09	0.66
106	AUS1116	2.40	1.24	0.52
107	AUS1117	1.94	1.11	0.57
108	AUS1118	1.93	1.31	0.68
109	AUS1119	1.92	0.97	0.50
110	AUS1120	2.89	0.72	0.25
111	AUS1121	3.15	3.54	1.12
112	AUS1122	3.12	0.54	0.17
113	AUS1123	2.31	0.98	0.42

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
114	AUS1124	1.02	0.59	0.58
115	AUS1125	2.08	1.45	0.69
116	AUS1126	1.19	0.82	0.69
117	AUS1127	1.43	0.76	0.53
118	AUS1128	1.46	0.90	0.62
119	AUS1129	1.62	1.02	0.63
120	AUS1130	1.68	0.85	0.50
121	AUS1131	2.06	0.92	0.45
122	AUS1132	4.88	2.41	0.49
123	AUS1133	3.15	1.16	0.37
124	AUS1134	1.55	0.89	0.57
125	AUS1135	1.68	0.90	0.54
126	AUS1136	1.54	0.87	0.57
127	AUS1137	1.63	0.80	0.49
132	AUS1143	1.28	0.81	0.63
133	AUS1144	2.16	0.66	0.31
134	AUS1145	1.95	0.64	0.33
135	AUS1146	2.15	0.60	0.28
136	AUS1147	2.14	0.59	0.27
137	AUS1148	1.93	0.98	0.51
138	AUS1149	1.80	0.83	0.46
139	AUS1151	1.11	0.82	0.74
140	AUS1152	2.43	1.43	0.59
141	AUS1153	3.35	1.58	0.47
142	AUS1154	2.67	3.05	1.14
143	AUS1156	9.465422	2.729780304	0.288395
144	AUS1157	9.9710755	2.654861737	0.266256
145	AUS1158	23.050224	3.163074364	0.137225
146	AUS1159	19.57928	2.076928408	0.106078
147	AUS1160	15.571917	2.499341604	0.160503
148	AUS1161	32.027347	2.46586735	0.076993
149	AUS1162	9.5	2.7	0.29
150	AUS1163	10.0	2.7	0.27
151	AUS1164	23.1	3.2	0.14
152	AUS1165	19.6	2.1	0.11
154	AUS1168	3.63	1.11	0.31
155	AUS1169	2.90	1.17	0.40
156	AUS1170	3.98	1.26	0.32
157	AUS1171	3.51	1.25	0.35
159	AUS1174	0.65	0.93	1.42
160	AUS1175	1.27	1.17	0.92
161	AUS1176	3.05	1.60	0.52
163	AUS1178	1.14	1.06	0.94
164	AUS1179	1.03	0.64	0.62
165	AUS1180	1.42	0.50	0.35
166	AUS1181	1.48	0.69	0.46

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
167	AUS1182	1.35	0.79	0.59
168	AUS1183	2.97	0.60	0.20
169	AUS1184	2.52	0.64	0.25
170	AUS1185	2.52	0.81	0.32
171	AUS1186	2.88	0.88	0.30
172	AUS1187	1.17	0.65	0.55
173	AUS1188	1.11	0.76	0.68
174	AUS1189	1.51	0.41	0.27
175	AUS1190	0.94	0.64	0.68
176	AUS1191	1.34	0.91	0.68
177	AUS1192	1.24	0.57	0.46
178	AUS1193	3.30	0.84	0.26
179	AUS1194	4.54	1.01	0.22
181	AUS1198	2.2	>250	
182	AUS1199	6.1	0.3	0.05
183	AUS1200	2.7	>250	
184	AUS1201	6.1	0.2	0.04
185	AUS1202	0.7	0.3	0.44
186	AUS1203	1.8	>250	
187	AUS1204	1.0	0.3	0.32
188	AUS1205	4.3	>250	
189	AUS1206	2.16	1.71	0.79
190	AUS1207	1.20	1.68	1.41
191	AUS1208	1.29	2.02	1.56
192	AUS1209	6.78	>250	
193	AUS1210	22.96	>250	
194	AUS1211	>250	>250	
195	AUS1212	2.2	0.9	0.39
196	AUS1213	1.6	0.7	0.41
197	AUS1214	1.3	0.6	0.50
198	AUS1215	1.1	0.4	0.35
199	AUS1216	1.6	0.4	0.25
200	AUS1217	1.8	0.3	0.16
201	AUS1218	1.2	0.5	0.44
202	AUS1219	0.9	0.3	0.30
203	AUS1220	1.7	0.6	0.35
205	AUS1224	2.7	1.2	0.46
206	AUS1225	8.8	2.2	0.26
207	AUS1226	19.1	3.0	0.16
208	AUS1227	21.4	2.8	0.13
209	AUS1228	32.4	4.4	0.14
211	AUS1232			
213	AUS1234	7.0	0.7	0.10
214	AUS1235	3.4	0.6	0.17
215	AUS1236	1.6	0.7	0.44
216	AUS1237	2.4	0.5	0.21

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
217	AUS1238	4.0	0.4	0.10
218	AUS1241	0.10	2.08	20.64
219	AUS1242	1.16	1.16	1.00
220	AUS1243	0.79	1.14	1.44
221	AUS1244	0.37	1.04	2.82
222	AUS1245	1.20	0.97	0.82
223	AUS1246	0.84	0.92	1.10
224	AUS1247	1.18	0.39	0.33
225	AUS1248	1.47	0.49	0.33
226	AUS1249	0.96	0.75	0.78
227	AUS1250	1.30	0.44	0.34
228	AUS1251	1.23	0.53	0.43
229	AUS1252	0.72	0.71	-0.99%
230	AUS1253	0.45	0.59	1.33
231	AUS1254	0.39	0.42	1.09
232	AUS1255	0.50	0.41	0.83
233	AUS1256	0.52	0.64	1.25
234	AUS1257	0.97	0.93	0.96
235	AUS1258	1.26	0.87	0.69
236	AUS1259	0.76	0.73	0.95
237	AUS1260	0.61	0.82	1.34
238	AUS1261	1.10	1.11	1.02
239	AUS1262	0.94	1.16	1.24
240	AUS1263	0.50	1.04	2.09
241	AUS1264	0.45	0.96	2.12
242	AUS1266	2.04	3.37	1.65
243	AUS1267	1.25	0.98	0.78
244	AUS1268	1.81	1.18	0.65
245	AUS1269	1.06	1.06	1.00
246	AUS1270	1.52	1.31	0.86
247	AUS1271	2.03	1.38	0.68
248	AUS1272	2.78	1.34	0.48
249	AUS1274	1.32	0.45	0.34
250	AUS1275	0.97	0.34	0.35
251	AUS1277	0.48	0.81	1.69
252	AUS1278	0.29	1.02	3.48
253	AUS1279	0.55	0.72	1.31
254	AUS1280	0.51	0.67	1.31
255	AUS1281	0.40	0.95	2.39
256	AUS1282	0.29	0.85	2.92
257	AUS1283	0.21	0.58	2.73
258	AUS1284	0.28	0.92	3.22
259	AUS1285	0.18	0.61	3.35
260	AUS1286	0.38	0.66	1.75
261	AUS1287	0.38	0.94	2.44
262	AUS1288	0.21	0.98	4.65

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
263	AUS1289	0.30	0.62	2.06
264	AUS1290	0.25	0.84	3.41
265	AUS1291	0.11	0.56	5.05
266	AUS1292	0.15	0.58	3.88
267	AUS1293	0.18	0.65	3.63
268	AUS1294	0.12	0.47	3.74
269	AUS1295	0.14	0.44	3.04
270	AUS1296	0.17	0.58	3.44
271	AUS1298	1.37	1.03	0.75
272	AUS1299	1.88	1.18	0.62
273	AUS1300	1.04	0.89	0.85
275	AUS1302	1.55	0.88	0.57
276	AUS1303	0.96	1.19	1.24
277	AUS1304	1.02	1.49	1.46
278	AUS1305	1.33	1.78	1.34
279	AUS1306	1.46	1.12	0.77
280	AUS1307	1.78	1.01	0.57
281	AUS1308	1.23	1.02	0.83
282	AUS1309	1.89	1.11	0.59
283	AUS1310	1.79	0.98	0.55
284	AUS1311	1.86	1.00	0.54
285	AUS1312	1.34	1.26	0.94
286	AUS1313	1.67	1.45	0.87
287	AUS1314	2.13	1.18	0.56
288	AUS1315	1.46	1.21	0.83
289	AUS1316	1.91	1.42	0.74
290	AUS1317	1.63	1.22	0.75
291	AUS1318	1.83	1.19	0.65
292	AUS1319	1.38	1.17	0.84
293	AUS1320	2.08	1.43	0.69
294	AUS1322	0.76	1.15	1.52
295	AUS1323	0.94	1.32	1.41
296	AUS1324	1.12	1.30	1.16
298	AUS1326	0.14	0.92	6.60
299	AUS1327	0.11	0.98	9.20
300	AUS1328	0.10	1.00	9.79
301	AUS1329	0.09	0.88	9.97
302	AUS1332	0.12	3.04	25.45
303	AUS1333	0.6	0.6	0.90
304	AUS1334	0.7	0.6	0.90
305	AUS1335	0.8	1.3	1.53
306	AUS1336	0.8	1.7	2.05
307	AUS1337	0.4	1.3	3.04
308	AUS1338	0.3	0.8	2.59
309	AUS1340	0.29	0.80	2.80
310	AUS1341	0.26	0.70	2.64

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
311	AUS1342	0.40	0.63	1.58
312	AUS1343	0.37	0.85	2.31
313	AUS1344	0.29	0.83	2.84
314	AUS1345	0.24	0.65	2.63
315	AUS1346	0.15	0.59	3.94
316	AUS1347	0.22	0.44	2.01
317	AUS1348	0.22	0.84	3.80
318	AUS1349	0.14	0.59	4.34
319	AUS1350	0.15	0.57	3.80
320	AUS1351	0.23	0.66	2.89
321	AUS1352	0.16	0.73	4.59
322	AUS1353	0.15	0.51	3.48
323	AUS1354	0.12	0.40	3.44
324	AUS1355	0.13	0.60	4.61
325	AUS1356	0.19	0.73	3.80
326	AUS1357	0.14	0.56	4.02
327	AUS1358	0.12	0.60	4.86
328	AUS1359	0.32	0.71	2.23
329	AUS1360	0.09	0.80	8.61
330	AUS1361	0.13	0.89	6.85
331	AUS1362	0.10	-0.99%	9.71
332	AUS1365	0.08	1.94	24.34
333	AUS1366	24.42	>250	
334	AUS1367	0.23	0.63	2.72
336	AUS1370	0.74	1.10	1.49
337	AUS1371	1.66	1.47	0.89
338	AUS1372	0.92	1.44	1.56
339	AUS1373	0.24	1.34	5.62
340	AUS1374	0.74	1.12	1.51
341	AUS1375	1.02	0.89	0.87
342	AUS1376	0.56	0.93	1.66
343	AUS1377	0.27	1.06	3.93
344	AUS1378	0.48	0.93	1.93
345	AUS1379	0.77	0.69	0.89
346	AUS1382	0.18	1.06	5.99
347	AUS1383	0.13	0.97	7.39
348	AUS1384	0.15	1.03	6.86
349	AUS1385	0.23	0.90	3.98
350	AUS1387	1.29	0.82	0.64
351	AUS1388	0.09	0.92	9.72
352	AUS1389	0.13	0.71	5.31
353	AUS1390	0.15	0.76	4.92
354	AUS1391	0.19	0.76	3.96
355	AUS1392	0.25	0.71	2.81
356	AUS1393	0.27	0.70	2.59
357	AUS1394	0.24	0.87	3.58

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
358	AUS1395	0.17	0.97	5.76
359	AUS1396	0.13	0.95	7.48
372	AUS1409	0.04	1.61	38.05
373	AUS1410	0.07	1.25	17.88
374	AUS1411	0.08	0.83	10.18
375	AUS1412	0.06	0.88	14.00
376	AUS1413	0.07	0.84	12.46
377	AUS1414	0.07	0.72	10.98
378	AUS1415	0.06	0.75	13.29
385	AUS1422	0.10	-0.99%	10.07
386	AUS1423	0.07	-0.99%	13.47
387	AUS1424	0.08	0.97	12.62
388	AUS1425	0.10	0.95	9.21
389	AUS1426	0.08	0.83	10.02
390	AUS1427	0.07	0.77	11.07
391	AUS1428	0.08	0.92	11.95
392	AUS1429	0.08	1.22	15.74
393	AUS1430	0.07	1.19	17.15
394	AUS1431	0.05	1.04	19.01
395	AUS1432	0.05	1.19	23.71
396	AUS1433	0.10	1.09	10.92
397	AUS1434	0.76	1.15	1.52
398	AUS1435	0.18	1.22	6.70
399	AUS1436	0.24	1.11	4.65
400	AUS1437	0.37	1.33	3.63
401	AUS1438	0.15	0.89	5.76
402	AUS1439	0.34	1.25	3.72
403	AUS1440	0.18	1.23	6.75
404	AUS1441	0.70	1.31	1.85
406	AUS1443	0.18	0.96	5.25
407	AUS1444	0.22	0.93	4.17
408	AUS1445	0.25	1.01	4.03
409	AUS1446	0.40	1.46	3.67
410	AUS1447	0.52	1.11	2.12
411	AUS1448	0.67	1.07	1.59
412	AUS1449	0.74	1.04	1.41
413	AUS1450	0.96	1.26	1.32
414	AUS1451	0.70	1.22	1.75
415	AUS1452	0.54	1.09	2.00
416	AUS1453	0.84	1.22	1.46
417	AUS1454	0.65	1.00	1.52
418	AUS1455	0.59	1.06	1.80
419	AUS1456	0.56	1.08	1.91
420	AUS1457	0.53	1.15	2.15
421	AUS1458	0.22	0.95	4.38
422	AUS1459	0.25	1.08	4.33

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
423	AUS1460	0.23	1.29	5.71
424	AUS1461	0.40	1.75	4.41
425	AUS1462	0.25	1.77	7.14
426	AUS1463	0.27	1.74	6.37
427	AUS1464	0.38	2.10	5.45
428	AUS1465	0.43	1.32	3.03
429	AUS1466	0.19	1.20	6.15
430	AUS1467	0.24	1.14	4.72
431	AUS1468	0.25	1.30	5.29
432	AUS1469	0.25	1.22	4.90
433	AUS1470	0.16	1.16	7.09
434	AUS1471	0.18	1.23	7.03
435	AUS1472	0.19	1.31	7.01
436	AUS1473	0.14	1.37	9.49
437	AUS1474	0.16	1.42	9.05
438	AUS1475	0.18	1.31	7.39
439	AUS1476	0.10	1.49	15.50
440	AUS1477	0.20	1.28	6.24
441	AUS1478	0.37	1.33	3.62
442	AUS1479	0.13	1.56	12.00
443	AUS1480	0.14	1.27	8.90
444	AUS1481	0.14	1.05	7.43
445	AUS1482	0.14	0.90	6.63
446	AUS1483	0.14	1.07	7.62
447	AUS1484	0.47	1.24	2.65
448	AUS1485	0.54	1.24	2.29
449	AUS1486	0.76	1.46	1.92
450	AUS1487	0.68	1.63	2.39
451	AUS1488	0.20	1.73	8.62
452	AUS1489	0.18	1.81	10.33
453	AUS1490	0.16	1.77	11.26
455	AUS1492	0.25	1.33	5.32
456	AUS1493	0.38	1.63	4.25
457	AUS1494	0.22	1.47	6.59
458	AUS1495	0.42	1.45	3.42
466	AUS1505	29.7	0.6	0.02
491	AUS1530	>250	>250	
492	AUS1531	>250	>250	
493	AUS1532	>250	>250	
494	AUS1533	>250	>250	
495	AUS1534	>250	>250	
496	AUS1535	35.9	>250	
497	AUS1536	1.71	>250	
498	AUS1537	1.89	>250	
499	AUS1538	3.33	>250	
500	AUS1539	5.75	>250	

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
501	AUS1540	3.29	>250	
502	AUS1541	1.69	>250	
503	AUS1542	1.04	>250	
504	AUS1543	3.98	>250	
505	AUS1544	>250	>250	
506	AUS1545	35.96	>250	
507	AUS1546	1.65	0.76	0.46
508	AUS1547	>250	>250	
509	AUS1548	>250	>250	
510	AUS1549	>250	>250	
511	AUS1550	>250	>250	
512	AUS1551	9.57	>250	
513	AUS1552	6.70	>250	
539	AUS1578	2.9	1.8	0.62
540	AUS1579	2.0	0.5	0.24
541	AUS1580	6.9	1.1	0.16
542	AUS1581	3.2	0.4	0.11
543	AUS1582	2.00	2.82	1.41
544	AUS1583	2.16	0.82	0.38
545	AUS1584	1.08	0.80	0.74
546	AUS1585	1.19	0.82	0.69
547	AUS1586	0.49	0.91	1.88
548	AUS1587	0.94	1.78	1.90
549	AUS1588	4.31	1.07	0.25
550	AUS1589	-0.99%	1.41	1.42
551	AUS1590	2.86	3.82	1.33
552	AUS1591	>250	5.82	
553	AUS1592	5.7	3.1	0.53
554	AUS1593	4.0	2.6	0.67
555	AUS1594	2.6	1.8	0.68
556	AUS1595	2.7	1.2	0.45
557	AUS1596	2.8	3.5	1.25
558	AUS1597	1.3	1.6	1.21
559	AUS1598	1.9	1.5	0.77
560	AUS1599	1.6	0.4	0.27
561	AUS1600	1.8	0.8	0.46
562	AUS1601	7.5	8.9	1.18
563	AUS1602	1.2	0.6	0.55
564	AUS1603	0.9	0.9	-0.99%
565	AUS1604	1.3	1.1	0.85
566	AUS1605	1.7	7.4	4.40
567	AUS1606	1.1	1.2	1.04
568	AUS1607	1.8	1.8	1.00
569	AUS1608	2.1	3.0	1.44
570	AUS1609	1.0	0.8	0.78
571	AUS1610	1.5	1.1	0.75

SEQ ID NO:	ID	EC_{50}比率	MTT CC25或CCK8 CC30比率	C/E比率
572	AUS1611	1.4	1.2	0.86
573	AUS1612	1.0	0.5	0.51
574	AUS1613	1.2	0.7	0.56
575	AUS1614	2.9	1.3	0.46
576	AUS1615	2.4	2.3	0.96
577	AUS1616	1.4	2.6	1.88
578	AUS1617	1.3	1.8	1.32
579	AUS1618	2.3	0.8	0.37
580	AUS1619	5.9	4.3	0.72
581	AUS1620	6.7	>250	
582	AUS1621	11.7	0.8	0.07
583	AUS1622	17.6	4.1	0.23
584	AUS1623	11.9	>250	
585	AUS1624	1.5	>250	
586	AUS1625	1.1	>250	
587	AUS1626	4.2	>250	
588	AUS1627	7.1	2.4	0.33
589	AUS1628	11.4	2.7	0.24
590	AUS1629	20.8	3.9	0.19
591	AUS1630	2.4	>250	
614	AUS1653	0.45		0.00
615	AUS1654	0.67		0.00
616	AUS1655	0.43		0.00
617	AUS1656	1.14	0.29	0.26
618	AUS1657	0.44		0.00
619	AUS1658	0.78		0.00
620	AUS1659	0.87		0.00
621	AUS1660	0.63		0.00
624	AUS1663			
627	AUS1666			
631	AUS1670	1.12	3.19	2.84
639	AUS1679	1.4	>250	
641	AUS1683	1.23	0.78	0.63
642	AUS1684	2.74	2.19	0.80
643	AUS1685	2.66	0.98	0.37
659	AUS1705	5.7	0.3	
660	AUS1708	43.0	>250	
661	AUS1709	41.4	>250	
662	AUS1710	5.95	0.17	0.03
664	AUS1712			
665	AUS1713	5.6	3.0	0.54
666	AUS1714	8.5	3.7	0.43

實例15：基因型C 1.0 HBV轉殖基因小鼠中經修飾之寡核苷酸的抗病毒作用

【0872】 為評估經修飾之寡核苷酸化合物對基因型C 1.0 HBV (HBV-GTC)轉殖基因小鼠中HBsAg之血清含量的影響，各化合物以10、30或40 mg/kg藉由皮下注射(SC)向小鼠給與一次且注射體積為10 ml/kg。投與標準生理鹽水作為陰性對照。化學螢光免疫分析分析量測血清樣本中之HBsAg含量。所得資料表示為平均值及SD。

【0873】 由具有1.0倍長度之HBV C1亞型基因體的5至7週齡雄性C57BL/6小鼠製備的HBV轉殖基因小鼠在肝臟中穩定表現HBsAg。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0874】 經修飾之寡核苷酸給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為目標濃度來製備。

【0875】 根據血清HBsAg含量將雄性HBV轉殖基因小鼠隨機分成各組。藉由皮下注射向各組給與目標濃度及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。

【0876】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及/或第28天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步HBsAg分析。

【0877】 表15.1至15.7 (**圖14至圖20**)展示此實驗之結果。表15.1 (**圖14**)展示在第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1684、AUS1322、AUS1323或AUS1324處理後，在第28天觀測到相對於參考化合物AUS1233，HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且

增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。對於各組測試n=5隻小鼠。

【0878】 表15.2 (**圖15**)展示第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1169、AUS1171、AUS1170、AUS1168或AUS1322處理後，在第28天觀測到相對於參考化合物AUS1233，HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。各組中測試n=4隻小鼠。

【0879】 表15.3 (**圖16**)展示在第0天用單次30 mg/kg皮下劑量之AUS1434、AUS1435、AUS1440、AUS1436、AUS1437、AUS1438、AUS1439、AUS1422、AUS1424、AUS1425、AUS1427、AUS1428、AUS1430、AUS1431或AUS1432處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物AUS1233，HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。各組中測試n=2或3隻小鼠。

【0880】 表15.4 (**圖17**)展示在第0天用單次30 mg/kg皮下劑量之AUS1463、AUS1466、AUS1476、AUS1472、AUS1489或AUS1459處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物AUS1233，HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。各組中測試n=4隻小鼠。

【0881】 表15.5 (**圖18**)展示在第0天用單次30 mg/kg皮下劑量之AUS1492、AUS1495、AUS1494或AUS1493處理後，在第28天觀測到相對於參考化合物AUS1233，HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。各組中測試n=4隻小鼠。

【0882】 表15.6 (**圖19**)展示在第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之

AUS1695處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物AUS1233，HBsAg之血清含量降低>1.4倍，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。各組中測試n=1或2隻小鼠。

【0883】 表15.7 (**圖20**)之第1列及第2列展示相對於在第0天用單次10mg/kg皮下劑量之AUS1233處理，在第0天用單次10 mg/kg皮下劑量之AUS1493處理後，在第28天的HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。表15.7 (**圖20**)之第3列及第4列展示相對於在第0天用單次30mg/kg皮下劑量之AUS1233處理，在第0天用30 mg/kg皮下劑量之AUS1493處理後，在第28天的HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

實例16：HDI-HBV攜帶小鼠中經修飾之寡核苷酸化合物的抗病毒作用

【0884】 為評估經修飾之寡核苷酸化合物對基因型A、B、C及D (GT-A/B/C/D)流體動力-注射HBV (HDI-HBV)小鼠中HBsAg之血清含量的影響，各化合物以目標劑量藉由皮下注射(SC)向小鼠給與一次且注射體積為10 ml/kg。投與標準生理鹽水作為陰性對照。藉由化學螢光免疫分析分析量測血清樣本中之HBsAg含量。所得資料表示為平均值及SD。

【0885】 在5至7週齡雄性C57BL/6小鼠中藉由流體動力注射目標濃度的含有HBV序列之GT-A/B/C/D pcDNA3.1-preS2/S質體 (或pAAV-1.2HBV質體)溶液構築HDI-HBV小鼠模型，在注射之後2至3週使用HBsAg-陽性小鼠。動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0886】 經修飾之寡核苷酸給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為目標濃度來製

備。

【0887】 根據血清HBsAg含量將雄性GT-A/B/CD HDI-HBV小鼠隨機分成各組。藉由皮下注射向各組給與目標濃度及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。

【0888】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天、第21天、第22天及/或第28天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步HBsAg分析。

【0889】 表16.1至16.18 (**圖21至圖38**)展示此實驗之結果。表16.1 (**圖21**)展示在第0天用單次60 mg/kg皮下劑量之AUS1684、AUS1322、AUS1323或AUS1324處理後，在第28天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-D HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0890】 表16.2 (**圖22**)展示在第0天單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1169、AUS1171、AUS1170或AUS1168後，在GT-D HDI HBV小鼠中得到的HBsAg之血清含量，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0891】 表16.3 (**圖23**)展示在第0天用單次60 mg/kg皮下劑量之AUS1173或AUS1174處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-D HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0892】 表16.4 (**圖24**)展示在第0天用單次60 mg/kg皮下劑量之

AUS1173、AUS1178、AUS1185、AUS1186、AUS1188、AUS1190、AUS1192、AUS1193、AUS1183、AUS1325、AUS1326、AUS1327、AUS1328、AUS1329、AUS1175、AUS1361或AUS1362處理後，在第14天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-D HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0893】 表16.5 (**圖25**)展示在第0天用單次60 mg/kg皮下劑量之AUS1322、AUS1382、AUS1383、AUS1384或AUS1385處理後，在第22天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-D HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0894】 表16.6 (**圖26**)展示在第0天用單次60 mg/kg皮下劑量之AUS1322、AUS1388、AUS1389、AUS1390、AUS1392、AUS1393、AUS1396、AUS1403、AUS1409、AUS1411、AUS1413、AUS1414或AUS1415處理後，在GT-D HDI HBV小鼠中得到的HBsAg之血清含量。

【0895】 表16.7 (**圖27**)展示在第0天用單次60 mg/kg皮下劑量之AUS1387、AUS1326、AUS1328、AUS1388、AUS1390、AUS1403或AUS1360後，在GT-D HDI HBV小鼠中得到的HBsAg之血清含量。

【0896】 表16.8 (**圖28**)展示在第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1434、AUS1435、AUS1440、AUS1436、AUS1437、AUS1438、AUS1439、AUS1441、AUS1422、AUS1423、AUS1424、AUS1425、AUS1426、AUS1427、AUS1428、AUS1429、AUS1430、AUS1431、AUS1432或AUS1433處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物

AUS1233，GT-D HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0897】 表16.9 (**圖29**)展示在第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1444、AUS1458、AUS1459、AUS1460、AUS1461、AUS1462、AUS1463、AUS1464、AUS1465、AUS1466、AUS1467、AUS1468、AUS1469、AUS1470、AUS1471、AUS1472、AUS1473、AUS1474、AUS1476、AUS1477、AUS1478、AUS1479、AUS1480、AUS1481、AUS1482、AUS1488、AUS1489、AUS1490、AUS1443、AUS1444或AUS1445處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-D HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0898】 表16.10 (**圖30**)展示在第0天用單次15 mg/kg皮下劑量之AUS1492或AUS1493處理後，在第28天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-D HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0899】 表16.11 (**圖31**)之第1列、第2列及第3列展示相對於在第0天用單次15 mg/kg皮下劑量之AUS1233處理，在第0天用單次15 mg/kg皮下劑量之AUS1492或AUS1493處理後，在第28天觀測到GT-A HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0900】 表16.11 (**圖31**)之第3列、第4列及第5列展示相對於在第0天用單次45 mg/kg皮下劑量之AUS1233處理，在第0天用單次45 mg/kg皮下劑量之AUS1492或AUS1493處理後，在第28天觀測到GT-A HDI HBV

小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0901】 表16.12 (**圖32**)展示在第0天用單次15或45 mg/kg皮下劑量之AUS1441、AUS1466、AUS1472、AUS1488或AUS1489後，在GT-A HDI HBV小鼠中得到的HBsAg之血清含量。

【0902】 表16.13 (**圖33**)展示在第0天單次15或45 mg/kg皮下劑量之AUS1495、AUS1494、AUS1492或AUS1441後，在GT-D HDI HBV小鼠中得到的HBsAg之血清含量。

【0903】 表16.14 (**圖34**)展示在第0天單次15或45 mg/kg皮下劑量之AUS1495、AUS1494、AUS1492、AUS1482或AUS1441後，在GT-A HDI HBV小鼠中得到的HBsAg之血清含量。

【0904】 表16.15 (**圖35**)展示在第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1684處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-B HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0905】 表16.16 (**圖36**)展示在第0天用單次45 mg/kg皮下劑量之AUS1492或AUS1493處理後，在第28天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-A 1.2HBV轉殖基因小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0906】 表16.17 (**圖37**)展示在第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1396、AUS1422、AUS1423、AUS1424、AUS1426、AUS1427、AUS1428、AUS1429、AUS1430、AUS1431、AUS1432或AUS1433處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-A HDI HBV小

鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

【0907】 表16.18 (**圖38**)展示在第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1444、AUS1458、AUS1459、AUS1460、AUS1461、AUS1462、AUS1463、AUS1464、AUS1465、AUS1466、AUS1467、AUS1468、AUS1470、AUS1471、AUS1472、AUS1473、AUS1475、AUS1476、AUS1478、AUS1479、AUS1480、AUS1481、AUS1483、AUS1489、AUS1490、AUS1443或AUS1434處理後，在第21天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-A HDI HBV小鼠中HBsAg之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的經修飾之寡核苷酸抗病毒活性。

實例17：AAV-HBV攜帶小鼠中eASO化合物之抗病毒作用

【0908】 為評估eASO化合物對腺相關病毒-B型肝炎病毒(AAV-HBV)傳染小鼠中HBsAg之血清含量的影響，各化合物以目標劑量藉由皮下注射(SC)向小鼠給與一次且注射體積為10 ml/kg。投與標準生理鹽水作為陰性對照。

【0909】 準備4至5週齡的雄性C57BL/6小鼠，所有小鼠在給藥前第0天以每隻小鼠含1×10^{11}個AAV-HBV載體基因體之200 μL磷酸鹽緩衝鹽水經由尾部靜脈注射。在模型開發階段期間監測動物臨床體徵每天兩次，且在給藥前第0天、第21天及第28天量測體重。將在給藥前第21天、第28天製備的每隻小鼠之血清樣本轉移至HBsAg、HBeAg及HBV DNA含量之定量偵測，在注射之後4至5週使用HBsAg-陽性小鼠。此等動物實驗之方法及目的係根據倫理標準及國際慣例。

【0910】 eASO給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成

10 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為目標濃度來製備。

【0911】 基於給藥前第28天的動物體重及血清HBsAg、HBeAg、HBV DNA含量，將所有傳染小鼠隨機分為各組。藉由皮下注射向各組給與目標濃度及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。

【0912】 在第0天(給藥前)，給藥後第3天、第7天、第10天、第14天、第21天及第28天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步HBsAg、HBeAg、HBV DNA分析。血清HBsAg及HBeAg含量使用ARCHITECT i2000 (Abbott Laboratories，Lake Bluff，IL，USA)以支援試劑來偵測。血清HBV DNA含量藉由QuantStudio™ 3系統系統(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)以偵測套組(Sansure Biotech Inc., Changsha, Hunan, China)來分析。

【0913】 表17 (**圖39**)展示此實驗之結果，在第0天用單次40 mg/kg皮下劑量之AUS1493處理後，在第28天觀測到相對於參考化合物AUS1233，GT-D AAV HBV小鼠中HBsAg/HBeAg/HBV DNA之血清含量降低，從而表明相對於AUS1233的持久且增強的eASO抗病毒活性。

實例18：雄性C57BL/6小鼠中eASO化合物之毒性評估

【0914】 為評估eASO化合物對雄性C57BL/6小鼠中丙胺酸胺基轉移酶(ALT)及天冬胺酸胺基轉移酶(AST)之血清含量的影響，各化合物在第0天、第2天、第4天藉由皮下注射(SC)以目標劑量給與三次且注射體積為10 ml/kg。投與標準生理鹽水作為陰性對照。

【0915】 準備6至7週齡的雄性C57BL/6小鼠。eASO給藥溶液藉由將各化合物溶解於生理鹽水中以製成20 mg/ml之儲備溶液，將其用生理鹽水再稀釋為目標濃度來製備。

【0916】 基於動物體重，將所有小鼠隨機分為各組。藉由皮下注射向各組給與目標濃度及10 ml/kg體重之劑量體積的一種化合物或等體積之標準生理鹽水作為對照。

【0917】 在給藥後第7天、第10天、第14天、第21天及第28天自大腿靜脈獲取約80 μl血液樣本。將血液樣本置放於37℃下之培育箱中約30分鐘，且隨後在預冷卻(0至4℃)離心機中離心以獲得血清樣本。將獲得之血清樣本儲存於-20℃冰箱中以用於進一步ALT及AST分析。使用比色分析套組偵測血清ALT及AST含量。

【0918】 表18.1至18.2 (**圖40至圖41**)展示此實驗之結果。該等表展示在第0天、第2天及第4天以60 mg/kg藉由SC向小鼠給藥(每組n=3隻小鼠)時，相對於參考化合物AUS1233，WT雄性C57BL/6小鼠中ALT之血清含量降低。在用AUS1434、AUS1435、AUS1440、AUS1436、AUS1437、AUS1438、AUS1439、AUS1441、AUS1178、AUS1190、AUS1188、AUS1192、AUS1422、AUS1423、AUS1424、AUS1425、AUS1426、AUS1427、AUS1428、AUS1429、AUS1430、AUS1431、AUS1432、AUS1433、AUS1360、AUS1401、AUS1361、AUS1362、AUS1443、AUS1444、AUS1445、AUS1446、AUS1447、AUS1448、AUS1449、AUS1450、AUS1452、AUS1453、AUS1454、AUS1455、AUS1456或AUS1457處理後，在第21天觀測到血清ALT含量之降低，從而表明相對於AUS1233之eASO毒性隨時間推移而降低。此等結果展示，

經修飾之寡核苷酸可使得血清ALT含量在第21天降低1.2倍至7.7倍，從而表明毒性降低。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種包含經修飾之寡核苷酸的化合物，該經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - W2 3' (式I)

其中：

W1為5'翼段；

W2為3'翼段；

G1為第一間隙段；

S1為第一分隔段；

G2為第二間隙段；

為核苷間鍵；且

該寡核苷酸之至少一個核苷經修飾。

【請求項2】

如請求項1之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - W2 3' (式II)

其中：

S2為第二分隔段；且

G3為第三間隙段。

【請求項3】

如請求項2之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - W2 3' (式III)

其中：

S3為第三分隔段；且

G4為第四間隙段。

【請求項4】

如請求項3之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - W2 3' (式IV)

其中：

S4為第四分隔段；且

G5為第五間隙段。

【請求項5】

如請求項4之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - S5 - G6 - W2 3' (式V)

其中：

S5為第五分隔段；且

G6為第六間隙段。

【請求項6】

如請求項5之化合物，其中該經修飾之寡核苷酸自5'至3'包含：

5' W1 - G1 - S1 - G2 - S2 - G3 - S3 - G4 - S4 - G5 - S5 - G6 - S6 - G7 - W2 3' (式VI)

其中：

S6為第六分隔段；且

G7為第七間隙段。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之化合物，其中W1包含一或多個連接之去氧核苷。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之化合物，其中W2包含一或多個連接之去氧核苷。

【請求項9】

如請求項1至8中任一項之化合物，其中W1包含2至25個連接之核苷。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之化合物，其中W2包含2至35個連接之核苷。

【請求項11】

如請求項1至10中任一項之化合物，其中G1包含1至10個連接之去氧核苷。

【請求項12】

如請求項1至11中任一項之化合物，其中G2包含1至10個連接之去氧核苷。

【請求項13】

如請求項1至12中任一項之化合物，其中S1包含1至3個連接之核苷。

【請求項14】

如請求項2至13中任一項之化合物，其中G3包含1至10個連接之去氧核苷。

【請求項15】

如請求項2至14中任一項之化合物，其中S2包含1至3個連接之核苷。

【請求項16】

如請求項3至15中任一項之化合物，其中G4包含1至10個連接之去氧核苷。

【請求項17】

如請求項3至16中任一項之化合物，其中S3包含1或2個連接之核苷。

【請求項18】

如請求項4至17中任一項之化合物，其中G5包含1至10個連接之去氧核苷。

【請求項19】

如請求項4至17中任一項之化合物，其中S4包含1至3個連接之核苷。

【請求項20】

如請求項5至19中任一項之化合物，其中G6包含1至10個連接之去氧核苷。

【請求項21】

如請求項5至19中任一項之化合物，其中S5包含1至3個連接之核苷。

【請求項22】

如請求項6至21中任一項之化合物，其中G7包含1至10個連接之去氧核苷。

【請求項23】

如請求項6至22中任一項之化合物，其中S6包含1至3個連接之核苷。

【請求項24】

如請求項1至23中任一項之化合物，其中該寡核苷酸之長度為18至50

個核鹼基。

【請求項25】

如請求項1至23中任一項之化合物，其中該寡核苷酸之長度為至少20個核鹼基。

【請求項26】

如請求項1至23中任一項之化合物，其中該寡核苷酸之長度為20個核鹼基。

【請求項27】

如請求項1之化合物，其中該寡核苷酸之長度為20個連接之核鹼基。

【請求項28】

如請求項27之化合物，其中W1包含4個連接之核苷。

【請求項29】

如請求項27之化合物，其中W1包含5個連接之核苷。

【請求項30】

如請求項27至29中任一項之化合物，其中G1包含4個連接之去氧核苷。

【請求項31】

如請求項27至29中任一項之化合物，其中G1包含5個連接之去氧核苷。

【請求項32】

如請求項27至29中任一項之化合物，其中G1包含6個連接之去氧核苷。

【請求項33】

如請求項27至32中任一項之化合物，其中G2包含4個連接之去氧核苷。

【請求項34】

如請求項27至32中任一項之化合物，其中G2包含5個連接之去氧核苷。

【請求項35】

如請求項27至32中任一項之化合物，其中G2包含6個連接之去氧核苷。

【請求項36】

如請求項27至33中任一項之化合物，其中S1包含至少一個連接之核苷。

【請求項37】

如請求項27至35中任一項之化合物，其中W2包含5個連接之核苷。

【請求項38】

如請求項27至35中任一項之化合物，其中W2包含6個連接之核苷。

【請求項39】

如請求項27至38中任一項之化合物，其中該S1在該寡核苷酸之位置10處。

【請求項40】

如請求項39之化合物，其中W1包含4個連接之核苷，G1包含5個連接之去氧核苷，S1包含1個連接之核苷，G2包含5個連接之去氧核苷，且W2包含5個連接之核苷。

【請求項41】

如請求項1之化合物，其中W1包含4至6個連接之核苷。

【請求項42】

如請求項41之化合物，其中W2包含4至6個連接之核苷。

【請求項43】

如請求項41至42中任一項之化合物，其中G1包含1至6個連接之去氧核苷。

【請求項44】

如請求項41至43中任一項之化合物，其中G2包含1至6個連接之去氧核苷。

【請求項45】

如請求項41至44中任一項之化合物，其中G3包含1至6個連接之去氧核苷。

【請求項46】

如請求項41至45中任一項之化合物，其中S1包含至少一個連接之核苷。

【請求項47】

如請求項41至46中任一項之化合物，其中該G1-S1-G2之長度在8與12個核鹼基長度之間。

【請求項48】

如請求項1至47中任一項之化合物，其中G1、G2、G3、G4、G5、G6及G7中之任一者或多者包含核苷，該核苷包含對2'-去氧核苷之修飾。

【請求項49】

如請求項48之化合物，其中G1、G2、G3、G4、G5、G6及G7中之

任一者或多者包含核苷，該核苷包含2'-去氧5-甲基胞苷糖修飾。

【請求項50】

如請求項1至49中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾。

【請求項51】

如請求項1至49中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含5-甲基胞苷。

【請求項52】

如請求項1至49中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾。

【請求項53】

如請求項1至52中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-OH糖修飾。

【請求項54】

如請求項1至53中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。

【請求項55】

如請求項1至54中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)糖修飾。

【請求項56】

如請求項1至55中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含乙二醇核酸(GNA)。

【請求項57】

如請求項1至56中任一項之化合物，其中S1、S2、S3、S4、S5及/或S6包含LNA。

【請求項58】

如請求項1至57中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-去氧糖修飾。

【請求項59】

如請求項58之化合物，其中該2'-去氧糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2及/或5處。

【請求項60】

如請求項1至59中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾。

【請求項61】

如請求項60之化合物，其中該2'-O-甲氧基乙基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置1、2、3、4及/或5處。

【請求項62】

如請求項1至61中任一項之化合物，其中W1包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處的2'-O-甲氧基乙基5-甲基胞苷。

【請求項63】

如請求項1至62中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾。

【請求項64】

如請求項63之化合物，其中該2'-O-甲基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置1、2、3、4及/或5處。

【請求項65】

如請求項63之化合物，其中W1包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處的2'-O-甲基5-甲基胞苷。

【請求項66】

如請求項1至65中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。

【請求項67】

如請求項1至66中任一項之化合物，其中W1包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)修飾。

【請求項68】

如請求項1至67中任一項之化合物，其中W1包含乙二醇核酸(GNA)。

【請求項69】

如請求項1至67中任一項之化合物，其中該GNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置2處。

【請求項70】

如請求項1至69中任一項之化合物，其中W1包含經修飾之核苷且其中該經修飾之核苷為鎖核酸(LNA)。

【請求項71】

如請求項70之化合物，其中該LNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置1及/或3處。

【請求項72】

如請求項1至71中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含

2'-去氧糖修飾。

【請求項73】

如請求項72之化合物，其中該2'-去氧糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置15及/或16處。

【請求項74】

如請求項1至73中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖修飾。

【請求項75】

如請求項74之化合物，其中該2'-O-甲氧基乙基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置15、16、17、18、19及/或20處。

【請求項76】

如請求項74之化合物，其中W2包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置20處的2'-O-甲氧基乙基5-甲基胞苷。

【請求項77】

如請求項1至76中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-O-甲基糖修飾。

【請求項78】

如請求項77之化合物，其中該2'-O-甲基糖修飾在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置15、16、17、18、19及/或20處。

【請求項79】

如請求項77之化合物，其中W2包含在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置20處的2'-O-甲基5-甲基胞苷。

【請求項80】

如請求項1至79中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-氟糖修飾。

【請求項81】

如請求項1至80中任一項之化合物，其中W2包含核苷，該核苷包含2'-氟-阿拉伯糖核酸(2'-氟-ANA)修飾。

【請求項82】

如請求項1至81中任一項之化合物，其中W2包含經修飾之核苷且其中該經修飾之核苷為乙二醇核酸(GNA)。

【請求項83】

如請求項1至82中任一項之化合物，其中W2包含經修飾之核苷且其中該經修飾之核苷為鎖核酸(LNA)。

【請求項84】

如請求項83之化合物，其中該LNA在對應於SEQ ID NO: 2之序列之位置16、17、18、19及/或20處。

【請求項85】

如請求項1至84中任一項之化合物，其中至少一個核苷間鍵為磷酸二酯鍵。

【請求項86】

如請求項1至85中任一項之化合物，其中至少一個核苷間鍵為經修飾之核苷間鍵。

【請求項87】

如請求項86之化合物，其中該經修飾之核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

【請求項88】

如請求項1至86中任一項之化合物，其中該寡核苷酸與HBV基因體之聚核苷酸序列之一部分互補。

【請求項89】

如請求項88之化合物，其中該HBV基因體為HBV GT-A、GT-B、GT-C、GT-D、GT-E、GT-F、GT-G或GT-H之基因體。

【請求項90】

如請求項88之化合物，其中該寡核苷酸與SEQ ID NO: 3及667至674中任一者之聚核苷酸序列之一部分至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%互補。

【請求項91】

如請求項88之化合物，其中該寡核苷酸與SEQ ID NO: 1、4及675至838中任一者之聚核苷酸序列互補。

【請求項92】

如請求項1至91中任一項之化合物，其中該寡核苷酸包含對應於SEQ ID NO: 2之序列之核鹼基序列。

【請求項93】

一種化合物，其包含SEQ ID NO:11至666中任一者之經修飾之寡核苷酸，或包含至少1、2、3、4或5個對其之其他修飾的寡核苷酸。

【請求項94】

一種化合物，其包含SEQ ID NO:11至666中任一者之經修飾之寡核苷酸，或與其具有至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%

序列一致性的寡核苷酸。

【請求項95】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至94中任一項之化合物或其鹽，及至少一種醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【請求項96】

一種調配物，其包含約100 mg/mL、150 mg/mL或200 mg/mL之化合物，該化合物包含SEQ ID NO:456之經修飾之寡核苷酸序列或包含至少1、2、3、4或5個對其之其他修飾的寡核苷酸。

【請求項97】

一種降低個體中之HBV抗原含量之方法，其包含向該個體投與如請求項1至94中任一項之化合物、如請求項95之組合物或如請求項96之調配物。

【請求項98】

如請求項97之方法，其中該HBV抗原為HBsAg或HBeAg。

【請求項99】

如請求項97之方法，其中HBeAg含量降低。

【請求項100】

如請求項97之方法，其中HBsAg含量降低。

【請求項101】

如請求項97之方法，其中相對於投與包含SEQ ID NO: 10之經修飾之寡核苷酸序列的組合物的個體，該HBsAg含量降低至少約1.25倍。

【請求項102】

如請求項97之方法，其中相對於投與包含SEQ ID NO: 10之經修飾之

寡核苷酸序列的組合物的個體，該HBsAg含量降低約2倍至約10倍。

【請求項103】

一種降低患有HBV之個體之肝毒性及/或持久性的方法，其包含向個體投與如請求項1至94中任一項之化合物、如請求項95之組合物或如請求項96之調配物。

【請求項104】

如請求項103之方法，其中相對於投與包含SEQ ID NO: 10之經修飾之寡核苷酸序列的組合物的個體，ALT、ALP及/或AST含量視情況降低至少約1.25倍。

【請求項105】

一種預防、治療、減輕或減緩HBV相關疾病、病症或病狀之進展的方法，其包含向個體投與如請求項1至94中任一項之化合物、如請求項95之組合物或如請求項96之調配物。

【請求項106】

如請求項97至105中任一項之方法，其中向該個體投與至少一個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個劑量之該化合物、該組合物或該調配物。

【請求項107】

如請求項97至106中任一項之方法，其中該個體在第1天、第4天及第8天給藥。

【請求項108】

如請求項107之方法，其中該個體在第8天後每週給藥一次。

【請求項109】

如請求項97至108中任一項之方法，其中該個體在至少第1天、第4天及第8天、第15天及第22天給藥。

【請求項110】

如請求項107至109中任一項之方法，其中各劑量之量為實質上相同的量。

【請求項111】

如請求項97至110中任一項之方法，其中該劑量為約30 mg至約600 mg。

【請求項112】

如請求項97至110中任一項之方法，其中該劑量為約100 mg至約500 mg。

【請求項113】

如請求項97至110中任一項之方法，其中該劑量為約100 mg、約150 mg、約200 mg、約250 mg、約300 mg、約450 mg或約500 mg。

【請求項114】

如請求項97至113中任一項之方法，其中向個體投與係非經腸進行。

【請求項115】

如請求項97至113中任一項之方法，其中向個體投與係皮下進行。

【請求項116】

如請求項97至113中任一項之方法，其中向個體投與係經皮進行。

【請求項117】

如請求項97至113中任一項之方法，其中向個體投與係眼內進行。

【請求項118】

如請求項97至113中任一項之方法，其中向個體投與係肌內進行。

【請求項119】

如請求項97至113中任一項之方法，其中向個體投與係靜脈內進行。

【請求項120】

如請求項97至115中任一項之方法，其中該方法進一步包含向該個體投與至少第二藥劑。

【請求項121】

如請求項97至120中任一項之方法，其中該疾病、病症或病狀為肝臟疾病、病症或病狀。

【請求項122】

如請求項121之方法，其中該疾病、病症或病狀為黃疸、肝臟發炎、肝纖維化、發炎、肝硬化、肝臟衰竭、瀰漫性肝細胞發炎性疾病、吞噬血球症候群、血清肝炎、HBV感染、HBV病毒血症或肝臟疾病相關移植。

【請求項123】

如請求項121之方法，其中該疾病或病狀為過度增生性病狀。

【請求項124】

如請求項123之方法，其中該過度增生性病狀為肝癌。

【請求項125】

如請求項97至120中任一項之方法，其中該疾病、病症或病狀為D型肝炎病毒感染(HDV)，其中該個體雙重感染有HBV。

【請求項126】

如請求項97至125中任一項之方法，其中該個體為人類。

表 1

符號	說明	表示	實例
n	小寫	2'-去氧核苷	c代表2'-去氧5-甲基胞苷， a代表2'-去氧腺苷， g代表2'-去氧鳥苷，及 t代表2'-去氧胸苷。
N	大寫	2'-O-甲氧基乙基核苷	C代表2'-O-甲氧基乙基5-甲基胞苷， A代表2'-O-甲氧基乙基腺苷， G代表2'-O-甲氧基乙基鳥苷， T代表2'-O-甲氧基乙基胸苷，及 U代表2'-O-甲氧基乙基尿苷
C	大寫，加下劃線	2'-O-甲氧基乙基胞苷	C代表2'-O-甲氧基乙基胞苷(亦即具有2'-O-甲氧基乙基修飾之嘧啶去甲基化胞苷)。
c	小寫c，加下劃線	2'-去氧胞苷	c代表2'-去氧胞苷(亦即，嘧啶去甲基化2'-去氧胞苷)。
N	大寫斜體	2'-O-甲基核苷	C代表2'-O-甲基5-甲基胞苷， A代表2'-O-甲基腺苷， G代表2'-O-甲基鳥苷， T代表2'-O-甲基胸苷，及 U代表2'-O-甲基尿苷
n	小寫斜體	2'-OH核苷	c代表2'-OH 5-甲基胞苷(或5-甲基胞苷)， a代表2'-OH腺苷(或腺苷)， g代表2'-OH鳥苷(或鳥苷)，及 u代表2'-OH尿苷(或尿苷)。
N	大寫粗體	乙二醇核酸(GNA)	A代表具有腺嘌呤鹼基之GNA， C代表具有5-甲基胞嘧啶鹼基之GNA，
-N	前面有-符號之大寫	鎖核酸(LNA)	-A代表具有腺嘌呤鹼基之LNA， -C代表具有5-甲基胞嘧啶鹼基之LNA， -T代表具有鳥嘌呤鹼基之LNA， -T代表具有胸腺嘧啶鹼基之LNA， -U代表具有尿嘧啶鹼基之LNA，
-C	前面有-符號之大寫加下劃線	具有胞嘧啶鹼基之鎖核酸(LNA)	-C代表具有嘧啶胞嘧啶鹼基(去甲基化)之LNA，
N'	大寫後有'符號	2'-氟2'-去氧核苷	A'代表2'-氟2'-去氧腺苷， C'代表2'-氟2'-去氧5-甲基胞苷， G'代表2'-氟2'-去氧鳥苷， U'代表2'-氟2'-去氧尿苷
C'	大寫加下劃線後有'符號	2'-氟2'-去氧胞苷	C'代表2'-氟2'-去氧胞苷(去甲基化)
N"	大寫後有"符號	2'-F-阿拉伯糖核酸(2'-F-ANA)	A"代表具有腺嘌呤鹼基之2'-F-ANA T"代表具有胸腺嘧啶鹼基之2'-F-ANA G"代表具有鳥嘌呤鹼基之2'-F-ANA
C"	大寫加下劃線後有"符號	具有胞嘧啶鹼基之2'-F-ANA	C"代表具有胞嘧啶鹼基之2'-F-ANA

〔表 1〕

2023404468 (發明專利)

表1.2

SEQ ID NO:	AUS#	位置 -20 -19 -18 -17 -16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4 -3 -2 -1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50	长度
参考物			
10	AUS1233、AUS1138（参考物）	G C A G A g g t g e e g c g e A G T G C	21
不具有缺失			
11	AUS1020	g e e e g e e g e e g g e g e g e g g t g e e g c g e e g t g g g e e g e e g e e e	40
12	AUS1021	g e e g e g g t g e e g c g e e g t g e e e e e e e e e e e e e e e e e e e e	40
13	AUS1022	G C A G A G G T G A A G C G A A G T G C	20
14	AUS1023	G C A G A G G T G e e G C G A A G T G C	20
15	AUS1024	G C A G A G G T g e e g C G A A G T G C	20
16	AUS1025	G C A G A G g t g e e g c g A A G T G C	20
17	AUS1026	C A A A C A A C A A G C A G A g g t g e e g c g e A G T G C C A A C A A C A A A	40
18	AUS1027	G C A G A G G T G A A G C G A A G T G C	20
19	AUS1028	G C A G A G G T G A A G C G A A G T G C	20
具有翼修饰之不具有缺失			
20	AUS1021	-G C -A G A G G T G A e g c g A A G T G C	20
21	AUS1022	-G C -A G A G G T G e e g c g A A G T G C	20
22	AUS1023	-G C -A G A G G T g e e g c g A A G T G C	20
23	AUS1024	-G C -A G A G G T g e e g c G A A G T G C	20
24	AUS1025	-G C -A G A G G T g e e g c g A A G T G C	20
25	AUS1026	-G C -A G A G g t g e e g c g A A G T G C	20
26	AUS1027	-G C -A G A G g t g A e g c g A A G T G C	20
27	AUS1028	G c -A G A G G T g e e g c g A -A -G T G C	20
28	AUS1029	G c -A G A G g t g e e g c g A -A -G T G C	20
29	AUS1030	G c -A G A G g t g A e g c g A -A -G T G C	20
30	AUS1031	G c -A G A G g t g e e g c g A -A -G T G -	19
31	AUS1032	- c -A G A G g t g e e g c g A -A -G T G -	18
32	AUS1033	- - -A G A G g t g e e g c g A -A -G T - -	16
具有翼修饰之不具有缺失			
33	AUS1036	G C A G A G G t G A A G G G A A G T G C	20
34	AUS1037	G C A G A G g t g A e G c G e A G T G C	20
35	AUS1038	G C A G A G g t g A e g c G e A G T G C	20
36	AUS1039	G c A g A g G t G e A G C G A A G T G C	20
具有位移			
37	AUS1042	G A C G T g c e g e g g t g e A G C G A	20
38	AUS1043	A C G T G c e g e g g t g e e G C G A A	20
39	AUS1044	C G T G C e g e g g t g e e g C G A A G	20
40	AUS1045	G T G C A g e g g t g e e g c G A A G T	20
41	AUS1046	T G C A G e g g t g e e g c g A A G T G	20
分隔致位置变化			
42	AUS1049	G C A G A g g t g A e g c g e A G T G C	20
43	AUS1050	G C A G A g g t g A e g c g e A G T G C	20
44	AUS1051	G C A G A g g t g -A e g c g e A G T G C	20
45	AUS1052	G C A G A g g t g e e g c g A A G T G C	20
46	AUS1053	G C A G A g g t g e e g c G e A G T G C	20
47	AUS1054	G C A G A g g t g e e g C g e A G T G C	20
48	AUS1055	G C A G A g g t g e e G c g e A G T G C	20
49	AUS1056	G C A G A g g t g e A g c g e A G T G C	20
50	AUS1057	G C A G A g g t g A e g c g e A G T G C	20
51	AUS1058	G C A G A g g t G e e g c g e A G T G C	20
52	AUS1059	G C A G A g g T g e e g c g e A G T G C	20
53	AUS1060	G C A G A g G t g e e g c g e A G T G C	20
54	AUS1061	G C A G A G g t g e e g c g e A G T G C	20
55	AUS1062	G C A G A g G t g e e g c G e A G T G C	20
56	AUS1063	G C A G A g g T g e e g C g e A G T G C	20
57	AUS1064	G C A G A g g t G e e G c g e A G T G C	20
58	AUS1065	G C A G A g g t g A A g c g e A G T G C	20
59	AUS1066	G C A G A g g t g A e G c g e A G T G C	20
60	AUS1067	G C A G A g g t g A e g C g e A G T G C	20
61	AUS1068	G C A G A g g t g A e g c G e A G T G C	20
62	AUS1069	G C A G A g g t g A e g c g A A G T G C	20
63	AUS1070	G C A G A g g t G e A g c g e A G T G C	20
64	AUS1071	G C A G A g g T g e A g c g e A G T G C	20

【表2】

表1.2續

SEQ ID NO:	AUS#	位置 -20 -19 -18 -17 -16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4 -3 -2 -1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50	%#
65	AUS1072	G C A G A g G t g e A g o g e A G T G C	20
66	AUS1073	G C A G A G g t g e A g o g e A G T G C	20
67	AUS1074	G C A G A g G t g A e g C g e A G T G C	20
68	AUS1075	G C A G A g g T g e A g o G e A G T G C	20
69	AUS1076	G C A G A g g t g A e g o g e A G T G C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C	40
70	AUS1077	G C A G A g g t g e A g o g e A G T G C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C	40
71	AUS1078	G C A G A C g t g e e g o G e A G T G C	20
72	AUS1079	G C A G A g g t G e e g o G e A G T G C	20
	具有其他1-3個差異之突變序列之高度相關		
73	AUS1081	G T G A A G o g e e g t g o e C A C G G	20
74	AUS1082	G T G A A g C g e e g t g o e C A C G G	20
75	AUS1083	G T G A A g o G e e g t g o e C A C G G	20
76	AUS1084	G T G A A g o g A e g t g o e C A C G G	20
77	AUS1085	G T G A A g o g e A g t g o e C A C G G	20
78	AUS1086	G T G A A g o g e e G t g o e C A C G G	20
79	AUS1087	G T G A A g o g e e g T g o e C A C G G	20
80	AUS1088	G T G A A g o g e e g t G o e C A C G G	20
81	AUS1089	G T G A A g o g e e g t g C e C A C G G	20
82	AUS1090	G T G A A g o g e e g t g o A C A C G G	20
83	AUS1091	G T G A A g o g e A G t g o e C A C G G	20
84	AUS1092	G T G A A g o g e A g T g o e C A C G G	20
85	AUS1093	G T G A A g o g e A g t G o e C A C G G	20
86	AUS1094	G T G A A g o g e A g t g C e C A C G G	20
87	AUS1095	G T G A A g o g e A g t g o A C A C G G	20
88	AUS1096	G T G A A g o g A e G t g o e C A C G G	20
89	AUS1097	G T G A A g o G e e G t g o e C A C G G	20
90	AUS1098	G T G A A g C g e e G t g o e C A C G G	20
91	AUS1099	G T G A A G o g e e G t g o e C A C G G	20
92	AUS1100	G T G A A G o g e A g t g C e C A C G G	20
93	AUS1101	G T G A A g C g e e G t g o A C A C G G	20
94	AUS1102	G T G A A g C g e A g t G o e C A C G G	20
95	AUS1103	G T G A A g o G e e G t g C e C A C G G	20
	分別具位置變化		
96	AUS1104	G C A G A g g t g e e g o g e A G T G C	20
97	AUS1105	G C A G A g g t g e e g o g e A G T G C	20
98	AUS1107	G C A G A g g m g e e g o g e A G T G C	20
99	AUS1108	G C A G A g g t g e e g o g e A G T G C	20
100	AUS1109	G C A G A g g t g m e g o g e A G T G C	20
101	AUS1110	G C A G A g g t g e m g o g e A G T G C	20
102	AUS1111	G C A G A g g t g e e g m o g e A G T G C	20
103	AUS1112	G C A G A g g t g e e g c o g e A G T G C	20
104	AUS1113	G C A G A g g t g e e g o g e A G T G C	20
105	AUS1114	G C A G A g g t g e e g o g m A G T G C	20
106	AUS1116	G C A G A g g e g e e g o g e A G T G C	20
107	AUS1117	G C A G A g g t g e e g o g e A G T G C	20
108	AUS1118	G C A G A g g t g t e g o g e A G T G C	20
109	AUS1119	G C A G A g g t g e t g o g e A G T G C	20
110	AUS1120	G C A G A g g t g e e g o g e A G T G C	20
111	AUS1121	G C A G A g g t g e e g g g e A G T G C	20
112	AUS1122	G C A G A g g t g e e g o g e A G T G C	20
113	AUS1123	G C A G A g g t g e e g o g t A G T G C	20
114	AUS1124	G C A G A g g t g e e g o g e T G T G C	20
115	AUS1125	G C A G A g g t g e e g o g e A G T G C	20
116	AUS1126	G C A G A G g t g e e g o g e A G T G C	20
117	AUS1127	G C A G A g G t g e e g o g e A G T G C	20
118	AUS1128	G C A G A g g U g e e g o g e A G T G C	20
119	AUS1129	G C A G A g g t G e e g o g e A G T G C	20
120	AUS1130	G C A G A g g t g A e g o g e A G T G C	20
121	AUS1131	G C A G A g g t g e A g o g e A G T G C	20
122	AUS1132	G C A G A g g t g e e G o g e A G T G C	20
123	AUS1133	G C A G A g g t g e e g C g e A G T G C	20
124	AUS1134	G C A G A g g t g e e g o G e A G T G C	20
125	AUS1135	G C A G A g g t g e e g o g A e A G T G C	20
126	AUS1136	G C A G A G g t g e A g o g e A G T G C	20

（表2）（續）

202340468

表1.2續

SEQ ID NO:	AUS#	位置 -20 -19 -18 -17 -16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4 -3 -2 -1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50	N#
127	AUS137	G C A G A g g t g A z g o g A A G T G C	20
128	AUS139	G G T C C g g o z g z t g z g A A G G C	20
129	AUS140	C C G G C z g z t g z g z z g G C A C A	20
130	AUS141	G G C A C z g z o g g g g z g T C C G C	20
131	AUS142	G T C C G c g t z z z g z g z G G T G C	20
132	AUS143	G C A G A g g T g z z g o g z A G U G C	20
133	AUS144	G C A G A g g t g A z g o g z A G U G C	20
134	AUS145	G C A G A g g t g z A g o g z A G U G C	20
135	AUS146	G C A G A g g t g z z g o G z A G U G C	20
136	AUS147	G C A G A g g t g A z g o G z A G U G C	20
137	AUS148	G C A G A g g t g A z g o g z A G T G C	20
138	AUS149	G C A G A g g t g z A g o g z A G T G C	20
139	AUS150	G C A G A G g t g z A g o g z A C T G C	20
140	AUS152	G C A G A G g t g z A g o g z A G A G C	20
141	AUS153	G C A G A G g t g z A g o g z A G T C C	20
142	AUS154	G C A G A G g t g z A g o g z A G T G C	20
143	AUS156	G C A G A g g t g z z g C g z A G T G C	20
144	AUS157	G C A G A g g t g z z g o g z A G T G C	20
145	AUS158	G C A G A g g t g z z g C g z A G T G C	20
146	AUS159	G C A G A G g t g z A g C g z A G T G C	20
147	AUS160	G C A G A G g t g z A g o g z A G T G C	20
148	AUS161	G C A G A G g t g z A g C g z A G T G C	20
149	AUS162	G C A G A G g t g z A g C g z -A G -T G -C	20
150	AUS163	G C A G A G g t g z A g C g z -A G -T G -C	20
151	AUS164	G C A G A g g t g A z g C g A -A G -T G -C	20
152	AUS165	G C -A C A G g t g z A g C g z -A G -T G -C	20
153	AUS166	t g z g t g t g z z C g t t C g z g z t g z	22
154	AUS168	G C A G A g g t g z A g o g z A G T G C	20
155	AUS169	G C A G A g g t g A z g o g z A G T G C	20
156	AUS170	G C A G A g g t g A z g o g A A G T G C	20
157	AUS171	G C A G A G g t g z A g o g z A G T G C	20
158	AUS173	G C A G A g g t g A z g o g z A G T G C	20
159	AUS174	G C A G A g g t g A z g o g z A G T G C	20
160	AUS175	G C A G z g g t g A z g o g z A G T G C	20
161	AUS176	G C A g z g g t g A z g o g z A G T G C	20
162	AUS177	G C A G A g g t g z z g o g z A G U G C	20
163	AUS178	G C A G A g g t g A z g o g z A G U G C	20
164	AUS179	G C A G A G g t g z z g o g z A G U G C	20
165	AUS180	G C A G A G t g z z g o g z A G U G C	20
166	AUS181	G C A G A g g U g z z g o g z A G U G C	20
167	AUS182	G C A G A g g t G z z g o g z A G U G C	20
168	AUS183	G C A G A g g t g z A g o g z A G U G C	20
169	AUS184	G C A G A g g t g z z G o g z A G U G C	20
170	AUS185	G C A G A g g t g z z g C g z A G U G C	20
171	AUS186	G C A G A g g t g z z g o G z A G U G C	20
172	AUS187	G C A G A g g t g z z g o g A A G U G C	20
173	AUS188	G C A G A g g t g A z g o g A A G U G C	20
174	AUS189	G C A G A G g t g z A g o g z A G U G C	20
175	AUS190	G C A G A g g t g A z g o g z A G U G C	20
176	AUS191	G C A G A g g t g z A g o g z A G U G C	20
177	AUS192	G C A G A g g t g A z g o g A A G U G C	20
178	AUS193	G C A G A g g t g z z g t g z A G U G C	20
179	AUS194	G C A G A g g t g A z g t g z A G U G C	20
天王蓋太八			
180	AUS197	C A A A C A A C A A G C A G A g g t g z z g o g z A G T G C C A A A C A A C A A A	40
181	AUS198	A A A C A A C A A A G C A G A g g t g z z g o g z A G T G C C A A A C A A C A A A	40
182	AUS199	A A A C A A C A A A g o z g z g g t g z z g o g z z g t g o A A A C A A C A A A	40
183	AUS200	A C A A A G C A G A g g t g z z g o g z A G T G C C A A A C A	30
184	AUS201	A C A A A g o z g z g g t g z z g o g z z g t g o A A A C A	30
185	AUS202	G C A G A g g t g z z g o g z A G T G C A A A C A A C A A A C A A C A A A A C A A	40
186	AUS203	G C A G A g g t g z z g o g z A G T G C A A A C A A C A A A	30
187	AUS204	A A C A A A C A A C A A A C A A C A A A G C A G A g g t g z z g o g z A G T G C	40

【表2】（續）

CZS3282DA.pdf
112.10.03
發明說明 A0202
第 41 頁，共 511 頁(發明說明-D)

表1-2續

SEQ ID NO:	ASS #	位置	
188	ASS.205	A A A C A A C A A A G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C	30
189	ASS.206	C C T G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A C A	26
190	ASS.207	C T G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A C	24
191	ASS.208	T G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A	22
192	ASS.209	- C A C A g g t g a a g o g a A G T G -	18
193	ASS.210	- - A C A g g t g a a g o g a A G T - -	16
194	ASS.211	- - - C A g g t g a a g o g a A G - - -	14
195	ASS.212	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A A C A C	23
196	ASS.213	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A A C A C A A C A C	30
197	ASS.214	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A A C A C A A C A A C A C	33
198	ASS.215	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C	40
199	ASS.216	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C	43
200	ASS.217	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C	30
201	ASS.218	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A A A C A A C A A A C A A C A A A C A A	40
202	ASS.219	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A C A C A C A C A C A C A C A C A C A C	40
203	ASS.220	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C	40
204	ASS.221	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C A C A C A C A C A C A C A C A C A C A C	40
真右分屋我之不言算太小			
205	ASS.224	G C A C A g g t g A a g o g a A G T G -	19
206	ASS.225	- C A C A g g t g A a g o g a A G T G -	18
207	ASS.226	- - A C A g g t g A a g o g a A G T G -	17
208	ASS.227	- C A C A g g t g A a g o g a A G T - -	17
209	ASS.228	- - A C A g g t g A a g o g a A G T - -	16
210	ASS.231	g g a g a g g t g a a g g g a a g t g g	20
211	ASS.232	G C A G A g g t g a a g g g a A G T G C	20
212	ASS.233	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C	20
213	ASS.234	A A C A A g g t g a a g o g a A G T G C	20
214	ASS.235	G C A C A g g t g a a g o g a A A C A A	20
215	ASS.236	G C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
216	ASS.237	g o a g a g g t g a a g o g a a g t g o	20
217	ASS.238	g o a g a g g t g a a g o g a a g t g o a a a o a a o a a a	30
218	ASS.241	-G -C -A -C -A g g t g a a g o g a A G T G C	20
219	ASS.242	-G C A C A g g t g a A a g o g a A G T G C	20
220	ASS.243	-G -C A C A g g t g a A a g o g a A G T G C	20
221	ASS.244	-G C -A C A g g t g a A a g o g a A G T G C	20
222	ASS.245	-G C A -C A g g t g a A a g o g a A G T G C	20
223	ASS.246	-G C A C -A g g t g a A a g o g a A G T G C	20
224	ASS.247	G C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
225	ASS.248	G C A G A g g t g a a g o g a A G T G C A A C A C A A C A C A A C A C A A C A C	40
226	ASS.249	G C G A A g t g a a a g g g C C C G G	20
227	ASS.250	G C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
228	ASS.251	-G C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
229	ASS.252	-G -C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
230	ASS.253	-G C -A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
231	ASS.254	-G C A' -G A' g g t g a a g o g a A G T G C	20
232	ASS.255	-G C A' G -A g g t g a a g o g a A G T G C	20
233	ASS.256	-G -C -A G A' g g t g a a g o g a A G T G C	20
234	ASS.257	-G C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
235	ASS.258	-G C A' G A' g g t g a a g o g a A G T G C	20
236	ASS.259	-G -C A' G A' g g t g a a g o g a A G T G C	20
237	ASS.260	-G -C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
238	ASS.261	-G C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
239	ASS.262	-G -C A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
240	ASS.263	-G -C -A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
241	ASS.264	-G -C -A -C A g g t g a a g o g a A G T G C	20
242	ASS.266	G G A G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
243	ASS.267	G C T G A g g t g a a g o g a A G T G C	20
244	ASS.268	G C A C A g g t g a a g o g a A G T G C	20
245	ASS.269	G C A G T g g t g a a g o g a A G T G C	20
246	ASS.270	G C A G A o g t g a a g o g a A G T G C	20

【表2】（續）

C2S2826DA.pdf
11210108
發明說明 A0202
第 51 頁，共 511 頁(發明專利)

20234040468

臺北市立○○高級中學 112 學年度第 2 學期 期末考試 成績單

班級：○○○　　座號：○○　　姓名：○○○

科目	學分	平時	段考	期末	總成績	班排名	備註
國文	4	88	91	93	91.2	3	
英文	4	85	88	90	88.0	5	
數學	4	92	95	97	95.0	1	
物理	3	86	89	91	89.0	4	
化學	3	84	87	88	87.0	6	
生物	3	90	93	94	93.0	2	
歷史	2	78	82	85	82.0	9	
地理	2	80	84	86	84.0	8	
公民	2	82	85	87	85.0	7	
體育	2	95	96	97	96.0	1	
音樂	1	88	90	92	90.0	3	
美術	1	86	88	89	88.0	5	
資訊	2	90	92	94	92.0	2	
健康教育	1	92	94	95	94.0	1	
生活科技	2	87	89	90	89.0	4	
童軍	1	91	93	95	93.0	2	
輔導活動	1	95	96	97	96.0	1	
班會	1	94	95	96	95.0	1	
團體活動	1	93	94	95	94.0	1	
彈性課程	2	88	90	91	90.0	3	
校訂必修	2	85	87	89	87.0	6	
選修一	3	82	85	87	85.0	7	
選修二	3	80	83	85	83.0	8	
選修三	3	78	81	83	81.0	10	
選修四	3	76	79	81	79.0	12	
選修五	3	74	77	79	77.0	14	
選修六	3	72	75	77	75.0	16	
選修七	3	70	73	75	73.0	18	
選修八	3	68	71	73	71.0	20	
選修九	3	66	69	71	69.0	22	
選修十	3	64	67	69	67.0	24	
選修十一	3	62	65	67	65.0	26	
選修十二	3	60	63	65	63.0	28	
選修十三	3	58	61	63	61.0	30	
選修十四	3	56	59	61	59.0	32	
選修十五	3	54	57	59	57.0	34	
選修十六	3	52	55	57	55.0	36	
選修十七	3	50	53	55	53.0	38	
選修十八	3	48	51	53	51.0	40	
選修十九	3	46	49	51	49.0	42	
選修二十	3	44	47	49	47.0	44	
選修二十一	3	42	45	47	45.0	46	
選修二十二	3	40	43	45	43.0	48	
選修二十三	3	38	41	43	41.0	50	
選修二十四	3	36	39	41	39.0	52	
選修二十五	3	34	37	39	37.0	54	
選修二十六	3	32	35	37	35.0	56	
選修二十七	3	30	33	35	33.0	58	
選修二十八	3	28	31	33	31.0	60	
選修二十九	3	26	29	31	29.0	62	
選修三十	3	24	27	29	27.0	64	
選修三十一	3	22	25	27	25.0	66	
選修三十二	3	20	23	25	23.0	68	
選修三十三	3	18	21	23	21.0	70	
選修三十四	3	16	19	21	19.0	72	
選修三十五	3	14	17	19	17.0	74	
選修三十六	3	12	15	17	15.0	76	
選修三十七	3	10	13	15	13.0	78	
選修三十八	3	8	11	13	11.0	80	
選修三十九	3	6	9	11	9.0	82	
選修四十	3	4	7	9	7.0	84	
選修四十一	3	2	5	7	5.0	86	
選修四十二	3	0	3	5	3.0	88	
選修四十三	3	0	1	3	1.0	90	
選修四十四	3	0	0	1	0.0	92	
選修四十五	3	0	0	0	0.0	94	
選修四十六	3	0	0	0	0.0	96	
選修四十七	3	0	0	0	0.0	98	
選修四十八	3	0	0	0	0.0	100	

表1.2續

SEQ ID NO:	AUS#	位置 -20 -19 -18 -17 -16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4 -3 -2 -1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 N#
308	AUS1338	G C A G A g g t g g z z g c g g z A C T C C 20
309	AUS1340	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C T C C 20
310	AUS1341	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C T C C 20
311	AUS1342	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C T G C 20
312	AUS1343	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C C C 20
313	AUS1344	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C C G C 20
314	AUS1345	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C T C C 20
315	AUS1346	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C C C 20
316	AUS1347	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C T G C 20
317	AUS1348	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C T C C 20
318	AUS1349	G C A G A G g t g g z A g c g g z A C C G C 20
319	AUS1350	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C C G C 20
320	AUS1351	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C T C C 20
321	AUS1352	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C T G C 20
322	AUS1353	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C C C C 20
323	AUS1354	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C C G C 20
324	AUS1355	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C T C C 20
325	AUS1356	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C C C C 20
326	AUS1357	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C T G C 20
327	AUS1358	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C T C C 20
328	AUS1359	G C A G A g g t g g A z g c g g A A C C C C 20
329	AUS1360	G C A G A g g t g g A z g c g g z A C U G C 20
330	AUS1361	G C A G A g g t g g A z g c g g z A C U C C 20
331	AUS1362	G C A G A g g t g g A z g c g g z A C T C C 20
具有分別致之5異及3異修飾		
332	AUS1365	C C A C A g g t g g z z g c g g z A C T C C 20
333	AUS1366	C C A C A C C T C A A C C C A A C T C C
334	AUS1367	C C A C A g g t g g z z g c g g z A C U G C 20
335	AUS1368	C C A C A g g t g g z z g c g g z A C U G C 20
336	AUS1370	C c A C A G g t g g z A g c g g z A C U G C 20
337	AUS1371	C c A g A G g t g g z A g c g g z A C U G C 20
338	AUS1372	C c A C A g g t g g A z g c g g A A C U G C 20
339	AUS1373	C c A g A g g t g g A z g c g g A A C U G C 20
340	AUS1374	C c A C A G g t g g z A g c g g z A C T G C 20
341	AUS1375	C c A C A G g t g g z A g c g g z A C T C C 20
342	AUS1376	C C A C A G g t g g z A g c g g z A C T G C 20
343	AUS1377	C c A g A G g t g g z A g c g g z A C T G C 20
344	AUS1378	C c A C A g g t g g A z g c g g A A C T G C 20
345	AUS1379	C c A C A g g t g g A z g c g g A A C T G C 20
具有分別致之5異及3異修飾		
346	AUS1382	C C A C A g g t g g A z g c g g z z C T G C 20
347	AUS1383	C C A C z g g t g g A z g c g g z A C T G C 20
348	AUS1384	C C A C z g g t g g A z g c g g z z C T G C 20
349	AUS1385	C C A C A g g t g g A z g c g g z z C T G C 20
350	AUS1387	C C A C A g g t g g A z g c g g z A C U G C 20
351	AUS1388	C C A C A g g t g g A z g c g g z z C U G C 20
352	AUS1389	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g U C C 20
353	AUS1390	C C A C A g g t g g A z g c g g z z C U G C 20
354	AUS1391	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g U G C 20
355	AUS1392	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g U G C 20
356	AUS1393	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g U C C 20
357	AUS1396	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g t G C 20
358	AUS1395	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g t C C 20
359	AUS1396	C C A C A g g t g g A z g c g g z z C U G C 20
360	AUS1397	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g U G C 20
361	AUS1398	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g U G C 20
362	AUS1399	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g U C C 20
363	AUS1400	C C A C A g g t g g A z g c g g z z g t C C 20
364	AUS1401	G C A G A g g t g g A z g c g g z z g U C C 20
365	AUS1402	G c A C A g g t g g A z g c g g z z g U C C 20
366	AUS1403	C c A C A g g t g g A z g c g g z z C U G C 20
367	AUS1404	C c A C A g g t g g A z g c g g z z g U G C 20

〔表2〕（續）

表1.2續

| SEQ ID NO: | Ab# | 位置 | | |

表1.2續

| SEQ ID NO: | AUS# | 位置 | | |

表1.2續

| SEQ ID NO: | AUS# | 位置 | | |

表1.2續

| SEQ ID NO: | AUS# | 位置 | | |

表 2.2.2.

第3圖
第2圖
第1圖
第4圖
第5圖
第6圖
第7圖
第8圖
第9圖
第10圖
第11圖
第12圖
第13圖
第14圖
第15圖
第16圖
第17圖
第18圖
第19圖
第20圖
第21圖
第22圖
第23圖
第24圖
第25圖
第26圖
第27圖
第28圖

【圖7】

臺北ALL STARS會員之動態情況
一月25日
天數
名次
進度
第1賽事
第2賽事
第3賽事
總分
進度

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41

圖 1

圖 1

高於：CBSA6合重之創意設計
一次選25：
天數
AAV-13V C573_/6
進集
△
△
△

表 5.1

組別	n	給藥後平均天數(10mg/kg, n=5)											
		0		3		7		14		21		28	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
0	ATS-233	0		-1.58	0.35	-1.05	0.44	-1.08	0.16	-1.07	0.14	-0.46	0.12	-0.77	0.08
64	ATS-683	0		-0.39	0.13	-0.68	0.29	-0.53	0.15	-0.66	0.44	-0.16	0.11	-0.46	0.17
642	ATS-684	0		-0.29	0.06	-2.17	0.33	-2.44	0.21	-2.12	1.06	-2.26	0.27	-2.29	0.28
643	ATS-685	0		-0.99	0.3	-1.33	0.74	-0.9	0.92	-0.85	1.03	-0.26	0.08	-0.36	0.21
203	ATS-220	0		0	0.36	-0.43	0.14	-0.43	0.14	-0.57	0.39	-0.25	0.3	-0.72	0.49
294	ATS-322	0		-2.19	0.51	-2.61	0.33	-2.57	0.3	-2.41	0.31	-1.36	0.38	-1.13	0.29
295	ATS-323	0		-1.76	0.36	-2.22	0.28	-2.05	0.38	-1.59	0.26	-1.39	0.44	-1.03	0.2
296	ATS-324	0		-2.35	1.04	-2	0.59	-1.93	0.52	-1.73	1.04	-1	0.51	-0.93	0.3

（續下頁）

表 5.2

經藥後竹天數 (mg/kg, 平均 ± SD)

Seq ID No.	0		3		7		10		14		21		28	
	藥物	SD	藥物	SD	藥物	SD	藥物	SD	藥物	SD	藥物	SD	藥物	SD
10	AUS 233	0	-1.13	0.64	-0.83	0.73	-1.13	0.71	-0.92	0.30	-0.36	0.41	-0.10	0.20
135	AUS 169	0	-1.83	0.26	-1.73	1.06	-2.18	0.40	-1.90	0.43	-0.82	0.26	-0.32	0.30
137	AUS 71	0	-1.34	0.48	-1.23	0.35	-1.34	0.36	-1.40	0.37	-0.33	0.43	-0.72	0.35
156	AUS 70	0	-1.33	0.20	-1.36	0.79	-2.11	0.26	-1.62	0.34	-0.86	0.23	-0.30	0.22
154	AUS 168	0	-1.30	0.27	-1.62	0.21	-1.87	0.27	-1.33	0.08	-0.60	0.26	-0.33	0.14
294	AUS 322	0	-2.33	0.14	-2.32	0.16	-2.11	0.11	-1.98	0.19	-1.69	0.29	-0.98	0.17

（下頁續）

表15.3

SEQ ID NO:	ID	給藥後的天數(30mg/kg, n=2-3)											
		0		3		7		10		14		21	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
10	AUS_233	0		-0.43	0.17	-0.58	0.13	-0.33	0.13	-0.61	0.13	0.08	0.14
397	AUS_434	0		-1.60	0.23	-2.17	0.39	-3.07	0.23	-2.31	0.33	-1.06	0.25
398	AUS_435	0		-1.31	0.34	-2.28	0.52	-2.50	0.92	-2.01	0.53	-1.17	1.07
403	AUS_440	0		-1.69	0.05	-2.34	0.08	-2.73	0.29	-1.74	0.31	-0.42	0.16
399	AUS_436	0		-1.36	0.29	-2.59	0.25	-2.84	0.26	-1.89	0.14	-0.44	0.31
400	AUS_437	0		-1.36	0.31	-2.57	0.18	-1.66	0.93	-1.44	0.29	-0.03	0.24
401	AUS_438	0		-1.39	0.11	-2.45	0.41	-1.55	0.81	-2.03	0.27	-0.83	0.21
402	AUS_439	0		-1.89	0.19	-2.89	0.19	-2.09	1.11	-1.90	0.33	-0.58	0.09
404	AUS_441	0		-1.59	0.13	-2.36	0.35	-1.84	0.38	-1.34	0.36	0.14	0.09
385	AUS_422	0		-1.36	0.31	-2.06	0.72	-1.55	0.87	-1.34	0.78	0.01	1.10
386	AUS_423	0		-1.44	0.69	-2.01	1.21	-1.56	1.42	-1.12	1.26	0.08	1.05
387	AUS_424	0		-1.35	0.47	-2.21	0.67	-1.85	0.76	-1.63	0.34	-0.45	0.40
388	AUS_425	0		-1.34	0.29	-2.27	0.55	-2.05	0.55	-1.72	0.34	-0.63	0.06
389	AUS_426	0		-0.69	0.65	-1.35	0.83	-0.64	0.66	-1.03	0.33	0.32	0.06
390	AUS_427	0		-1.27	0.12	-2.51	0.37	-1.99	0.05	-2.39	0.04	-0.92	0.53
391	AUS_428	0		-1.30	0.41	-2.12	0.21	-1.69	0.39	-1.91	0.09	-0.18	0.32
392	AUS_429	0		-1.43	0.18	-2.03	0.14	-1.89	0.10	-1.30	0.72	0.38	0.05
393	AUS_430	0		-1.48	0.13	-1.78	0.26	-1.62	0.29	-1.44	0.14	0.02	0.07
394	AUS_431	0		-1.46	0.13	-1.94	0.13	-1.14	0.61	-1.78	0.10	-0.24	0.38
395	AUS_432	0		-1.11	0.22	-1.43	0.06	-1.45	0.29	-1.90	0.10	0.03	0.03
396	AUS_433	0		-1.28	0.03	-1.39	0.11	-0.62	0.10	-1.39	0.38	0.52	0.19

【表16】

表15.4

SEQ ID NO:	ID	給藥後的天數 (30mg/kg, n=2-3)											
		0		3		7		10		14		21	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
10	AUS1233	0		-0.41	0.31	-0.02	0.26	0.06	0.32	-0.08	0.23	0.10	0.41
426	AUS1463	0		-1.24	0.49	-1.46	0.49	-1.49	0.97	-0.73	0.39	-0.72	0.06
429	AUS1466	0		-1.65	0.54	-1.90	0.40	-1.86	0.29	-0.97	0.42	-0.87	0.31
439	AUS1476	0		-1.49	0.64	-1.13	0.70	-0.86	0.66	-0.62	0.29	-0.33	0.33
435	AUS1472	0		-0.48	0.30	-1.17	0.12	-0.77	0.79	-0.29	0.39	-0.11	0.38
452	AUS1489	0		-1.11	0.40	-0.74	0.13	-0.61	0.44	-0.14	0.14	-0.22	0.28
422	AUS1459	0		-1.60	0.02	-1.33	0.27	-2.16	0.50	-1.06	0.02	-0.66	0.12

C2532820A.pdf 11210111.03

發明專利說明書 2023/02/02 第 217 頁，共 511 頁 TIPO DAS

表 5.5

給藥後的天數(80mg/kg)

組別	0		3		7		14		28	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
1	0	0	-0.30	0.24	-0.44	0.14	-0.49	0.17	-0.36	0.23	-0.37	0.12	-0.27	0.10
Aus_233														
Aus_262	0	0	-1.63	0.38	-1.43	0.28	-1.66	0.32	-1.36	0.39	-0.82	0.24	-0.39	0.20
Aus_293	0	0	-1.10	0.22	-1.17	0.29	-1.43	0.12	-1.17	0.13	-0.37	0.16	-0.37	0.16
Aus_294	0	0	-0.94	0.33	-1.07	0.36	-1.22	0.39	-0.94	0.16	-0.30	0.19	-0.33	0.26
Aus_293	0	0	-1.13	0.13	-1.20	0.26	-1.47	0.26	-1.22	0.18	-0.62	0.16	-0.41	0.10
Aus_282	0	0	-0.42	0.19	-0.24	0.09	-0.38	0.16	-0.12	0.16	0.03	0.25	0.17	0.18
Aus_247	0	0	-1.48	0.27	-1.21	0.24	-1.32	0.32	-1.13	0.22	-0.30	0.06	-0.06	0.13

（下轉）

表 5.6

給藥後的天數(50mg/kg, n=21)													
組別	3		7		10		14		21				
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	
630	Aus:233	0	-0.72	0.03	-0.52	0.02	-0.67	0.06	-0.64	0.09	-0.59	0.09	
631	Aus:663	0	-0.23		-0.28		-0.33		-0.38		-0.31		
632	Aus:669	0	-0.21	0.06	-0.35	0.02	-0.76	0.03	-0.73	0.01	-0.35	0.01	
633	Aus:669	0	-0.34		-0.35		-0.76		-0.83		-0.84		
634	Aus:669	0	-0.27		-0.24		-0.27		-0.23		-0.27		
635	Aus:669	0	-0.21	0.04	-0.12	0.02	-0.16	0.00	-0.17	0.00	-0.20	0.08	
636	Aus:655	0	-0.27	0.09	-0.43	0.11	-0.61	0.11	-0.33	0.13	-0.37	0.14	
637	Aus:655	0	-0.24	0.16	-0.43	0.19	-0.62	0.14	-0.37	0.18	-0.37	0.24	
638	Aus:670	0	-0.12	0.12	-0.23	0.17	-0.34	0.22	-0.39	0.18	-0.41	0.24	

（下頁）

表 5.7

給藥後物天數(與於基底方為 0mg/kg，與於第3方及第4方為30mg/kg)

組別	0		3		7		14		28	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
10	0		-0.36	0.19	-0.50	0.23	-0.42	0.23	-0.38	0.23
233										
236	0		-0.56	0.11	-0.92	0.13	-0.38	0.23	-0.48	0.20
493										
10	0		-1.34	0.34	-1.02	0.16	-0.60	0.30	-0.60	0.25
233										
236	0		-2.62	0.27	-2.94	0.38	-2.48	0.41	-2.38	0.69
493										

（下頁）

表 6.1

給藥後均天數(60mg/kg, i.p.)													
SEQ	0		3		7		14		21		28		
NO.	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	
1	0		-0.82	0.32	-1.15	0.19	-1.37	0.63	-1.78	0.39	-0.95	0.30	-0.97	0.70
ALS-2338														
3														
2	0		-0.23	0.08	-0.49	0.17	-0.30	0.21	-0.54	0.19	-0.37	0.08	-0.37	0.08
ALS-6883														
3														
4	0		-0.47	0.27	-1.16	0.31	-1.36	0.21	-1.62	0.05	-1.33	0.16	-1.41	0.23
ALS-6884														
4														
5	0		-0.37	0.16	-0.80	0.31	-0.73	0.26	-0.72	0.21	-0.36	0.16	-0.40	0.11
ALS-6885														
5														
0	0		-0.38	0.21	-0.68	0.32	-0.36	0.21	-0.39	0.13	-0.33	0.18	-0.82	0.36
ALS-2200														
0														
1	0		-1.22	0.42	-2.27	0.38	-2.34	0.41	-2.92	0.33	-3.09	0.26	-2.74	0.24
ALS-3202														
2														
3	0		-0.98	0.23	-1.79	0.43	-1.83	0.43	-2.38	0.36	-2.85	0.65	-2.87	0.88
ALS-3203														
3														
4	0		-1.03	0.43	-1.34	0.07	-1.66	0.12	-2.01	0.13	-1.88	0.32	-1.73	0.43
ALS-3204														
4														

（續）

表 6.2

給藥後均天數(60 mg/kg, n=4)

SEQ	0		3		7		14		21		28	
NO.	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
53	0	0	-0.63	0.03	-1.89	0.13	-2.17	0.32	-2.25	0.27	-2.22	0.08
69												-1.72
54	0	0	-0.22	0.07	-0.64	0.24	-0.62	0.17	-0.63	0.14	-0.77	0.09
71												-0.73
55	0	0	-0.34	0.02	-1.67	0.12	-2.00	0.31	-2.17	0.48	-2.25	0.15
70												-1.80
56	0	0	-0.43	0.12	-1.21	0.27	-1.34	0.23	-1.39	0.18	-1.42	0.33
68												-2.2

（下頁）

表 6.3

給藥後的天數(60mg/kg, n=3-3)

組別	0		3		7		14		21	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
對照組	0		-0.55	0.11	-0.37	0.20	-0.46	0.16	-0.73	0.17	-0.30	0.22
233												
實驗組	0		-0.74	0.13	-2.13	0.22	-2.27	0.39	-2.84	0.48	-2.22	0.37
273												
對照組	0		-0.96	0.35	-2.68	0.90	-2.32	0.33	-3.17	0.66	-2.68	0.93
274												
實驗組	0		-0.99	0.60	-2.07	0.38	-2.95	0.34	-2.07	0.33	-2.24	0.22
275												
對照組	0		-0.73	0.07	-2.36	0.35	-2.25	0.70	-2.17	0.77	-0.33	0.32
276												

（續下表）

表16.4

SEQ ID NO:	ID	給藥後的天數(60mg/kg, n=3-5)									
		0		3		7		10		14	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
10	AUS_233	0		-0.77	0.26	-1.22	0.33	-1.23	0.31	-1.38	0.39
158	AUS_273	0		-0.83	0.41	-1.68	0.45	-1.75	0.34	-2.34	0.83
162	AUS_277	0		-0.36	0.13	-0.93	0.19	-1.07	0.22	-1.48	0.26
163	AUS_278	0		-0.79	0.23	-1.36	0.13	-1.37	0.27	-2.08	0.11
164	AUS_279	0		-0.66	0.35	-0.89	0.30	-0.97	0.35	-1.43	0.98
165	AUS_280	0		-0.27	0.13	-0.42	0.11	-0.35	0.20	-0.71	0.14
166	AUS_281	0		-0.45	0.29	-0.87	0.46	-0.79	0.32	-1.03	0.38
167	AUS_282	0		-0.63	0.34	-0.94	0.35	-0.95	0.43	-1.17	0.43
179	AUS_294	0		-0.39	0.26	-0.78	0.41	-0.91	0.34	-1.35	0.41
169	AUS_284	0		-0.35	0.19	-0.99	0.14	-0.96	0.16	-1.31	0.12
170	AUS_285	0		-0.34	0.34	-1.06	0.35	-1.35	0.28	-1.61	0.39
171	AUS_286	0		-0.74	0.13	-1.19	0.22	-1.40	0.24	-1.83	0.22
172	AUS_287	0		-0.35	0.16	-0.63	0.22	-0.91	0.31	-1.36	0.36
173	AUS_288	0		-0.91	0.34	-1.56	0.06	-1.80	0.05	-2.17	0.14
174	AUS_289	0		-0.41	0.34	-0.33	0.39	-0.44	0.37	-0.73	0.30
175	AUS_290	0		-1.27	0.27	-1.78	0.36	-1.97	0.74	-2.20	0.23
176	AUS_291	0		-0.91	0.77	-1.38	1.19	-1.70	1.36	-1.48	0.84
177	AUS_292	0		-0.96	0.41	-2.29	1.37	-1.39	0.26	-2.40	0.93
178	AUS_293	0		-1.01	0.93	-1.39	1.11	-1.49	0.83	-1.89	0.45
168	AUS_283	0		-0.96	0.57	-1.99	1.36	-1.79	1.11	-1.93	1.08
212	AUS_239	0		-0.65	0.26	-1.30	0.86	-1.74	1.21	-1.42	0.43
297	AUS_323	0		-1.23	0.38	-2.48	0.72	-3.37	0.83	-2.61	0.27
298	AUS_326	0		-1.17	0.32	-2.32	0.33	-3.28	0.37	-2.47	0.47
299	AUS_327	0		-1.01	0.32	-2.80	0.34	-4.10	0.93	-3.39	0.48
300	AUS_328	0		-0.88	0.22	-2.63	0.60	-3.28	0.46	-3.02	0.80
301	AUS_329	0		-1.08	0.35	-2.41	0.42	-2.65	0.81	-2.93	0.35
160	AUS_275	0		-1.16	0.24	-2.13	0.29	-1.94	0.22	-2.33	0.23
330	AUS_361	0		-1.02	0.24	-2.64	0.43	-2.48	0.24	-2.83	0.37
331	AUS_362	0		-1.30	1.08	-2.48	0.88	-2.53	0.37	-2.34	0.23

C2S3282DA.pdf
114.10.03
發明說明 A0202
第 3/17 頁，共 51 頁(發明)(N-4-0)

表´6.5

編號	名稱	給藥後天數(60mg/kg, i.v.)									
		0		3		7		´0		´4	22
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
´0	A´S´2 33	0		-0.30	0.18	-´.0´	0.´´	-´.´3	0.2´	-0.97	0.´3	-0.85	0.22
29´	A´S´3 22			-´.03	0.37	-´.7´	0.26	-2.3´	0.´´	-2.´2	0.23	-2.38	0.38
346	A´S´3 82			-´.´0	0.40	-2.´2	0.´´	-2.9´	0.63	-3.66	0.32	-´.´3	0.´8
347	A´S´3 83			-´.79	0.7´	-2.6´	0.3´	-2.63	´.38	-3.79	0.60	-3.90	0.39
348	A´S´3 8´			-´.3´	0.86	-´.63	0.30	-2.´6	0.´9	-2.´3	0.´3	-2.76	0.´3
349	A´S´3 85			-´.23	0.76	-2.06	0.29	-3.20	0.39	-3.23	0.37	-´.23	0.3´

´´´

表 6.6

給藥後平均天數 (60 mg/kg, i.v.)

seq no	g	3		7		14		21	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
294	Ala322	-0.87	0.18	-2.08	0.23	-2.43	1.09	-2.99	0.82	-3.67	0.40
331	Ala388	-0.91	0.37	-1.77	0.38	-1.62	0.82	-2.20	0.80	-2.43	0.73
332	Ala389	-0.94	0.67	-1.33	0.38	-1.60	0.93	-1.43	0.39	-1.84	0.66
333	Ala390	-1.13	0.76	-2.00	0.37	-1.68	1.19	-2.12	0.30	-2.83	0.72
335	Ala392	-0.77	0.31	-1.33	0.13	-1.29	0.89	-1.43	0.22	-1.97	0.23
336	Ala393	-0.73	0.47	-1.28	0.18	-1.83	0.40	-1.40	0.34	-1.83	0.38
339	Ala396	-0.78	0.02	-1.83	0.10	-2.18	0.92	-2.43	0.34	-3.72	0.27
366	Ala403	-0.84	0.43	-2.16	0.32	-3.04	0.44	-2.83	0.66	-3.20	0.38
372	Ala409	-1.09	0.32	-1.97	0.29	-2.68	0.35	-3.31	0.39	-4.33	0.38
374	Ala411	-1.19	0.66	-1.97	0.48	-2.21	0.75	-3.04	0.68	-4.43	0.30
376	Ala413	-0.84	0.33	-1.60	0.50	-3.13	0.71	-3.06	0.89	-4.21	0.69
377	Ala414	-0.92	0.71	-1.39	0.33	-2.32	0.32	-2.76	0.37	-4.28	0.63
378	Ala415	-0.96	0.21	-2.43	0.38	-3.30	0.22	-3.24	0.47	-4.18	0.34

（續下頁）

表 6.7

給藥後均天數(60mg/kg, n=4)

seq ID	no	3		7		10		14	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
330	AUS3387	-1.02	0.37	-1.90	0.34	-2.38	0.63	-2.66	0.78
298	AUS3325	-0.96	0.31	-1.86	0.29	-2.36	0.48	-2.94	0.30
300	AUS3328	-0.86	0.16	-2.28	0.40	-3.33	0.37	-4.02	0.43
331	AUS3388	-0.83	0.18	-1.37	0.41	-1.63	0.44	-1.92	0.37
353	AUS3390	-1.05	0.19	-1.74	0.32	-2.10	0.33	-2.43	0.66
366	AUS3403	-1.03	0.05	-1.70	0.33	-2.22	0.75	-2.69	0.87
329	AUS3360	-0.74	0.26	-1.63	0.19	-1.84	0.16	-1.70	0.26

（續下頁）

2023.04.04.68

表16.8

SEQ ID NO:	ID	給藥後的天數(40mg/kg, n=2-4)											
		0		3		7		10		14		21	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
10	AUS1233	0		-0.45	0.10	-0.66	0.20	-1.00	0.23	-1.03	0.23	-0.83	0.19
397	AUS1434	0		-1.08	0.09	-1.82	0.32	-2.18	0.41	-2.49	0.39	-2.60	0.47
398	AUS1435	0		-1.34	0.36	-1.69	0.10	-2.20	0.17	-2.44	0.03	-2.68	0.16
403	AUS1440	0		-1.02	0.28	-1.65	0.29	-2.08	0.42	-2.26	0.32	-2.28	0.32
399	AUS1436	0		-1.08	0.16	-1.73	0.09	-1.95	0.18	-2.29	0.25	-1.79	0.41
400	AUS1437	0		-1.33	0.71	-2.07	0.82	-2.19	0.59	-2.23	0.47	-1.77	0.31
401	AUS1438	0		-1.07	0.14	-1.55	0.28	-2.02	0.33	-2.30	0.39	-2.53	0.49
402	AUS1439	0		-1.06	0.12	-1.93	0.30	-2.42	0.32	-2.39	0.26	-2.76	0.26
404	AUS1441	0		-0.81	0.13	-1.38	0.23	-1.79	0.24	-1.71	0.21	-1.34	0.23
385	AUS1422	0		-1.13	0.29	-2.35	1.04	-2.53	0.91	-2.35	0.40	-2.00	0.56
386	AUS1423	0		-1.27	0.75	-2.53	0.90	-2.82	0.72	-2.70	0.67	-2.31	0.61
387	AUS1424	0		-1.72	1.60	-2.37	0.90	-2.09	0.21	-2.46	0.52	-2.10	1.13
388	AUS1425	0		-1.09	0.29	-2.05	0.23	-2.17	0.33	-2.57	0.42	-2.07	0.36
389	AUS1426	0		-0.91	0.20	-1.57	0.22	-1.86	0.20	-2.03	0.22	-1.46	0.18
390	AUS1427	0		-0.87	0.36	-1.90	0.03	-2.16	0.13	-2.20	0.13	-1.72	0.13
391	AUS1428	0		-0.83	0.12	-2.02	0.63	-2.46	0.84	-2.64	1.06	-2.44	1.62
392	AUS1429	0		-0.70	0.26	-1.48	0.31	-1.71	0.49	-1.31	0.31	-0.89	0.46
393	AUS1430	0		-1.20	0.49	-2.08	0.52	-2.36	0.48	-2.36	0.35	-1.77	0.51
394	AUS1431	0		-0.61	0.18	-1.38	0.25	-1.72	0.17	-1.44	0.39	-0.85	0.22
395	AUS1432	0		-0.83	0.07	-1.48	0.04	-1.68	0.09	-1.78	0.07	-1.27	0.29
396	AUS1433	0		-1.11	0.63	-1.66	0.38	-1.82	0.41	-1.96	0.35	-1.18	0.27

CN202311210113.8 说 明 书 38/51 页 2023-10-03

表16.9

SEQ ID NO:	ID	給餌後の日数(40mg/kg, n=2-3)											
		0		3		7		10		14		21	
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
10	AUS_233	0		-0.39	0.06	-0.60	0.27	-0.67	0.29	-0.39	0.31	-0.28	0.32
407	AUS_444	0		-0.92	0.12	-2.07	0.49	-2.46	0.94	-2.23	0.96	-1.75	1.08
421	AUS_438	0		-0.89	0.36	-1.92	0.14	-2.03	0.13	-1.99	0.23	-1.36	0.36
422	AUS_439	0		-0.66	0.10	-1.75	0.28	-1.98	0.38	-1.86	0.35	-1.39	0.43
423	AUS_460	0		-1.12	0.52	-1.66	0.04	-1.87	0.16	-1.82	0.06	-1.49	0.20
424	AUS_461	0		-0.91	0.68	-1.76	0.47	-1.97	0.23	-1.84	0.16	-1.27	0.12
425	AUS_462	0		-0.48	0.29	-1.06	0.08	-1.14	0.07	-0.96	0.12	-0.70	0.07
426	AUS_463	0		-1.00	0.05	-1.35	0.01	-1.68	0.13	-1.81	0.35	-3.08	2.31
427	AUS_464	0		-0.40	0.06	-0.90	0.28	-1.09	0.13	-0.89	0.09	-0.60	0.10
428	AUS_465	0		-0.39	0.06	-0.96	0.21	-1.06	0.20	-0.71	0.28	-0.30	0.31
429	AUS_466	0		-0.69	0.16	-1.38	0.03	-1.98	0.66	-1.77	0.38	-1.65	1.22
430	AUS_467	0		-0.43	0.02	-1.11	0.41	-1.41	0.72	-1.20	0.63	-1.17	0.63
431	AUS_468	0		-0.73	0.43	-1.27	0.71	-1.39	0.99	-0.93	0.86	-0.41	1.09
432	AUS_469	0		-0.98	0.31	-1.72	0.19	-2.33	0.91	-1.83	0.08	-1.80	0.40
433	AUS_470	0		-0.30	0.37	-0.85	0.73	-1.01	0.78	-0.73	0.91	-0.33	1.00
434	AUS_471	0		-0.79	0.41	-1.83	1.76	-2.91	2.91	-2.50	2.37	-3.63	0.74
435	AUS_472	0		-0.85	0.40	-1.38	0.34	-1.38	0.38	-1.23	0.23	-0.90	0.24
436	AUS_473	0		-0.53	0.11	-0.98	0.35	-1.01	0.16	-0.79	0.10	-0.54	0.13
437	AUS_474	0		-0.34	0.08	-0.43	0.12	-0.58	0.14	-0.41	0.13	-0.39	0.19
438	AUS_475	0		-0.41	0.03	-0.64	0.40	-0.69	0.67	-0.45	0.74	-0.12	0.79
439	AUS_476	0		-0.79	0.06	-1.23	0.68	-1.29	0.77	-0.93	1.00	-0.44	1.12
440	AUS_477	0		-0.73	0.33	-0.94	0.33	-0.88	0.43	-0.63	0.27	-0.30	0.11
441	AUS_478	0		-0.16	0.02	-0.69	0.04	-0.84	0.02	-0.66	0.08	-0.31	0.12
442	AUS_479	0		-0.42	0.18	-0.87	0.23	-1.07	0.14	-0.89	0.21	-0.33	0.17
443	AUS_480	0		-0.62	0.03	-1.10	0.03	-1.12	0.03	-1.03	0.14	-0.84	0.16
444	AUS_481	0		-0.30	0.20	-0.64	0.06	-0.72	0.03	-0.57	0.03	-0.63	0.12
445	AUS_482	0		-0.66	0.36	-1.19	0.91	-1.41	1.07	-1.01	0.72	-0.91	0.43
446	AUS_483	0		-0.44	0.29	-0.26	0.03	-0.31	0.07	-0.24	0.12	-0.13	0.00
451	AUS_488	0		-0.49	0.24	-0.73	0.26	-0.88	0.18	-0.75	0.45	-0.57	0.27
452	AUS_489	0		-0.73	0.17	-1.36	0.31	-1.30	0.34	-1.12	0.34	-0.91	0.29
453	AUS_490	0		-0.74	0.06	-1.41	0.17	-1.64	0.21	-1.33	0.08	-1.36	0.01
406	AUS_443	0		-0.98	0.42	-1.90	0.43	-2.01	0.44	-2.11	0.37	-2.18	0.22
407	AUS_444	0		-1.21	0.54	-2.94	1.50	-3.33	1.22	-3.39	1.47	-2.84	1.02
408	AUS_445	0		-1.26	0.41	-1.73	0.41	-1.98	0.00	-1.86	0.41	-0.44	0.30

表 6.10

給藥後均天數（5mg/kg（實驗三）或45mg/kg（對照組），n=5）

組別	區	0		3		7		14		21		28	
		立法度	SD	立法度	SD	立法度	SD	立法度	SD	立法度	SD	立法度	SD
10	AUS123	0		-0.24	0.09	-0.34	0.16	-0.48	0.13	-0.34	0.31	-0.16	0.11	-0.21	0.12
433	AUS149	0		-0.44	0.13	-0.79	0.33	-0.92	0.26	-0.74	0.20	-0.33	0.11	-0.31	0.13
436	AUS149	0		-0.46	0.12	-0.73	0.13	-0.89	0.11	-0.62	0.13	-0.31	0.18	-0.32	0.28
10	AUS123	0		-0.69	0.27	-1.37	0.30	-1.40	0.29	-1.93	1.13	-1.67	1.31	-1.60	1.47
433	AUS149	0		-0.93	0.42	-1.91	0.23	-2.04	0.28	-1.83	0.21	-1.22	0.17	-0.91	0.18
436	AUS149	0		-0.73	0.14	-1.76	0.20	-1.86	0.19	-1.73	0.23	-1.11	0.12	-0.88	0.19

（表 30）

表 6.4.4

給藥後約天數(實驗二方,為 5 mg/kg，共實驗二方,為45 mg/kg；n=5)

seq no:	0	3		7		10		14		21		28	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
10	A0542	0	-0.30	0.08	-0.30	0.14	-0.23	0.08	-0.11	0.08	-0.04	0.06	-0.11	0.09
	3332													
455	A0547	0	-0.37	0.17	-0.68	0.16	-0.71	0.17	-0.30	0.14	-0.42	0.08	-0.28	0.11
	9292													
456	A0547	0	-0.44	0.10	-0.39	0.09	-0.35	0.11	-0.37	0.12	-0.33	0.14	-0.19	0.17
	9393													
10	A0542	0	-0.68	0.06	-0.84	0.13	-0.76	0.07	-0.78	0.12	-0.78	0.14	-0.52	0.06
	3332													
455	A0547	0	-0.91	0.13	-1.33	0.17	-1.59	0.17	-1.32	0.22	-0.94	0.21	-0.61	0.16
	9292													
456	A0547	0	-0.92	0.05	-1.73	0.11	-1.76	0.10	-1.43	0.13	-0.88	0.16	-0.33	0.13
	9393													

（續下頁）

表 6.2

給藥後平均天數(mg/kg, n=3)

seq no:	?	3			7			4			2		
		平均值	0 SD		平均值	SD		平均值	SD		平均值	SD	
40	Aug-22 33	0	-1.03	0.61	-1.52	1.13		-1.36	1.17		-1.69	1.33	
404	Aug-24 47	0	-1.02	0.02	-1.66	0.03		-1.62	0.13		-1.64	0.18	
429	Aug-24 66	0	-0.85	0.07	-1.34	0.03		-1.31	0.10		-1.21	0.17	
435	Aug-24 72	0	-0.85	0.25	-1.24	0.08		-1.07	0.19		-0.78	0.12	
451	Aug-24 88	0	-0.74	0.13	-0.54	0.18		-0.55	0.12		-0.36	0.10	
452	Aug-24 89	0	-0.80	0.03	-1.30	0.09		-1.33	0.18		-1.11	0.12	

（續下頁）

表 6.3

給藥後的天數(基於實驗二分為 5mg/kg 與基於實驗5分為 5mg/kg，n=3-5)												
seed	3			7			14			28		
No.	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
10	0		-0.34	0.03	-0.47	0.12	-0.47	0.10	-0.33	0.16	-0.34	0.08	-0.43	0.06
AUS123														
438	0		-0.41	0.13	-0.78	0.11	-0.76	0.08	-0.66	0.08	-0.51	0.10	-0.70	0.14
AUS149														
437	0		-0.29	0.08	-0.73	0.16	-0.76	0.14	-0.69	0.20	-0.29	0.07	-0.26	0.06
AUS149														
10	0		-0.70	0.08	-1.13	0.19	-1.19	0.23	-1.20	0.22	-0.99	0.20	-0.91	0.21
AUS123														
438	0		-0.89	0.17	-1.96	0.30	-1.90	0.20	-1.87	0.17	-1.24	0.10	-1.10	0.11
AUS149														
437	0		-0.92	0.06	-2.07	0.32	-1.97	0.22	-2.01	0.13	-1.13	0.24	-1.01	0.23
AUS149														
435	0		-1.04	0.11	-2.02	0.18	-2.08	0.11	-2.18	0.11	-1.41	0.05	-1.16	0.07
AUS149														
434	0		-1.06	0.06	-2.33	0.13	-2.14	0.21	-2.37	0.24	-1.63	0.31	-1.76	0.96
AUS144														

表 6.7

給藥後約天數(室於言並三方,為 5mg/kg；室於言並5方,為45mg/kg，n=3-5)

SEQ ID NO:	0		3		7		10		14		21		28	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD
10	0		-0.6	0.1	-0.38	0.16	-0.61	0.37	-0.63	0.49	-0.61	0.87	-0.66	0.32
	AVS1233													
438	0		-0.36	0.10	-0.35	0.14	-0.62	0.12	-0.30	0.14	-0.31	0.23	-0.63	0.27
	AVS1495													
437	0		-0.32	0.11	-0.32	0.12	-0.36	0.07	-0.46	0.13	-0.34	0.61	-0.74	0.84
	AVS1494													
10	0		-0.90	0.19	-1.27	0.32	-1.38	0.42	-1.33	0.46	-1.19	0.73	-1.32	1.19
	AVS1233													
438	0		-0.82	0.26	-1.46	0.31	-1.36	0.25	-1.20	0.23	-0.87	0.17	-0.88	0.19
	AVS1495													
437	0		-0.93	0.10	-1.22	0.22	-1.16	0.32	-1.10	0.55	-0.98	0.88	-1.17	1.04
	AVS1494													
433	0		-0.98	0.13	-1.35	0.17	-1.42	0.19	-1.46	0.22	-1.24	0.38	-1.19	0.44
	AVS1492													
443	0		-0.75	0.14	-0.93	0.22	-0.83	0.26	-0.36	0.20	-0.47	0.22	-0.48	0.21
	AVS1482													
404	0		-0.84	0.13	-1.48	0.34	-1.29	0.34	-1.18	0.47	-0.87	0.30	-0.79	0.33
	AVS1411													

（下接37）

表 6.5

給藥後均天數(Group 3)

SEQ NO:	治療	0		3		7		14		21	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
19	A組	0		-0.33	0.03	-0.45	0.06	-0.34	0.05	-0.32	0.06	-0.18	0.12
	233												
642	A組	0		-0.20	0.06	-0.31	0.04	-0.28	0.03	-0.42	0.08	-0.29	0.13
	684												

（續下頁）

表 6.9.6

| | | |

表 6.7

給藥後天數(log-rank 檢定, p=0.047)												
sid	yo:	c	3		7		c		14		21	
		平均值	sd	平均值	sd	平均值	sd	平均值	sd	平均值	sd
10	AUS_233	0	-0.38	0.22	-1.14	1.00	-1.18	0.87	-1.81	0.39	-1.12	1.98
359	AUS_395	0	-1.02	0.32	-1.67	0.35	-2.06	0.31	-2.06	0.75	-2.44	1.49
385	AUS_422	0	-1.06	0.93	-1.92	2.03	-1.31	1.96	-2.73	0.39	-1.69	2.25
386	AUS_423	0	-2.21	1.65	-1.34	0.33	-1.94	1.01	-1.92	2.09	-2.53	0.94
387	AUS_424	0	-1.92	1.43	-2.44	0.93	-2.26	1.38	-1.77	0.26	-1.84	0.37
388	AUS_425	0	-0.90	0.06	-1.23	0.24	-1.00	0.13	-2.65	1.17	-0.92	0.37
389	AUS_426	0	-0.88	0.22	-1.12	0.43	-0.80	0.34	-2.03	1.38	-1.33	1.01
390	AUS_427	0	-1.85	0.04	-3.22	0.03	-4.49	0.44	-1.07	0.38	-4.13	0.27
391	AUS_428	0	-1.73	0.86	-3.78	1.00	-4.35	0.43	-3.74	0.48	-4.43	0.86
392	AUS_429	0	-1.13	0.21	-2.60	1.33	-3.07	1.34	-3.64	0.42	-2.71	1.33
393	AUS_430	0	-1.35	0.97	-1.65	0.91	-1.49	1.33	-2.41	0.78	-1.20	1.09
394	AUS_431	0	-1.00	0.40	-1.09	0.64	-1.40	1.23	-1.38	1.21	-2.24	1.26
395	AUS_432	0	-1.48	0.82	-1.38	0.31	-1.79	0.83	-1.70	0.51	-1.68	0.74
396	AUS_433	0	-1.62	0.31	-1.90	0.41	-1.78	0.41	-1.73	0.60	-2.07	1.76

（續次37）

C25328ZDA.pdf
2023.10.03
2023.10.03
発行責任者 A0202
発行 A181，頁 511(発明)No.Q

表16.18

SEQ ID NO:	ID	給薬後均天数(40mg/kg, n=2-3)											
		0		3		7		10		14		21	
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
10	AUS1233	0		-0.67	0.19	-0.69	0.10	-0.76	0.05	-0.82	0.10	-0.68	0.14
407	AUS1444	0		-1.10	0.39	-1.81	0.39	-1.93	0.85	-3.42	2.29	-1.88	0.76
421	AUS1438	0		-0.99	0.02	-1.31	0.17	-1.38	0.22	-2.01	0.26	-1.84	1.13
422	AUS1439	0		-0.97	0.12	-1.31	0.28	-1.26	0.38	-1.20	0.44	-1.02	0.29
423	AUS1460	0		-0.84	0.11	-1.07	0.01	-1.01	0.03	-1.03	0.07	-0.87	0.04
424	AUS1461	0		-0.90	0.03	-1.01	0.07	-0.98	0.07	-0.93	0.13	-0.80	0.13
425	AUS1462	0		-0.77	0.21	-0.94	0.34	-1.33	0.78	-2.67	2.81	-2.24	2.47
426	AUS1463	0		-1.00	0.19	-1.37	0.48	-1.42	0.54	-2.33	1.33	-2.04	0.04
427	AUS1464	0		-0.94	0.42	-1.10	0.74	-1.08	0.90	-1.78	1.96	-1.18	1.05
428	AUS1465	0		-0.81	0.17	-1.00	0.31	-1.08	0.36	-1.15	0.66	-1.30	1.13
429	AUS1466	0		-0.72	0.09	-1.11	0.42	-1.12	0.48	-1.31	0.68	-1.65	0.53
430	AUS1467	0		-0.75	0.07	-1.22	0.21	-1.30	0.40	-1.50	0.43	-2.80	2.11
431	AUS1468	0		-0.66	0.08	-0.99	0.09	-0.92	0.09	-0.91	0.01	-1.09	0.35
432	AUS1469	0		-0.35	0.11	-0.73	0.17	-0.67	0.13	-0.74	0.05	-0.67	0.02
433	AUS1470	0		-0.72	0.20	-0.93	0.33	-0.92	0.36	-0.82	0.45	-0.76	0.36
434	AUS1471	0		-0.34	0.08	-0.34	0.02	-0.61	0.12	-0.60	0.25	-0.81	0.16
435	AUS1472	0		-1.77	1.31	-2.33	1.43	-2.69	1.35	-2.57	1.31	-2.30	1.29
436	AUS1473	0		-1.09	0.33	-1.48	0.34	-2.46	2.13	-2.32	1.87	-2.29	2.03
437	AUS1474	0		-0.48	0.10	-0.63	0.07	-0.39	0.14	-0.48	0.06	-0.59	0.06
438	AUS1475	0		-1.33	1.01	-2.29	1.70	-2.81	2.36	-2.76	1.23	-3.07	0.85
439	AUS1476	0		-1.35	0.44	-2.26	2.01	-3.12	2.16	-2.72	1.98	-2.66	1.61
440	AUS1477	0		-0.63	0.10	-0.70	0.04	-0.69	0.06	-0.46	0.13	-0.67	0.24
441	AUS1478	0		-1.06	0.39	-0.92	1.00	-1.16	0.94	-0.94	0.72	-1.14	0.79
442	AUS1479	0		-0.72	0.02	-0.90	0.16	-0.86	0.23	-0.71	0.12	-0.86	0.00
443	AUS1480	0		-2.30	2.03	-2.40	2.01	-2.66	2.07	-2.30	1.86	-2.47	2.09
444	AUS1481	0		-0.64	0.01	-0.83	0.03	-1.20	0.47	-1.86	1.37	-2.17	1.92
445	AUS1482	0		-0.77	0.22	-0.98	0.05	-0.68	0.17	-0.56	0.17	-0.56	0.08
446	AUS1483	0		-1.34	0.26	-1.49	0.24	-2.22	1.29	-2.00	1.23	-2.93	1.34
451	AUS1488	0		-0.43	0.02	-0.38	0.02	-0.33	0.08	-0.23	0.08	-0.39	0.08
452	AUS1489	0		-0.82	0.12	-1.00	0.02	-1.01	0.13	-1.04	0.36	-1.64	0.18
453	AUS1490	0		-0.97	0.11	-1.30	0.06	-1.43	0.41	-1.21	0.56	-1.58	1.13
406	AUS1443	0		-1.28	0.21	-2.36	0.61	-2.66	0.87	-2.38	0.89	-2.40	0.91
397	AUS1434	0		-1.00	0.09	-1.73	0.07	-2.83	0.76	-2.39	0.80	-3.24	0.32

表 7

組別	劑量	給藥後均天數 (10^3 cells/kg, n=4)											
		0		3		7		14		21		28	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
對照	0	-0.32	0.04	-0.66	0.03	-0.61	0.03	-0.37	0.03	-0.30	0.03	-0.22	0.03
低劑量	233	-0.71	0.10	-1.36	0.13	-1.26	0.19	-1.12	0.10	-0.72	0.04	-0.46	0.03
高劑量	493	-1.00	0.09	-1.31	0.08	-1.23	0.05	-1.02	0.03	-0.77	0.02	-0.57	0.02

（接下頁）

表18.1

SEQ ID NO:	ID	給與後的天数(60mg/kg, n=4)					
		3	7	10	14	17	21
		幾何平均値	幾何平均値	幾何平均値	幾何平均値	幾何平均値	幾何平均値
10	AUS1233	7.60	11.23	6.74	13.40	31.34	34.22
397	AUS1434	9.84	18.34	236.96	298.39		9.24
398	AUS1435	8.76	38.98	230.81	318.43		7.18
403	AUS1440	10.87	16.23	80.49	277.92		16.53
399	AUS1436	14.13	181.88	230.62	117.80		4.87
400	AUS1437	11.19	30.05	141.18	137.67		4.87
401	AUS1438	10.14	30.67	347.02	238.82		4.39
402	AUS1439	9.78	11.06	89.09	321.05		5.72
404	AUS1441	13.27	12.91	13.35	28.33	22.37	5.04
163	AUS1178	11.32	9.80	17.13	161.86		16.76
175	AUS1190	8.32	8.78	13.35	166.77		11.84
173	AUS1188	10.96	13.67	17.31	133.60		12.16
177	AUS1192	9.84	10.10	23.62	210.64		13.91
385	AUS1422	8.11	8.48	31.33	98.02		8.65
386	AUS1423	8.21	11.79	72.31	200.99		11.67
387	AUS1424	8.76	10.40	17.29	44.09	140.34	10.02
388	AUS1425	7.24	10.68	23.48	93.02		9.91
389	AUS1426	6.07	10.36	13.89	26.39	58.62	9.16
390	AUS1427	9.32	10.81	23.28	32.21	41.39	10.41
391	AUS1428	11.38	11.74	28.52	161.42		8.48
392	AUS1429	13.61	9.81	5.36	14.32	6.49	6.38
393	AUS1430	12.48	7.89	22.39	288.26		9.01
394	AUS1431	10.37	9.79	9.81	12.11	40.99	5.11
395	AUS1432	12.36	9.34	21.88	103.02		7.36
396	AUS1433	12.13	39.64	33.17	127.73		9.28
329	AUS1360	16	9	20	58	18	11
364	AUS1401	17	10	16	97		20
330	AUS1361	11	12	67	48	5	9
331	AUS1362	14	8	40	45	5	9
374	AUS1411	354	301				

C2S3282DA.pdf
2023.10.03
特許業務法人 AOYAMA
弁理士 SOTA 外 5 名 JP 5117680 B2 (P5117680B2)

表：8.2

編號	給藥後約天數(60mg/kg, n=3)					
	3	7	10	14	17	21
	幾何平均值	幾何平均值	幾何平均值	幾何平均值	幾何平均值	幾何平均值
406	AUC4413	9.24	9.47	9.87	7.87	33.49	27.90
407	AUC4414	18.98	11.76	8.00	24.40	76.2	18.76
408	AUC4415	24.28	17.71	90.68	83.07	9.36	3.93
409	AUC4416	10.35	8.23	9.89	2.33	9.08	3.93
410	AUC4417	13.62	8.40	13.18	7.62	13.48	11.13
411	AUC4418	14.96	9.90	8.93	8.43	7.79	11.13
412	AUC4419	11.38	7.42	9.87	11.38	8.37	7.21
413	AUC4420	9.94	8.48	7.82	11.18	9.49	8.08
414	AUC4421	12.89	6.34	8.79	9.32	8.85	10.64
415	AUC4422	12.27	7.33	7.96	9.47	9.49	9.03
416	AUC4423	11.68	6.12	8.77	20.93	33.03	18.72
417	AUC4424	9.74	5.96	11.33	26.36	38.66	17.80
418	AUC4425	10.83	7.17	11.41	12.33	22.3	11.39
419	AUC4426	9.32	8.13	8.88	10.04	9.31	7.47

（下表）