



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103620035 A

(43) 申请公布日 2014. 03. 05

(21) 申请号 201280031285. 4

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 04. 25

*C12N 15/113* (2006. 01)

(30) 优先权数据

*A61P 35/00* (2006. 01)

61/478, 767 2011. 04. 25 US

61/565, 779 2011. 12. 01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 12. 24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/034880 2012. 04. 25

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/148952 EN 2012. 11. 01

(71) 申请人 莱古路斯治疗法股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 B. 巴特

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 郭杰

权利要求书6页 说明书79页

序列表2页 附图2页

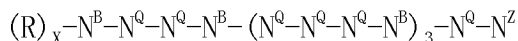
(54) 发明名称

用于调节MIR-21活性的微RNA化合物以及方法

(57) 摘要

本文描述了用于抑制miR-21活性的组合物和方法。这些组合物具有某些产生miR-21活性的有效抑制剂的核苷修饰形态。这些组合物可用于抑制miR-21, 以及治疗与miR-21的异常表达相关的疾病, 诸如纤维化及癌症。

1. 一种化合物, 包含由 8 至 22 个连接的核苷组成的一种经修饰寡核苷酸, 其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补, 并且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 I 的至少 8 个连续核苷:



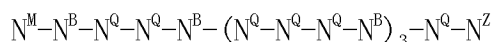
其中每个 R 独立地是一种非双环核苷; X 是 1 至 4;

每个  $N^B$  独立地是一种双环核苷;

每个  $N^Q$  独立地是一种非双环核苷; 并且

每个  $N^Z$  独立地是一种经修饰的核苷。

2. 一种化合物, 包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的一种经修饰寡核苷酸, 其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补, 并且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 II 的至少 8 个连续核苷:



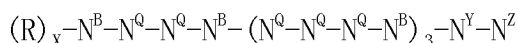
其中  $N^M$  独立地是一种不为双环核苷的经修饰核苷;

每个  $N^B$  独立地是一种双环核苷;

每个  $N^Q$  独立地是一种非双环核苷; 并且

$N^Z$  独立地是一种经修饰的核苷。

3. 一种化合物, 包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸, 其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补, 并且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 III 的至少 8 个连续核苷:



其中每个 R 是一种非双环核苷; X 是 1 至 4;

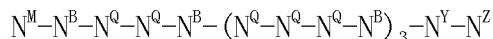
每个  $N^B$  是一种双环核苷;

每个  $N^Q$  是一种非双环核苷;

$N^Y$  是一种经修饰的核苷或一种未经修饰的核苷; 并且

每个  $N^Z$  是一种经修饰的核苷。

4. 一种化合物, 包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的一种经修饰寡核苷酸, 其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补, 并且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 IV 的至少 8 个连续核苷:



其中  $N^M$  是一种不为双环核苷的经修饰核苷;

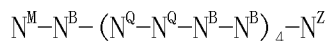
每个  $N^B$  是一种双环核苷;

每个  $N^Q$  是一种非双环核苷;

$N^Y$  是一种经修饰的核苷或一种未经修饰的核苷; 并且

$N^Z$  是一种经修饰的核苷。

5. 一种化合物, 包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的一种经修饰寡核苷酸, 其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补, 并且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 V 的至少 8 个连续核苷:



其中  $N^M$  是一种不为双环核苷的经修饰核苷;

每个  $N^B$  是一种双环核苷；  
每个  $N^Q$  是一种非双环核苷；并且  
 $N^Z$  是一种经修饰的核苷。

6. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的化合物，其中该经修饰寡核苷酸包含核苷型态 I、II、III、IV 或 V 的至少 9 个、至少 10 个、至少 11 个、至少 12 个、至少 13 个、至少 14 个、至少 15 个、至少 16 个、至少 17 个、至少 18 个、至少 19 个、至少 20 个、至少 21 个或 22 个连续核苷。

7. 如以上权利要求中任一项所述的化合物，其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 的核苷碱基序列 (SEQ ID NO:1) 至少 90% 互补、至少 95% 互补或 100% 互补。

8. 如以上权利要求中任一项所述的化合物，其中每个双环核苷独立地选自 LNA 核苷、cEt 核苷以及 ENA 核苷。

9. 如权利要求 1 至 7 中任一项所述的化合物，其中每个双环核苷是一种 S-cEt 核苷。

10. 如权利要求 1 至 7 中任一项所述的化合物，其中每个双环核苷是一种 LNA 核苷。

11. 如以上权利要求中任一项所述的化合物，其中每个非双环核苷独立地选自  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷以及 2'-O-甲氧基乙基核苷。

12. 如权利要求 1 至 10 中任一项所述的化合物，其中每个非双环核苷是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。

13. 如权利要求 1 至 10 中任一项所述的化合物，其中每个非双环核苷是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷。

14. 如以上权利要求中任一项所述的化合物，其中该经修饰寡核苷酸由核苷型态 I、II、III、IV 或 V 的 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21 或 22 个连接的核苷组成。

15. 如以上权利要求中任一项所述的化合物，其中至少一个核苷间键是一种经修饰核苷间键，或其中每个核苷间键是一种经修饰核苷间键，并且其中该经修饰核苷间键可任选地作为一种硫代磷酸酯核苷间键。

16. 如权利要求 1 至 15 中任一项所述的化合物，其中至少一个胞嘧啶是一种 5-甲基胞嘧啶，或其中每个胞嘧啶是一种 5-甲基胞嘧啶。

17. 如权利要求 1 所述的化合物，其中：

a. R 由四个连接的核苷  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$  组成，其中  $N^{R1}$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷，并且  $N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$  的每一个是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷；

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷；

每个  $N^Q$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷；并且

$N^Z$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷；

b. 每个 R 是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷；X 是 1；

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷；

每个  $N^Q$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷；并且

$N^Z$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷；

c. 每个 R 是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷；X 是 1；

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷；

每个  $N^Q$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷；并且

$N^Z$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；  
d. 每个 R 是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；X 是 1；  
每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；并且  
 $N^Z$  是一种 S-cEt 核苷；  
e. 每个 R 是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；X 是 1；  
每个  $N^B$  是一种 LNA 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；并且  
 $N^Z$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；或  
f. 每个 R 是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；X 是 1；  
每个  $N^B$  是一种 LNA 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；并且  
 $N^Z$  是一种 LNA 核苷。

18. 如权利要求 2 所述的化合物, 其中:

a.  $N^M$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；  
每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；并且  
 $N^Z$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；  
b.  $N^M$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；  
每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；并且  
 $N^Z$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；  
c.  $N^M$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；  
每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；  
每个 N 是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；并且  
 $N^Z$  是一种 S-cEt 核苷；  
d.  $N^M$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；  
每个  $N^B$  是一种 LNA 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；并且  
 $N^Z$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；或  
e.  $N^M$  是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；  
每个  $N^B$  是一种 LNA 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；并且  
 $N^Z$  是一种 LNA 核苷。

19. 如权利要求 3 所述的化合物, 其中:

a. 每个 R 是一种 2' -O- 甲氧基乙基核苷；X 是 1；  
每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷；  
每个  $N^Q$  是一种  $\beta$  -D- 脱氧核糖核苷；

$N^Y$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;并且

$N^Z$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷;

b. 每个 R 是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷;X 是 1;

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷;

每个  $N^Q$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;

$N^Y$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;并且

$N^Z$  是一种 S-cEt 核苷;或

c. 每个 R 是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷;X 是 1;

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷;

每个  $N^Q$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;

$N^Z$  是一种 S-cEt 核苷;并且

$N^Z$  是一种 S-cEt 核苷。

20. 如权利要求 4 所述的化合物,其中:

a.  $N^M$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷;

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷;

每个  $N^Q$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;

$N^Y$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;

$N^Z$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷;并且

b.  $N^M$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷;

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷;

每个  $N^Q$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;

$N^Y$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;并且

$N^Z$  是一种 S-cEt 核苷;

c.  $N^M$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷;

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷;

每个  $N^Q$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;

$N^Z$  是一种 S-cEt 核苷;并且

$N^Z$  是一种 S-cEt 核苷。

21. 如权利要求 5 所述的化合物,其中:

$N^M$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷;

每个  $N^B$  是一种 S-cEt 核苷;

每个  $N^Q$  是一种  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;并且

$N^Z$  是一种 2'-O-甲氧基乙基核苷。

22. 如以上权利要求中任一项所述的化合物,其中该经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:3,或其中该经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:4,并且其中在这种序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

23. 一种抑制 miR-21 的活性的方法,包括使一种细胞与如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物接触。

24. 如权利要求 23 所述的方法,其中该细胞在活体内,或其中该细胞在活体外。

25. 如权利要求 23 或 24 所述的方法,其中该细胞是成纤维细胞、过度增殖性细胞、角化细胞或乏氧细胞。

26. 一种减少细胞中的胶原蛋白表达的方法,包括使一种细胞与如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物接触。

27. 一种治疗与 miR-21 相关的疾病、预防或延迟与 miR-21 相关的疾病发作的方法,包括向患有与 miR-21 相关的一种疾病的一个受试者给予如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物。

28. 如权利要求 27 所述的方法,其中该疾病是纤维化。

29. 如权利要求 28 所述的方法,其中该纤维化选自肾纤维化、肺纤维化、肝纤维化、心脏纤维化、皮肤纤维化、年龄相关性纤维化、脾纤维化、硬皮病以及移植后纤维化。

30. 如权利要求 29 所述的方法,其中:

a. 该肾纤维化存在于患有选自以下项的疾病的一个受试者中:肾小球硬化、肾小管间质纤维化、IgA 肾病、间质纤维化/肾小管萎缩;慢性肾损伤、肾小球疾病、肾小球肾炎、糖尿病、特发性局灶节段性肾小球硬化、膜性肾病、塌陷性肾小球病、慢性复发性肾脏感染以及终末期肾病;

b. 该肾纤维化由肾脏的急性或反复性创伤引起;

c. 该肝纤维化存在于患有选自以下项的疾病的一个受试者中:慢性肝损伤、肝炎感染、非酒精性脂肪变性肝炎以及肝硬化;该肺纤维化是特发性肺纤维化;和/或

d. 该受试者患有慢性阻塞性肺病。

31. 一种治疗一个受试者中的纤维增生性病征的方法,包括向该受试者给予如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物。

32. 如权利要求 23 至 31 中任一项所述的方法,包括选择一种或多种组织中的 miR-21 表达升高的一个受试者。

33. 如权利要求 27 至 31 中任一项所述的方法,其中该受试者需要改善的器官功能,其中该器官功能选自心脏功能、肺功能、肝功能以及肾功能。

34. 如权利要求 27 至 33 中任一项所述的方法,其中该给予改善该受试者的器官功能,其中该器官功能选自心脏功能、肺功能、肝功能以及肾功能。

35. 如权利要求 27 至 34 中任一项所述的方法,包括给予至少一种选自以下项的治疗剂:抗炎剂、免疫抑制剂、抗糖尿病剂、地高辛、血管舒张药、血管紧张素 II 转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂 (ARB)、钙通道阻滞剂、异山梨醇二硝酸酯、肼屈嗪、硝酸酯、肼屈嗪、 $\beta$ -阻滞剂、利钠肽、类肝素以及结缔组织生长因子抑制剂。

36. 如权利要求 27 所述的方法,其中该疾病是癌症。

37. 如权利要求 36 所述的方法,其中该癌症为肝癌、乳癌、膀胱癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌、脑癌、血液性癌症、胰脏癌、头颈癌、舌癌、胃癌、皮肤癌或甲状腺癌。

38. 如权利要求 36 或 37 所述的方法,进一步包含向该受试者给予至少一种其他抗癌疗法。

39. 如权利要求 23 至 38 中任一项所述的方法,其中该受试者是人。

40. 如权利要求 23 至 39 中任一项所述的方法,其中该化合物以一种药物组合物存在。

41. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物,该化合物用于疗法。

42. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物,该化合物用于治疗纤维化。
43. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物,该化合物用于促进伤口愈合。
44. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物,该化合物用于治疗癌症。
45. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物,该化合物用于预防和 / 或延迟转移的发作。
46. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物,该化合物用于治疗心脏病。
47. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物用于制备一种药物的用途。
48. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物用于制备一种治疗纤维化的药物的用途。
49. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物用于制备一种促进伤口愈合的药物的用途。
50. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物用于制备一种治疗癌症的药物的用途。
51. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的化合物用于制备一种预防和 / 或延迟转移发作的药物的用途。

## 用于调节 MIR-21 活性的微 RNA 化合物以及方法

[0001] 本申请要求 2011 年 4 月 25 日提交的美国临时申请案 61/478,767 号以及 2011 年 12 月 1 日提交的美国临时申请案 61/565,779 号的优先权益,这些申请案出于任何目的通过引用以其全文结合在此。

### 发明领域

[0002] 本文提供用于调节 miR-21 活性的方法和组合物。

[0003] 相关技术说明

[0004] 微 RNA (microRNA) 亦称为“成熟微 RNA”,是在植物及动物的基因组中编码的小型(长约 18-24 个核苷酸)非编码 RNA 分子。在某些情况下,高度保守的内源性表达的微 RNA 通过结合至特定 mRNA 的 3' - 非翻译区 (3' -UTR) 来调控基因的表达。已在植物和动物中鉴别出超过 1000 种不同的微 RNA。某些成熟微 RNA 似乎来源于长度通常为数百个核苷酸的长内源性初级微 RNA 转录物(亦称为初级微 RNA、初级 mir、初级 miR 或初级微 RNA 前体)(Lee 等人,EMBO J., 2002, 21(17), 4663-4670)。

[0005] 对微 RNA 的功能性分析揭示,这些小型非编码 RNA 促进动物的不同生理过程,包括发育时序、器官发生、分化、成型 (patterning)、胚胎发生、生长控制及渐进式细胞死亡。微 RNA 参与的特定过程的实例包括干细胞分化、神经生成、血管生成、造血作用及胞吐作用(由 Alvarez-Garcia 及 Miska, Development (《发育》), 2005, 132, 4653-4662 评述)。

[0006] 发明概述

[0007] 本文提供包含经修饰寡核苷酸的化合物,其中经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 互补且经修饰寡核苷酸具有本文所述的核苷型态。

[0008] 本文提供抑制 miR-21 活性的方法,包括使细胞与本文所述的化合物接触。在某些实施例中,细胞在活体内。在某些实施例中,细胞在活体外。

[0009] 本文提供治疗与 miR-21 相关的疾病的方法,包括向患有与 miR-21 相关的疾病的受试者给予本文所述的化合物。在某些实施例中,动物是人类。

[0010] 本文所述的化合物被提供用于疗法中。

[0011] 本文提供包含由 8 至 22 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物,其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 I 的至少 8 个连续核苷:

[0012]  $(R)_x - N^B - N^Q - N^Q - N^B - (N^Q - N^Q - N^Q - N^B)_3 - N^Q - N^Z$

[0013] 其中每个 R 独立地是非双环核苷;x 是 1 至 4;每个  $N^B$  独立地是双环核苷;每个  $N^Q$  独立地是非双环核苷;并且每个  $N^Z$  独立地是经修饰的核苷。

[0014] 本文提供包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物,其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 II 的至少 8 个连续核苷:

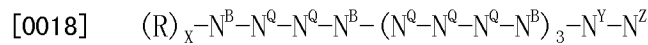
[0015]  $N^M - N^B - N^Q - N^Q - N^B - (N^Q - N^Q - N^Q - N^B)_3 - N^Q - N^Z$

[0016] 其中  $N^M$  独立地是不为双环核苷的经修饰核苷;每个  $N^B$  独立地是双环核苷;每个  $N^Q$



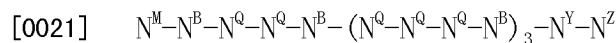
独立地是非双环核苷；且  $N^Z$  独立地是经修饰的核苷。

[0017] 本文提供包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物，其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 III 的至少 8 个连续核苷：



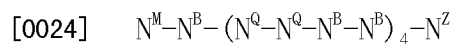
[0019] 其中每个 R 是非双环核苷；X 是 1 至 4；每个  $N^B$  是双环核苷；每个  $N^Q$  是非双环核苷； $N^Y$  是经修饰的核苷或未经修饰的核苷；且每个  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0020] 本文提供包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物，其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 IV 的至少 8 个连续核苷：



[0022] 其中  $N^M$  是不为双环核苷的经修饰核苷；每个  $N^B$  是双环核苷；每个  $N^Q$  是非双环核苷； $N^Y$  是经修饰的核苷或未经修饰的核苷；且  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0023] 本文提供包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物，其中该经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中该经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 V 的至少 8 个连续核苷：



[0025] 其中  $N^M$  是不为双环核苷的经修饰核苷；每个  $N^B$  是双环核苷；每个  $N^Q$  是非双环核苷；且  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0026] 在核苷型态 I 或 III 的某些实施例中，X 是 1，X 是 2，X 是 3，或 X 是 4。

[0027] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中，经修饰的寡核苷酸包含核苷型态 I、II、III、IV 或 V 的至少 9 个、至少 10 个、至少 11 个、至少 12 个、至少 13 个、至少 14 个、至少 15 个、至少 16 个、至少 17 个、至少 18 个、至少 19 个、至少 20 个、至少 21 个或 22 个连续核苷。在本文提供的任何化合物的某些实施例中，经修饰的寡核苷酸由核苷型态 I、II、III、IV 或 V 之 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21 或 22 个连接的核苷组成。

[0028] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中，经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 的核苷碱基序列 (SEQ ID NO:1) 至少 90% 互补、至少 95% 互补或 100% 互补。

[0029] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中，miR-21 位置 1 上的核苷碱基与经修饰寡核苷酸的 3' 端上的第一核苷碱基配对。

[0030] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中，每个双环核苷独立地选自 LNA 核苷、cEt 核苷及 ENA 核苷。

[0031] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中，至少两个非双环核苷包含彼此不同的糖部分。在本文提供的任何化合物的某些实施例中，每个非双环核苷具有相同类型的糖部分。

[0032] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中，每个双环核苷为 cEt 核苷。在某些实施例中，cEt 核苷是 S-cEt 核苷。在某些实施例中，cEt 核苷是 R-cEt 核苷。在本文提供的任何化合物的某些实施例中，每个双环核苷是 LNA 核苷。

[0033] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中，每个非双环核苷独立地选自  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷、 $\beta$ -D-核糖核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-甲氧基乙基核苷及 2'-氟核苷。在

本文提供的任何化合物的某些实施例中,每个非双环核苷独立地选自  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷及 2'-O-甲氧基乙基核苷。在本文提供的任何化合物的某些实施例中,每个非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。在本文提供的任何化合物的某些实施例中,每个非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷。

[0034] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中,每个双环核苷包含非甲基化核苷。

[0035] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中,不超过 2 个非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在某些此类实施例中,每个其他非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。

[0036] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中,5'最末端非双环核苷及 3'最末端非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷且其他每个非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。在本文提供的任何化合物的某些实施例中,两个非双环核苷是 2'-MOE 核苷且每个其他非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。

[0037] 在核苷型态 I 或 III 的某些实施例中,每个核苷 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态 I 或 III 的某些实施例中,三个核苷 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷且一个核苷 R 是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。

[0038] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中,至少一个核苷间键是经修饰的核苷间键。在本文提供的任何化合物的某些实施例中,每个核苷间键均为经修饰的核苷间键。在某些实施例中,经修饰的核苷间键为硫代磷酸酯核苷间键。

[0039] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中,至少一个核苷间键包含经修饰的核苷碱基。在本文提供的任何化合物的某些实施例中,至少一个胞嘧啶是 5-甲基胞嘧啶。在本文提供的任何化合物的某些实施例中,每个胞嘧啶均是 5-甲基胞嘧啶。在本文提供的任何化合物的某些实施例中,经修饰寡核苷酸的位置 2 上的胞嘧啶是 5-甲基胞嘧啶。

[0040] 在核苷型态 I 的某些实施例中,R 由四个连接的核苷  $N^{R^1}-N^{R^2}-N^{R^3}-N^{R^4}$  组成,其中  $N^{R^1}$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷且  $N^{R^2}-N^{R^3}-N^{R^4}$  的每一个是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且  $N^Z$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态 I 的某些实施例中,每个 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷;X 是 1;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且  $N^Z$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态 I 的某些实施例中,每个 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷;X 是 1;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷;且  $N^Z$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态 I 的某些实施例中,每个 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷;X 是 1;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且  $N^Z$  是 S-cEt 核苷。在核苷型态 I 的某些实施例中,每个 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷;X 是 1;每个  $N^B$  是 LNA 核苷;每个  $N^Q$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且  $N^Z$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态 I 的某些实施例中,每个 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷;X 是 1;每个  $N^B$  是 LNA 核苷;每个  $N^Q$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且  $N^Z$  是 LNA 核苷。

[0041] 在核苷型态 II 的某些实施例中, $N^M$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且  $N^Z$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态 II 的某些实施例中, $N^M$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷;且  $N^Z$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态 I 的某些实施例中, $N^M$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;每个 N 是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且  $N^Z$  是 S-cEt 核苷。在核苷型态 II 的某些实施例中, $N^M$  是 2'-O-甲氧基乙

基核苷;每个 $N^B$ 是LNA核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态II的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;每个 $N^B$ 是LNA核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 是LNA核苷。

[0042] 在核苷型态III的某些实施例中,每个R是2'-O-甲氧基乙基核苷;X是1;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷; $N^Y$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态III的某些实施例中,每个R是2'-O-甲氧基乙基核苷;X是1;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷; $N^Y$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 是S-cEt核苷。在核苷型态III的某些实施例中,每个R是2'-O-甲氧基乙基核苷;X是1;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷; $N^Y$ 是S-cEt核苷;且 $N^Z$ 是S-cEt核苷。

[0043] 在核苷型态IV的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷; $N^Y$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷。在核苷型态IV的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷; $N^Y$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 是S-cEt核苷。在核苷型态IV的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷; $N^Y$ 是S-cEt核苷;且 $N^Z$ 是S-cEt核苷。

[0044] 在核苷型态V的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷。

[0045] 在本文提供的任何化合物的某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有SEQ ID NO:3的核苷碱基序列,其中序列中的每个T独立地选自T和U。在本文提供的任何化合物的某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有SEQ ID NO:4的核苷碱基序列,其中序列中的每个T独立地选自T和U。

[0046] 本文提供抑制miR-21活性的方法,包括使细胞与本文提供的化合物接触。在某些实施例中,细胞在活体内。在某些实施例中,细胞在活体外。在某些实施例中,细胞是成纤维细胞、过度增殖性细胞、角化细胞或乏氧细胞。在某些实施例中,成纤维细胞是过度增殖性成纤维细胞。

[0047] 本文提供减少细胞中的胶原蛋白表达的方法,包括使细胞与本文提供的化合物接触。

[0048] 本文提供治疗与miR-21相关的疾病、预防或延迟其发作的方法,包括向患有这种疾病的受试者给予本文提供的任何化合物。

[0049] 在某些实施例中,疾病为纤维化。在某些实施例中,纤维化为肾纤维化、肺纤维化、肝纤维化、心脏纤维化、皮肤纤维化、年龄相关性纤维化、脾纤维化、硬皮病或移植后纤维化。

[0050] 在某些实施例中,纤维化为肾纤维化且存在于患有选自以下项的疾病的受试者中:肾小球硬化、肾小管间质纤维化、IgA肾病、间质纤维化/肾小管萎缩;慢性肾损伤、肾小球疾病、肾小球肾炎、糖尿病、特发性局灶节段性肾小球硬化、膜性肾病、塌陷性肾小球病、慢性复发性肾脏感染以及终末期肾病。在某些实施例中,肾纤维化由肾脏的急性或反复性创伤引起。

[0051] 在某些实施例中,纤维化是肝纤维化且存在于患有选自以下项的疾病的受试者中:慢性肝损伤、肝炎感染、非酒精性脂肪变性肝炎以及肝硬化。

[0052] 在某些实施例中,肺纤维化是特发性肺纤维化,或受试者患有慢性阻塞性肺病。

[0053] 在某些实施例中,疾病是发炎性疾病。

[0054] 本文提供促进受试者的伤口愈合的方法,包括向具有急性或慢性伤口的受试者给予本文提供的任何化合物。在某些实施例中,慢性伤口是急性或慢性手术伤口、穿透伤口、撕脱伤、挤压伤、剪力损伤、烧伤、撕裂、咬伤、动脉性溃疡、静脉性溃疡、褥疮及糖尿病性溃疡。在某些实施例中,化合物被局部给予伤口。

[0055] 本文提供治疗受试者的纤维增生性病征的方法,包括向受试者给予本文提供的任何化合物。

[0056] 本文提供的任何方法可包括选择一种或多种组织中的 miR-21 表达升高的受试者。

[0057] 在某些实施例中,向受试者给予本文提供的任何化合物减少了胶原蛋白表达。

[0058] 在某些实施例中,受试者需要改善的器官功能,其中该器官功能选自心脏功能、肺功能、肝功能以及肾功能。在某些实施例中,给予本文提供的任何化合物改善受试者的器官功能,其中该器官功能选自心脏功能、肺功能、肝功能以及肾功能。

[0059] 本文提供的任何方法包括评估受试者的肾功能,可包括测量受试者血液中的血液尿素氮;测量受试者血液中的肌酐;测量受试者的肌酐清除率;测量受试者的蛋白尿;测量受试者的白蛋白:Cr 比率;和/或测量受试者的尿排泄量。

[0060] 本文提供的任何方法可包括评估受试者的肝功能,可包括:测量受试者血液中的丙氨酸转氨酶含量;测量受试者血液中的天冬氨酸转氨酶含量;测量受试者血液中的胆红素含量;测量受试者血液中的白蛋白含量;测量受试者的凝血酶原时间;测量受试者的腹水;和/或测量受试者的脑病。

[0061] 本文提供的任何方法可包括评估受试者的肺功能,可包括:测量受试者的肺活量;测量受试者的用力肺活量;测量受试者的一秒内用力呼气量;测量受试者的峰值呼气流速;测量受试者的用力呼气流量;测量受试者的最大随意通气量;测定受试者的一秒内用力呼气量与用力肺活量的比率;测量受试者的通气/灌注比率;测量受试者的氮气廓清;测量受试者一个或多个肺中的绝对空气容积。

[0062] 本文提供的任何方法可包括评估受试者的心脏功能,可包括:测量受试者的心输出量;测量受试者的心搏排血量;测量受试者的平均收缩期射血率;测量受试者的收缩期血压;测量受试者的左心室射血分数;测定受试者的心搏指数;测定受试者的心脏指数;测量受试者的左心室缩短百分率;测量受试者的周径纤维平均缩短速度;测量受试者的左心室流入血流速度图;测量受试者的肺静脉血流速度图;测量受试者二尖瓣环的舒张早期峰值速度。

[0063] 本文提供的任何方法可包括向受试者给予至少一种选自以下项的治疗剂:抗炎剂、免疫抑制剂、抗糖尿病剂、地高辛(digoxin)、血管舒张药、血管紧张素 II 转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂(ARB)、钙通道阻滞剂、异山梨醇二硝酸酯、肼屈嗪(hydralazine)、硝酸酯、肼屈嗪、 $\beta$ -阻滞剂、利钠肽、类肝素以及结缔组织生长因子抑制剂。在某些实施例中,抗炎剂是非类固醇抗炎剂,其中该非类固醇抗炎剂可任选地选自布洛芬(ibuprofen)、COX-1 抑制剂或 COX-2 抑制剂。在某些实施例中,免疫抑制剂选自皮质类固醇、环磷酰胺(cyclophosphamide)以及霉酚酸吗啉乙酯(mycophenolate mofetil)。在

某些实施例中,抗炎剂是皮质类固醇,其中该皮质类固醇可任选地为强的松(prednisone)。在某些实施例中,血管紧张素 II 转化酶(ACE)抑制剂选自卡托普利(captopril)、依那普利(enalapril)、赖诺普利(lisinopril)、贝那普利(benazepril)、喹那普利(quinapril)、福辛普利(fosinopril)以及雷米普利(ramipril)。在某些实施例中,血管紧张素 II 受体阻滞剂(ARB)选自坎地沙坦(candesartan)、伊贝沙坦(irbesartan)、奥美沙坦(olmesartan)、洛沙坦(losartan)、缬沙坦(valsartan)、替米沙坦(telmisartan)以及依普沙坦(eprosartan)。

[0064] 在某些实施例中,疾病为癌症。在某些实施例中,癌症是肝癌、乳癌、膀胱癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌、脑癌、血液性癌症、胰脏癌、头颈癌、舌癌、胃癌、皮肤癌或甲状腺癌。在某些实施例中,肝癌是肝细胞癌。在某些实施例中,脑癌是多形性胶质母细胞瘤。在某些实施例中,血液性癌症是急性骨髓性白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病、慢性骨髓性白血病、霍奇金氏淋巴瘤(hodgkin's lymphoma)或非霍奇金氏淋巴瘤(non-hodgkin's lymphoma)。

[0065] 在某些实施例中,本文提供的方法包括向受试者给予至少一种其他抗癌疗法。在某些实施例中,抗癌疗法为 DNA 损伤剂、增殖抑制剂、抗叶酸剂、生长因子受体抑制剂、抗血管生成剂、受体酪氨酸激酶抑制剂、激酶抑制剂、生长因子抑制剂、细胞毒性剂、放射疗法或手术切除肿瘤。在某些实施例中,DNA 损伤剂是 1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脒、白消安(busulfan)、卡铂(carboplatin)、卡莫司汀(carmustine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、顺铂(cisplatin)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、达卡巴嗪(dacarbazine)、道诺霉素(daunorubicin)、小红莓(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、依托泊苷(etoposide)、伊达比星(idarubicin)、异环磷酰胺(ifosfamide)、伊立替康(irinotecan)、洛莫司汀(lomustine)、氮芥(mechlorethamine)、美法仑(melphalan)、丝裂霉素 C(mitomycin C)、米托蒽醌(mitoxantrone)、奥沙利铂(oxaliplatin)、替莫唑胺(temozolomide)或拓扑替康(topotecan)。在某些实施例中,抗叶酸剂是甲氨蝶呤(methotrexate)、氨基蝶呤(aminopterin)、胸苷酸合成酶、丝氨酸羟甲基转移酶、叶酰聚谷氨酰基合成酶、g-谷氨酰基水解酶、甘氨酸胺-核糖核苷酸转甲酰基酶、甲酰四氢叶酸、氨基-咪唑-甲酰胺-核糖核苷酸转甲酰基酶、5-氟尿嘧啶或叶酸转运体。在某些实施例中,生长因子受体抑制剂为埃罗替尼(erlotinib)或吉非替尼(gefitinib)。在某些实施例中,血管生成抑制剂是贝伐单抗(bevacizumab)、沙利度胺(thalidomide)、羧基氨基三唑、TNP-470、CM101、IFN- $\alpha$ 、血小板因子-4、苏拉明(suramin)、SU5416、血小板反应蛋白(thrombospondin)、VEGFR 拮抗剂、软骨源性血管生成抑制因子、基质金属蛋白酶抑制剂、血管生成抑制素(angiostatin)、内皮抑素(endostatin)、2-甲氧基雌二醇、替可加兰(tecogalan)、四硫钼酸盐、催乳激素或利诺胺(linomide)。在某些实施例中,激酶抑制剂是贝伐单抗、BIBW2992、西妥昔单抗(cetuximab)、伊马替尼(imatinib)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、吉非替尼、兰尼单抗(ranibizumab)、哌加他尼(pegaptanib)、索拉菲尼(sorafenib)、达沙替尼(dasatinib)、舒尼替尼(sunitinib)、埃罗替尼(erlotinib)、尼罗替尼(nilotinib)、拉帕替尼(lapatinib)、帕尼单抗(panitumumab)、凡德他尼(vandetanib)、E7080、帕唑帕尼(pazopanib)、莫立替尼(mubritinib)或福马替尼(fostamatinib)。

[0066] 在某些实施例中,向患有癌症的受试者给予使得肿瘤尺寸和/或肿瘤数减小。在

某些实施例中,向患有癌症的受试者给予预防或延迟肿瘤尺寸和 / 或肿瘤数增加。在某些实施例中,向患有癌症的受试者给予预防或减缓转移性进展。在某些实施例中,向患有癌症的受试者给予延长受试者的总体存活时间和 / 或无进展存活期。在某些实施例中,本文提供的方法包括选择血清  $\alpha$ -胎蛋白升高和 / 或血清脱- $\gamma$ -羧基凝血酶原升高的受试者。在某些实施例中,本文提供的方法包括使血清  $\alpha$ -胎蛋白和 / 或血清脱- $\gamma$ -羧基凝血酶原降低。在某些实施例中,本文提供的方法包括选择肝功能异常的动物。

[0067] 在本文提供的任何方法中,受试者是人。

[0068] 在本文提供的任何方法中,化合物作为药物组合物形式存在。

[0069] 本文提供的任何化合物可用于疗法中。本文提供的任何化合物可用于治疗纤维化。本文提供的任何化合物可用于促进伤口愈合。本文提供的任何化合物可用于治疗癌症。本文提供的任何化合物可用于预防和 / 或延迟转移发作。

[0070] 本文提供的任何化合物可用于治疗心脏病。

[0071] 本文提供的任何化合物可用于制备药物。本文提供的任何化合物可用于制备治疗纤维化的药物。本文提供的任何化合物可用于制备促进伤口愈合的药物。本文提供的任何化合物可用于制备治疗癌症的药物。本文提供的任何化合物可用于制备预防和 / 或延迟转移发作的药物。

[0072] 附图简要说明

[0073] 图 1 展示如实例 5 中所述,给予抗 miR21 化合物的缺血再灌注 / 肾切除术 (IR/Nx) 模型小鼠的尿白蛋白:肌酐比率 (ACR,  $\mu$ gAlb/mgCr)。

[0074] 图 2 展示如实例 6 中所述,在被给予抗 miR21 化合物的 UUO 模型小鼠肾中的 (A) 胶原蛋白 1A1 和 (B) 胶原蛋白 3A1 表达。

[0075] 详细说明

[0076] 除非另外规定,否则本文中所有的技术及科学术语具有与本领域的技术人员通常所了解的相同的意义。除非提供特定定义,否则结合本文所述的分析化学、合成有机化学以及医疗及药物化学使用的命名法以及这些领域的程序及技术是本领域中熟知的和通常所使用的。在本文中的术语存在复数个定义的情况下,以本部分中的定义为准。可使用化学合成、化学分析、药物制备、调配和递送以及治疗受试者的标准技术。某些此类技术和程序可见于例如以下文献中:“Carbohydrate Modifications in Antisense Research”(“在反义研究中碳水化合物修饰”),Sangvi 及 Cook 编,American Chemical Society(《美国化学学会》),Washington D. C. (华盛顿),1994;及“Remington’s Pharmaceutical Sciences”(《雷明顿药物科学》),Mack Publishing Co. (Mack 出版公司),Easton(伊斯顿),Pa. (宾夕法尼亚州),第 18 版,1990;且其出于任何目的通过引用结合在此。除非另外说明,否则本文整篇披露中提及的所有专利、专利申请、公开申请及公开案、GENBANK 序列、网站及其他公开材料在允许时均通过引用以其全文结合在此。在提及 URL 或其他类似识别符或地址的情况下,应了解这种识别符可改变并且因特网上的特定信息可改变,但可通过搜寻因特网找到等效信息。对其的提及证明这种信息的可用性及公开传播。

[0077] 在披露和描述本发明的组合物和方法之前,应了解本文所用的术语仅出于描述特定实施例的目的而不欲具有限制性。须注意,除非上下文另外明确规定,否则如本说明书和所附权利要求书中所用的单数形式“一个(a)”、“一种(an)”以及“该(the)”包括复数个指

示物。

[0078] 定义

[0079] “纤维化”意指在器官或组织中形成或产生过量纤维结缔组织。在某些实施例中，纤维化作为修复或反应性过程出现。在某些实施例中，纤维化响应于损害或损伤而出现。术语“纤维化”应理解为在器官或组织中作为修复或反应性过程形成或产生过量纤维结缔组织，而非形成纤维组织作为器官或组织的正常组分。

[0080] “怀疑患有……的受试者”意指展现疾病的一种或多种临床指标的受试者。

[0081] “怀疑患有纤维化的受试者”意指展现纤维化的一种或多种临床指标的受试者。

[0082] “成纤维细胞”意指产生结缔组织的细胞。

[0083] “纤维增生性病症”意指特征在于成纤维细胞的过度增殖和 / 或活化的病症。

[0084] “肝癌”意指肝脏的恶性肿瘤，为原发性癌或转移癌。在某些实施例中，肝癌包括（但不限于）起因于肝细胞的癌症，诸如肝细胞瘤和肝细胞癌；纤维板层癌；及胆管细胞癌（或胆管癌）。

[0085] “转移”意指癌症自其首先产生为原发性肿瘤的位置扩散至体内其他位置的过程。原发性肿瘤的转移性进展反映多个阶段，包括自相邻原发性肿瘤细胞解离、在循环中存活以及在继发位置生长。

[0086] “总体存活时间”意指受试者在诊断出疾病或针对疾病进行治疗后存活的时间。在某些实施例中，疾病是癌症。在一些实施例中，总体存活时间是诊断后的存活期。在一些实施例中，总体存活时间是治疗开始后的存活期。

[0087] “无进展存活期”意指患有疾病的受试者在疾病不发生恶化的情况下存活的时间。在某些实施例中，无进展存活期系是通过疾病分期或评分来评定。在某些实施例中，患有肝癌之受试者的无进展存活期系通过评估肿瘤尺寸、肿瘤数和 / 或转移来评定。

[0088] “抗 miR 剂”意指具有与微 RNA 互补的核苷碱基序列的寡核苷酸。在某些实施例中，抗 miR 剂为经修饰的寡核苷酸。

[0089] 当“miR-X”表示特定微 RNA 时，“抗 miR-X 剂”意指具有与 miR-X 互补的核苷碱基序列的寡核苷酸。在某些实施例中，抗 miR-X 剂与 miR-X 完全互补。在某些实施例中，抗 miR-X 剂与 miR-X 至少 80%、至少 85%、至少 90% 或至少 95% 互补。在某些实施例中，抗 miR-X 剂是经修饰的寡核苷酸。

[0090] “miR-21”意指具有核苷碱基序列 UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA (SEQ ID NO:1) 的成熟 miRNA。

[0091] “miR-21 茎 - 环序列”意指具有核苷碱基序列 UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGAC UGUUGAAUCUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA (SEQ ID NO:2) 的茎 - 环序列。

[0092] “靶标核酸”意指这样一种核酸：寡聚化合物被设计为与该核酸杂交。

[0093] “靶向”意指设计并且选择将与靶标核酸杂交的核苷碱基序列的过程。

[0094] “靶向于”意指具有允许与靶标核酸杂交的核苷碱基序列。

[0095] “靶标啮合 (target engagement)”意指寡核苷酸同与其互补的微 RNA 以改变该微 RNA 的活性、表达或含量的方式相互作用。在某些实施例中，靶标啮合意指抗 miR 剂同与其互补的微 RNA 相互作用，使得该微 RNA 的活性受到抑制。

[0096] “调节”意指扰动功能、量或活性。在某些实施例中，调节意指功能、量或活性增加。

在某些实施例中,调节意指功能、量或活性降低。

[0097] “表达”意指基因所编码的信息借以转化为细胞中存在和运转的结构的功能和步骤。

[0098] “5’靶标位点”意指靶标核酸中与特定寡核苷酸的3’最末端核苷碱基互补的核苷碱基。

[0099] “3’靶标位点”意指靶标核酸中与特定寡核苷酸的5’最末端核苷碱基互补的核苷碱基。

[0100] “区”意指核酸内一部分连接的核苷。在某些实施例中,寡核苷酸具有与靶标核酸的区互补的核苷碱基序列。例如,在某些此类实施例中,寡核苷酸与微RNA茎-环序列的区互补。在某些此类实施例中,寡核苷酸与微RNA茎-环序列的区完全互补。

[0101] “区段”意指区的较小部分或子部分。

[0102] “核苷碱基序列”意指寡聚化合物或核酸中连续核苷碱基的次序,通常按5’至3’方向列出,而与任何糖、键和/或核苷碱基修饰无关。

[0103] “连续核苷碱基”意指核酸中彼此紧邻的核苷碱基。

[0104] “核苷碱基互补性”意指两个核苷碱基经由氢键连结非共价配对的能力。

[0105] “互补”意指一个核酸能够与另一核酸或寡核苷酸杂交。在某些实施例中,互补指寡核苷酸能够与靶标核酸杂交。

[0106] “完全互补”意指寡核苷酸的每个核苷碱基均能够与靶标核酸中每个相应位置处的核苷碱基配对。在某些实施例中,寡核苷酸与微RNA完全互补,亦即寡核苷酸的每个核苷碱基与微RNA中相应位置处的核苷碱基均互补。在某些实施例中,每个核苷碱基与微RNA茎-环序列的区内的核苷碱基均具有互补性的寡核苷酸与该微RNA茎-环序列完全互补。

[0107] “互补性百分比”意指寡核苷酸中与靶标核酸的等长部分互补的核苷碱基的百分率。互补性百分比通过将寡核苷酸中与靶标核酸中相应位置处的核苷碱基互补的核苷碱基的数目除以寡核苷酸中核苷碱基的总数来计算。

[0108] “一致性百分比”意指第一核酸中与第二核酸中相应位置处的核苷碱基一致的核苷碱基的数目除以第一核酸中核苷碱基的总数。在某些实施例中,第一核酸为微RNA且第二核酸为微RNA。在某些实施例中,第一核酸为寡核苷酸且第二核酸为寡核苷酸。

[0109] “杂交”意指通过核苷碱基互补性而发生的互补核酸的退火。

[0110] “错配”意指第一核酸中的核苷碱基不能与第二核酸中相应位置处的核苷碱基配对。

[0111] “一致”在核苷碱基序列的情况下意指具有相同核苷碱基序列,而与糖、键和/或核苷碱基修饰无关且与所存在的任何嘧啶的甲基状态无关。

[0112] “微RNA”意指长度在18与25个核苷碱基之间的内源性非编码RNA,它是由酶Dicer裂解微RNA前体的产物。成熟微RNA的实例可见于称为miRBase的微RNA数据库中(<http://microrna.sanger.ac.uk/>)。在某些实施例中,微RNA缩写为“微RNA”或“miR”。

[0113] “微RNA前体”或“miR前体”意指具有发夹结构的非编码RNA,其为由称为Drosha的双链RNA特异性核糖核酸酶裂解初级miR的产物。

[0114] “茎-环序列”意指具有发夹结构且含有成熟微RNA序列的RNA。微RNA前体序列及茎-环序列可能重叠。茎-环序列的实例可见于称为miRBase的微RNA数据库中(<http://>



microrna.sanger.ac.uk/)

[0115] “初级微 RNA”或“初级 miR”意指具有发夹结构的非编码 RNA,其为双链 RNA 特异性核糖核酸酶 Droscha 的底物。

[0116] “微 RNA 前体”意指来源于基因组 DNA 且包含一个或多个微 RNA 序列的非编码结构化 RNA 的转录物。例如,在某些实施例中,微 RNA 前体是微 RNA 前体。在某些实施例中,微 RNA 前体是初级微 RNA。

[0117] “微 RNA 调控的转录物”意指受微 RNA 调控的转录物。

[0118] “单顺反子转录物”意指含有单一微 RNA 序列的微 RNA 前体。

[0119] “多顺反子转录物”意指含有两个或两个以上微 RNA 序列的微 RNA 前体。

[0120] “种子序列”意指包含成熟微 RNA 序列的 5' 端的核苷碱基 1 至 9 中 6 至 8 个连续核苷碱基的核苷碱基序列。

[0121] “种子匹配序列”意指与种子序列互补并且长度与种子序列相同的核苷碱基序列。

[0122] “寡聚化合物”意指包含复数个连接的单体亚基的化合物。寡聚化合物包括寡核苷酸。

[0123] “寡核苷酸”意指包含复数个连接的核苷的化合物,其中各核苷可彼此独立地经修饰或未经修饰。

[0124] “天然存在的核苷间键”意指核苷之间的 3' 至 5' 磷酸二酯键。

[0125] “天然糖”意指 DNA (2' -H) 或 RNA (2' -OH) 中存在的糖。

[0126] “核苷间键”意指相邻核苷之间的共价键。

[0127] “连接的核苷”意指由共价键连接的核苷。

[0128] “核苷碱基”意指能够与另一核苷碱基非共价配对的杂环部分。

[0129] “核苷”意指连接于糖部分的核苷碱基。

[0130] “核苷酸”意指具有共价连接于核苷的糖部分的磷酸酯基的核苷。

[0131] “包含由多个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物”意指包括具有指定数目的连接核苷的经修饰寡核苷酸的化合物。因此,该化合物可包括另外的取代基或结合物。除非另外说明,否则该化合物不包括除寡核苷酸的那些核苷以外的任何其他核苷。

[0132] “包含由多个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物”意指包括具有指定数目的连接核苷的经修饰寡核苷酸的化合物。因此,该化合物可包括另外的取代基或结合物。除非另外说明,否则该化合物不包括除经修饰寡核苷酸的那些核苷以外的任何其他核苷。

[0133] “经修饰的寡核苷酸”意指相对于天然存在的末端、糖、核苷碱基和 / 或核苷间键具有一种或多种修饰的寡核苷酸。经修饰的寡核苷酸可包含未经修饰的核苷。

[0134] “单链经修饰寡核苷酸”意指未与互补链杂交的经修饰寡核苷酸。

[0135] “经修饰的核苷”意指与天然存在的核苷相比具有任何变化的核苷。经修饰的核苷可具有经修饰的糖及未经修饰的核苷碱基。经修饰的核苷可具有经修饰的糖及经修饰的核苷碱基。经修饰的核苷可具有天然糖以及经修饰的核苷碱基。在某些实施例中,经修饰的核苷是双环核苷。在某些实施例中,经修饰的核苷是非双环核苷。

[0136] “经修饰的核苷间键”意指与天然存在的核苷间键相比存在任何变化。

[0137] “硫代磷酸酯核苷间键”意指核苷间一个非桥连原子是硫原子的键。

[0138] “经修饰的糖部分”意指与天然糖相比的取代和 / 或任何变化。

[0139] “未经修饰的核苷碱基”意指 RNA 或 DNA 的天然存在的杂环碱基：嘌呤碱基腺嘌呤 (A) 及鸟嘌呤 (G)，以及嘧啶碱基胸腺嘧啶 (T)、胞嘧啶 (C) (包括 5-甲基胞嘧啶) 及尿嘧啶 (U)。

[0140] “5-甲基胞嘧啶”意指包含连接于 5 位的甲基的胞嘧啶。

[0141] “非甲基化胞嘧啶”意指不具有连接于 5 位的甲基的胞嘧啶。

[0142] “经修饰的核苷碱基”意指不为未经修饰的核苷碱基的任何核苷碱基。

[0143] “呋喃糖基”意指包含由四个碳原子及一个氧原子组成的 5 员环的结构。

[0144] “天然存在的呋喃糖基”意指如在天然存在的 RNA 中所发现的呋喃核糖基或如在天然存在的 DNA 中所发现的脱氧呋喃核糖基。

[0145] “糖部分”意指天然存在的呋喃糖基或经修饰的糖部分。

[0146] “经修饰的糖部分”意指经取代的糖部分或糖替代物。

[0147] “经取代的糖部分”意指不为天然存在的呋喃糖基的呋喃糖基。经取代的糖部分包括 (但不限于) 在天然存在的呋喃糖基的 2' 位、5' 位和 / 或 4' 位包含修饰的糖部分。某些经取代的糖部分是双环糖部分。

[0148] “糖替代物”意指不包含呋喃糖基且能够置换核苷中天然存在的呋喃糖基的结构，所述置换使得所得核苷能够 (1) 并入寡核苷酸中及 (2) 与互补核苷杂交。此类结构包括呋喃糖基的相对简单的变化，诸如包含不同数目的原子的环 (例如 4 员、6 员或 7 员环)；呋喃糖基的氧置换为非氧原子 (例如碳、硫或氮)；或原子数变化及置换氧两者。此类结构还可包含对应于针对经取代的糖部分所述的取代的取代 (例如可任选地包含其他取代基的 6 员碳环双环糖替代物)。糖替代物还包括更复杂的糖置换 (例如肽核酸的非环系统)。糖替代物包括 (但不限于) 吗啉基、环己烯基及环己糖醇 (cyclohexitol)。

[0149] “2'-O-甲基糖”或“2'-OMe 糖”意指在 2' 位具有 O-甲基修饰的糖。

[0150] “2'-O-甲氧基乙基糖”或“2'-MOE 糖”意指在 2' 位具有 O-甲氧基乙基修饰的糖。

[0151] “2'-O-氟”或“2'-F”意指在 2' 位具有氟修饰的糖。

[0152] “双环糖部分”意指包含 4 至 7 员环的经修饰糖部分 (包括 (但不限于) 呋喃糖基)，其包含连接该 4 至 7 员环的两个原子的桥键以形成第二环，从而产生双环结构。在某些实施例中，4 至 7 员环是糖环。在某些实施例中，4 至 7 员环是呋喃糖基。在某些此类实施例中，桥键连接呋喃糖基的 2' 碳与 4' 碳。

[0153] “锁核酸 (LNA) 糖部分”意指在 4' 与 2' 呋喃糖环原子之间包含  $(\text{CH}_2)_2\text{-O}$  桥的经取代的糖部分。

[0154] “ENA 糖部分”意指在 4' 与 2' 呋喃糖环原子之间包含  $(\text{CH}_2)_2\text{-O}$  桥的经取代的糖部分。

[0155] “约束乙基 (cEt) 糖部分”意指在 4' 与 2' 呋喃糖环原子之间包含  $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$  桥的经取代的糖部分。在某些实施例中， $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$  桥约束呈 S 型取向。在某些实施例中， $(\text{CH}_2)_2\text{-O}$  约束呈 R 型取向。

[0156] “S-cEt 糖部分”意指在 4' 与 2' 呋喃糖环原子之间包含 S 型限制性  $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$  桥的经取代的糖部分。

[0157] “R-cEt 糖部分”意指在 4' 与 2' 呋喃糖环原子之间包含 R 型限制性  $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O}$  桥的经取代的糖部分。

- [0158] “2'-O-甲基”核苷意指具有 2'-O-甲基糖修饰的 2' 位上经修饰的核苷。
- [0159] “2'-O-甲氧基乙基核苷”意指具有 2'-O-甲氧基乙基糖修饰的 2' 位上经修饰的核苷。2'-O-甲氧基乙基核苷可包含经修饰或未经修饰的核苷碱基。
- [0160] “2'-氟核苷”意指具有 2'-氟糖修饰的 2' 位上经修饰的核苷。2'-氟核苷可包含经修饰或未经修饰的核苷碱基。
- [0161] “双环核苷”意指具有双环糖部分的 2' 位上经修饰的核苷。双环核苷可具有经修饰或未经修饰的核苷碱基。
- [0162] “cEt 核苷”意指包含 cEt 糖部分的核苷。cEt 核苷可包含经修饰或未经修饰的核苷碱基。
- [0163] “S-cEt 核苷”意指包含 S-cEt 糖部分的核苷。
- [0164] “R-cEt 核苷”意指包含 R-cEt 糖部分的核苷。
- [0165] “非双环核苷”意指具有除双环糖以外的糖的核苷。在某些实施例中，非双环核苷包含天然存在的糖。在某些实施例中，非双环核苷包含经修饰的糖。在某些实施例中，非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。在某些实施例中，非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷。
- [0166] “ $\beta$ -D-脱氧核糖核苷”意指天然存在的 DNA 核苷。 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷可包含经修饰或未经修饰的核苷碱基。
- [0167] “ $\beta$ -D-核糖核苷”意指天然存在的 RNA 核苷。 $\beta$ -D-核糖核苷可包含经修饰或未经修饰的核苷碱基。
- [0168] “LNA 核苷”意指包含 LNA 糖部分的核苷。
- [0169] “ENA 核苷”意指包含 ENA 糖部分的核苷。
- [0170] “基序”意指寡核苷酸中经修饰和 / 或未经修饰的核苷碱基、糖和 / 或核苷间键的型态。在某些实施例中，基序为核苷型态。
- [0171] “核苷型态”意指经修饰的寡核苷酸或其区中核苷修饰的型态。核苷型态是描述寡核苷酸中核苷修饰的排列的基序。
- [0172] “完全修饰的寡核苷酸”意指每个核苷碱基、每个糖和 / 或每个核苷间键均经修饰。
- [0173] “均一修饰的寡核苷酸”意指在整个经修饰的寡核苷酸中每个核苷碱基、每个糖和 / 或每个核苷间键均具有相同修饰。
- [0174] “稳定化修饰”意指使经修饰的寡核苷酸在核酸酶存在下的稳定性相对于由磷酸二酯核苷间键连接的 2'-脱氧核苷所提供的稳定性有所增强的核苷修饰。例如，在某些实施例中，稳定化修饰为稳定化核苷修饰。在某些实施例中，稳定化修饰为核苷间键修饰。
- [0175] “稳定化核苷”意指经修饰以使寡核苷酸的核酸酶稳定性相对于由 2'-脱氧核苷提供的稳定性有所增强的核苷。在一个实施例中，稳定化核苷是 2' 位上经修饰的核苷。
- [0176] “稳定化核苷间键”意指使寡核苷酸的核酸酶稳定性相对于由磷酸二酯核苷间键提供的稳定性有所改良的核苷间键。在一个实施例中，稳定化核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。
- [0177] “受试者”意指选用于治疗或疗法的人类或非人类动物。
- [0178] “有需要的受试者”意指受试者被鉴别为需要疗法或治疗的状态。
- [0179] “怀疑患有……的受试者”意指展现疾病的一种或多种临床指标的受试者。
- [0180] “给予”意指向受试者提供医药药剂或组合物，且包括（但不限于）由医学专业人

员给予以及自给予。

[0181] “肠胃外给予”意指经由注射或输注给予。

[0182] 肠胃外给予包括（但不限于）皮下给予、静脉内给予或肌肉内给予。

[0183] “皮下给予”意指恰给予于皮肤下方。

[0184] “静脉内给予”意指给予至静脉中。

[0185] “心脏内给予”意指给予至心脏中。在某些实施例中，心脏内给予借助于导管进行。在某些实施例中，心脏内给予借助于开心手术进行。

[0186] “肺部给予”意指给予至肺部。

[0187] “并行给予”系指两种药剂以其两者的药理学作用在患者体内同时表现的任何方式共同给予。并行给予不需要该两种药剂于单一药物组合中、以相同剂型或通过相同给药途径给予。两种药剂的作用本身无需同时表现。这些作用仅需重叠一段时间而无需共同延长。

[0188] “持续时间”意指活性或事件持续的时段。在某些实施例中，治疗的持续时间是给予医药药剂或药物组合物的剂量的时段。

[0189] “疗法”意指疾病治疗方法。在某些实施例中，疗法包括（但不限于）化学疗法、放射疗法或给予医药药剂。

[0190] “治疗”意指施用一种或多种用于治愈或改善疾病的特定程序。在某些实施例中，特定程序为给予一种或多种医药药剂。

[0191] “改善”意指减轻病状或疾病的至少一种指标的严重性。在某些实施例中，改善包括延迟或减缓病状或疾病的一种或多种指标的进展。指标的严重性可通过本领域的技术人员已知的主观或客观量度来确定。

[0192] “有产生……的风险”意指受试者易于产生病状或疾病的状态。在某些实施例中，有产生病状或疾病的风险的受试者展现该病状或疾病的一种或多种症状，但并不展现足以诊断为患有该病状或疾病的数目的症状。在某些实施例中，有产生病状或疾病的风险的受试者展现该病状或疾病的一种或多种症状，但程度轻于诊断为患有该病状或疾病所需的程度。

[0193] “预防……发作”意指预防有产生疾病或病状的风险的受试者产生该病状或疾病。在某些实施例中，有产生疾病或病状的风险的受试者接受与已患该疾病或病状的受试者所接受的治疗类似的治疗。

[0194] “延迟……发作”意指延迟有产生疾病或病状的风险的受试者产生该病状或疾病。在某些实施例中，有产生疾病或病状的风险的受试者接受与已患该疾病或病状的受试者所接受的治疗类似的治疗。

[0195] “治疗剂”意指用于治愈、改善或预防疾病的医药药剂。

[0196] “剂量”意指单次给药中所提供的医药药剂的指定量。在某些实施例中，剂量可以两次或两次以上快速注射 (bolus)、片剂或注射来给予。例如，在需要皮下给予的某些实施例中，所要剂量所需的体积不易通过单次注射提供。在此类实施例中，可使用两次或两次以上注射来达成所要剂量。在某些实施例中，剂量可以两次或两次以上注射给予以使受试者的注射部位反应最小。在某些实施例中，剂量是以缓慢输注形式给予。

[0197] “剂量单位”意指提供医药药剂时所采用的形式。在某些实施例中，剂量单位为容

纳冻干寡核苷酸的小瓶。在某些实施例中，剂量单位为容纳复原寡核苷酸的小瓶。

[0198] “治疗有效量”是指医药药剂向动物提供治疗益处的量。

[0199] “药物组合物”意指包括医药药剂的适于给予受试者的物质的混合物。例如，药物组合物可包含无菌水溶液。

[0200] “医药药剂”意指在给予受试者时提供治疗作用的物质。

[0201] “活性医药成分”意指药物组合物中提供所要作用的物质。

[0202] “器官功能改善”意指器官功能朝向正常限度变化。在某些实施例中，通过测量受试者血液中的分子来评定器官功能。例如，在某些实施例中，肝功能改善是通过血液肝转氨酶含量降低来测量。

[0203] “可接受的安全性概况”意指临床上可接受的限度内的副作用型态。

[0204] “副作用”意指除所要作用以外的归因于治疗的生理反应。在某些实施例中，副作用包括（但不限于）注射部位反应、肝功能测试异常、肾功能异常、肝中毒、肾中毒、中枢神经系统异常以及肌病。此类副作用可直接或间接检测。例如，血清中的转氨酶含量升高可指示肝中毒或肝功能异常。例如，胆红素增加可指示肝中毒或肝功能异常。

[0205] “注射部位反应”意指受试者的注射部位处皮肤的炎症或异常发红。

[0206] “受试者依从性”意指受试者遵循推荐或规定的疗法。

[0207] “依从”意指受试者遵循推荐的疗法。

[0208] “推荐的疗法”意指医学专业人员关于治疗、改善、延迟或预防疾病所推荐的治疗。

[0209] 概论

[0210] miR-21 是广泛表达的微 RNA，其与多种细胞过程有关，包括细胞分化、增殖、细胞凋亡以及基质周转。另外，miR-21 与多种疾病相关。miR-21 在癌症中常常上调，且抑制 miR-21 已在若干癌症动物模型中展现出肿瘤生长抑制作用。在心脏肥大动物模型中抑制 miR-21 表明 miR-21 在心脏病中的作用。已在心脏纤维化、肾纤维化及肺纤维化的动物模型中表明在纤维化中的作用。在组织外植体模型中抑制 miR-21 的研究说明抑制 miR-21 会促进伤口愈合。因此，miR-21 的抑制剂适用于多种研究及临床配置中。

[0211] 为鉴别 miR-21 的有效抑制剂，设计了大量抗 miR-21 化合物。这些化合物在长度以及双环核苷和非双环核苷的数目、位置及身份方面不同。将最初的一系列化合物在活体外荧光素酶分析中进行测试，鉴别出一个化合物子集为活性化合物的活体外活性化合物。接着在活体内分析中测试这些活体外活性化合物以鉴别在活体内作为 miR-21 的有效抑制剂的那些化合物。根据最初的活体外及活体内筛选，选择某些化合物作为设计其他化合物的基础。使用结构与活性（活体外活性和活体内活性两者）之间根据实验观测到的相关性来预测这些其他化合物的设计，这些其他化合物在长度以及双环和非双环核苷的选择和排列方面具有进一步的变化。接着对这些其他化合物重复活体外及活体内筛选分析。还测试某些化合物的其他性质，例如对核酸外切酶活性的敏感性。观察到在活体外最具活性的化合物在活体外最具活性并不一定为在活体内最具活性的化合物在活体内最具活性者，且还观测到一些在活体外具中等活性的化合物在活体外具中等活性为在活体内具高度活性的化合物。在此过程中活体外筛选的 178 种化合物中，60 种被鉴别为在荧光素酶分析中具活性。在这些 60 种活性活体外化合物中，鉴别出一个子集在活体内具活性。经由设计和筛选化合物的此重复过程，观察到具有特定双环和非双环型态的化合物在活体内为 miR-21 的

有效抑制剂。因此,这些化合物适用于调节由 miR-21 活性促进的细胞过程。此外,此类化合物适用于治疗与 miR-21 相关的疾病、预防和 / 或延迟该等疾病发作。此类疾病的特征可在于相对于无病样品异常高的 miR-21 表达。此类疾病包括(但不限于)纤维化、急性肾损伤、心脏肥大、心肌梗塞以及癌症。另外,本文提供的组合物和方法可用于促进伤口愈合。

[0212] 靶向 miR-21 的某些经修饰寡核苷酸

[0213] 本文提供具有某些双环及非双环核苷型态的经修饰寡核苷酸。具有本文鉴别的型态的经修饰寡核苷酸是 miR-21 活性的有效抑制剂。

[0214] 本文说明的各核苷型态按 5' 至 3' 方向展示。

[0215] 在某些实施例中,本文提供包含由 8 至 22 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物,其中经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 I 的至少 8 个连续核苷:

[0216]  $(R)_X-N^B-N^Q-N^Q-N^B-(N^Q-N^Q-N^Q-N^B)_3-N^Q-N^Z$

[0217] 其中每个 R 是非双环核苷;X 是 1 至 4;

[0218] 每个  $N^B$  是双环核苷;

[0219] 每个  $N^Q$  是非双环核苷;且

[0220] 每个  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0221] 在核苷型态 I 的某些实施例中,X 是 1。在核苷型态 I 的某些实施例中,X 是 2。在核苷型态 I 的某些实施例中,X 是 3。在核苷型态 I 的某些实施例中,X 是 4。

[0222] 在某些实施例中,本文提供包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物,其中经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 II 的至少 8 个连续核苷:

[0223]  $N^M-N^B-N^Q-N^Q-N^B-(N^Q-N^Q-N^Q-N^B)_3-N^Q-N^Z$

[0224] 其中  $N^M$  是不为双环核苷的经修饰核苷;

[0225] 每个  $N^B$  是双环核苷;

[0226] 每个  $N^Q$  是非双环核苷;且

[0227]  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0228] 在某些实施例中,本文提供包含由 8 至 22 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物,其中经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 III 的至少 8 个连续核苷:

[0229]  $(R)_X-N^B-N^Q-N^Q-N^B-(N^Q-N^Q-N^Q-N^B)_3-N^Y-N^Z$

[0230] 其中每个 R 是非双环核苷;X 是 1 至 4;

[0231] 每个  $N^B$  是双环核苷;

[0232] 每个  $N^Q$  是非双环核苷;

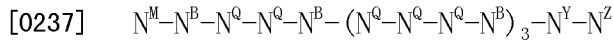
[0233]  $N^Y$  是经修饰的核苷或未经修饰的核苷;且

[0234] 每个  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0235] 在核苷型态 III 的某些实施例中,X 是 1。在核苷型态 I 的某些实施例中,X 是 2。在核苷型态 III 的某些实施例中,X 是 3。在核苷型态 III 的某些实施例中,X 是 4。

[0236] 在某些实施例中,本文提供包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物,其中经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中经修饰

寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 IV 的至少 8 个连续核苷：



[0238] 其中  $N^M$  是不为双环核苷的经修饰核苷；

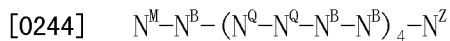
[0239] 每个  $N^B$  是双环核苷；

[0240] 每个  $N^Q$  是非双环核苷；

[0241]  $N^Y$  是经修饰的核苷或未经修饰的核苷；且

[0242]  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0243] 在某些实施例中，本文提供包含由 8 至 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸的化合物，其中经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 互补且其中经修饰寡核苷酸按 5' 至 3' 方向包含以下核苷型态 V 的至少 8 个连续核苷：



[0245] 其中  $N^M$  是不为双环核苷的经修饰核苷；

[0246] 每个  $N^B$  是双环核苷；

[0247] 每个  $N^Q$  是非双环核苷；且

[0248]  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0249] 以下实施例适用于本文所述的任何核苷型态，包括核苷型态 I 至 V。

[0250] 在某些实施例中，经修饰的寡核苷酸包含本文所述核苷型态的至少 9 个、至少 10 个、至少 11 个、至少 12 个、至少 13 个、至少 14 个、至少 15 个、至少 16 个、至少 17 个、至少 18 个、至少 19 个、至少 20 个、至少 21 个或 22 个连续核苷。

[0251] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中，经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 至少 90% 互补。在某些实施例中，经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 (SEQ ID NO:1) 至少 95% 互补。在某些实施例中，经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 (SEQ ID NO:1) 100% 互补。

[0252] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中，经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 互补以使得微 RNA 的位置 1 与该寡核苷酸的 3' 端核苷碱基配对。例如：



[0259] 应理解的是在 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 中序列中的每个“T”可以独立地是“T”核苷碱基亦或“U”核苷碱基，并且具有 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:4 序列的化合物可以包含所述核苷碱基全部是 T 的、全部是 U 的、或者 U 和 T 的任意组合的核苷碱基。因此，在整个本披露中和在所附序列表中，在 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 中不同位置处的“T”的存在没有对具体核苷碱基是“T”还是“U”的方面造成限制。

[0260] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中，每个双环核苷独立地选自 LNA 核苷、cEt 核苷及 ENA 核苷。在某些实施例中，至少两个双环核苷的糖部分彼此不同。在某些实施例中，所有双环核苷均具有彼此相同的糖部分。在某些实施例中，每个双环核苷是 cEt

核苷。在某些实施例中,每个双环核苷是 LNA 核苷。

[0261] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中, cEt 核苷是 S-cEt 核苷。在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中, cEt 核苷是 R-cEt 核苷。

[0262] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,每个非双环核苷独立地选自  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷、 $\beta$ -D-核糖核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-甲氧基乙基核苷以及 2'-氟核苷。

[0263] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,每个非双环核苷独立地选自  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷以及 2'-O-甲氧基乙基核苷。

[0264] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,至少两个非双环核苷包含彼此不同的糖部分且独立地选自  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷、 $\beta$ -D-核糖核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-甲氧基乙基核苷及 2'-氟核苷。

[0265] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,至少两个非双环核苷包含彼此不同的糖部分且独立地选自  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷以及 2'-O-甲氧基乙基核苷。

[0266] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,每个非双环核苷具有相同类型的糖部分且选自  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷、 $\beta$ -D-核糖核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-甲氧基乙基核苷以及 2'-氟核苷。

[0267] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,每个非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。在某些实施例中,每个非双环核苷是 2'-O-甲基核苷。

[0268] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,不超过 3 个非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在某些实施例中,不超过 2 个非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在某些实施例中,不超过 1 个非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷。

[0269] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,一个非双环核苷是 2'-MOE 核苷且其他每个非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。在某些实施例中,两个非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷且其他每个非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。在某些实施例中,三个非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷且其他每个非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。

[0270] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,5' 最末端非双环核苷和 3' 最末端非双环核苷是 2'-O-甲氧基乙基核苷且其他每个非双环核苷是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。

[0271] 在 X 是 4 的任何核苷型态 I 的某些实施例中,每个核苷 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在 X 是 4 的核苷型态 I 的某些实施例中,两个核苷 R 是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷且两个核苷 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在 X 是 4 的核苷型态 I 的某些实施例中,三个核苷 R 是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷且一个核苷 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷。

[0272] 在核苷型态 I 的某些实施例中,R 是  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ ,其中  $N^{R1}$  是 2'-MOE 核苷, $N^{R2}$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷, $N^{R3}$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷,且  $N^{R4}$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。

[0273] 在核苷型态 I 的某些实施例中,R 由四个连接的核苷  $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$  组成,其中  $N^{R1}$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷且  $N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$  各自是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且  $N^Z$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:4,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0274] 在核苷型态 I 的某些实施例中,X 是 1 且每个核苷 R 是 2'-O-甲氧基乙基核苷;每个  $N^B$  是 S-cEt 核苷;每个  $N^Q$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷;且  $N^Z$  是 2'-O-甲氧基乙基核苷。在



某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:3,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0275] 在核苷型态 I 的某些实施例中, X 是 4 且每个核苷 R 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷; 每个 N<sup>B</sup> 是 S-cEt 核苷; 每个 N<sup>Q</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷; 且 N<sup>Z</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:4,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0276] 在核苷型态 II 的某些实施例中, N<sup>M</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷; 每个 N<sup>B</sup> 是 S-cEt 核苷; 每个 N<sup>Q</sup> 是 β-D- 脱氧核糖核苷; 且 N<sup>Z</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:3,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0277] 在核苷型态 II 的某些实施例中, N<sup>M</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷; 每个 N<sup>B</sup> 是 S-cEt 核苷; 每个 N<sup>Q</sup> 是 β-D- 脱氧核糖核苷; 且 N<sup>Z</sup> 是 S-cEt 核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:3,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0278] 在核苷型态 II 的某些实施例中, N<sup>M</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷; 每个 N<sup>B</sup> 是 LNA 核苷; 每个 N<sup>Q</sup> 是 β-D- 脱氧核糖核苷; 且 N<sup>Z</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:3,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0279] 在核苷型态 II 的某些实施例中, N<sup>M</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷; 每个 N<sup>B</sup> 是 LNA 核苷; 每个 N<sup>Q</sup> 是 β-D- 脱氧核糖核苷; 且 N<sup>Z</sup> 是 LNA 核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:3,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0280] 在核苷型态 III 的某些实施例中, R 是不为双环核苷的经修饰核苷; 且 X 是 1。在核苷型态 III 的某些实施例中, R 是不为双环核苷的经修饰核苷; X 是 1; 且每个 N<sup>Q</sup> 是未经修饰的核苷。在核苷型态 III 的某些实施例中, R 是不为双环核苷的经修饰核苷; X 是 1; 每个 N<sup>Q</sup> 是未经修饰的核苷; 每个 N<sup>B</sup> 独立地选自 S-cEt 核苷以及 LNA 核苷; 且 N<sup>V</sup> 选自 β-D- 脱氧核糖核苷、2'-O- 甲氧基乙基核苷、S-cEt 核苷以及 LNA 核苷。在核苷型态 III 的某些实施例中, R 是不为双环核苷的经修饰核苷; X 是 1; 且每个 N<sup>Q</sup> 是 β-D- 脱氧核糖核苷。在核苷型态 III 的某些实施例中, R 是不为双环核苷的经修饰核苷; X 是 1; 每个 N<sup>Q</sup> 是 β-D- 脱氧核糖核苷; 每个 N<sup>B</sup> 独立地选自 S-cEt 核苷以及 LNA 核苷; 且 N<sup>V</sup> 选自 β-D- 脱氧核糖核苷、2'-O- 甲氧基乙基核苷、S-cEt 核苷以及 LNA 核苷。在核苷型态 III 的某些实施例中, R 是不为双环核苷的经修饰核苷; X 是 1; 每个 N<sup>Q</sup> 是未经修饰的核苷; 每个 N<sup>B</sup> 是 S-cEt 核苷; 且 N<sup>V</sup> 选自 β-D- 脱氧核糖核苷、2'-O- 甲氧基乙基核苷以及 S-cEt 核苷。在核苷型态 III 的某些实施例中, R 是不为双环核苷的经修饰核苷; X 是 1; 每个 N<sup>Q</sup> 是 β-D- 脱氧核糖核苷; 每个 N<sup>B</sup> 是 S-cEt 核苷; 且 N<sup>V</sup> 选自 β-D- 脱氧核糖核苷、2'-O- 甲氧基乙基核苷以及 S-cEt 核苷。在某些实施例中, 型态 III 的经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:3,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0281] 在核苷型态 IV 的某些实施例中, N<sup>M</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷; 每个 N<sup>B</sup> 选自 S-cEt 核苷以及 LNA 核苷; 每个 N<sup>Q</sup> 选自 β-D- 脱氧核糖核苷以及 2'-O- 甲氧基乙基核苷; N<sup>V</sup> 选自 2'-O- 甲氧基乙基核苷、S-cEt 核苷、LNA 核苷以及 β-D- 脱氧核糖核苷; 且 N<sup>Z</sup> 选自 2'-O- 甲氧基乙基核苷、LNA 核苷以及 S-cEt 核苷。在某些实施例中, 型态 IV 的经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列 SEQ ID NO:3,其中序列中的每个 T 独立地选自 T 和 U。

[0282] 在核苷型态 IV 的某些实施例中, N<sup>M</sup> 是 2'-O- 甲氧基乙基核苷; 每个 N<sup>B</sup> 是 S-cEt 核

苷;各 $N^Q$ 选自 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷以及2'-O-甲氧基乙基核苷; $N^Y$ 选自2'-O-甲氧基乙基核苷、S-cEt核苷以及 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 选自2'-O-甲氧基乙基核苷以及S-cEt核苷。在某些实施例中,型态IV的经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列SEQ ID NO:3,其中序列中的每个T独立地选自T和U。

[0283] 在核苷型态IV的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷; $N^Y$ 是S-cEt核苷;且 $N^Z$ 是S-cEt核苷。在某些实施例中,型态IV的经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列SEQ ID NO:3,其中序列中的每个T独立地选自T和U。

[0284] 在核苷型态V的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;各 $N^B$ 选自S-cEt核苷以及LNA核苷;各 $N^Q$ 选自 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷以及2'-O-甲氧基乙基核苷;且 $N^Z$ 选自2'-O-甲氧基乙基核苷、LNA核苷以及S-cEt核苷。在某些实施例中,型态V的经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列SEQ ID NO:3,其中序列中的每个T独立地选自T和U。

[0285] 在核苷型态V的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 选自2'-O-甲氧基乙基核苷以及S-cEt核苷。在某些实施例中,型态V的经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列SEQ ID NO:3,其中序列中的每个T独立地选自T和U。

[0286] 在核苷型态V的某些实施例中, $N^M$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷;每个 $N^B$ 是S-cEt核苷;每个 $N^Q$ 是 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;且 $N^Z$ 是2'-O-甲氧基乙基核苷。在某些实施例中,型态V的经修饰寡核苷酸具有核苷碱基序列SEQ ID NO:3,其中序列中的每个T独立地选自T和U。

[0287] 在某些实施例中,本文提供的化合物具有如表1中所示的核苷碱基序列和修饰。核苷修饰如下指示:之后未接下标的核苷指示 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷;之后接有下标“E”的核苷指示2'-MOE核苷;之后接有下标“L”的核苷为LNA核苷;之后接有下标“S”的核苷指示S-cEt核苷。每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。上标“Me”指示核苷的碱基上的5-甲基。

[0288] 表1:抗miR-21化合物

[0289]

化合物编号	序列和化学(5'至3')	SEQ ID NO
25068	$T_E^{Me}C_EA_EA_EC_SAE_T_EC_SAE_G_E_T_EC_S_T_EG_EA_EU_SA_EA_EG_EC_S_T_EA_E$	4
25070	$A_EC_SATC_SAGTC_S_TGAU_S_AAGC_S_TA_E$	3
25072	$A_EC_SAE_T_EC_SAE_G_E_T_EC_S_T_EG_EA_EU_SA_EA_EG_EC_S_T_EA_E$	3
25082	$T_E^{Me}CAAC_SATC_SAGTC_S_TGAU_S_AAGC_S_TA_E$	4
25922	$A_E^{Me}C_SAT^{Me}C_SAGT^{Me}C_STGAT_S_AAG^{Me}C_STA_E$	3
25923	$A_EC_SATC_SAGTC_S_TGAU_S_AAGC_S_TA_S$	3
25924	$A_E^{Me}C_SAT^{Me}C_SAGT^{Me}C_STGAT_S_AAG^{Me}C_STA_S$	3
25114	$A_E^{Me}C_LAT^{Me}C_LAGT^{Me}C_LTGAT_L_AAG^{Me}C_LTA_E$	3
25115	$A_E^{Me}C_LAT^{Me}C_LAGT^{Me}C_LTGAT_L_AAG^{Me}C_LTA_L$	3
25221	$A_EC_SATC_SAGTC_S_TGAU_S_AAGC_S_UsA_S$	3
25220	$A_EC_SATC_SASGTC_S_UsGAU_SASAGC_S_UsA_E$	3

[0290] 在本文所述的任何核苷型态的某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21 或 22 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含核苷型态 I 中所述核苷型态的至少 8 个连接的核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含核苷型态 II 中所述核苷型态的至少 8 个连接的核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含核苷型态 III 中所述核苷型态的至少 8 个连接的核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含核苷型态 IV 中所述核苷型态的至少 8 个连接的核苷。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含核苷型态 V 中所述核苷型态的至少 8 个连接的核苷。

[0291] 在某些实施例中,具有本文所述的任何核苷型态的经修饰寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷间键。在某些实施例中,各核苷间键为经修饰的核苷间键。在某些实施例中,经修饰的核苷间键为硫代磷酸酯核苷间键。

[0292] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有至少一个核苷碱基为胞嘧啶的核苷碱基序列。在某些实施例中,至少一个胞嘧啶为 5- 甲基胞嘧啶。在某些实施例中,每个胞嘧啶均为 5- 甲基胞嘧啶。在某些实施例中,至少一个核苷包含经修饰的核苷碱基。

[0293] 经修饰的寡核苷酸可在整个经修饰寡核苷酸的每个位置上由核酸外切酶和 / 或核酸内切酶裂解。该酶促裂解的产物可保留 miR-21 抑制活性,并因而视为活性代谢物。因此,在本文所述的方法中可使用经修饰寡核苷酸的代谢产物。

[0294] 在某些实施例中,靶向 miR-21 的经修饰寡核苷酸具有选自表 2A 的核苷型态,其中 N<sup>M</sup> 是不为双环核苷的经修饰核苷;每个 N<sup>B</sup> 是双环核苷;每个 N<sup>Q</sup> 是非双环核苷;且 N<sup>Z</sup> 是经修饰的核苷。

[0295] 表 2A :核苷型态 II 的代谢产物

[0296]

5'																		3'
N <sup>M</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>
	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>
		N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>
			N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>
				N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>
					N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>
						N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>
							N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>
								N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>

										$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Z$
											$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Z$
$N^M$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
$N^M$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$		
	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$		
		$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
		$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$		
			$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
			$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$		
				$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
				$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$		
					$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
						$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$		
							$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
								$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
									$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$		
										$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	
											$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$		
												$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	
													$N^Q$	$N^Q$	$N^B$	$N^Q$		

[0297]

[0298] 在某些实施例中,靶向 miR-21 的经修饰寡核苷酸具有选自表 2B 的核苷型态,其中 N<sup>M</sup> 是不为双环核苷的经修饰核苷;每个 N<sup>B</sup> 是双环核苷;每个 N<sup>Q</sup> 是非双环核苷;N<sup>Y</sup> 是经修饰的核苷或未经修饰的核苷;且 N<sup>Z</sup> 是经修饰的核苷。

[0299] 表 2B:核苷型态 IV 的代谢产物

[0300]

5'																		3'
N <sup>M</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
		N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
			N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
				N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
					N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
						N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
							N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
								N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
									N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
										N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	N <sup>Z</sup>
N <sup>M</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	
N <sup>M</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>		
	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	
	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>		
		N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	
		N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>		
			N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>	
			N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>		

[0301]

				N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>
				N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
					N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>
					N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
						N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>
						N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
							N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>
							N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
								N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>
								N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
									N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>
									N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
										N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>

[0302] 在某些实施例中,靶向 miR-21 的经修饰寡核苷酸具有选自表 2C 的核苷型态,其中 N<sup>M</sup> 是不为双环核苷的经修饰核苷;每个 N<sup>B</sup> 是双环核苷;每个 N<sup>Q</sup> 是非双环核苷;且 N<sup>Z</sup> 是经修饰的核苷。

[0303] 表 2C :核苷型态 VII 的代谢产物

[0304]

5'																	3'
N <sup>M</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
		N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
			N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
				N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
					N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
						N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>

								N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
									N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
										N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
											N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
												N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup> N <sup>Z</sup>
N <sup>M</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>
N <sup>M</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Y</sup>
	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
		N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>
		N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
			N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>
			N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
				N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>
				N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
					N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>
						N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	
							N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>
								N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>
									N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>
										N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>
											N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	

[0305]

											N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	
											N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>		
											N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Q</sup>	N <sup>B</sup>	N <sup>B</sup>		

[0306] 在某些实施例中,靶向 miR-21 的经修饰寡核苷酸具有选自表 3A 的核苷型态和核苷碱基序列。之后未接下标的核苷指示 β-D-脱氧核糖核苷。之后接有下标“E”的核苷指示 2’-MOE 核苷。之后接有下标“S”的核苷指示 S-cEt 核苷。每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。核苷碱基在 5’ 位可包含或不包含甲基。

[0307] 表 3A :化合物 25070 的代谢产物

[0308]

5'																				3'
N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>	N <sub>5</sub>	N <sub>6</sub>	N <sub>7</sub>	N <sub>8</sub>	N <sub>9</sub>	N <sub>10</sub>	N <sub>11</sub>	N <sub>12</sub>	N <sub>13</sub>	N <sub>14</sub>	N <sub>15</sub>	N <sub>16</sub>	N <sub>17</sub>	N <sub>18</sub>	N <sub>19</sub>		
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
				C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
						G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
							T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
								C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
									T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
										G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
											A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>		
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T			
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>				
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T			



	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
				C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
						G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
						G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
							T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
								C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
								C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
									T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
									T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
										G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	

[0309] 在某些实施例中,靶向 miR-21 的经修饰寡核苷酸具有选自表 3B 的核苷型态和核苷碱基序列。之后未接下标的核苷指示 β-D-脱氧核糖核苷。之后接有下标“E”的核苷指示 2'-MOE 核苷。之后接有下标“S”的核苷指示 S-cEt 核苷。每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。核苷碱基在 5' 位可包含或不包含甲基。

[0310] 表 3B :化合物 25923 的代谢产物

[0311]

5'																		3'
N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>	N <sub>5</sub>	N <sub>6</sub>	N <sub>7</sub>	N <sub>8</sub>	N <sub>9</sub>	N <sub>10</sub>	N <sub>11</sub>	N <sub>12</sub>	N <sub>13</sub>	N <sub>14</sub>	N <sub>15</sub>	N <sub>16</sub>	N <sub>17</sub>	N <sub>18</sub>	N <sub>19</sub>

A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
				C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
						G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
							T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
								C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
									T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
										G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
											A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
				C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
				C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		

								G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T		
								G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>			
									T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T		
									T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>			
										C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T		
										C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>			
											T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T		
											T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>			
												G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T		

[0312] 在某些实施例中,靶向 miR-21 的经修饰寡核苷酸具有选自表 3C 的核苷型态和核苷碱基序列。之后未接下标的核苷指示 β-D-脱氧核糖核苷。之后接有下标“E”的核苷指示 2'-MOE 核苷。之后接有下标“S”的核苷指示 S-cEt 核苷。每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。核苷碱基在 5' 位可包含或不包含甲基。

[0313] 表 3C :化合物 25221 的代谢产物

[0314]

5'																					3'
N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>	N <sub>5</sub>	N <sub>6</sub>	N <sub>7</sub>	N <sub>8</sub>	N <sub>9</sub>	N <sub>10</sub>	N <sub>11</sub>	N <sub>12</sub>	N <sub>13</sub>	N <sub>14</sub>	N <sub>15</sub>	N <sub>16</sub>	N <sub>17</sub>	N <sub>18</sub>	N <sub>19</sub>			
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			
				C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			
						G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			
							T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			
								C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>			

									T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>
										G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>
											A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
		A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
			T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
				C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
				C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
					A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
						G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
						G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
							T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
								T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	
								C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
								C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
									T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
									T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>		
										G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	

[0315] 在某些实施例中,靶向 miR-21 的经修饰寡核苷酸具有选自表 3D 的核苷型态和核苷碱基序列。之后未接下标的核苷指示 β-D-脱氧核糖核苷。之后接有下标“E”的核苷指示 2'-MOE 核苷。之后接有下标“S”的核苷指示 S-cEt 核苷。每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。核苷碱基在 5' 位可包含或不包含甲基。

[0316] 表 3D :化合物 25220 的代谢产物

[0317]

5'																			3'
N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>	N <sub>5</sub>	N <sub>6</sub>	N <sub>7</sub>	N <sub>8</sub>	N <sub>9</sub>	N <sub>10</sub>	N <sub>11</sub>	N <sub>12</sub>	N <sub>13</sub>	N <sub>14</sub>	N <sub>15</sub>	N <sub>16</sub>	N <sub>17</sub>	N <sub>18</sub>	N <sub>19</sub>	
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	

[0318]

		A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
			T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
				C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
					A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
						G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
							T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
								C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
									U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
										G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
											A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>		
A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>			
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>		
	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>			
		A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>		

		A	T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>		
			T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
			T	C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>		
				C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
				C <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>		
					A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
					A <sub>S</sub>	G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>		
						G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
						G	T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>		
							T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
							T	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>		
								C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
								C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>		
									U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	
									U <sub>S</sub>	G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>		
										G	A	U <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>	A	G	C <sub>S</sub>	U <sub>S</sub>	

[0319] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由超过 19 个连接的核苷组成,且包含本文所述的核苷型态。除由该核苷型态描述的核苷外还存在的核苷是经修饰或未经修饰的核苷。例如,由 21 个连接的核苷组成且具有与 miR-21 互补的核苷碱基序列的经修饰寡核苷酸可具有长度为 19 个连接的核苷的核苷型态 II。另外两个核苷可包含经修饰或未经修饰的糖部分。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 19 个连接的核苷组成,且包含本文所述的任何核苷型态。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 20 个连接的核苷组成,且包含本文所述的任何核苷型态。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 21 个连接的核苷组成,且包含本文所述的任何核苷型态。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 22 个连接的核苷组成,且包含本文所述的任何核苷型态。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 23 个连接的核苷组成,且包含本文所述的任何核苷型态。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 24 个连接的核苷组成,且包含本文所述的任何核苷型态。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 25 个连接的核苷组成,且包含本文所述的任何核苷型态。

[0320] 本发明的某些用途

**[0321] 调节 miR-21 活性**

[0322] 本文提供的化合物是 miR-21 活性的有效且具特异性的抑制剂,且因此适用于调节 miR-21 活性。

[0323] 微 RNA 结合至信使 RNA 并阻遏信使 RNA 表达。在某些情况下,抑制微 RNA 的活性会导致信使 RNA 去阻遏,亦即信使 RNA 表达在 RNA 和 / 或蛋白质的层面上增加。本文提供调节 miR-21 调控的转录物表达的方法,其包括使细胞与本发明的化合物接触,其中该化合物包含具有与 miR-21 互补的序列的经修饰寡核苷酸。

[0324] 在某些实施例中,miR-21 调控的转录物为 YOD1,且抑制 miR-21 使得 YOD1mRNA 的含量增加。在某些实施例中,miR-21 调控的转录物为 PPAR- $\alpha$ ,且抑制 miR-21 使得 PPAR- $\alpha$  mRNA 的含量增加。在某些实施例中,miR-21 调控的转录物为 RNF167。

[0325] 在某些实施例中,miR-21 调控的转录物为 SPG20。在某些实施例中,在肝脏中抑制 miR-21 使得 SPG20mRNA 的含量增加。

[0326] 在某些实施例中,在使细胞与本发明的化合物接触后,观测到 miR-21 调控的转录物的 mRNA 含量增加至至少 1.5 倍。在某些实施例中,在使细胞与本发明的化合物接触后,观测到 miR-21 调控的转录物的 mRNA 含量增加至至少 2.0 倍。在某些实施例中,微 RNA 调控的转录物的 mRNA 含量增加至至少 2.5 倍。在某些实施例中,微 RNA 调控的转录物的 mRNA 含量增加至至少 3.0 倍。在某些实施例中,微 RNA 调控的转录物的 mRNA 含量增加至至少 3.5 倍。在某些实施例中,微 RNA 调控的转录物的 mRNA 含量增加至至少 4.0 倍。在某些实施例中,微 RNA 调控的转录物的 mRNA 含量增加至至少 4.5 倍。在某些实施例中,微 RNA 调控的转录物的 mRNA 含量增加至至少 5.0 倍。

[0327] 已知某些微 RNA 靶向若干信使 RNA,在一些情况下,靶向数百种信使 RNA。抑制单一微 RNA 的活性可使得许多微 RNA 靶标的表达发生可检测的变化。本文提供调节多种由 miR-21 调控的转录物的方法,其包括抑制 miR-21 的活性,其中发生广泛基因表达变化。

[0328] 在某些实施例中,在用本发明的化合物抑制 miR-21 后可观测到表型变化。该等表型变化可在 miR-21 调控的转录物的表达有或无可检测变化的情况下出现。

**[0329] 纤维增生性病征**

[0330] 器官或组织中对损害或损伤的正常生理反应涉及受损组织修复,其为存活所必需的基本生物学过程。在修复过程中,在外来物质、细菌及受损组织消除后,成纤维细胞迁移至损伤部位以沉积新的细胞外基质,接着作为组织重塑期的一部分,在结构上组织化。

[0331] 成纤维细胞为结缔组织中存在的最常见细胞,且负责合成网硬蛋白 (reticulin) 及其他支撑细胞外基质且在正常伤口愈合中起重要作用的弹性纤维 (Sempowski, G. D. 等人, 2002. Wound Repair Regeneration. 3:120-131)。成纤维细胞负责沉积胶原蛋白,此为修复受损组织及恢复其结构及功能所必需。在伤口愈合过程中,活化的成纤维细胞转型成肌成纤维细胞,其为胶原蛋白分泌性  $\alpha$ -SMA+ 成纤维细胞。在伤口愈合过程的最初阶段,肌成纤维细胞产生基质金属蛋白酶,其破坏基底膜并且允许发炎性细胞有效募集至损伤部位。在损伤修复的稍后阶段中,肌成纤维细胞促进伤口收缩,该过程为伤口边缘朝向伤口中心迁移的过程。因此,成纤维细胞活性对正常愈合过程而言必不可少。

[0332] 参与正常损伤修复过程的成纤维细胞可来源于局部间质细胞,自骨髓募集,或由上皮-间质转化产生。上皮-间质转化 (EMT) 描述细胞表型的一系列快速变化 (Kalluri, R.

及 Neilson, E. G. 2003. J. Clin. Invest. (《临床研究杂志》) 112:1776-1784), 期间静态上皮细胞丧失细胞-细胞接触, 获取间质特征并且表现出迁移性表型。常驻成纤维细胞、浸润纤维细胞或外膜细胞样细胞亦可参与损伤修复过程。

[0333] 在一些情况下, 组织修复过程过度进行, 从而导致细胞外基质 (ECM) 组分过度积聚及 ECM 实质性重塑, 引起永久性纤维变性瘢痕形成。此过量纤维结缔组织的形成 (称为纤维化的过程) 造成组织结构的异常变化且干扰正常器官功能。

[0334] 纤维化可在身体的任何部分发生, 并且可由多种物理性、代谢性、缺血性、感染性、炎性或免疫性损伤引起。尽管纤维化的解剖学位置、起因及临床表现可多种多样, 但所有类型的纤维化存在共同的重要病理学特征。与发生纤维化的位置无关, 纤维变性过程涉及促纤维变性细胞激素分泌及活化、间质细胞群体扩增及活化以及细胞外基质合成及组织化, 并且最终导致正常组织破坏。若不加治疗, 则纤维化可导致心脏、肺、肾、肝脏、眼睛及皮肤以及其他组织的多种病状。

[0335] 如本文所证明, 在纤维化模型中抑制 miR-21 会使胶原蛋白沉积减少。因此, 本文提供用于治疗纤维化、预防和 / 或延迟纤维化发作的组合物及方法, 其包括向受试者给予包含经修饰寡核苷酸的化合物, 其中该经修饰寡核苷酸与 miR-21 互补。该受试者可能已接受到纤维化的诊断, 可能具有产生纤维化的风险, 或可能怀疑患有纤维化。

[0336] 在某些实施例中, 患有纤维化的受试者患有肾纤维化、肺纤维化、肝纤维化、心脏纤维化、皮肤纤维化、年龄相关性纤维化、脾纤维化、硬皮病或移植后纤维化。

[0337] 肾脏的许多疾病或异常的特征为存在纤维化。因而, 本文提供的化合物适用于治疗、改善特征在于存在纤维化的任何肾脏疾病、预防和 / 或延迟其发作。在某些实施例中, 患有纤维化的受试者患有肾脏疾病或病状。在某些实施例中, 具有产生纤维化的风险的受试者患有肾脏疾病或病状。在某些实施例中, 怀疑患有纤维化的受试者患有肾脏疾病或病状。因此, 本文提供用于治疗患有纤维化、具有产生纤维化的风险或怀疑患有纤维化的受试者的方法, 其中该受试者患有肾脏疾病或病状。肾脏疾病或病状可为 (但不限于) 以下一者或多者: 肾小球疾病、肾小管间质纤维化、IgA 肾病、间质纤维化 / 肾小管萎缩、肾小球硬化、肾小球肾炎、糖尿病、特发性局灶节段性肾小球硬化、膜性肾病、塌陷性肾小球病、慢性复发性肾脏感染、糖尿病、糖尿病性肾病、慢性复发性肾脏感染、高血压、全身性高血压、肾小球内高血压或终末期肾病。

[0338] 慢性肾病的特征可在于存在纤维化。因此, 在某些实施例中, 肾脏疾病或病状为慢性肾病。在某些实施例中, 受试者具有产生慢性肾病的风险。在某些实施例中, 患有急性肾损伤的受试者具有产生纤维化和 / 或慢性肾病的风险。因此, 本文提供的组合物及方法可给予患有急性肾损伤的受试者以预防或延迟纤维化和 / 或慢性肾病的发作。

[0339] 在某些实施例中, 患有纤维化的受试者患有由肾脏的急性或反复性创伤引起的肾纤维化。创伤可由手术、化学疗法、放射治疗、同种异体移植排斥反应、慢性移植排斥反应及急性移植排斥反应导致。

[0340] 在某些实施例中, 肾纤维化可由暴露于可能在短期或长期暴露后具肾毒性的任何药剂引起。这些药剂包括医药药剂, 包括 (但不限于) 止痛剂、非类固醇抗炎剂、抗生素、锂、环孢菌素、美色拉嗪 (mesalazine)、造影介质、化学治疗剂; 职业性毒素, 包括 (但不限于) 重金属; 及环境毒素, 包括 (但不限于) 重金属 (例如镉、氯化汞) 或植物肾毒素 (例如马



兜铃酸)。

[0341] 肝脏的许多疾病或异常的特征为存在纤维化。因此,在某些实施例中,患有纤维化的受试者患有肝脏疾病或病状。在某些实施例中,具有产生纤维化的风险的受试者患有肝脏疾病或病状。在某些实施例中,怀疑患有纤维化的受试者患有肝脏疾病或病状。因此,本文提供用于治疗患有纤维化、具有产生纤维化的风险或怀疑患有纤维化的受试者的方法,其中该受试者患有肝脏疾病或病状。在某些实施例中,肝脏疾病或病状可为(但不限于)以下一者或多者:慢性肝损伤、肝炎病毒感染(包括C型肝炎病毒感染及B型肝炎病毒感染)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、非酒精性脂肪变性肝炎(NASH)、酒精性肝病(ALD)、酒精性脂肪变性肝炎、桥接纤维化或肝硬化。在某些实施例中,肝脏疾病或病状与暴露于毒性化学品相关。在某些实施例中,肝脏疾病或病状由暴露于医药药剂(例如乙酰胺苯酚)引起。在某些实施例中,接受化学疗法的受试者具有肝纤维化和/或慢性肝损伤的风险。

[0342] 在肺的许多疾病或异常中可存在纤维化。因此,在某些实施例中,患有纤维化的受试者患有肺部疾病或病状。在某些实施例中,具有产生纤维化的风险的受试者患有肺部疾病或病状。在某些实施例中,怀疑患有纤维化的受试者患有肺部疾病或病状。因此,本文提供用于治疗患有纤维化、具有产生纤维化的风险或怀疑患有纤维化的受试者的方法,其中该受试者患有肺部疾病或病状。在某些实施例中,肺部疾病或病状可为(但不限于)以下一者或多者:肺纤维化、特发性肺纤维化或慢性阻塞性肺病。在某些实施例中,肺纤维化可由吸入微粒物质,诸如硅胶、石棉、空气污染物或卷烟烟气中存在的微粒物质引起。

[0343] 在某些实施例中,纤维化为心脏纤维化。

[0344] 在某些实施例中,纤维化为皮肤纤维化。在某些实施例中,纤维化为年龄相关性纤维化。在某些实施例中,纤维化为脾纤维化。

[0345] 硬皮病为特征在于纤维化以及其他症状的慢性自体免疫性疾病。在某些实施例中,患有纤维化的受试者患有硬皮病。在某些实施例中,患有硬皮病的受试者除皮肤的纤维化外亦在内部器官中具有纤维化。

[0346] 纤维化常发生于移植的器官中,从而导致器官功能丧失并最终引起所移植器官的慢性排斥反应。预防或治疗所移植器官的纤维化可预防或延迟所移植器官的慢性排斥反应,或换言之,可延长所移植器官的功能。因此,在某些实施例中,受试者患有移植后纤维化。在某些实施例中,移植后纤维化为肾脏移植后纤维化。在某些实施例中,移植相关性纤维化为肝脏移植后纤维化。在某些实施例中,在移植的前给予本文所述的化合物。在某些实施例中,本文所述的化合物与移植同时给予。在某些实施例中,在移植的后给予本文所述的化合物。

[0347] 本文提供治疗患有纤维增生性病状的受试者的方法。在某些实施例中,这些方法包括向患有或怀疑患有纤维增生性病状的受试者给予具有与miRNA或其前体互补的核苷碱基序列的经修饰寡核苷酸。在某些实施例中,miRNA是miR-21。

[0348] 癌症及转移

[0349] 已在众多类型的癌症中证明异常高的miR-21表达。此外,在活体外及活体内模型中抑制miR-21已证明miR-21的抑制剂适用于抑制支持癌细胞生长的细胞过程以及适用于治疗癌症。

[0350] 因此,在某些实施例中,本文提供的化合物用于治疗、预防、改善癌症和/或延迟

癌症发作。在某些实施例中，癌症是肝癌、乳癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌、子宫颈癌、白血病、淋巴瘤、脑癌、食道癌、霍奇金氏淋巴瘤 (Hodgkin lymphoma)、非霍奇金氏淋巴瘤、肾癌、黑色素瘤、骨髓瘤、口腔癌、胰脏癌、前列腺癌、直肠癌、胃癌、膀胱癌、甲状腺癌或睾丸癌。在某些实施例中，肝癌是肝细胞癌。在某些实施例中，肝癌归因于起源于身体另一部分的癌症，例如骨癌、结肠癌或乳癌的转移。

[0351] 在某些实施例中，在肝癌中，miR-21 升高且一种或多种由 miR-21 调控的转录物的含量降低。在某些实施例中，降低的 miR-21 调控的转录物为 SPG20。

[0352] 在某些实施例中，肝癌是肝细胞癌 (HCC)。通常通过肝脏成像测试对肝细胞癌作出诊断，诸如腹部超音波、螺旋计算机断层摄影 (CT) 扫描或三相 CT 扫描。此类成像测试可与测量  $\alpha$ -胎蛋白的血液含量和 / 或脱- $\gamma$ -羧基凝血酶原的血液含量结合进行。在某些受试者中，可使用 MRI 来替代 CT 扫描。肝脏成像测试允许评定肿瘤尺寸、数目、位置、肝外转移、开放性和 / 或肿瘤对肝脏的动脉及静脉的侵袭。此评定有助于决定适当的治疗性或姑息性介入模式。最终诊断通常通过针穿刺活组织检查及组织病理学检查来证实。

[0353] 因此，在某些实施例中，肝癌根据检测肿瘤的计算机断层摄影 (CT) 扫描进行检测。在某些实施例中，肝癌根据磁共振成像 (MRI) 进行检测。在某些实施例中，HCC 表征为单一原发性肿瘤。在某些实施例中，HCC 表征为多个原发性肿瘤。在某些实施例中，HCC 表征为具有浸润性生长模式的界定不良原发性肿瘤。在某些实施例中，HCC 为具血管侵袭性的单一原发性肿瘤。在某些实施例中，HCC 表征为具血管侵袭性的多个原发性肿瘤。在某些实施例中，HCC 已转移至一个或多个淋巴结。在某些此类实施例中，淋巴结为局部淋巴结。在某些实施例中，HCC 已转移至一个或多个远程组织。在某些实施例中，HCC 已转移至肝脏的其他区域、门静脉、淋巴结、肾上腺、骨或肺部。在某些实施例中，存在纤维化。

[0354] 已采用多种系统来预测 HCC 的预后，包括 TNM 系统、奥田系统 (Okuda system)、巴塞罗那临床肝癌 (Barcelona Clinic Liver Cancer ;BCLC) 及 CLIP 评分。此类系统各自并有四种已公认为存活的重要决定因素的特征：潜在肝脏疾病的严重性、肿瘤尺寸、肿瘤扩展至相邻结构中的程度及转移的存在。TNM 系统将 HCC 分类为第 I 期、第 II 期、第 III 期、第 IV 期或第 V 期。BCLC 将 HCC 分类为 A1 期、A2 期、A3 期、A4 期、B 期、C 期及 D 期，且包括对 Child-Pugh 评分的考虑。

[0355] 在某些实施例中，肝癌分类为第 1 期、第 2 期、第 3A 期、第 3B 期、第 3C 期或第 4 期。第 1 期的特征在于癌症的尺寸不大于 2cm 并且尚未开始扩散。在第 2 期，癌症正侵袭肝脏中的血管，或者肝脏中存在多于一个肿瘤。在第 3A 期，癌症的尺寸大于 5cm 或已扩散至肝脏附近的血管。在第 3B 期，癌症已扩散至附近器官，诸如肠或胃，但尚未扩散至淋巴结。在第 3C 期，癌症可具有任何尺寸并且已扩散至附近的淋巴结。在第 4 期，癌症已扩散至身体中更加远离肝脏的部分，诸如肺部。

[0356] 可使用受试者血液中的生物标记来增强肝癌的诊断、对肝癌进行分期或产生关于存活的预后。此类生物标记包括血液肿瘤生物标记，诸如  $\alpha$ -胎蛋白及脱- $\gamma$ -羧基凝血酶原。在某些此类实施例中，受试者的血液  $\alpha$ -胎蛋白升高。在某些此类实施例中，受试者的血液脱- $\gamma$ -羧基凝血酶原升高。

[0357] 患有肝癌的受试者也可能罹患肝功能异常。肝功能可通过肝功能测试进行评定，此类肝功能测试尤其测量肝转氨酶的血液含量。在某些实施例中，肝功能异常的受试者的

血液肝转氨酶升高。血液肝转氨酶包括丙氨酸转氨酶 (ALT) 及天冬氨酸转氨酶 (AST)。在某些实施例中,肝功能异常的受试者的血液胆红素升高。在某些实施例中,受试者具有异常血液白蛋白含量。

[0358] 在某些实施例中,受试者的肝功能通过 Child-Pugh 分类系统来评定,该 Child-Pugh 分类系统定义肝功能的三个类别。在此分类系统中,对以下五个类别中的一者的测量结果指定分数:胆红素含量、白蛋白含量、凝血酶原时间、腹水及脑病。将存在以下各特征每一者指定一分:血液胆红素低于 2.0mg/dl;血液白蛋白高于 3.5mg/dl;凝血酶原时间低于 1.7 国际标准化比值 (INR);不存在腹水;或不存在脑病。将存在以下各特征每一者指定两分:血液胆红素为 2-3mg/dl;血液胆红素为 3.5 至 2.8mg/dl;凝血酶原时间为 1.7-2.3INR;腹水轻度至中度;或脑病轻度。将存在以下各特征每一者指定三分:胆红素高于 3.0mg/dl;血液白蛋白低于 2.8mg/dl;凝血酶原时间高于 2.3INR;腹水重度至难治;或脑病重度。将得分相加,且得分 5-6 分指定为类别 A,得分 7-9 分指定为类别 B,且得分 10-15 分指定为类别 C。

[0359] 患有肝癌的受试者可能先前已罹患或可能当前正罹患慢性 C 型肝炎感染、慢性 B 型肝炎感染、非酒精性脂肪性肝病或肝硬化。患有伴有 C 型肝炎感染、B 型肝炎感染、非酒精性脂肪性肝病或肝硬化和 / 或由其引起的肝癌的受试者可通过本文所述的方法治疗。

[0360] 受试者对治疗的反应可通过与诊断肝癌所用测试类似的测试来评估,包括 (但不限于)CT 扫描、MRI 及针穿刺活组织检查。对治疗的反应还可通过测量血液中的生物标记以与治疗前的生物标记含量比较来评定。

[0361] miR-21 还与转移过程相关。虽然 EMT 确实在正常生理过程中存在,但已将 EMT 与转移过程联系起来。已在若干研究中研究 EMT 在肿瘤进展中的相关性 (Greenburg, G. 及 Hay, E. 1986. Dev. Biol. (《发育生物学》) 115:363-379;Boyer, B. 等人, 1989. J. Cell. Biol. (《细胞生物学杂志》) 109:1495-1509;Uehara, Y. 等人, 1992. J. Cell. Biol. (《细胞生物学杂志》) 117:889-894)。上皮细胞经由整合素 (integrin) 与称为基底膜的下层细胞外基质 (ECM) 保持在一起。另一方面,间质细胞能够侵入并移动穿过 ECM 的三维结构。因此,EMT 至少表面上类似于正常粘附细胞转型为转移表型。

[0362] 本文提供治疗、预防、改善转移和 / 或延迟转移发作的方法。转移可由癌细胞自任何癌症原发部位迁移至任何癌症继发部位引起。

#### [0363] 急性肾损伤

[0364] 急性肾损伤为肾功能快速丧失,其可能由多种原因导致,包括低血容量、暴露于毒素及尿路梗阻。已在急性肾损伤模型中观测到 miR-21 升高。因此,在某些实施例中,本文提供的化合物用于治疗、预防、改善急性肾损伤和 / 或延迟急性肾损伤发作。在某些实施例中,急性肾损伤可为暴露于毒性物质的结果,此类毒性物质为诸如环境毒素或癌症治疗剂。急性肾损伤可由对肾脏本身的损害引起,例如在诸如肾小球肾炎、急性肾小管坏死及急性间质性肾炎的病状中。在某些实施例中,急性肾损伤由尿路梗阻引起,诸如与良性前列腺增生、肾结石、尿管阻塞、膀胱结石、膀胱、输尿管或肾脏恶性疾病有关的尿路梗阻。在某些实施例中,急性肾损伤可发展为纤维化和 / 或慢性肾病。因此,在一些实施例中,将本文提供的化合物给予患有急性肾损伤的受试者以预防或延迟纤维化和 / 或慢性肾病的发作。在一些实施例中,将本文提供的化合物给予受试者以增强自急性肾损伤的恢复。

**[0365] 心脏病**

[0366] 已在人类心脏病中发现 miR-21 表达升高,并且在相关动物模型中抑制 miR-21 已展现出使心脏纤维化及心脏功能得到改善。因此,在某些实施例中,本文提供的化合物用于治疗、预防、改善一种或多种心脏病和 / 或延迟其发作。在某些实施例中,心脏病为心脏纤维化、心脏增大、心脏肥大、心脏扩张、肥厚型心肌病、心脏衰竭、心肌梗塞后重塑、心肌梗塞、心肌病(例如肥厚型心肌病、限制型心肌病、扩张型心肌病(DCM)、特发性扩张型心肌病或伴有心律不整的扩张型心肌病)、舒张性心脏衰竭、慢性心房纤维性颤动、原发性肺循环血压过高、急性呼吸窘迫症候群、布鲁戈登症候群(brugada syndrome)、进行性心脏传导疾病、尿毒症性心包炎、蒽环霉素心肌病(anthracycline cardiomyopathy)、动脉纤维化、辐射后淋巴纤维化、类肉瘤病、硬皮病、心内膜弹性纤维增生病、血清素能过度(serotonergic excess)、心脏瓣膜病、心房纤维化、心房纤维性颤动、二尖瓣病、高血压、慢性心室功能不全、压力及容量超负荷或心肌纤维化。

**[0367] 细胞过程**

[0368] 本文提供用于减少或防止成纤维细胞增殖或活化的组合物及方法。本文亦提供用于抑制细胞外基质合成的组合物及方法,该合成包括(但不限于)胶原蛋白、纤维结合蛋白、胶原蛋白酶或金属蛋白酶组织抑制因子合成。

[0369] 本文提供调节与上皮-间质转化(EMT)相关的细胞过程的方法。此类方法包括使上皮细胞与由经修饰的寡核苷酸组成的化合物接触,其中经修饰的寡核苷酸与 miR-21 互补。在某些实施例中,该接触会延迟上皮细胞向成纤维细胞转化。在某些实施例中,该接触会阻止上皮细胞转化为成纤维细胞。

[0370] 在某些实施例中,本文提供的化合物可阻止、减缓或减少癌细胞增殖。在某些实施例中,本文提供的化合物可在癌细胞中诱导细胞凋亡。在某些实施例中,本文提供的化合物可减少癌细胞存活。

[0371] 在某些实施例中,上皮细胞为癌细胞。在某些实施例中,接触延迟癌细胞的转移。在某些实施例中,接触阻止癌细胞的转移。

**[0372] 某些临床结果**

[0373] 在某些实施例中,给予本文提供的化合物或方法会对受试者产生一种或多种临床上所希望的结果。此类改善可用于确定受试者对治疗产生反应的程度。

[0374] 在某些实施例中,临床上所希望的结果为纤维化改善。在某些实施例中,临床上所希望的结果为纤维化进一步进展减缓。在某些实施例中,临床上所希望的结果为纤维化停止进一步进展。在某些实施例中,临床上所希望的结果为纤维化减少。在某些实施例中,临床上所希望的结果为患有纤维化的器官中的胶原蛋白含量降低。

[0375] 在某些实施例中,临床上所希望的结果为任何器官或组织中的纤维化改善。在某些实施例中,临床上所希望的结果为纤维化进一步进展减缓。在某些实施例中,临床上所希望的结果为纤维化停止进一步进展。在某些实施例中,临床上所希望的结果为纤维化减少。在某些实施例中,临床上所希望的结果为受侵害器官中的胶原蛋白含量降低。

[0376] 在某些实施例中,临床上所希望的结果为肾功能改善。肾功能可通过通常在临床配置中进行的一种或多种已知方法来评定,该等方法包括(但不限于):测量受试者血液中的血液尿素氮;测量受试者血液中的肌酐;测量受试者的肌酐清除率;测量受试者的蛋白

尿；测量受试者的微白蛋白：肌酐比率；测量受试者的尿排泄量；测量尿液中的肾损伤分子-1 (KIM-1) mRNA 含量；和 / 或测量尿液中的成簇蛋白 (clusterin) 含量。

[0377] 在某些实施例中，临床上所希望的结果为肝功能改善。肝功能可通过通常在临床配置中进行的一种或多种已知方法来评定，这些方法包括（但不限于）：测量受试者血液中的丙氨酸转氨酶含量；测量受试者血液中的天冬氨酸转氨酶含量；测量受试者血液中的胆红素含量；测量受试者血液中的白蛋白含量；测量受试者的凝血酶原时间；测量受试者的腹水；和 / 或测量受试者的脑病。

[0378] 在某些实施例中，临床上所希望的结果为患有肺纤维化的受试者的肺功能改善。在某些实施例中，受试者患有特发性肺纤维化。肺功能可通过通常在临床配置中进行的一种或多种已知方法来评定，这些方法包括（但不限于）：测量受试者的肺活量；测量受试者的用力肺活量；测量受试者的一秒内用力呼气量；测量受试者的峰值呼气流速；测量受试者的用力呼气流量；测量受试者的最大随意通气量；测定受试者的一秒内用力呼气量与用力肺活量的比率；测量受试者的通气 / 灌注比率；测量受试者的氮气廓清；测量受试者一个或多个肺中的绝对空气容积；以及给予 6 分钟步行测试。

[0379] 在某些实施例中，临床上所希望的结果为患有心脏纤维化的受试者的心脏功能改善。心脏功能可通过通常在临床配置中进行的一种或多种已知方法来评定，这些方法包括（但不限于）：测量受试者的心输出量；测量受试者的心搏排血量；测量受试者的平均收缩期射血率；测量受试者的收缩期血压；测量受试者的左心室射血分数；测定受试者的心搏指数；测定受试者的心脏指数；测量受试者的左心室缩短百分率；测量受试者的周径纤维平均缩短速度；测量受试者的左心室流入血流速度图；测量受试者的肺静脉血流速度图；测量受试者二尖瓣环的舒张早期峰值速度。

[0380] 在某些实施例中，临床上所希望的结果为患有癌症的受试者的肿瘤数减少和 / 或肿瘤尺寸减小。在某些实施例中，临床上所希望的结果为患有癌症的受试者的癌细胞数减少。其他临床上所希望的结果包括受试者的总体存活时间延长和 / 或受试者的无进展存活时间延长。在某些实施例中，给予本文提供的化合物可防止肿瘤尺寸和 / 或肿瘤数增加。在某些实施例中，给予本文提供的化合物可预防转移性进展。在某些实施例中，给予本文提供的化合物可减缓或阻止转移性进展。在某些实施例中，给予本文提供的化合物可预防肿瘤复发。在某些实施例中，给予本文提供的化合物可预防肿瘤转移复发。

[0381] 某些所希望的临床结果可通过测量血液生物标记来评定。在某些实施例中，给予本文提供的化合物可使得血液  $\alpha$ -胎蛋白和 / 或血液脱- $\gamma$  羧基凝血酶原降低。此外，给予本文提供的化合物可使得肝功能得到改善，如由血液 ALT 和 / 或 AST 含量降低所证明。

[0382] 某些其他疗法

[0383] 对纤维化或本文列出的任何病状的治疗可包含一种以上疗法。因此，在某些实施例中，本文提供治疗患有或怀疑患有纤维化的受试者的方法，包括除给予具有与 miR-21 互补的核苷碱基序列的经修饰寡核苷酸之外还给予至少一种疗法。

[0384] 在某些实施例中，至少一种其他疗法包含医药药剂。

[0385] 在某些实施例中，医药药剂包括抗炎剂。在某些实施例中，抗炎剂为类固醇抗炎剂。在某些实施例中，类固醇抗炎剂为皮质类固醇。在某些实施例中，皮质类固醇为强的松 (prednisone)。在某些实施例中，抗炎剂为非类固醇抗炎剂。在某些实施例中，非类固醇抗

炎剂为布洛芬 (ibuprofen)、COX-I 抑制剂或 COX-2 抑制剂。

[0386] 在某些实施例中,医药药剂包括免疫抑制剂。在某些实施例中,免疫抑制剂为皮质类固醇、环磷酰胺 (cyclophosphamide) 或霉酚酸吗啉乙酯 (mycophenolate mofetil)。

[0387] 在某些实施例中,医药药剂包括抗糖尿病剂。抗糖尿病剂包括(但不限于)双胍、葡萄糖苷酶抑制剂、胰岛素、磺酰脲及噻唑啉二酮。

[0388] 在某些实施例中,医药药剂包括血管紧张素 II 受体阻滞剂 (ARB)。在某些实施例中,血管紧张素 II 受体阻滞剂为坎地沙坦 (candesartan)、伊贝沙坦 (irbesartan)、奥美沙坦 (olmesartan)、洛沙坦 (losartan)、缬沙坦 (valsartan)、替米沙坦 (telmisartan) 或依普沙坦 (eprosartan)。

[0389] 在某些实施例中,医药药剂包括(但不限于)利尿剂(例如螺内酯 (spironolactone)、依普利酮 (eplerenone)、呋喃苯胺酸 (furosemide))、收缩影响剂 (inotrope)(例如多巴酚丁胺 (dobutamine)、米力农 (milrinone))、地高辛 (digoxin)、血管舒张药、血管紧张素 II 转化酶 (ACE) 抑制剂(例如为卡托普利 (captopril)、依那普利 (enalapril)、赖诺普利 (lisinopril)、贝那普利 (benazepril)、喹那普利 (quinapril)、福辛普利 (fosinopril) 及雷米普利 (ramipril))、钙通道阻滞剂、异山梨醇二硝酸酯、胍屈嗪 (hydralazine)、硝酸酯(例如异山梨醇单硝酸酯、异山梨醇二硝酸酯)、胍屈嗪、 $\beta$ -阻滞剂(例如卡维地洛 (carvedilol)、美托洛尔 (metoprolol)) 以及利钠肽(例如奈西利肽 (nesiritide))。

[0390] 在某些实施例中,医药药剂包括类肝素。在某些实施例中,类肝素为戊聚糖多硫酸酯 (pentosan polysulfate)。

[0391] 在某些实施例中,医药药剂为阻断对纤维发生信号的一种或多种反应的医药药剂。

[0392] 在某些实施例中,医药药剂为抗结缔组织生长因子疗法。在某些实施例中,抗 CTGF 疗法为针对 CTGF 的单株抗体。

[0393] 在某些实施例中,其他疗法可为增强身体免疫系统的医药药剂,包括低剂量环磷酰胺、胸腺刺激素、维生素及营养补充剂(例如抗氧化剂,包括维生素 A、C、E、 $\beta$ -胡萝卜素、锌、硒、谷胱甘肽、辅酶 Q-10 及紫花马兰菊 (echinacea)),以及疫苗,例如免疫刺激性复合物 (ISCOM),其包含组合抗原的多聚呈现形式与佐剂的疫苗调配物。

[0394] 在某些实施例中,其他疗法选用于治疗或改善本发明的一种或多种药物组合物的副作用。此类副作用包括(但不限于)注射部位反应、肝功能测试异常、肾功能异常、肝中毒、肾中毒、中枢神经系统异常以及肌病。例如,血清中的转氨酶含量升高可指示肝中毒或肝功能异常。例如,胆红素增加可指示肝中毒或肝功能异常。

[0395] 其他医药药剂的其他实例包括(但不限于):免疫球蛋白,包括(但不限于)静脉内免疫球蛋白 (IVIg);止痛剂(例如乙酰胺苯酚 (acetaminophen));水杨酸盐;抗生素;抗病毒剂;抗真菌剂;肾上腺素能的调节剂;激素(例如同化类固醇、雄激素、雌激素、降血钙素、孕酮、生长抑素及甲状腺激素);免疫调节剂;肌肉松弛剂;抗组胺剂;骨质疏松剂(例如双膦酸盐、降血钙素及雌激素);前列腺素、抗肿瘤剂;精神治疗剂;镇静剂;毒葛或毒漆树产物;抗体;以及疫苗。

[0396] 癌症治疗通常包含一种以上疗法。因此,在某些实施例中,本发明提供减少或预防

转移的方法,包括向受试者给予包含经修饰的寡核苷酸的化合物,其中经修饰的寡核苷酸与 miR-21 互补,以及给予作为抗癌疗法的至少一种其他疗法。

[0397] 在某些实施例中,抗癌疗法为化学疗法。适合化学治疗剂包括多西紫杉醇(docetaxel)、环磷酰胺、异环磷酰胺(ifosfamide)、甲氨蝶呤(methotrexate)、长春花碱(vinblastine)、顺铂(cisplatin)、5-氟尿嘧啶、吉西他滨(gemcitabine)、小红莓(doxorubicin)、丝裂霉素 C(mitomycin c)、索拉菲尼(sorafenib)、依托泊苷(etoposide)、卡铂(carboplatin)、表柔比星(epirubicin)、伊立替康(irinotecan)以及奥沙利铂(oxaliplatin)。其他适合化学治疗剂包括除本文所提供的靶向 miR-21 的组合物以外的用于治疗癌症的寡聚化合物。

[0398] 在某些实施例中,抗癌疗法为放射疗法。在某些实施例中,抗癌疗法为手术切除肿瘤。在某些实施例中,抗癌疗法为 DNA 损伤剂、增殖抑制剂、抗叶酸剂、生长因子受体抑制剂、抗血管生成剂、受体酪氨酸激酶抑制剂、激酶抑制剂、生长因子抑制剂或细胞毒性剂。

[0399] 在某些实施例中, DNA 损伤剂为 1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脒、白消安(busulfan)、卡铂、卡莫司汀(carmustine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、顺铂、环磷酰胺、达卡巴嗪(dacarbazine)、道诺霉素(daunorubicin)、小红莓、表柔比星、依托泊苷、伊达比星(idarubicin)、异环磷酰胺、伊立替康、洛莫司汀、氮芥(mechlorethamine)、美法仑(melphalan)、丝裂霉素 C、米托蒽醌(mitoxantrone)、奥沙利铂、替莫唑胺(temozolomide)或拓扑替康(topotecan)。

[0400] 在某些实施例中,抗叶酸剂为甲氨蝶呤、氨基蝶呤(aminopterin)、胸苷酸合酶、丝氨酸羟甲基转移酶、叶酰聚谷氨酰基合成酶(folylpolyglutamyl synthetase)、g-谷氨酰基水解酶、甘氨酸胺-核糖核苷酸转甲酰基酶、甲酰四氢叶酸、氨基-咪唑-甲酰胺-核糖核苷酸转甲酰基酶、5-氟尿嘧啶或叶酸转运体。

[0401] 在某些实施例中,生长因子受体为埃罗替尼(erlotinib)或吉非替尼(gefitinib)。

[0402] 在某些实施例中,血管生成抑制剂为贝伐单抗(bevacizumab)、沙利度胺(thalidomide)、羧基氨基三唑、TNP-470、CM101、IFN- $\alpha$ 、血小板因子-4、苏拉明(suramin)、SU5416、血小板反应蛋白(thrombospondin)、VEGFR 拮抗剂、软骨源性血管生成抑制因子、基质金属蛋白酶抑制剂、血管生成抑制素(angiostatin)、内皮抑素(endostatin)、2-甲氧基雌二醇、替可加兰(tecogalan)、四硫钼酸盐、催乳激素或利诺胺(linomide)。

[0403] 在某些实施例中,激酶抑制剂为贝伐单抗、BIBW2992、西妥昔单抗(cetuximab)、伊马替尼(imatinib)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、吉非替尼、兰尼单抗(ranibizumab)、哌加他尼(pegaptanib)、索拉菲尼、达沙替尼(dasatinib)、舒尼替尼(sunitinib)、埃罗替尼(erlotinib)、尼罗替尼(nilotinib)、拉帕替尼(lapatinib)、帕尼单抗(panitumumab)、凡德他尼(vandetanib)、E7080、帕唑帕尼(pazopanib)、莫立替尼(mubritinib)或福马替尼(fostamatinib)。

[0404] 某些微 RNA 核苷碱基序列

[0405] 具有本文所述的核苷型态的经修饰寡核苷酸具有与 miR-21 (SEQ ID NO:1) 或其前体 (SEQ ID NO:2) 互补的核苷碱基序列。在某些实施例中,经修饰寡核苷酸的每个核苷碱基能够与 miR-21 或其前体的核苷碱基序列中每个相应位置处的核苷碱基进行碱基配对。在

某些实施例中,经修饰寡核苷酸的核苷碱基序列相对于 miR-21 的核苷碱基序列或其前体序列可具有一个或多个错配碱基对,并且仍能够与其靶标序列杂交。

[0406] 因为 miR-21 序列含于 miR-21 前体序列内,所以具有与 miR-21 互补的核苷碱基序列的经修饰寡核苷酸还与 miR-21 前体的区互补。

[0407] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由等于 miR-21 长度的数目的连接的核苷组成。

[0408] 在某些实施例中,经修饰寡核苷酸的连接的核苷的数目小于 miR-21 的长度。具有小于 miR-21 长度的数目的连接的核苷的经修饰寡核苷酸在该经修饰寡核苷酸的每个核苷碱基与 miR-21 相应位置上的每个核苷碱基互补的情况下是视为具有与 miR-21 序列的区完全互补的核苷碱基序列的经修饰寡核苷酸。例如,由 19 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸在各核苷碱基与长度为 22 个核苷碱基的 miR-21 的相应位置互补的情况下与 miR-21 的具有 19 个核苷碱基的区完全互补。该经修饰寡核苷酸与 miR-21 的整个长度具有约 86% 总体互补性,并且与 miR-21 的具有 19 个核苷碱基的部分具有 100% 互补性。

[0409] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸包含与种子序列互补的核苷碱基序列,亦即经修饰的寡核苷酸包含种子匹配序列。在某些实施例中,种子序列为六聚体种子序列。在某些此类实施例中,种子序列为 miR-21 的核苷碱基 1-6。在某些此类实施例中,种子序列为 miR-21 的核苷碱基 2-7。在某些此类实施例中,种子序列为 miR-21 的核苷碱基 3-8。在某些实施例中,种子序列为七聚体种子序列。在某些此类实施例中,七聚体种子序列为 miR-21 的核苷碱基 1-7。在某些此类实施例中,七聚体种子序列为 miR-21 的核苷碱基 2-8。在某些实施例中,种子序列为八聚体种子序列。在某些此类实施例中,八聚体种子序列为 miR-21 的核苷碱基 1-8。在某些实施例中,八聚体种子序列为 miR-21 的核苷碱基 2-9。

[0410] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有相对于 miR-21 或其前体的核苷碱基序列具有一处错配的核苷碱基序列。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸具有相对于 miR-21 或其前体的核苷碱基序列具有两处错配的核苷碱基序列。在某些此类实施例中,经修饰的寡核苷酸具有相对于 miR-21 或其前体的核苷碱基序列具有不超过两处错配的核苷碱基序列。在某些此类实施例中,错配的核苷碱基为连续的。在某些此类实施例中,错配的核苷碱基不连续。

[0411] 在某些实施例中,经修饰寡核苷酸的连接的核苷的数目大于 miR-21 的长度。在某些此类实施例中,额外核苷的核苷碱基与 miR-21 茎-环序列的核苷碱基互补。在某些实施例中,经修饰寡核苷酸的连接的核苷的数目比 miR-21 的长度多一个。在某些此类实施例中,额外核苷位于寡核苷酸的 5' 端。在某些此类实施例中,额外核苷位于寡核苷酸的 3' 端。在某些实施例中,经修饰寡核苷酸的连接的核苷的数目比 miR-21 的长度多两个。在某些此类实施例中,两个额外核苷位于寡核苷酸的 5' 端。在某些此类实施例中,两个额外核苷位于寡核苷酸的 3' 端。在某些此类实施例中,一个额外核苷位于寡核苷酸的 5' 端且一个额外核苷位于寡核苷酸的 3' 端。在某些实施例中,寡核苷酸的区可与 miR-21 的核苷碱基序列完全互补,但整个经修饰寡核苷酸并不与 miR-21 完全互补。例如,由 24 个连接的核苷组成的经修饰寡核苷酸在核苷 1 至 23 的核苷碱基各自与长度为 22 个核苷碱基的 miR-21 的相应位置互补的情况下具有与 miR-21 的核苷碱基序列完全互补的具 22 个核苷的部分且与 miR-21 的核苷碱基序列具有约 96% 总体互补性。



[0412] 某些经修饰的寡核苷酸

[0413] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 8 至 30 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 15 至 30 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 15 至 25 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 15 至 19 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 15 至 16 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 19 至 24 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 21 至 24 个连接的核苷组成。

[0414] 在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 8 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 9 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 10 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 11 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 12 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 13 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 14 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 15 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 16 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 17 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 18 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 19 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 20 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 21 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 22 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 23 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 24 个连接的核苷组成。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸由 25 个连接的核苷组成。

[0415] 本文列出的核苷碱基序列(包括但不限于在实例中和在序列列表中所发现的那些)与核酸的任何修饰无关。因此,由 SEQ ID NO 定义的核酸可以独立地包含针对一个或多个糖部分、一个或多个核苷间键、和 / 或一种或多个核苷碱基的一种或多种修饰。

[0416] 虽然随此提交材料的序列列表将每个核苷碱基序列按要求鉴定为“定为核苷或“定为核苷,实际上那些序列可以被化学修饰的任何组合所修饰。本领域技术人员将易于理解的是这样一种如描述经修饰寡核苷酸的“饰寡核苷或“饰寡核苷的名称有点武断。例如,包含具有 2' -OH 糖部分和胸腺嘧啶碱基的核苷的经修饰寡核苷酸可以被描述为具有经修饰糖(对于 DNA 的天然 2' -H 而言的 2' -OH)的 DNA 或描述为具有经修饰碱基(对于 RNA 的天然尿嘧啶而言为胸腺嘧啶(甲基化尿嘧啶))的 RNA。

[0417] 因此,本文提供的核酸序列(包括但不限于在序列列表中的那些)旨在包括含有天然或修饰 RNA 和 / 或 DNA 的任何组合的核酸,包括但不限于具有经修饰核苷碱基的此类核酸。通过另外举例的方式以及在不造成限制的情况下,具有核苷碱基序列“ATCGATCG”的寡核苷酸包括具有这种核苷碱基序列的任何寡核苷酸,无论是经修饰的还是未经修饰的,包括但不限于包含 RNA 碱基的此类化合物,例如具有序列“AUCGAUCG”的那些以及具有一些 DNA 碱基和具有一些 RNA 碱基(如“AUCGATCG”)的那些、以及具有其他经修饰碱基的寡核苷酸(如“AT<sup>m</sup>C GAUCG”,其中<sup>m</sup>C 指示 5-甲基胞嘧啶)。类似地,具有核苷碱基序列“AUCGAUCG”的寡核苷酸包括具有这种核苷碱基序列的任何寡核苷酸,无论是经修饰的还是未经修饰的,包括但不限于包含 DNA 碱基的此类化合物,例如具有序列“ATCGATCG”的那些以及具有一些 DNA 碱基和具有一些 RNA 碱基的那些(如“AUCGATCG”)、以及具有其他经修饰碱基的寡核

苷酸（如“AT<sup>m</sup>CGAUCG”，其中<sup>m</sup>C指示5-甲基胞嘧啶）。

[0418] 某些修饰

[0419] 在某些实施例中，本文提供的寡核苷酸可包含一处或多处核苷碱基、糖和/或核苷间键修饰，且因此为经修饰的寡核苷酸。经修饰的核苷碱基、糖和/或核苷间键可因诸如细胞吸收增强、对其他寡核苷酸或核酸靶标的亲和力增强及在核酸酶存在下的稳定性增强的所希望特性而优先于未经修饰形式加以选择。

[0420] 在某些实施例中，经修饰的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷。在某些此类实施例中，经修饰的核苷为稳定化核苷。稳定化核苷的实例为糖经修饰的核苷。

[0421] 在某些实施例中，经修饰的核苷为糖经修饰的核苷。在某些此类实施例中，糖经修饰的核苷可进一步包含天然或经修饰的杂环碱基部分和/或天然或经修饰的核苷间键且可独立于糖修饰包括其他修饰。在某些实施例中，糖经修饰的核苷为2'位上经修饰的核苷，其中糖环在天然核糖或2'-脱氧-核糖的2'碳上经修饰。

[0422] 在某些实施例中，2'位上经修饰的核苷具有双环糖部分。在某些此类实施例中，双环糖部分为呈 $\alpha$ 构型的D型糖。在某些此类实施例中，双环糖部分为呈 $\beta$ 构型的D型糖。在某些此类实施例中，双环糖部分为呈 $\alpha$ 构型的L型糖。在某些此类实施例中，双环糖部分为呈 $\beta$ 构型的L型糖。

[0423] 在某些实施例中，双环糖部分在2'与4'碳原子的间包含桥基。在某些此类实施例中，桥基包含1至8个连接的双基。在某些实施例中，双环糖部分包含1至4个连接的双基。在某些实施例中，双环糖部分包含2或3个连接的双基。在某些实施例中，双环糖部分包含2个连接的双基。此类4'至2'糖取代基的实例包括（但不限于）： $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$ 、 $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ 或 $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$ ； $4'-CH_2-2'$ 、 $4'-(CH_2)_2-2'$ 、 $4'-(CH_2)_3-2'$ ； $4'-(CH_2)-O-2'$ （LNA）； $4'-(CH_2)-S-2'$ ； $4'-(CH_2)_2-O-2'$ （ENA）； $4'-CH(CH_3)-O-2'$ （cEt）及 $4'-CH(CH_2OCH_3)-O-2'$ 及其类似物（参见例如美国专利7,399,845,2008年7月15日颁予）； $4'-C(CH_3)(CH_3)-O-2'$ 及其类似物（参见例如W02009/006478,2009年1月8日公开）； $4'-CH_2-N(OCH_3)-2'$ 及其类似物（参见例如W02008/150729,2008年12月11日公开）； $4'-CH_2-O-N(CH_3)-2'$ （参见例如US2004/0171570,2004年9月2日公开）； $4'-CH_2-O-N(R)-2'$ 及 $4'-CH_2-N(R)-O-2'$ ，其中每个R独立地是H、保护基或C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基； $4'-CH_2-N(R)-O-2'$ ，其中R为H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基或保护基（参见美国专利7,427,672,2008年9月23日颁予）； $4'-CH_2-C(H)(CH_3)-2'$ （参见例如Chattopadhyaya等人，J. Org. Chem.（《有机化学杂志》），2009,74,118-134）；及 $4'-CH_2-C(=CH_2)-2'$ 及其类似物（参见公开的PCT国际申请案W02008/154401,2008年12月8日公开）。

[0424] 在某些实施例中，此类4'至2'桥基独立地包含1个或2至4个独立地选自以下的连接的基团： $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-C(R_a)=C(R_b)-$ 、 $-C(R_a)=N-$ 、 $-C(=NR_a)-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R_a)_2-$ 、 $-S(=O)_x-$ 及 $-N(R_a)-$ ；

[0425] 其中：

[0426] X是0、1或2；

[0427] n为1、2、3或4；

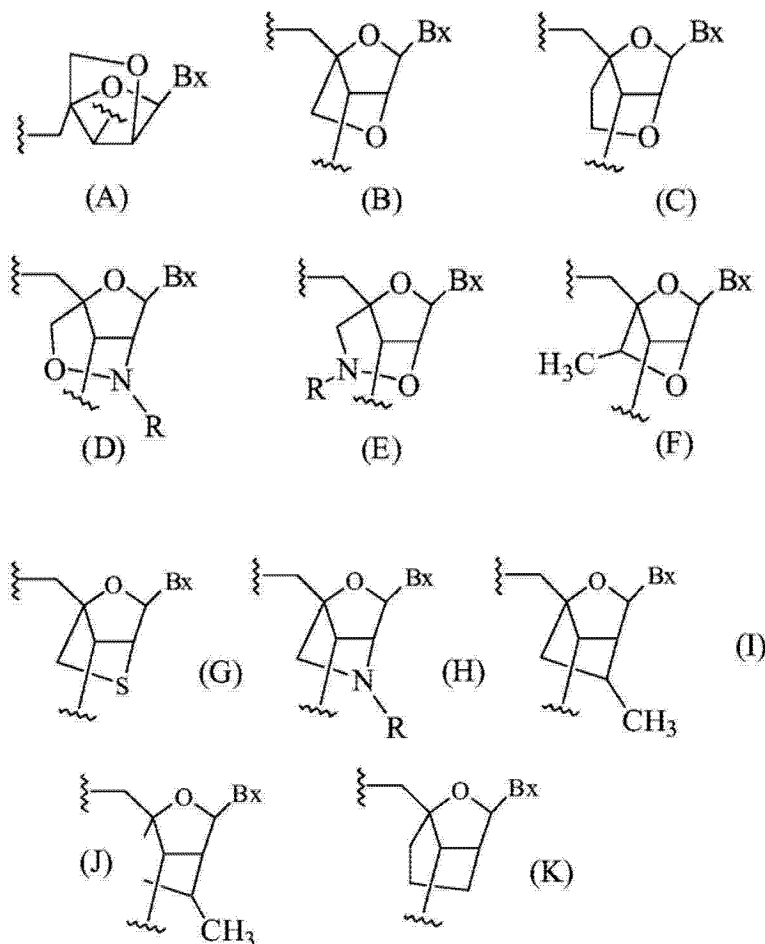
[0428] 各R<sub>a</sub>及R<sub>b</sub>独立地是H、保护基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>烯基、经取代的C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>炔基、经取代的C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>炔基、C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>芳基、经取代的C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>芳

基、杂环基、经取代的杂环基、杂芳基、经取代的杂芳基、 $C_5$ - $C_7$  脂环基、经取代的  $C_5$ - $C_7$  脂环基、卤素、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $COOJ_1$ 、酰基 ( $C(=O)-H$ )、经取代的酰基、 $CN$ 、磺酰基 ( $S(=O)_2-J_1$ ) 或砷基 ( $S(=O)-J_1$ ) ; 且

[0429] 各  $J_1$  及  $J_2$  独立地是  $H$ 、 $C_1$ - $C_{12}$  烷基、经取代的  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、经取代的  $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、经取代的  $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_5$ - $C_{20}$  芳基、经取代的  $C_5$ - $C_{20}$  芳基、酰基 ( $C(=O)-H$ )、经取代的酰基、杂环基、经取代的杂环基、 $C_1$ - $C_{12}$  氨基烷基、经取代的  $C_1$ - $C_{12}$  氨基烷基或保护基。

[0430] 包含该等双环糖部分的核苷称为双环核苷或 BNA。在某些实施例中, 双环核苷包括 (但不限于) 如下文所描绘的 (A)  $\alpha$ -L- 亚甲氧基 ( $4'-CH_2-O-2'$ ) BNA ; (B)  $\beta$ -D- 亚甲氧基 ( $4'-CH_2-O-2'$ ) BNA ; (C) 乙烯氧基 ( $4'-(CH_2)_2-O-2'$ ) BNA ; (D) 氮氧基 ( $4'-CH_2-O-N(R)-2'$ ) BNA ; (E) 氧氨基 ( $4'-CH_2-N(R)-O-2'$ ) BNA ; (F) 甲基 (亚甲氧基) ( $4'-CH(CH_3)-O-2'$ ) BNA (亦称为约束乙基或 cEt) ; (G) 亚甲基-硫基 ( $4'-CH_2-S-2'$ ) BNA ; (H) 亚甲基-氨基 ( $4'-CH_2-N(R)-2'$ ) BNA ; (I) 甲基碳环 ( $4'-CH_2-CH(CH_3)-2'$ ) BNA ; (J) c-MOE ( $4'-CH_2-OMe-2'$ ) BNA ; 以及 (K) 丙烯碳环 ( $4'-(CH_2)_3-2'$ ) BNA。

[0431]



[0432] 其中 BX 是核苷碱基部分且 R 独立地是  $H$ 、保护基或  $C_1$ - $C_{12}$  烷基。

[0433] 在某些实施例中, 2' 位上经修饰的核苷包含选自以下项的 2' - 取代基: 卤基、烯丙基、氨基、叠氨基、 $SH$ 、 $CN$ 、 $OCN$ 、 $CF_3$ 、 $OCF_3$ 、 $O-$ 、 $S-$  或  $N(R_m)-$  烷基;  $O-$ 、 $S-$  或  $N(R_m)-$  烯基;  $O-$ 、 $S-$  或  $N(R_m)-$  炔基;  $O-$  亚烷基 - $O-$  烷基、炔基、烷芳基、芳烷基、 $O-$  烷芳基、 $O-$  芳烷基、

$O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-N(R_m)(R_n)$  或  $O-CH_2-C(=O)-N(R_m)(R_n)$ , 其中各  $R_m$  及  $R_n$  独立地是 H、氨基保护基或经取代或未经取代的  $C_1-C_{10}$  烷基。这些 2'-取代基可进一步经一个或多个独立地选自以下项的取代基取代: 羟基、氨基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基 ( $NO_2$ )、巯基、硫烷氧基 (S-烷基)、卤素、烷基、芳基、烯基以及炔基。

[0434] 在某些实施例中, 2' 位上经修饰的核苷包含选自以下项的 2'-取代基: F、 $NH_2$ 、 $N_3$ 、 $OCF_3$ 、 $O-CH_3$ 、 $O(CH_2)_3NH_2$ 、 $CH_2-CH=CH_2$ 、 $O-CH_2-CH=CH_2$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-N(R_m)(R_n)$ 、 $-O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$  以及 N 上经取代的乙酰胺 ( $O-CH_2-C(=O)-N(R_m)(R_n)$ ), 其中每个  $R_m$  和  $R_n$  独立地是 H、氨基保护基或经取代或未经取代的  $C_1-C_{10}$  烷基。

[0435] 在某些实施例中, 2' 位上经修饰的核苷包含选自以下项的 2'-取代基: F、 $OCF_3$ 、 $O-CH_3$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $2'-O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-N(CH_3)_2$ 、 $-O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$  以及  $O-CH_2-C(=O)-N(H)CH_3$ 。

[0436] 在某些实施例中, 2' 位上经修饰的核苷包含选自以下项的 2'-取代基: F、 $O-CH_3$  以及  $OCH_2CH_2OCH_3$ 。

[0437] 在某些实施例中, 糖经修饰的核苷为 4'-硫代修饰的核苷。在某些实施例中, 糖经修饰的核苷为 4'-硫代-2'-修饰的核苷。4'-硫基修饰的核苷具有 4'-O 置换为 4'-S 的  $\beta$ -D-核糖核苷。4'-硫代-2'-修饰的核苷为 2'-OH 置换为 2'-取代基的 4'-硫代修饰的核苷。适合的 2'-取代基包括 2'- $OCH_3$ 、2'- $O-(CH_2)_2-OCH_3$  以及 2'-F。

[0438] 在某些实施例中, 经修饰的寡核苷酸包含一个或多个核苷间修饰。在某些此类实施例中, 经修饰寡核苷酸的每个核苷间键为经修饰的核苷间键。在某些实施例中, 经修饰的核苷间键包含磷原子。

[0439] 在某些实施例中, 经修饰的寡核苷酸包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键。在某些实施例中, 经修饰寡核苷酸的每个核苷间键为硫代磷酸酯核苷间键。

[0440] 在某些实施例中, 经修饰的核苷间键不包含磷原子。在某些此类实施例中, 核苷间键由短链烷基核苷间键形成。在某些此类实施例中, 核苷间键由环烷基核苷间键形成。在某些此类实施例中, 核苷间键由混合杂原子及烷基核苷间键形成。在某些此类实施例中, 核苷间键由混合杂原子及环烷基核苷间键形成。在某些此类实施例中, 核苷间键由一个或多个短链杂原子核苷间键形成。在某些此类实施例中, 核苷间键由一个或多个杂环核苷间键形成。在某些此类实施例中, 核苷间键具有酰胺主链。在某些此类实施例中, 核苷间键具有混合的 N、O、S 及  $CH_2$  组成部分。

[0441] 在某些实施例中, 经修饰的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷碱基。在某些实施例中, 经修饰的寡核苷酸包含一个或多个 5-甲基胞嘧啶。在某些实施例中, 经修饰寡核苷酸的各胞嘧啶包含 5-甲基胞嘧啶。

[0442] 在某些实施例中, 经修饰的核苷碱基系选自 5-羟甲基胞嘧啶、7-去氮鸟嘌呤及 7-去氮腺嘌呤。在某些实施例中, 经修饰的核苷碱基系选自 7-去氮-腺嘌呤、7-去氮鸟苷、2-氨基吡啶及 2-吡啶酮。在某些实施例中, 经修饰的核苷碱基选自 5 位上经取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶及 N-2、N-6 及 O-6 经取代的嘌呤, 包括 2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶及 5-丙炔基胞嘧啶。

[0443] 在某些实施例中, 经修饰的核苷碱基包含多环杂环。在某些实施例中, 经修饰的核

苷碱基包含三环杂环。在某些实施例中,经修饰的核苷碱基包含吩噻嗪衍生物。在某些实施例中,吩噻嗪可经进一步修饰以形成此项技术中称为 G 形钳 (G-clamp) 的核苷碱基。

#### [0444] 某些药物组合物

[0445] 本文提供包含寡核苷酸的药物组合物。在某些实施例中,这些药物组合物用于治疗代谢性病症及相关病状。在某些实施例中,本文提供的药物组合物包含含由 8 至 30 个连接的核苷组成且具有与 miR-21 或其前体互补的核苷碱基序列的经修饰寡核苷酸的化合物。在某些实施例中,本文提供的药物组合物包含由经修饰寡核苷酸组成的化合物,该经修饰寡核苷酸由 8 至 30 个连接的核苷组成且具有与 miR-21 或其前体互补的核苷碱基序列。

[0446] 适合的给药途径包括(但不限于)经口、直肠、透粘膜、经肠、肠内、局部、栓剂、经由吸入、鞘内、心内、心室内、腹膜内、鼻内、眼内、肿瘤内和肠胃外(例如静脉内、肌肉内、髓内和皮下)。在某些实施例中,给予鞘内医药药剂以达成局部暴露而非全身性暴露。例如,药物组合物可直接注射于所要作用的区域中(例如注射至肝脏中)。

[0447] 在某些实施例中,药物组合物以剂量单位形式给予(例如片剂、胶囊、快速注射等)。在一些实施例中,药物组合物包含剂量在选自以下项的范围内的经修饰寡核苷酸: 25mg 至 800mg、25mg 至 700mg、25mg 至 600mg、25mg 至 500mg、25mg 至 400mg、25mg 至 300mg、25mg 至 200mg、25mg 至 100mg、100mg 至 800mg、200mg 至 800mg、300mg 至 800mg、400mg 至 800mg、500mg 至 800mg、600mg 至 800mg、100mg 至 700mg、150mg 至 650mg、200mg 至 600mg、250mg 至 550mg、300mg 至 500mg、300mg 至 400mg 及 400mg 至 600mg。在某些实施例中,此类药物组合物包含选自以下项的剂量的经修饰寡核苷酸: 25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg、140mg、145mg、150mg、155mg、160mg、165mg、170mg、175mg、180mg、185mg、190mg、195mg、200mg、205mg、210mg、215mg、220mg、225mg、230mg、235mg、240mg、245mg、250mg、255mg、260mg、265mg、270mg、270mg、280mg、285mg、290mg、295mg、300mg、305mg、310mg、315mg、320mg、325mg、330mg、335mg、340mg、345mg、350mg、355mg、360mg、365mg、370mg、375mg、380mg、385mg、390mg、395mg、400mg、405mg、410mg、415mg、420mg、425mg、430mg、435mg、440mg、445mg、450mg、455mg、460mg、465mg、470mg、475mg、480mg、485mg、490mg、495mg、500mg、505mg、510mg、515mg、520mg、525mg、530mg、535mg、540mg、545mg、550mg、555mg、560mg、565mg、570mg、575mg、580mg、585mg、590mg、595mg、600mg、605mg、610mg、615mg、620mg、625mg、630mg、635mg、640mg、645mg、650mg、655mg、660mg、665mg、670mg、675mg、680mg、685mg、690mg、695mg、700mg、705mg、710mg、715mg、720mg、725mg、730mg、735mg、740mg、745mg、750mg、755mg、760mg、765mg、770mg、775mg、780mg、785mg、790mg、795mg 及 800mg。在某些此类实施例中,药物组合物包含选自以下项的剂量的经修饰寡核苷酸: 25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、500mg、600mg、700mg 及 800mg。

[0448] 在某些实施例中,医药药剂是用适合稀释剂(例如无菌注射用水或无菌注射用生理盐水)复原的无菌冻干经修饰寡核苷酸。复原的产物在于生理盐水中稀释后以皮下注射形式或以静脉内输注形式给予。冻干的药品由已于注射用水或注射用生理盐水中制备、在制备期间用酸或碱调整至 pH7.0-9.0 且接着冻干的经修饰寡核苷酸组成。冻干的经修饰寡核苷酸可为 25-800mg 寡核苷酸。应了解,此涵盖 25mg、50mg、75mg、100mg、125mg、

150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、425mg、450mg、475mg、500mg、525mg、550mg、575mg、600mg、625mg、650mg、675mg、700mg、725mg、750mg、775mg 及 800mg 的经修饰冻干寡核苷酸。此外, 在一些实施例中, 冻干的经修饰寡核苷酸为选自以下的范围内的量的寡核苷酸: 25mg 至 800mg、25mg 至 700mg、25mg 至 600mg、25mg 至 500mg、25mg 至 400mg、25mg 至 300mg、25mg 至 200mg、25mg 至 100mg、100mg 至 800mg、200mg 至 800mg、300mg 至 800mg、400mg 至 800mg、500mg 至 800mg、600mg 至 800mg、100mg 至 700mg、150mg 至 650mg、200mg 至 600mg、250mg 至 550mg、300mg 至 500mg、300mg 至 400mg 及 400mg 至 600mg。冻干的药品可包装于用溴丁基橡胶盖塞住且用铝 FLIP-OFF® 顶封密封的 2mL I 型透明玻璃小瓶 (经硫酸铵处理) 中。

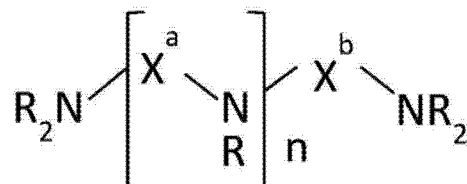
[0449] 在某些实施例中, 本文提供的药物组合物可另外含有此项技术中已确定的用量的已知见于药物组合物中的其他辅助组分。因此, 例如, 组合物可含有其他兼容性医药活性物质, 诸如止痒剂、收敛剂、局部麻醉剂或抗炎剂, 或可含有适用于以物理方式调配本发明组合物的各种剂型的其他物质, 诸如染料、调味剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂、增稠剂以及稳定剂。然而, 此类物质在添加时应不会不适当地干扰本发明组合物的组分的生物活性。调配物可灭菌且必要时可与不会与调配物的寡核苷酸不利地相互作用的助剂混合, 此类助剂为例如润滑剂、防腐剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、影响渗透压的盐、缓冲剂、着色剂、调味剂和 / 或芳香物质及其类似物。

[0450] 已在多种方法中在核酸疗法中使用脂质部分。在一种方法中, 将核酸引入预成型的脂质体或由阳离子性脂质与中性脂质的混合物制成的脂质复合物 (lipoplex) 中。在另一方法中, 在无中性脂质存在的情况下形成 DNA 与单阳离子性脂质或聚阳离子性脂质的复合物。在某些实施例中, 脂质部分选用于增加医药药剂向特定细胞或组织中的分布。在某些实施例中, 脂质部分选用于增加医药药剂向脂肪组织中的分布。在某些实施例中, 脂质部分选用于增加医药药剂向肌肉组织中的分布。

[0451] 在某些实施例中, 使用英托利匹特 (INTRALIPID) 来制备包含寡核苷酸的药物组合物。英托利匹特为制备用于静脉内给予的脂肪乳液。它由 10% 大豆油、1.2% 卵黄磷脂、2.25% 甘油以及注射用水构成。此外, 添加氢氧化钠来调节 pH 值以使最终产物 pH 值范围为 6 至 8.9。

[0452] 在某些实施例中, 本文提供的药物组合物包含与核酸复合的多元胺化合物或脂质部分。在某些实施例中, 此类制剂包含一种或多种各自个别地具有由式 (Z) 定义的结构化合物或其医药学上可接受的盐,

[0453]



[0454] 其中每个  $X^a$  及  $X^b$  在每次出现时独立地是  $C_{1-6}$  亚烷基;  $n$  为 0、1、2、3、4 或 5; 每个  $R$  独立地是 H, 其中制剂中的至少约 80% 式 (Z) 化合物分子中至少  $n+2$  个  $R$  部分不为 H;  $m$  为 1、2、3 或 4;  $Y$  为 O、 $NR^2$  或 S;  $R^1$  为烷基、烯基或炔基; 其各自可任选地经一个或多个取代基取代; 且  $R^2$  为 H、烷基、烯基或炔基; 其各自可任选地经一个或多个取代基取代; 其限制条件

为,若  $n=0$ ,则至少  $n+3$  个 R 部分不为 H。此类制剂描述于 PCT 公开案 WO/2008/042973 中,该案对脂质制剂的揭示内容通过引用以其全文结合在此。某些其他制剂描述于 Akinc 等人, Nature Biotechnology (《自然生物技术》) 26, 561-569 (2008 年 5 月 1 日) 中,该文献对脂质制剂的揭示内容通过引用以其全文结合在此。

[0455] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物包含一种或多种经修饰的寡核苷酸及一种或多种赋形剂。在某些此类实施例中,赋形剂系选自水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、淀粉酶、硬脂酸镁、滑石、硅酸、粘性石蜡、羟甲基纤维素以及聚乙烯吡咯烷酮。

[0456] 在某些实施例中,使用已知技术来制备本文提供的药物组合物,这些已知技术包括(但不限于)混合、溶解、造粒、制糖衣药丸、研碎(levigating)、乳化、囊封、覆埋或压片过程。

[0457] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物为液体(例如悬浮液、酏剂和/或溶液)。在某些此类实施例中,液体药物组合物是使用此项技术中已知的成分制备,此类成分包括(但不限于)水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂及着色剂。

[0458] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物为固体(例如散剂、片剂和/或胶囊)。在某些此类实施例中,包含一种或多种寡核苷酸的固体药物组合物是使用此项技术中已知的成分制备,此类成分包括(但不限于)淀粉、糖、稀释剂、造粒剂、润滑剂、粘合剂以及崩解剂。

[0459] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物被调配成储库制剂。某些此类储库制剂的作用时间通常比非储库制剂长。在某些实施例中,此类制剂通过植入(例如皮下或肌肉内)或通过肌肉内注射给予。在某些实施例中,储库制剂是使用适合聚物质或疏水性物质(例如于可接受的油中的乳液)或离子交换树脂制备,或制备成微溶性衍生物,例如制备成微溶性盐。

[0460] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物包含递送系统。递送系统的实例包括(但不限于)脂质体及乳液。某些递送系统适用于制备某些药物组合物,包括包含疏水性化合物的药物组合物。在某些实施例中,使用某些有机溶剂,诸如二甲亚砜。

[0461] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物包含一种或多种经设计以将本发明的一种或多种医药药剂递送至特定组织或细胞类型的组织特异性递送分子。例如,在某些实施例中,药物组合物包括包覆有组织特异性抗体的脂质体。

[0462] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物包含共溶剂系统。某些此类共溶剂系统包含例如苯醇、非极性界面活性剂、水可混溶性有机聚合物及水相。在某些实施例中,此类共溶剂系统用于疏水性化合物。该共溶剂系统的非限制性实例为 VPD 共溶剂系统,它是包含 3%w/v 苯醇、8%w/v 非极性界面活性剂 Polysorbate80™ 及 65%w/v 聚乙二醇 300 的绝对乙醇溶液。此类共溶剂系统的比例可在不实质性改变其溶解度及毒性特征的情况下显著变化。此外,共溶剂组分的身份可变化:例如,可使用其他界面活性剂替代 Polysorbate80™;聚乙二醇的大小分率可变化;其他生物兼容性聚合物可替代聚乙二醇,例如聚乙烯吡咯烷酮;及其他糖或多糖可取代右旋糖。

[0463] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物包含持续释放系统。该持续释放系统的非限制性实例为固体疏水性聚合物的半透性基质。在某些实施例中,持续释放系统可视其化学性质而定在数小时、数天、数周或数月的时间内释放医药药剂。

[0464] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物制备用于经口给予。在某些此类实施例中,药物组合物系通过将一种或多种包含经修饰寡核苷酸的化合物与一种或多种医药学上可接受的载体组合来进行调配。某些此类载体使得药物组合物能够调配成片剂、丸剂、糖衣药丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆料、悬浮液及其类似物,以供受试者经口摄取。在某些实施例中,用于经口使用的药物组合物通过混合寡核苷酸与一种或多种固体赋形剂而获得。适合的赋形剂包括(但不限于)填充剂,诸如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇;纤维素制剂,诸如玉米淀粉、小麦淀粉、稻米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。在某些实施例中,可任选地研磨该混合物并且可任选地添加助剂。在某些实施例中,使药物组合物成型以获得片剂或糖衣药丸核心。在某些实施例中,添加崩解剂(例如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐,诸如海藻酸钠)。

[0465] 在某些实施例中,糖衣药丸核心具有包衣。在某些此类实施例中,可使用浓缩糖溶液,它可以可任选地含有阿拉伯胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡巴浦尔凝胶(carbopol gel)、聚乙二醇和/或二氧化钛、漆溶液及适合有机溶剂或溶剂混合物。可将染料或颜料添加至片剂或糖衣药丸包衣中。

[0466] 在某些实施例中,用于经口给予的药物组合物为由明胶制成的配合插入型胶囊。某些此类配合插入型胶囊包含一种或多种本发明的医药药剂与一种或多种填充剂(诸如乳糖)、粘合剂(诸如淀粉)和/或润滑剂(诸如滑石或硬脂酸镁)及可任选地选用的稳定剂的混合物。在某些实施例中,用于经口给予的药物组合物为由明胶及塑化剂(诸如甘油或山梨糖醇)制成的软密封胶囊。在某些软胶囊中,一种或多种本发明的医药药剂溶解或悬浮于适合液体(诸如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇)中。此外,可添加稳定剂。

[0467] 在某些实施例中,药物组合物系制备用于经颊给予。某些此类药物组合物为以常规的方式调配的片剂或口含剂。

[0468] 在某些实施例中,药物组合物被制备为用于通过注射给予(例如静脉内、皮下、肌肉内等)。在某些此类实施例中,药物组合物包含载体且于水溶液中调配,诸如水或生理上相容的缓冲液,诸如汉克氏溶液(Hanks's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理盐水缓冲液。在某些实施例中,包括其他成分(例如有助于溶解或充当防腐剂的成分)。在某些实施例中,可注射悬浮液系使用适当液体载体、悬浮剂及其类似物制备。某些注射用药物组合物以单位剂型存在于例如安瓿或多剂量容器中。某些注射用药物组合物为于油性或水性媒剂中的悬浮液、溶液或乳液,且可含有调配剂,诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。某些适用于注射用药物组合物中的溶剂包括(但不限于)亲脂性溶剂及脂肪油,诸如芝麻油、合成脂肪酸酯,诸如油酸乙酯或三酸甘油酯,以及脂质体。水性注射悬浮液可含有增加悬浮液的黏度的物质,诸如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或聚葡萄糖。可任选地,此类悬浮液亦可含有适合稳定剂或增加医药药剂的溶解度以允许制备高度浓缩溶液的试剂。

[0469] 在某些实施例中,药物组合物被制备用于透粘膜给予。在某些此类实施例中,在调配物中使用适于障壁渗透的渗透剂。此类渗透剂通常为此项技术中所已知。

[0470] 在某些实施例中,药物组合物被制备用于通过吸入给予。某些此类吸入用药物组合物制备成于加压包装或雾化器中的气雾剂喷雾形式。某些此类药物组合物包含推进剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他适合气体。在使用加压气



雾剂的某些实施例中,剂量单位可用递送计量的量的阀门确定。在某些实施例中,可调配供吸入器或吹入器中使用的胶囊及药筒。某些此类调配物包含本发明医药药剂与适合粉末基质(诸如乳糖或淀粉)的粉末混合物。

[0471] 在某些实施例中,药物组合物被制备用于直肠给予,诸如栓剂或保留灌肠剂。某些此类药物组合物包含已知成分,诸如可可脂和/或其他甘油酯。

[0472] 在某些实施例中,药物组合物被制备用于局部给予。某些此类药物组合物包含温和保湿基质,诸如软膏或乳膏。例示性适合软膏基质包括(但不限于)矿脂、矿脂加挥发性聚硅氧,及羊毛脂及油包水乳液。例示性适合乳膏基质包括(但不限于)冷乳膏及亲水性软膏。

[0473] 在某些实施例中,本文提供的药物组合物包含治疗有效量的经修饰寡核苷酸。在某些实施例中,治疗有效量足以预防、减轻或缓解疾病的症状或延长所治疗受试者的存活期。治疗有效量的确定完全在本领域技术人员的能力范围内。

[0474] 在某些实施例中,本文提供的一种或多种经修饰寡核苷酸系调配成前药。在某些实施例中,活体内给予时,前药化学转化为寡核苷酸的生物学上、医药学上或治疗上更具活性的形式。在某些实施例中,前药因其比相应活性形式更易给予而适用。例如,在某些情况下,前药的生物可用率(例如经由经口给予)可比相应活性形式高。在某些情况下,前药相比于相应活性形式可具有改良的溶解度。在某些实施例中,前药的水溶性低于相应活性形式。在某些情况下,该等前药具有较佳的跨细胞膜递送,其中水溶性不利于迁移。在某些实施例中,前药为酯。在某些此类实施例中,酯在给予时代谢水解为羧酸。在某些情况下,含羧酸化合物为相应活性形式。在某些实施例中,前药包含结合于酸基的短肽(聚氨基酸)。在某些此类实施例中,肽在给予时裂解以形成相应活性形式。

[0475] 在某些实施例中,通过对医药活性化合物进行修饰而产生前药,以使得活性化合物在活体内给予时再生。前药可经设计以改变药物的代谢稳定性或转运特征,遮蔽副作用或毒性,改良药物的风味或改变药物的其他特征或特性。借助于对活体内药效动力学过程及药物代谢的了解,本领域技术人员在已知医药活性化合物后即可设计该化合物的前药(参见例如 Nogrady (1985) Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, New York, 第 388-392 页)。

[0476] 某些给药途径

[0477] 在某些实施例中,向受试者给药包含肠胃外给药。在某些实施例中,向受试者给药包含静脉内给药。在某些实施例中,向受试者给药包含皮下给药。

[0478] 在某些实施例中,向受试者给药包含动脉内给药。在某些实施例中,向受试者给药包含心内给药。心内给药的适合方式包括使用导管或在开心手术期间给药。在某些实施例中,给药包含使用支架。

[0479] 在某些实施例中,给药包括肺部给药。在某些实施例中,肺部给药包含通过吸入将气雾化寡核苷酸递送至受试者的肺部。受试者吸入气雾化寡核苷酸后,寡核苷酸分布至正常与发炎肺组织的细胞,包括肺泡巨噬细胞、嗜伊红血球、上皮细胞、血管内皮细胞及细支气管上皮细胞。适用于递送包含经修饰寡核苷酸的药物组合物的装置包括(但不限于)标准雾化器装置。用于使用雾化器装置调节小液滴的大小以靶向呼吸道及肺的特定部分的调配物及方法为本领域技术人员所熟知。其他适合装置包括干粉吸入器或定剂量吸入器。

[0480] 在某些实施例中,给予药物组合物以达成局部暴露而非全身性暴露。例如,肺部给予将药物组合物递送至肺部,而使全身性暴露达到最低。

[0481] 其他适合给药途径包括(但不限于)经口、直肠、经粘膜、经肠、肠内、局部、栓剂、鞘内、心室内、腹膜内、鼻内、眼内、肌肉内、髓内及肿瘤内。

[0482] 某些化合物

[0483] 本文提供包含具有某些核苷形态的经修饰寡核苷酸的化合物,及这些化合物用于调节靶标核酸的活性、含量或表达的用途。在某些实施例中,化合物包含寡核苷酸。在某些此类实施例中,化合物由寡核苷酸组成。在某些实施例中,寡核苷酸为经修饰的寡核苷酸。在某些实施例中,经修饰的寡核苷酸与小型非编码 RNA 互补。在某些实施例中,小型非编码 RNA 为 miR-21。

[0484] 在某些此类实施例中,化合物包含与互补链杂交的经修饰寡核苷酸,即化合物包含双链寡聚化合物。在某些实施例中,经修饰寡核苷酸与互补链杂交会形成至少一个平端。在某些此类实施例中,经修饰寡核苷酸与互补链杂交会在双链寡聚化合物的每个末端形成平端。在某些实施例中,经修饰寡核苷酸的末端相对于互补链的连接核苷的数目包含一个或多个额外的连接的核苷。在某些实施例中,一个或多个额外核苷位于寡核苷酸的 5' 端。在某些实施例中,一个或多个额外核苷位于寡核苷酸的 3' 端。在某些实施例中,一个或多个额外核苷的核苷的至少一个核苷碱基与靶标 RNA 互补。在某些实施例中,一个或多个额外核苷各自的每个核苷碱基与靶标 RNA 互补。在某些实施例中,互补链的末端相对于寡核苷酸连接的核苷的数目包含一个或多个额外的连接的核苷。在某些实施例中,一个或多个额外的连接的核苷位于互补链的 3' 端。在某些实施例中,一个或多个额外的连接的核苷位于互补链的 5' 端。在某些实施例中,两个额外的连接的核苷连接于末端。在某些实施例中,一个额外的核苷连接于末端。

[0485] 在某些实施例中,化合物包含与一个或多个增强所得反义寡核苷酸的活性、细胞分布或细胞吸收的部分结合的经修饰寡核苷酸。在某些此类实施例中,该部分为胆固醇部分。在某些实施例中,该部分为脂质部分。用于结合的额外部分包括碳水化合物、磷脂、生物素、啡嗪、叶酸盐、啡啶、葱醌、吡啶、荧光素、若丹明(rhodamine)、香豆素及染料。在某些实施例中,结合基团直接连接于寡核苷酸。在某些实施例中,结合基团通过选自以下的连接部分连接至经修饰寡核苷酸:氨基、羟基、羧酸、巯基、不饱和度(例如双键或三键)、8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(ADO)、4-(N-顺丁烯二酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸丁二酰亚胺酯(SMCC)、6-氨基己酸(AHEX 或 AHA)、经取代的 C1-C10 烷基、经取代或未经取代的 C2-C10 烯基及经取代或未经取代的 C2-C10 炔基。在某些此类实施例中,取代基选自羟基、氨基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、巯基、硫烷氧基、卤素、烷基、芳基、烯基以及炔基。

[0486] 在某些此类实施例中,化合物包含经修饰的寡核苷酸,该寡核苷酸具有一个或多个稳定化基团连接于经修饰寡核苷酸的一端或两端以增强诸如核酸酶稳定性的特性。在稳定化基团中包括帽结构。此类末端修饰保护经修饰的寡核苷酸免遭核酸外切酶降解,且可有助于递送和/或定位于细胞内。帽可存在于 5' 端(5' 帽)或 3' 端(3' 帽),或可存在于两个末端上。帽结构包括例如反转脱氧无碱基帽。

[0487] 适合帽结构包括 4',5'-亚甲基核苷酸、1-( $\beta$ -D-赤呋喃糖基)核苷酸、4'-硫核苷酸、碳环核苷酸、1,5-去水己糖醇核苷酸、L-核苷酸、 $\alpha$ -核苷酸、经修饰碱基核苷酸、

二硫代磷酸酯键、苏-戊呋喃糖基核苷酸、无环 3', 4'-断核苷酸、无环 3, 4-二羟基丁基核苷酸、无环 3, 5-二羟基戊基核苷酸、3'-3'-反转核苷酸部分、3'-3'-反转无碱基部分、3'-2'-反转核苷酸部分、3'-2'-反转无碱基部分、1, 4-丁二醇磷酸酯、3'-氨基磷酸酯、己基磷酸酯、氨基己基磷酸酯、3'-磷酸酯、3'-硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、桥连甲基膦酸酯部分及非桥连甲基膦酸酯部分、5'-氨基-烷基磷酸酯、1, 3-二氨基-2-丙基磷酸酯、3-氨基丙基磷酸酯、6-氨基己基磷酸酯、1, 2-氨基十二烷基磷酸酯、羟基丙基磷酸酯、5'-5'-反转核苷酸部分、5'-5'-反转无碱基部分、5'-氨基磷酸酯、5'-硫代磷酸酯、5'-氨基、桥连和/或非桥连 5'-氨基磷酸酯、硫代磷酸酯及 5'-巯基部分。

[0488] 某些其他疗法

[0489] 对与 miR-21 相关的疾病的治疗可包含一种以上疗法。因此,在某些实施例中,本文提供治疗患有或怀疑患有与 miR-21 相关的疾病的受试者的方法,其包括除给予具有与微 RNA 互补的核苷碱基序列的经修饰寡核苷酸外亦给予至少一种疗法。

[0490] 在某些实施例中,至少一种其他疗法包含医药药剂。

[0491] 在某些实施例中,医药药剂包括抗炎剂。在某些实施例中,抗炎剂为类固醇抗炎剂。在某些实施例中,类固醇抗炎剂为皮质类固醇。在某些实施例中,皮质类固醇为强的松。在某些实施例中,抗炎剂为非类固醇抗炎剂。在某些实施例中,非类固醇抗炎剂为布洛芬、COX-1 抑制剂或 COX-2 抑制剂。

[0492] 在某些实施例中,医药药剂包括抗糖尿病剂。抗糖尿病剂包括(但不限于)双胍、葡萄糖苷酶抑制剂、胰岛素、磺酰脲及噻唑啉二酮。

[0493] 在某些实施例中,医药药剂包括(但不限于)利尿剂(例如螺内酯、依普利酮、呋喃苯胺酸)、收缩影响剂(例如多巴酚丁胺、米力农)、地高辛、血管舒张药、血管紧张素 II 转化酶(ACE)抑制剂(例如为卡托普利、依那普利、赖诺普利、贝那普利、喹那普利、福辛普利及雷米普利)、血管紧张素 II 受体阻滞剂(ARB)(例如坎地沙坦、伊贝沙坦、奥美沙坦、洛沙坦、缬沙坦、替米沙坦、依普沙坦)、钙通道阻滞剂、异山梨醇二硝酸酯、肼屈嗪、硝酸酯(例如异山梨醇单硝酸酯、异山梨醇二硝酸酯)、肼屈嗪、 $\beta$ -阻滞剂(例如卡维地洛、美托洛尔)以及利钠肽(例如奈西利肽)。

[0494] 在某些实施例中,医药药剂包括类肝素。在某些实施例中,类肝素为戊聚糖多硫酸酯。

[0495] 在某些实施例中,医药药剂为阻断对纤维发生信号的一种或多种反应的医药药剂。

[0496] 在某些实施例中,医药药剂为抗结缔组织生长因子疗法。在某些实施例中,抗 CTGF 疗法为针对 CTGF 的单株抗体。

[0497] 在某些实施例中,其他疗法可为增强身体免疫系统的医药药剂,包括低剂量环磷酸胺、胸腺刺激素、维生素及营养补充剂(例如抗氧化剂,包括维生素 A、C、E、 $\beta$ -胡萝卜素、锌、硒、谷胱甘肽、辅酶 Q-10 及紫花马兰菊),以及疫苗,例如免疫刺激性复合物(ISCAM),其包含组合抗原的多聚呈现形式与佐剂的疫苗调配物。

[0498] 在某些实施例中,其他疗法选用于治疗或改善本发明的一种或多种药物组合物的副作用。此类副作用包括(但不限于)注射部位反应、肝功能测试异常、肾功能异常、肝中毒、肾中毒、中枢神经系统异常及肌病。例如,血清中的转氨酶含量升高可指示肝中毒或肝

功能异常。例如,胆红素增加可指示肝中毒或肝功能异常。

[0499] 其他医药药剂的其他实例包括(但不限于):免疫球蛋白,包括(但不限于)静脉内免疫球蛋白(IVIg);止痛剂(例如乙酰胺苯酚);水杨酸盐;抗生素;抗病毒剂;抗真菌剂;肾上腺素能的调节剂;激素(例如同化类固醇、雄激素、雌激素、降血钙素、孕酮、生长抑素及甲状腺激素);免疫调节剂;肌肉松弛剂;抗组胺剂;骨质疏松剂(例如双膦酸盐、降血钙素及雌激素);前列腺素、抗肿瘤剂;精神治疗剂;镇静剂;毒葛或毒漆树产物;抗体;以及疫苗。

#### [0500] 某些试剂盒

[0501] 本发明亦提供试剂盒。在一些实施例中,试剂盒包含一种或多种包含经修饰寡核苷酸的本发明化合物,其中寡核苷酸的核苷碱基序列与 miR-21 的核苷碱基序列互补。与 miR-21 互补的化合物可具有本文所述的任何核苷型态。在一些实施例中,与 miR-21 互补的化合物可存在于小瓶内。复数个小瓶(诸如 10 个)可存在于例如分配包装中。在一些实施例中,小瓶经制造以可用注射器出入。试剂盒还可含有与 miR-21 互补的化合物的使用说明书。

[0502] 在一些实施例中,试剂盒可用于向受试者给予与 miR-21 互补的化合物。在该等情况下,除与 miR-21 互补的化合物外,试剂盒还可进一步包含以下一者或多者:注射器、酒精药签、棉球和/或网垫。在一些实施例中,与 miR-21 互补的化合物可存在于预先填充药品的注射器(诸如具有例如具针套的 27 号 1/2 英寸针的单次剂量注射器)而非小瓶中。复数个预先填充药品的注射器(诸如 10 个)可存在于例如分配包装中。试剂盒还可含有给予与 miR-21 互补的化合物的说明书。

#### [0503] 某些实验模型

[0504] 在某些实施例中,本发明提供在实验模型中使用和/或测试本发明的经修饰寡核苷酸的方法。本领域技术人员能够选择及修改此类实验模型的方案以评估本发明的医药药剂。

[0505] 一般而言,首先在培养细胞中测试经修饰的寡核苷酸。适合细胞类型包括与需要在活体内递送经修饰寡核苷酸的细胞类型相关的细胞类型。例如,适用于本文所述方法的研究的细胞类型包括初级细胞或培养细胞。

[0506] 在某些实施例中,在培养细胞中评定经修饰寡核苷酸干扰 miR-21 活性的程度。在某些实施例中,可通过测量微 RNA 的含量来评定对微 RNA 活性的抑制。或者,可测量预测或确定的由微 RNA 调控的转录物的含量。抑制微 RNA 活性可使得 miR-21 调控的转录物和/或由 miR-21 调控的转录物编码的蛋白质增加。此外,在某些实施例中,可测量某些表型结果。

[0507] 本领域技术人员可获得若干动物模型以用于在人类疾病的模型中研究 miR-21。例如,miR-21 抑制剂可在以下癌症模型中研究,诸如原位异种移植模型、毒素诱发的癌症模型或遗传诱发的癌症模型。在此类癌症模型中,可进行研究以评估 miR-21 抑制剂对肿瘤尺寸、肿瘤数目、总体存活期和/或无进展存活期的影响。

[0508] miR-21 抑制剂对心脏功能及纤维化的影响可在经主动脉结扎或心肌梗塞的模型中研究,此类模型各自诱发异常心脏功能及纤维化。肾纤维化模型包括单侧输尿管梗阻及缺血/再灌注损伤。在早期时间点,可使用肾脏缺血再灌注损伤模型作为急性肾损伤的模

型,而稍后时间点用作肾纤维化模型。肝纤维化模型由例如四氯化碳中毒或胆管切除诱发。miR-21 对肺纤维化的影响可在例如博来霉素 (bleomycin) 诱发的肺纤维化模型中研究。伤口愈合模型亦可由本领域技术人员获得,例如 C57Bl/KsJ-db/db 小鼠,其展现成年发作型糖尿病的若干特征,诸如伤口闭合显著延迟。

#### [0509] 某些定量分析

[0510] 给予经修饰的寡核苷酸后对 miR-21 的反义抑制作用可通过此项技术中已知的多种方法来评定。在某些实施例中,此等方法用于在活体外或活体内定量细胞或组织中的微 RNA 含量。在某些实施例中,微 RNA 含量的变化通过微阵列分析来测量。在某些实施例中,微 RNA 含量的变化通过若干市售 PCR 分析的一者来测量,诸如 **TaqMan®** 微 RNA 分析 (Applied Biosystems)。在某些实施例中,对 miR-21 的反义抑制作用通过测量 miR-21 的靶标的 mRNA 和 / 或蛋白质含量来评定。对 miR-21 的反义抑制作用通常使得微 RNA 的靶标的 mRNA 和 / 或蛋白质含量增加。

#### [0511] 靶标啮合分析

[0512] 用抗 miR 剂或微 RNA 模拟物调节微 RNA 活性可通过测量靶标啮合来评定。在某些实施例中,通过 mRNA 的微阵列概况分析来测量靶标啮合。搜寻由抗 miR 剂或微 RNA 模拟物调节 (增加或减少) 的 mRNA 的序列中的微 RNA 种子序列,以比较对作为微 RNA 的靶标的 mRNA 的调节作用与对不为微 RNA 的靶标的 mRNA 的调节作用。以此方式,可评估抗 miR 剂与 miR-21 或 miR-21 模拟物与其靶标的相互作用。在抗 miR 剂的情况下,筛选表达量增加的 mRNA 中的以下 mRNA 序列:该 mRNA 序列包含与互补于抗 miR 剂的微 RNA 匹配的种子。

#### [0513] 实例

[0514] 提供以下实例以便更充分地说明本发明的一些实施例。然而,其不应以任何方式视作限制本发明的广泛范围。

[0515] 本领域普通技术人员将容易地采用本发明的基本原理来设计各种化合物而不背离本发明的精神。

#### [0516] 实例 1:抗 miR-21 化合物的活体外筛选

[0517] 评估靶向 miR-21 且包含 cEt 核苷的各种抗 miR 剂对 miR-21 活性的抑制作用。如表 A 中所示,这些化合物的长度以及经修饰核苷的数目、类型及位置不同。25919 包含 2' -MOE 及 2' - 氟核苷且已知抑制 miR-21,且因此纳入作为阳性对照。其余化合物包含 cEt 核苷与 2' -MOE 核苷和 / 或  $\beta$ -D- 脱氧核糖核苷的组合。

#### [0518] 表 A:抗 miR-21 化合物

[0519]

化合物 编号	序列和化学(5'至 3')	SEQ ID NO
25919	U <sub>E</sub> C <sub>E</sub> A <sub>F</sub> A <sub>F</sub> C <sub>F</sub> A <sub>F</sub> U <sub>F</sub> C <sub>F</sub> A <sub>F</sub> G <sub>F</sub> U <sub>F</sub> C <sub>E</sub> U <sub>E</sub> G <sub>E</sub> A <sub>F</sub> U <sub>F</sub> A <sub>F</sub> A <sub>F</sub> G <sub>F</sub> C <sub>F</sub> U <sub>E</sub> A <sub>E</sub>	4
25067	T <sub>e</sub> <sup>Me</sup> CA <sub>S</sub> A <sup>Me</sup> CA <sub>S</sub> T <sup>Me</sup> CAG <sub>S</sub> T <sup>Me</sup> CTGA <sub>S</sub> TAAG <sub>S</sub> <sup>Me</sup> CTA <sub>e</sub>	4
25068	T <sub>E</sub> <sup>Me</sup> C <sub>E</sub> A <sub>E</sub> A <sub>E</sub> C <sub>S</sub> A <sub>E</sub> T <sub>E</sub> C <sub>S</sub> A <sub>E</sub> G <sub>E</sub> T <sub>E</sub> C <sub>S</sub> T <sub>E</sub> G <sub>E</sub> A <sub>E</sub> U <sub>S</sub> A <sub>E</sub> A <sub>E</sub> E <sub>G</sub> E <sub>C</sub> S <sub>T</sub> E <sub>A</sub> E	4
25070	A <sub>E</sub> C <sub>S</sub> ATC <sub>S</sub> AGTC <sub>S</sub> TGAU <sub>S</sub> AAGC <sub>S</sub> TA <sub>E</sub>	3
25071	A <sub>e</sub> <sup>Me</sup> CA <sub>S</sub> T <sup>Me</sup> CAG <sub>S</sub> T <sup>Me</sup> CTGA <sub>S</sub> TA <sub>S</sub> AG <sub>S</sub> <sup>Me</sup> CTA <sub>e</sub>	3
25072	A <sub>E</sub> C <sub>S</sub> A <sub>E</sub> T <sub>E</sub> C <sub>S</sub> A <sub>E</sub> G <sub>E</sub> T <sub>E</sub> C <sub>S</sub> T <sub>E</sub> G <sub>E</sub> A <sub>E</sub> U <sub>S</sub> A <sub>E</sub> A <sub>E</sub> G <sub>E</sub> C <sub>S</sub> T <sub>E</sub> A <sub>E</sub>	3

[0520]

25077	A <sub>e</sub> T <sub>e</sub> <sup>Me</sup> C <sub>e</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>e</sub> <sup>Me</sup> C <sub>e</sub> T <sub>e</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> T <sub>e</sub> A <sub>e</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>Me</sup> C <sub>e</sub> T <sub>e</sub> A <sub>e</sub>	5
25082	T <sub>E</sub> <sup>Me</sup> CAAC <sub>S</sub> ATC <sub>S</sub> AGTC <sub>S</sub> TGAU <sub>S</sub> AAGC <sub>S</sub> TA <sub>E</sub>	4
25731	A <sub>e</sub> T <sub>e</sub> <sup>Me</sup> C <sub>e</sub> A <sub>e</sub> G <sub>e</sub> T <sub>e</sub> <sup>Me</sup> C <sub>e</sub> T <sub>e</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> T <sub>e</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>e</sub> <sup>Me</sup> C <sub>e</sub> U <sub>S</sub> A <sub>S</sub>	5

[0521] 在上表 A 中,之后未接下标的核苷指示 β-D-脱氧核糖核苷。之后接有下标“E”的核苷指示 2'-MOE 核苷。之后接有下标“S”的核苷指示 S-cEt 核苷。之后接有下标“F”的核苷指示 2'-氟核苷。每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。上标“Me”指示核苷的嘧啶碱基上的 5-甲基。

[0522] 在荧光素酶分析中评定这些化合物的 miR-21 抑制活性。使用 pGL3-MCS2 (Promega) 对微 RNA 荧光素酶感测构建体进行工程改造。将该构建体引入 HeLa 细胞中以测试抗 miR 化合物抑制 miR-21 活性的能力。在此分析中,存在于 HeLa 细胞中的 miR-21 结合至其在荧光素酶感测构建体中的同源位点,并抑制荧光素酶表达。当将适当的抗 miR 剂引入细胞中时,该抗 miR 剂结合至 miR-21 并且减轻对荧光素酶表达的抑制。因此,在此分析中,作为 miR-21 表达的有效抑制剂的抗 miR 剂将使荧光素酶表达增加。

[0523] 第 1 天:将用经工程改造以含有与 miR-21 互补的序列的荧光素酶构建体稳定转染的 HeLa 细胞 (ATCC) 以  $3.5 \times 10^6$  个细胞 / 烧瓶接种于 T-170 烧瓶 (BD Falcon) 中。在高糖杜贝卡氏改良伊格培养基 (Dulbecco's Modified Eagle Medium with High Glucose) (Invitrogen) 中培养 HeLa 细胞。

[0524] 第 2 天:用 0.5 μg 表达用于归一化的海肾 (Renilla) 的 pHRL 感测质粒 (Promega) 转染每个烧瓶的 HeLa 细胞。使用 20 μl 脂染胺 2000 (Lipofectamine 2000) / 烧瓶 (Invitrogen) 对 HeLa 细胞进行转染。转染 4 小时后,用 PBS 洗涤细胞且以胰蛋白酶处理。

将 HeLa 细胞以每孔 40k 个接种于 24 孔培养盘 (BD Falcon) 中且静置过夜。

[0525] **第 3 天**:使用 Lipofectin(Invitrogen) 用抗 miR 剂以 2.5  $\mu$ l Lipofectin/100nM ASO/ml Opti-MEM I 血清减少型培养基 (Invitrogen) 转染 HeLa 细胞 4 小时。ASO 转染后, 向 HeLa 细胞中再馈入高糖杜贝卡氏改良伊格培养基 (Invitrogen)。

[0526] **第 4 天**:将 HeLa 细胞被动溶解且使用双重荧光素酶报导体分析系统 (Dual-Luciferase Reporter Assay System) (Promega) 测量荧光素酶活性。

[0527] 进行荧光素酶分析以测试具有本文所述核苷型态的抗 miR 剂抑制 miR-21 活性的能力。将结果与‘空白对照’处理进行比较,在‘空白对照’处理中细胞未接受抗 miR 剂处理。重复实验且两次重复实验的结果于下表 B 中展示为针对  $\beta$ -半乳糖苷酶活性归一化的荧光素酶值。

[0528] 表 B:抗 miR-21 化合物的抑制活性

处理	寡核苷酸的浓度					
	500 nM	100 nM	20 nM	4 nM	.8 nM	.16 nM
空白对照转染	39	40	47	50	33	45
<b>25919</b>	<b>202</b>	<b>171</b>	<b>114</b>	<b>84</b>	<b>53</b>	<b>40</b>
25067	42	30	41	43	23	38
<b>25068</b>	<b>122</b>	<b>97</b>	<b>86</b>	<b>64</b>	<b>54</b>	<b>45</b>
<b>25070</b>	<b>165</b>	<b>132</b>	<b>128</b>	<b>99</b>	<b>87</b>	<b>65</b>
25071	42	53	63	50	36	48
<b>25072</b>	<b>143</b>	<b>115</b>	<b>86</b>	<b>76</b>	<b>49</b>	<b>40</b>
25077	40	42	33	45	33	34
<b>25082</b>	<b>202</b>	<b>176</b>	<b>147</b>	<b>112</b>	<b>89</b>	<b>70</b>
25731	59	38	39	32	45	34

[0530] 如表 B 中所示,以下若干含 cEt 化合物以剂量依赖性方式展示出对 miR-21 的抑制作用:25068、25070、25072 以及 25082。

[0531] 实例 2:抗 miR-21 化合物 25070 的经修饰核苷变化

[0532] 如上述实例中所示,25070 在荧光素酶分析中为 miR-21 活性的有效抑制剂。为评估 25070 的每个位置处经修饰核苷的类型的变化,如表 C 中所示设计其他抗 miR-21 化合物。

[0533] 表 C:其他抗 miR-21 化合物

[0534]

参考编号	序列及化学(5'至 3')	相对于 25070 的变化
25070	$A_E C_S A T C_S A G T C_S T G A U_S A A G C_S T A_E$ (SEQ ID NO: 3)	无
25922	$A_E^{Me} C_S A T^{Me} C_S A G T^{Me} C_S T G A T_S A A G^{Me} C_S T A_E$ (SEQ ID NO: 3)	每个胞嘧啶为 5-甲基胞嘧啶
25923	$A_E C_S A T C_S A G T C_S T G A U_S A A G C_S T A_S$ (SEQ ID NO: 3)	3'端核苷为 cEt 核苷而非 2'-MOE 核苷
25924	$A_E^{Me} C_S A T^{Me} C_S A G T^{Me} C_S T G A T_S A A G^{Me} C_S T A_S$ (SEQ ID NO: 3)	3'端核苷为 cEt 核苷而非 2'-MOE 核苷且每个胞嘧啶为 5-甲基胞嘧啶
25116	$A_E^{Me} C_S A E T_E^{Me} C_S A E G E T_E^{Me} C_S T E G E A E^{Me} T_S A E A E G E^{Me} C_S T E A E$ (SEQ ID NO: 3)	每个非双环核苷为 2'-MOE 核苷且每个胞嘧啶为 5-甲基胞嘧啶
25117	$A_E^{Me} C_L A E T_E^{Me} C_L A E G E T_E^{Me} C_L T E G E A E^{Me} T_L A E A E G E^{Me} C_L T E A E$ (SEQ ID NO: 3)	每个非双环核苷为 2'-MOE 核苷且每个胞嘧啶为 5-甲基胞嘧啶

[0535] 在上表 F 中,之后未接下标的核苷指示  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷。之后接有下标“E”的核苷指示 2'-MOE 核苷。之后接有下标“S”的核苷指示 S-cEt 核苷。之后接有下标“F”的核苷指示 2'-氟核苷。每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。上标“Me”指示核苷的嘧啶碱基上的 5-甲基。

[0536] 如本文所述进行荧光素酶分析以测试表 F 中的抗 miR 剂抑制 miR-21 活性的能力。将结果与‘空白对照’处理进行比较,在‘空白对照’处理中细胞未接受抗 miR 剂处理。重复实验且两次重复实验的结果于下表 D 中展示为荧光素酶值相对于空白对照处理的倍数变化。

[0537] 表 D:测试各种抗 miR-21 化合物的荧光素酶分析



处理	抗 miR 化合物的浓度					
	50.0	16.7	5.6	1.9	0.6	0.2
[0538] 25070	11.00	11.28	6.22	1.14	1.01	1.04
25922	11.46	11.60	8.81	1.34	1.10	1.02
25923	10.81	11.34	5.18	1.10	1.01	1.06
25924	8.99	13.01	7.80	1.37	1.25	1.10
25116	1.98	5.64	2.47	1.06	0.98	1.06
25117	2.91	7.36	3.64	1.14	1.15	1.05

[0539] 如表 D 中所示,除 25070 外,以下若干含 cEt 化合物也以剂量依赖性方式展示出对 miR-21 的抑制作用:25922、25923 以及 25924。各自在每个核苷处具有糖修饰且每个胞嘧啶为 5-甲基胞嘧啶的抗 miR-21 化合物 25116 和 25117 不是 miR-21 的有效抑制剂。

[0540] 实例 3:对赋予抗 miR-21 化合物以活性的核苷型态的比较

[0541] 为确定赋予抗 miR-21 化合物以活性的核苷型态的间的关系,比较经修饰及未经修饰核苷在活性抗 miR-21 化合物中的位置,其展示于表 E 中。

[0542] 表 E:含 cEt 的活性抗 miR-21 化合物

[0543]

下表中的相应列	化合物编号	序列及化学(5'至 3')	SEQ ID NO
1	25068	$T_E^{Me}C_EA_EA_EC_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T_E G_E A_E U_S A_E A_E G_E C_S T_E A_E$	4
2	25070	$A_EC_S A_T C_S A_G T C_S T_G A U_S A_A G C_S T A_E$	3
3	25072	$A_EC_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T_E G_E A_E U_S A_E A_E G_E C_S T_E A_E$	3
4	25082	$T_E^{Me} C A A C_S A_T C_S A_G T C_S T_G A U_S A_A G C_S T A_E$	4
5	25922	$A_E^{Me} C_S A T^{Me} C_S A G T^{Me} C_S T G A T_S A A G^{Me} C_S T A_E$	3
6	25923	$A_EC_S A_T C_S A_G T C_S T_G A U_S A_A G C_S T A_S$	3
7	25924	$A_E^{Me} C_S A T^{Me} C_S A G T^{Me} C_S T G A T_S A A G^{Me} C_S T A_S$	3

[0544]

表 F: 含 cEt 的活性抗 miR-21 化合物的经比对结构

		核苷碱基和糖部分																		
		MeC <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	G <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	G <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	
1																				
2				A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>
3				A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	G <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	G <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>
4	T <sub>E</sub>	MeC	A	A	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	MeC <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>
5				A <sub>E</sub>	MeC <sub>S</sub>	A	T	MeC <sub>S</sub>	MeC <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	MeC <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>
6				A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>
7				A <sub>E</sub>	MeC <sub>S</sub>	A	T	MeC <sub>S</sub>	MeC <sub>S</sub>	T	G	A	T <sub>S</sub>	A	A	G	MeC <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>	A <sub>S</sub>

[0545] 对经修饰及未经修饰核苷的位置的比较（上表 F）揭示每个高活性抗 miR-21 化合物所共有的某些核苷型态。

[0546] 例如，对各化合物 5' 端结构的比较揭示长度在 1 至 4 个核苷范围内的区，这些核苷各自为非双环核苷（下表 G 中的栏 'R'）。下一区具有一个双环核苷，接着为两个非双环核苷，接着为一个双环核苷（下表 G 中的栏 '1'）。

[0547] 紧接着为具有四个核苷的重复区块，该四个核苷为三个非双环核苷，继而一个双

环核苷,并且此具有四个核苷的区块总共出现三次(下表 G 中的栏‘2’)。

[0548] 在每个活性抗 miR-21 剂中,两个 3' 端核苷为非双环核苷(下表 G 中的栏‘T’)。

[0549] 表 G:核苷型态结构

区	R	1	2	T
[0550] 核苷类型	$N^Q$ 长度为 1 至 4 个	$N^B-N^Q-N^Q-N^B$	$(N^Q-N^Q-N^Q-N^B)_3$	$N^Q-N^Z$

[0551] 此核苷型态按 5' 至 3' 方向由下式 I 表示:

[0552]  $(R)_x-N^B-N^Q-N^Q-N^B-(N^Q-N^Q-N^Q-N^B)_3-N^Q-N^Z$

[0553] 其中每个 R 是非双环核苷;X 是 0 至 4;

[0554] 每个  $N^B$  是双环核苷;

[0555] 每个  $N^Q$  是非双环核苷;且

[0556] 每个  $N^Z$  是经修饰的核苷。

[0557] 此式涵盖活性抗 miR-21 化合物 25068、25070、25072、25082、25922、25923 以及 25924 的各核苷型态,表明核苷型态 I 产生活性抗 miR 活性,且使得对双环核苷、非双环核苷及经修饰核苷的选择具有灵活性。因此,本文提供包含与 miR-21 具有核苷碱基互补性且具有由式 I 描述的核苷型态的经修饰寡核苷酸的组合物。

[0558] 为确定赋予长度为 19 个连接的核苷的活性抗 miR-21 化合物以活性的核苷型态之间的关系,比较经修饰及未经修饰核苷在所有高活性化合物中的位置,展示于表 H 中。为说明某些核苷的相似位置,这些化合物再次展示于表 I 中。

[0559] 表 H:活性抗 miR-21 化合物

[0560]

表 I 中 的相应列	化合物 编号	序列及化学(5'至 3')	SEQ ID NO:
1	25070	$A_E C_S A T C_S A G T C_S T G A U_S A A G C_S T A_E$	3
3	25922	$A_E^{Me} C_S A T^{Me} C_S A G T^{Me} C_S T G A T_S A A G^M$ $^e C_S T A_E$	3
4	25923	$A_E C_S A T C_S A G T C_S T G A U_S A A G C_S T A_S$	3
5	25924	$A_E^{Me} C_S A T^{Me} C_S A G T^{Me} C_S T G A T_S A A G^M$ $^e C_S T A_S$	3
2	25072	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T_E G_E A_E U_S A_E A$ $E G_E C_S T_E A_E$	3

[0561] 表 I :表 H 中所示的活性抗 miR-21 化合物的核苷的比对

[0562]

核苷碱基和糖部分																			
1	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>
2	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	G <sub>E</sub>	T <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	G <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	U <sub>S</sub>	A <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>	G <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	T <sub>E</sub>	A <sub>E</sub>
3	A <sub>E</sub>	MeC <sub>S</sub>	A	T	MeC <sub>S</sub>	A	G	T	MeC <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	MeC <sub>S</sub>	T	A <sub>E</sub>
4	A <sub>E</sub>	C <sub>S</sub>	A	T	C <sub>S</sub>	A	G	T	C <sub>S</sub>	T	G	A	U <sub>S</sub>	A	A	G	C <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>
5	A <sub>E</sub>	MeC <sub>S</sub>	A	T	MeC <sub>S</sub>	A	G	T	MeC <sub>S</sub>	T	G	A	T <sub>S</sub>	A	A	G	MeC <sub>S</sub>	T	A <sub>S</sub>

[0563] 对经修饰及未经修饰核苷的位置的比较 (上表 I) 揭示长度为 19 个连接的核苷的各高活性抗 miR-21 化合物所共有的某些核苷型态。

[0564] 例如,对各化合物 5' 端结构的比较揭示一个不为双环核苷的经修饰核苷 (下表 J 中的栏 'N<sup>M</sup>')。下一区具有一个双环核苷,接着为两个非双环核苷,接着为一个双环核苷 (下表 J 中的栏 '1')。

[0565] 紧接着为具有四个核苷的重复区块,该四个核苷为三个非双环核苷,继而一个双环核苷,并且此具有四个核苷的区块总共出现三次 (下表 J 中的栏 '2')。

[0566] 在每个活性抗 miR-21 剂中,3' 端倒数第二个核苷为未经修饰的核苷 (下表 J 中的栏 'N')。3' 端上与 miR-21 的位置 1 上的核苷碱基互补的核苷是经修饰的核苷 (下表 J 中的栏 'N<sup>Z</sup>')。

[0567] 表 J :核苷型态相似性

区	N <sup>M</sup>	1	2	N	N <sup>Z</sup>
[0568] 核苷类型	N <sup>M</sup>	N <sup>B</sup> -N <sup>Q</sup> -N <sup>Q</sup> -N <sup>B</sup>	(N <sup>Q</sup> -N <sup>Q</sup> -N <sup>Q</sup> -N <sup>B</sup> ) <sub>3</sub>	N <sup>Q</sup>	N <sup>Z</sup>

[0569] 此核苷型态按 5' 至 3' 方向由下式 II 表示 :

[0570]  $N^M-N^B-N^Q-N^Q-N^B-(N^Q-N^Q-N^Q-N^B)_3-N^Q-N^Z$

[0571] 其中 N<sup>M</sup> 是不为双环核苷的经修饰核苷 ;

[0572] 每个 N<sup>B</sup> 是双环核苷 ;

[0573] 每个 N<sup>Q</sup> 是非双环核苷 ;且

[0574] N<sup>Z</sup> 是经修饰的核苷。

[0575] 本文提供的数据证明此核苷型态赋予抗 miR-21 化合物以活性,且另外证明多种经修饰的核苷使化合物的活性得到维持。因此,本文提供包含具有与 miR-21 互补的核苷碱基序列且具有式 II 的核苷型态的经修饰寡核苷酸的组合物。

[0576] 利用一组抗 miR-21 化合物进行类似分析,这些化合物包括 25211 及 25220。作为前述分析的结果,建立式 III 至 V。

[0577] 实例 2 :在肾纤维化模型中 miR-21 的抑制

[0578] 单侧输尿管梗阻 (UUO) 为已确立的导致间质纤维化的肾损伤实验模型且因此用

作反映人类肾脏疾病的实验模型。UUO 通过手术结扎单个输尿管诱发。因为纤维化的特征在于胶原蛋白增加,所以可通过测量胶原蛋白含量来确定肾纤维化的存在及程度。测量胶原蛋白 1A1 (Col1A1) 及胶原蛋白 3A1 (Col3A1) 以评定胶原蛋白含量。肾纤维化可通过用天狼星红 (picro-sirius red) 对组织样品进行染色以检测胶原蛋白含量的增加来观测。肾纤维化还可通过测量样品中作为胶原蛋白主要组分的羟脯氨酸的量来观测。

[0579] 在肾纤维化的 UUO 模型中测试在荧光素酶分析中发现具有活性的含 cEt 抗 miR-21 化合物。包含 2'-MOE 及 2'-氟修饰的 25919 已知在活体内抑制 miR-21 活性,且纳入作为阳性对照。如下处理各组 8 只动物:仅 UUO, UUO 与 PBS, 或 UUO 与抗 miR-21 化合物。相对于 UUO 程序当天, PBS 或抗 miR-21 化合物在第 -3 天、第 -1 天及第 +5 天给予。抗 miR-21 化合物以 20mg/kg 的剂量给予。因为抗 miR 化合物在 UUO 程序的前给予,所以此给药方案视为预防性处理。在第 11 天时,处死动物且分离肾脏用于测量胶原蛋白表达。胶原蛋白表达通过实时 PCR 进行测量并且首先针对 GAPDH 进行归一化且接着针对假手术对照组 (sham control) 动物进行归一化。胶原蛋白 1A1 及胶原蛋白 3A1 表达展示于下表 K 中。

[0580] 表 K:若干抗 miR-21 化合物使 UUO 模型的胶原蛋白表达减少

[0581]

处理组	动物编号	胶原蛋白1A1(经归一化的表达)	平均值	胶原蛋白3A1(经归一化的表达)	平均值
假手术对照组	1	0.5	0.9	0.5	1.3
	2	0.9		0.9	
	3	1.1		1.1	
	4	0.5		0.6	
	5	0.7		0.7	
	6	0.7		0.9	
	7	1.3		4.1	
	8	1.6		1.5	
UUO-PBS	1	96.9	114.9	52.5	87.2
	2	108.4		67.0	
	3	115.0		78.6	
	4	102.0		91.0	
	5	103.1		88.4	
	6	144.5		117.4	
	7	134.3		103.4	
	8	115.0		99.3	
UUO-25068	1	84.7	96.4	64.8	60.6
	2	75.1		56.2	
	3	85.5		47.4	
	4	89.1		76.2	
	5	90.4		57.0	
	6	125.8		63.0	
	7	124.4		59.6	
UUO-25070	1	67.7	81.0	36.4	55.5
	2	97.7		75.6	
	3	88.8		47.3	
	4	95.9		55.5	
	5	71.4		63.3	
	6	44.5		28.5	
	7	73.0		64.2	
	8	109.4		72.9	
UUO-25072	1	96.2	113.8	69.4	65.5

[0582]		2	85.7		54.5	
		3	127.4		58.8	
		4	100.0		69.2	
		5	159.2		93.8	
		6	120.5		65.8	
		7	108.0		46.9	
		UUO-25082	1		122.2	
	2		188.3	78.9		
	3		102.5	82.2		
	4		67.6	43.8		
	5		40.6	32.6		
	6		44.1	34.3		
	7		73.8	75.8		
	8		94.7	62.5		
	UUO-25919	1	150.2	86.6	67.1	56.9
		2	54.2		33.9	
		3	84.6		87.6	
		4	67.7		47.3	
		5	78.7		67.7	
		6	62.2		46.7	
		7	89.2		47.0	
		8	106.2		57.8	

[0583] 此研究用上述每个处理组重复 2 至 3 次。研究的统合分析 (meta-analysis) 揭示如通过胶原蛋白表达所判定, 25070 处理显示最高效能, 产生 40% 胶原蛋白 1A1 抑制作用及 30% 胶原蛋白 3A1 抑制作用。25068 在减少胶原蛋白表达方面也具有活性, 但程度低于 25070。25072 及 25082 虽然在本文所述的活体外测试中为 miR-21 的活性抑制剂, 但并不始终展现出胶原蛋白表达减少作用。

[0584] 重复 UUO 研究以证实 25070 的活性。将抗 miR 剂以 20mg/kg 的剂量皮下给予。下表 L 中的结果证实 25070 是胶原蛋白 1A1 和胶原蛋白 3A1 表达的有效抑制剂。

[0585] 表 L: 预防性给予 25070 使得 UUO 模型的胶原蛋白表达减少

[0586]

处理	动物	胶原蛋白 1A1(经归 一化的表 达)	平均值	胶原蛋白 3A1(经归 一化的表 达)	平均值
假手术对照 组	1	1.0	1.0	0.7	1.3
	2	1.3		0.8	
	3	1.0		2.9	
	4	0.8		0.6	
UUO-PBS	1	102.7	74.3	64.5	58.8
	2	76.3		61.9	
	3	76.5		79.5	
	4	53.4		61.3	
	5	88.8		44.8	
	6	70.7		44.4	
	7	58.8		53.3	
	8	67.4		60.6	
UUO-25070 20 mg/kg SC	1	13.9	30.2	34.9	42.4
	2	9.2		47.4	
	3	32.3		25.3	
	4	57.2		38.0	
	5	47.6		47.9	
	6	26.1		54.3	
	7	35.0		56.1	
	8	20.4		35.2	

[0587] 对 UUO 研究的比较揭示 25070 在 UUO 模型中为胶原蛋白表达的高效抑制剂,因此 25070 是用于治疗包括肾纤维化在内的纤维化的候选治疗剂。

[0588] 实例 3 :抗 miR-21 剂与血管紧张素受体阻滞剂的比较

[0589] 血管紧张素受体阻滞剂伊贝沙坦已经展示可阻断特征为纤维化的慢性肾损伤模型的肾小管间质纤维化形成。在 UUO 纤维化模型中比较 25070 与伊贝沙坦的作用。

[0590] 对照处理组包括仅 UUO(假手术对照组)及 UUO 与皮下给予 PBS。另一对照组包括 UUO 与吐温 (Tween)-MC/20 载体 (经口)。25070 在 UUO 程序的前 5 天、之前 2 天及之后 3 天以 20mg/kg 的剂量皮下给予。伊贝沙坦在 UUO 程序后第 0 至 7 天每日一次经口给予。动物在 UUO 程序后第 10 天处死。收集肾脏组织用于测量胶原蛋白 1A1 及胶原蛋白 3A1 表达。结果展示于下表 M 中,且说明经 25070 处理的动物相对于经生理盐水处理的动物 Co11A1 表达存在统计显著性减少 (通过单因子 ANOVA,  $p < .05$ )。伊贝沙坦未使 Co11A1 表达产生统计显著性减少。伊贝沙坦及 25070 均使 Co13a1 表达产生统计显著性减少,其中 25070 产生的



减少作用大于伊贝沙坦。

[0591] 表 M :25070 使 UUO 模型的胶原蛋白表达的减少程度大于伊贝沙坦

[0592]

组	动物编号	胶原蛋白 1A1(经归一化 的表达)	平均值	胶原蛋白 3A1(经归一 化的表达)	平均值
假手术对照组	1	1.1	1.0	0.9	1.1
	2	0.8		0.6	
	3	0.9		1.6	
	4	1.4		1.1	
UUO-PBS (s.c.)	1	112.5	129.6	92.1	93.2
	2	167.2		97.9	
	3	179.0		85.6	
	4	93.1		95.5	
	5	151.7		66.3	
	6	87.1		71.3	
	7	117.5		142.4	
	8	129.1		94.9	
UUO+25070 (20 mg/kg s.c.)	1	87.5	64.2	38.6	53.7
	2	67.4		56.9	
	3	22.2		77.2	
	4	61.9		50.7	
	5	42.0		76.4	
	6	69.2		49.7	
	7	68.4		44.3	

		8	95.2		35.9	
[0593]	UUO-吐温/MC 媒剂(PO)	1	272.9	150.2	248.0	132.4
		2	127.9		180.4	
		3	108.4		142.8	
		4	101.1		57.1	
		5	125.0		108.5	
		6	304.2		186.2	
		7	119.9		88.6	
		8	42.4		47.5	
	UUO-伊贝沙坦 (PO)	1	125.4	117.8	65.5	73.2
		2	86.7		(无样品)	
		3	106.6		63.8	
		4	110.7		63.2	
		5	198.3		50.8	
		6	92.2		63.6	
		7	118.1		82.8	
		8	104.1		122.5	

[0594] 纤维化的另一指针为 UUO 程序后展示出胶原蛋白表达的肾脏组织的百分率。因此,还收集肾脏组织用于进行组织学分析,以评定展示出胶原蛋白表达增加的肾脏组织的百分率;结果展示于下表 N 中。‘胶原蛋白面积分率’经由对由天狼星红染料染成红色的肾脏组织的面积进行定量图像处理而以组织学方式测量;检测为红色的百分比是由肾脏切片面积来归一化。因为组织切片是以盲法方式分析,而表 M 及 N 中的样品来自同一研究,所以下表 N 中样品的编号未必对应于上表 M 中样品的编号。

[0595] 表 N :25070 使 UUO 模型的胶原蛋白表达的减少程度大于伊贝沙坦

[0596]

组	(与 PCR的 编号不 相同)	胶原蛋 白面积 分率 (%)	平均值
假手术对照 组	1	1.419	1.5
	2	1.178	
	3	1.615	
	4	1.675	
UUO-PBS (s.c.)	1	12.988	11.1
	2	17.691	
	3	12.55	
	4	9.99	
	5	8.828	
	6	9.394	
	7	9.491	
	8	7.49	
UUO+25070 (20 mg/kg s.c.)	1	7.632	8.0
	2	9.937	
	3	8.015	
	4	6.611	
	5	6.319	
	6	11.272	
	7	6.803	
	8	7.405	
UUO-吐温 /MC 媒剂 (PO)	1	10.587	8.0
	2	8.499	
	3	11.339	
	4	3.244	
	5	2.954	
	6	8.748	
	7	9.5	
	8	9.29	
UUO-伊贝沙 坦(PO)	1	6.105	8.0
	2	7.481	
	3	15.877	
	4	7.914	

[0597]

	5	6.614	
	6	5.706	
	7	7.798	
	8	6.154	

[0598] 这些结果表明用 25070 抑制 miR-21 对胶原蛋白表达的抑制活性高于伊贝沙坦,进一步证实 25070 是用于治疗、预防和 / 或改善纤维化的候选药剂。

[0599] 实例 4 :在缺血 / 再灌注损伤模型中抑制 miR-21

[0600] 在小鼠中经由对肾动脉进行单侧或双侧夹闭建立缺血再灌注损伤 (IRI) 模型,该夹闭导致肾小管损害、炎症及纤维化。肾功能不全可在此模型的早期 (<5 天) 或后期 (>7 天) 出现,其中早期时间点适用于测试用于治疗急性肾损伤的候选药剂,且后期时间点适用于模拟慢性纤维化。

[0601] 在单侧 IRI 模型中测试抗 miR-21 化合物。诱发单侧 IRI 持续 30 分钟的时间。处理组如下:IRI 程序假手术对照组;IRI 与皮下给予 PBS;IRI 与以 20mg/kg 的剂量腹膜内给予抗 miR-21 化合物 25070;以 20mg/kg 的剂量腹膜内给予 2'-氟 /2'-MOE 修饰的抗 miR-21 剂 25919;及以 20mg/kg 的剂量腹膜内给予 2'-氟 /2' 修饰的错配抗 miR-21 剂 (与 miR-21 的序列有三处错配) 25319。PBS 或抗 miR 化合物在 IRI 后第 5、6 及 7 天给予,且动物在 IRI 后 14 天处死。因为抗 miR 化合物是在肾损伤后第 5 天或稍后给予,而此时纤维化已在一定程度上出现,所以此处理方案视为治疗性方案,而非预防性方案。

[0602] 收集肾脏组织用于分析胶原蛋白 1A1 及胶原蛋白 3A1 表达 (展示于表 O 中) 以及胶原蛋白面积分率 (展示于表 P 中)。「胶原蛋白面积分率」以盲法方式分析,而表 O 及 P 中的样品是来自同一研究,所以表 O 中样品的编号并不对应于表 P 中样品的编号。样品处理误差导致不能对抗 miR-21 剂错配对照处理的胶原蛋白面积分率进行分析,因此此处理组的结果仅提供用于胶原蛋白 1A1 及胶原蛋白 3A1 表达。在此研究中,25070 使胶原蛋白面积分率产生统计显著性降低。

[0603] 表 O :在第 5、6 及 7 天给药的情况下 25070 使 IRI 模型的胶原蛋白表达减少

[0604]

组	动物编号	胶原蛋白 1A1(经归一化 的表达)	平均值	胶原蛋白 3A1(经归一化 的表达)	平均值
假手术对 照组	1	2.1	1.1	2.6	1.1
	2	1.1		1.0	
	3	0.7		0.7	
	4	0.7		0.7	
	5	1.0		0.7	
	6	0.7		0.9	
	7	0.9		1.0	
	8	1.3		1.3	
IRI-PBS	1	83.5	85.1	64.9	63.9
	2	34.8		29.4	
	3	79.0		61.9	
	4	74.5		46.6	
	5	102.3		61.9	
	6	128.6		99.5	
	7	92.9		82.8	
IRI-25319 (MM)	1	155.8	92.3	119.5	79.3
	2	181.2		209.9	
	3	33.4		29.0	
	4	34.7		18.9	
	5	81.8		74.7	
	6	90.4		50.1	
	7	68.5		53.1	
IRI-25919	1	108.7	72.0	87.5	59.9
	2	103.9		72.3	
	3	29.5		14.3	
	4	95.8		104.4	
	5	35.5		27.1	

[0605]		6	42.2		34.9	
		7	64.1		56.1	
		8	96.4		82.8	
	IRI-25070	50.2	1	81.7	34.2	57.8
			2	57.4		18.1
			3	37.9		39.3
			4	55.3		36.0
			5	22.3		20.6
			6	52.4		38.6
			7	53.0		33.4
			8	41.5		29.7

[0606] 表 P :在第 5、6 及 7 天给药的情况下 25070 使 IRI 模型的胶原蛋白面积积分率降低

组	动物(与 PCR 不相同)	胶原蛋白面积积分率(#)	平均值
假手术对照组	1	1.398	1.8
	2	1.406	
	3	2.88	
	4	1.782	
	5	1.119	
	6	2.11	
	7	1.552	
	8	1.795	
IRI-PBS	1	12.181	15.1
	2	16.352	
	3	14.818	
	4	17.089	
	5	14.552	
	6	16.92	
	7	13.629	
IRI-25919	1	7.093	8.2

[0608]		2	8.254	
		3	8.095	
		4	8.559	
		5	8.681	
		6	6.31	
		7	8.416	
		8	9.905	
		IRI-25070	1	
	2		11.772	
	3		10.267	
	4		8.404	
	5		7.862	
	6		6.975	
	7		8.381	
		8	13.773	

[0609] 利用相同处理组且再处理数天来进行类似研究。在此研究中,在 IRI 程序后第 5、6、7、14 及 21 天腹膜内给予处理。动物在第 27 天处死,且收集肾脏组织用于分析胶原蛋白 1A1 及胶原蛋白 3A1 表达,以及胶原蛋白面积分率。‘胶原蛋白面积分率’以盲法方式分析,而表 Q 及 R 中的样品来自同一研究,所以表 Q 中样品的编号并不对应于表 R 中样品的编号。在此研究中,25070 使胶原蛋白面积分率产生统计显著性降低。

[0610] 表 Q :在第 5、6、7、14 及 21 天给药的情况下 25070 使 IRI 模型的胶原蛋白表达减少

组	动物编号	胶原蛋白 1A1(经归一化的表达)	平均值	胶原蛋白 3A1(经归一化的表达)	平均值
假手术对照组	1	1.0	1.0	1.0	1.0
	2	1.5		1.6	
	3	0.8		0.8	
	4	1.1		0.8	
	5	1.1		1.1	

[0612]		6	0.8		0.9		
		7	0.8		0.8		
		8	1.2		1.2		
	IRI-PBS		1	44.8	47.1	33.4	29.8
			2	38.7		27.3	
			3	4.7		5.3	
			4	44.3		28.3	
			5	26.7		22.4	
			6	55.6		32.6	
			7	115.2		59.2	
	IRI-25319 (MM)		1	53.8	69.9	31.7	44.2
			2	71.3		33.9	
			3	72.1		40.4	
			4	69.2		54.2	
			5	46.2		25.1	
			6	103.0		56.0	
			7	73.8		68.0	
	IRI-25919		1	75.5	48.3	40.2	34.9
			2	50.4		43.1	
			3	49.2		34.5	
			4	43.2		35.7	
			5	41.7		41.1	
			6	53.6		36.9	
			7	44.8		24.5	
			8	28.0		22.9	
	IRI-25070		1	26.4	31.4	16.4	20.8
			2	37.4		27.0	
			3	41.9		28.5	
4			36.8	19.6			
5			14.1	11.3			
6			27.7	19.3			
7			29.4	21.4			
8			37.6	23.1			

[0613] 表 R: 在第 5、6、7、14 及 21 天给药的情况下 25070 使 IRI 模型的胶原蛋白面积积分率降低



[0614]

组	动物(与 PCR 不相同)	胶原蛋白面积 分率(#)	平均值
假手术对照 组	1	1.195	1.5
	2	1.917	
	3	1.287	
	4	1.388	
	5	1.635	
	6	1.391	
	7	1.953	
	8	1.127	
IRI-PBS	1	15.431	15.2
	2	13.394	
	3	12.856	
	4	14.459	
	5	19.81	
	6	13.981	
	7	16.528	
IRI-25319 (MM)	1	10.804	13.5
	2	11.548	
	3	10.614	
	4	12.149	
	5	21.52	
	6	14.214	
	7	13.917	
	8	13	
IRI-25919	1	11.882	12.8
	2	9.755	
	3	9.506	
	4	12.654	
	5	20.319	
	6	11.551	
	7	12.224	
	8	14.468	
IRI-25070	1	7.354	10.1
	2	9.241	
	3	9.589	
	4	11.573	
	5	8.182	

[0615]	6	10.695
	7	13.978
	8	10.12

[0616] 此等研究表明在急性肾损伤模型中抑制 miR-21 后胶原蛋白含量降低。因此,抗 miR-21 化合物 25070 为用于治疗急性肾损伤的治疗剂。例如,预防或延迟急性肾损伤后的纤维化发作可预防或延迟慢性肾病发作。

[0617] 为评定给予抗 miR-21 化合物 25070 的灵活性,该化合物在于 IRI 程序后第 3、5 及 7 天给予抗 miR-21 剂的上述 14 天研究中的活性相比于在于 IRI 程序后第 3、5 及 7 天腹膜内给予抗 miR-21 剂的另一 14 天研究中的活性。表 S 中的数据表明在任一研究中均观测到对胶原蛋白表达的类似抑制作用,指示给药时程可为灵活的。胶原蛋白 1A1 或胶原蛋白 3A1 表达相对于假手术对照组动物的倍数变化展示于表 S 中,并且说明在任一给药时程的情况下胶原蛋白表达均产生统计显著性降低。

[0618] 表 S:在第 3、5 及 7 天给药的情况下 25070 使 IRI 模型的胶原蛋白表达减少

组	动物编号	胶原蛋白 1A1(经归一化的表达)	平均值	胶原蛋白 3A1(经归一化的表达)	平均值
[0619] 假手术对照组	1	0.9	1.0	0.9	1.0
	2	1.3		1.2	
	3	1.2		1.2	
	4	0.7		0.8	
IRI-PBS	1	30.3	37.6	35.0	39.6
	2	30.9		29.2	
	3	33.6		29.3	
	4	50.7		52.4	
	5	27.7		25.9	
	6	28.1		33.5	

[0620]		7	20.9	27.2	23.5	27.9
		8	34.0		40.0	
		9	34.3		33.2	
		10	45.1		51.5	
		11	66.9		75.0	
		12	48.4		46.9	
	25070 (第 3、5、7 天)	1	37.5	27.2	35.3	27.9
		2	21.9		23.6	
		3	35.3		32.1	
		4	26.0		25.1	
		5	24.9		31.3	
		6	16.8		18.6	
		7	30.8	24.5	30.3	26.2
		8	34.3		37.6	
		9	36.8		40.0	
		10	9.4		9.5	
		11	28.0		23.2	
		12	24.6		28.7	
	25070 (第 5、6、7 天)	1	21.7	24.5	24.9	26.2
		2	22.8		26.3	
		3	15.8		13.6	
		4	27.6		25.4	
		5	27.1		32.7	
		6	29.3		29.9	
		7	10.8	24.5	9.7	26.2
		8	21.5		22.2	
		9	29.9		33.2	
		10	35.0		35.4	
		11	28.3		32.3	
		12	24.2		28.9	

[0621] 实例 5 :在缺血再灌注损伤 / 肾切除模型中抑制 miR-21

[0622] 在小鼠中经由以下建立缺血再灌注损伤 / 肾切除 (IR/Nx) 模型 :在一只肾中对动脉进行暂时单侧夹闭,该夹闭导致肾小管损害、炎症及纤维化,接着在稍后时间点移除第二只肾。在此模型中,急性肾功能不全期适用于测试用于治疗急性肾损伤的候选药剂 (即直至约前 5 天),且稍后的肾功能不全期适用于模拟慢性纤维化 (即在约前 5 天以后)。

[0623] 在 IR/Nx 模型中测试抗 miR-21 化合物。使用与 miR-21 有 6 碱基错配的 25109 作为对照化合物 (A<sub>E</sub>A<sub>S</sub>ATC<sub>S</sub>TGTC<sub>S</sub>TCAU<sub>S</sub>AATA<sub>S</sub>AA<sub>E</sub>;其中之后未接下标的核苷指示 β-脱氧核苷;之后接有下标“E”的核苷指示 2'-MOE 核苷;之后接有下标“S”的核苷指示 S-cEt 核苷;且所有核苷间键均是硫代磷酸酯核苷间键)。

[0624] 诱发单侧 IRI 持续 30 分钟的时间。处理组如下 :IR 程序假手术对照组 ;IR 与皮下

给予 PBS ;IR 与以 20mg/kg 的剂量皮下给予错配对照 25109 ;IR 与以 20mg/kg 的剂量皮下给予抗 miR-21 化合物 25070 ;及 IR 与以 20mg/kg 的剂量皮下给予抗 miR-21 化合物 25923。PBS 或抗 miR 剂在 IR 后第 2、3、4 及 8 天时给予。第 8 天,通过肾切除术从各动物移除健康肾,且在第 9 天处死动物。临处死前,通过直接膀胱穿刺收集尿液。

[0625] 测量来自每个小鼠的尿液中的尿白蛋白与肌酐比率。该实验的结果展示于图 1 中。在此研究中,25070 及 25923 均使尿白蛋白:肌酐比率出现统计显著性降低。各组小鼠的白蛋白:肌酐比率的几何平均值为 16  $\mu$ gAlb/mgCr(单独肾切除术对照组)、127  $\mu$ gAlb/mgCr(IR/Nx-PBS 对照组)、140  $\mu$ gAlb/mgCr(IR/Nx-25109 对照组)、40  $\mu$ gAlb/mgCr(IR/Nx-25070 组)及 31  $\mu$ gAlb/mgCr(IR/Nx-25923 组)。所有 IR/Nx 小鼠的血液尿素氮及血清肌酐含量相似,且相对于单独肾切除术对照组小鼠有所升高(数据未示)。

[0626] 实例 6:给予抗 miR-21 化合物后 IR/Nx 模型小鼠的存活率

[0627] 在 6 个不同实验中测定肾切除术后两天 IR/Nx 模型小鼠的存活率,以确定给予抗 miR-21 化合物是否使存活率增加。在前三个实验中,在缺血再灌注损伤后第 5、6 及 7 天给予抗 miR-21 化合物,并且在第 10 天或第 11 天进行肾切除术。在其次三个实验中,在第 2、3 及 4 天给予抗 miR-21 化合物且在第 7 天进行肾切除术。各实验中 IR/Nx 小鼠的存活率展示于表 T 中。

[0628] 表 T:25070 使肾切除术后两天 IR/Nx 小鼠的存活率增加。

研究	Nx 日期	Nx 后 2 天的存活率		25070 剂量
		PBS	25070	
1	第 10 天	58.3%	91.7%	30 mg/kg
2	第 11 天	50%	83.3%	30 mg/kg
3	第 10 天	50%	66.6%	20 mg/kg
[0629]	概述(第 10/11 天 Nx)	55% (20/36)	80% (29/36)	
4	第 7 天	41.7%	75%	20 mg/kg
5	第 7 天	50%	66.7%	20 mg/kg
6	第 7 天	66.7%	66.7%	20 mg/kg
	概述(第 7 天 Nx)	52% (19/36)	69% (25/36)	

[0630] 在肾切除术于第 10 天或第 11 天进行的前三个实验中,经 PBS 处理的小鼠的存活率为 55%,而经 25070 处理的小鼠的存活率为 80%( $P=0.02$ ,使用单侧费希尔精确检验(1-sided Fisher's Exact Test))。在肾切除术于第 7 天进行的其次三个实验中,经 PBS

处理的小鼠的存活率为 52%，而经 25070 处理的小鼠的存活率为 69% (P=0.11, 使用单侧费希尔精确检验)。

[0631] 实例 7: 其他抗 miR-21 化合物的设计

[0632] 在向小鼠给予化合物 25070 后, 发现存在于肾脏组织中的约 50% 化合物到注射后第 7 天缺乏 3' 端核苷。在离体肝脏匀浆分析中评定 25070 及 25923 的稳定性。在此分析中, 将 5  $\mu$ M 寡核苷酸在肝脏匀浆 (每毫升 50mg 组织) 中在 37°C 下培育 24 小时。在此培育后, 通过液-液萃取 (LLE) 接着进行固相萃取 (SPE) 进行寡核苷酸萃取。通过高效液相层析飞行时间质谱法 (HPLC-TOF MS) 测量寡核苷酸长度及量。通过使用参考寡核苷酸证实肝组织匀浆中的核酸酶活性, 这些参考寡核苷酸包括具有已知核酸酶活性抗性的化合物、对 3'-核酸外切酶活性敏感的化合物以及对核酸内切酶活性敏感的化合物。使用内部标准化化合物作为萃取效率的对照。在此分析中, 约 58% 的化合物 25070 以全长化合物形式存在, 且约 27% 的化合物 25070 缺乏 3' 端核苷。约 68% 的化合物 25923 以全长化合物形式存在, 且约 18% 的该化合物缺乏 3' 端核苷。

[0633] 设计其他化合物, 且离体及活体内测试这些化合物的稳定性。如上文所述进行离体测试。对于活体内测试, 将化合物给予小鼠, 分离肾脏组织, 且如关于离体分析所述进行化合物的萃取及检测。表 U 展示化合物 25923、25220 和 25221 的结构以及稳定性测量的结果。

[0634] 表 U: 25923、25220 及 25221 的离体及活体内稳定性

[0635]

化合物	结构	离体(肝脏)			活体内(肾脏)	
		N(%)	1-N(%)	%Endo	N(%)	1-N(%)
25923	A <sub>E</sub> C <sub>S</sub> ATC <sub>S</sub> AGTC <sub>S</sub> TGAU <sub>S</sub> AAGC <sub>S</sub> TA <sub>S</sub>	17	13	2-3	58±3	14±5
25220	A <sub>E</sub> C <sub>S</sub> ATC <sub>S</sub> A <sub>S</sub> GTC <sub>S</sub> U <sub>S</sub> GAU <sub>S</sub> A <sub>S</sub> AGC <sub>S</sub> U <sub>S</sub> A <sub>E</sub>	3	0	3	67±16	16±6
25221	A <sub>E</sub> C <sub>S</sub> ATC <sub>S</sub> AGTC <sub>S</sub> TGAU <sub>S</sub> AAGC <sub>S</sub> U <sub>S</sub> A <sub>S</sub>	3	0	3	76±4	4±1

[0636] 在 UUO 模型中测试化合物 25220 和 25221 以及 25923 对纤维化的作用。如下处理各组 8 只动物: 假手术对照组、UUO 与 PBS、UUO 与 25220、UUO 与 25221, 或 UUO 与 25923。相对于 UUO 程序当天, PBS 或抗 miR-21 化合物在第 -5 天、第 -3 天及第 +3 天给予。抗 miR-21 化合物以 20mg/kg 的剂量给予。因为抗 miR 化合物在 UUO 程序的前给予, 所以此给药方案视为预防性处理。在第 10 天时, 处死动物且分离肾脏用于测量胶原蛋白表达。胶原蛋白表达通过实时 PCR 测量且针对 GAPDH 进行归一化。

[0637] 该实验的结果展示于图 2 中。胶原蛋白 1A1 及胶原蛋白 3A1 分别展示于图 2A 及 2B 中。给予化合物 25220 或 25221 使胶原蛋白 1A1 及胶原蛋白 3A1 表达减少统计显著的量

(\*= $p < 0.05$  ; \*\*= $p < 0.01$  ; \*\*\*= $p < 0.001$ ), 给予化合物 25923 也是如此。

[0638] 除本文所述外,对本发明的各种修改对于本领域技术人员而言根据前述描述是清楚的。此类修改也意欲处于所附权利要求书的范围内。本申请案中引用的每个参考文献(包括(但不限于)期刊文章、美国及非美国专利、专利申请公开案、国际专利申请公开案、GENBANK® 登录号等等)明确地通过引用以其全文结合在此。

[0001]

PWH96311A-New-Sequence Listing-20131223-GJI.txt  
SEQUENCE LISTING

- <110> 雷古拉斯医疗公司 (REGULUS THERAPEUTICS INC)  
Bhat, Balkrishen
- <120> 用于调节MIR-21活性的微RNA化合物和方法
- <130> REGUL-32423/WO-1/ORD
- <150> US 61/478,767  
<151> 2011-04-25
- <150> US 61/565,779  
<151> 2011-12-01
- <160> 4
- <170> PatentIn 3.5 版本
- <210> 1  
<211> 22  
<212> RNA  
<213> 智人
- <400> 1  
uagcuuauca gacugauguu ga 22
- <210> 2  
<211> 72  
<212> RNA  
<213> 智人
- <400> 2  
ugucggguag cuuaucaagac ugauguugac uguugaauuc cauggcaaca ccagucgaug 60  
ggcugucuga ca 72
- <210> 3  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> 人工
- <220>  
<223> 合成
- <400> 3  
acatcagtet gataageta 19
- <210> 4  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> 人工

[0002]

<220>

<223> 合成

<400> 4

tcaacatcag tctgataagc ta

22



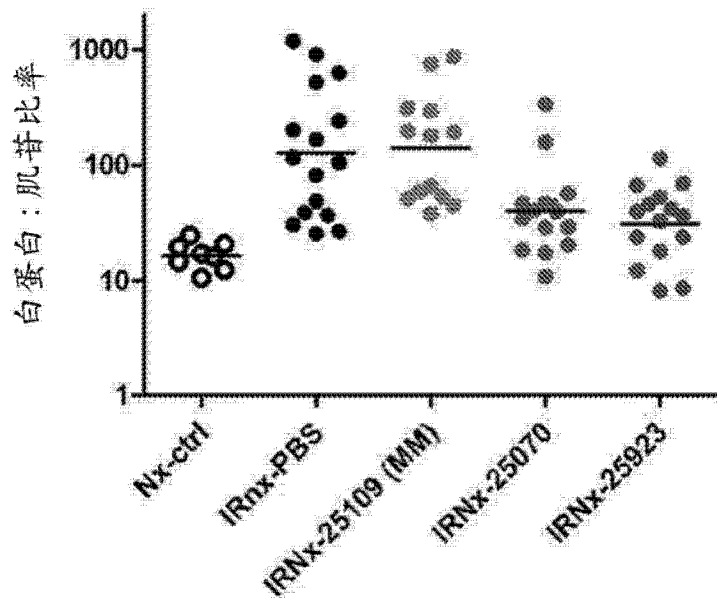
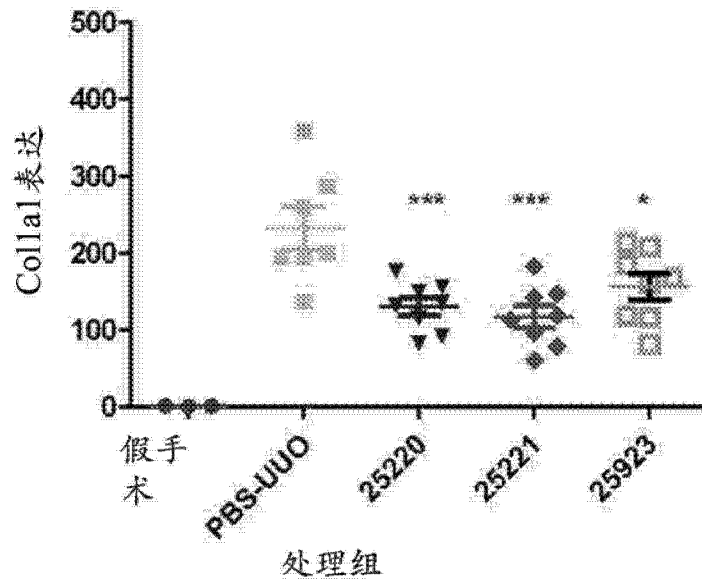


图 1

**A**



**B**

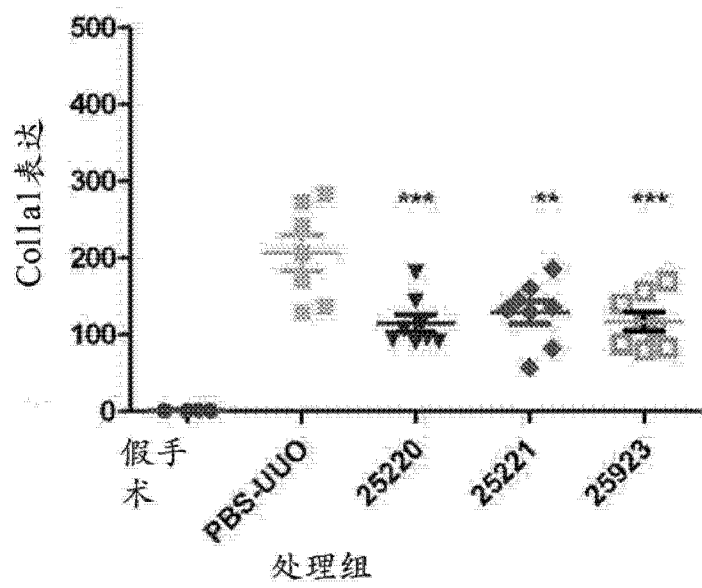


图 2