



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0028817

(51)⁷ C12N 15/113; A61P 35/00

(13) B

(21) 1-2013-03571

(22) 25/04/2012

(86) PCT/US2012/034880 25/04/2012

(87) WO 2012/148952 01/11/2012

(30) 61/478,767 25/04/2011 US; 61/565,779 01/12/2011 US

(45) 25/07/2021 400

(43) 25/03/2014 312A

(73) SANOFI (FR)

54, rue la Boétie, 75008, Paris, France

(72) BHAT, Balkrishen (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) OLIGONUCLEOTIT ĐỂ SỬ DỤNG TRONG VIỆC ỨC CHẾ HOẠT TÍNH CỦA MIR-21, HỢP CHẤT CHỨA OLIGONUCLEOTIT NÀY VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất và dược phẩm để ức chế hoạt tính của miR-21. Hợp chất và dược phẩm này có chứa một số trình tự cải biến nucleosit tạo ra các chất ức chế hiệu quả hoạt tính của miR-21. Hợp chất và dược phẩm này có thể được sử dụng để ức chế miR-21, và cũng để điều trị các bệnh liên quan đến biểu hiện bất thường của miR-21, như xơ hóa và ung thư.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất phương pháp và chế phẩm để điều biến hoạt tính của miR-21.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

ARN nhỏ (microRNA), còn được gọi là “ARN nhỏ trưởng thành” là các phân tử ARN không mã hóa có kích thước nhỏ (chiều dài khoảng 18-24 nucleotit) được mã hóa trong hệ gen của thực vật và động vật. Trong một số trường hợp, ARN nhỏ được biểu hiện nội sinh, có tính bảo thủ cao điều hòa sự biểu hiện của gen bằng cách liên kết với vùng không dịch mã đầu 3' (3'-UTR) của ARN thông tin đặc hiệu. Đã nhận dạng được hơn 1000 phân tử ARN nhỏ ở thực vật và động vật. Một số phân tử ARN nhỏ trưởng thành có nguồn gốc từ các thể phiên mã ARN nhỏ tiền thân nội sinh có kích thước dài (còn được gọi là ARN nhỏ tiền thân, pri-miR, pri-mir hoặc pri-pre-ARN nhỏ), các phân tử này thường có chiều dài hàng trăm nucleotit (Lee, et al., EMBO J., 2002, 21(17), 4663-4670).

Các phân tích về chức năng của ARN nhỏ cho thấy rằng các phân tử ARN nhỏ không mã hóa này có tác động đến nhiều quá trình sinh lý khác nhau ở động vật, bao gồm quá trình phát triển theo thời gian, quá trình tạo thành các cơ quan, quá trình biệt hóa, quá trình phân bố, quá trình tạo phôi, quá trình kiểm soát sinh trưởng và sự chết tế bào theo chương trình. Ví dụ về các quá trình cụ thể mà trong đó ARN nhỏ tham gia bao gồm quá trình biệt hóa tế bào mầm, quá trình phát sinh thần kinh, quá trình tạo mạch, quá trình tạo máu, và quá trình xuất bào (tổng quan bởi Alvarez-Garcia và Miska, Development, 2005, 132, 4653-4662).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

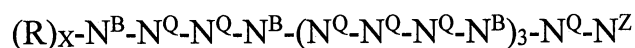
Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 và trong đó oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleosit được mô tả ở đây.

Sáng chế đưa ra phương pháp ức chế hoạt tính của miR-21 bao gồm việc cho tế bào tiếp xúc với hợp chất được đề xuất theo sáng chế. Theo một số phương án, tế bào này là *in vivo*. Theo một số phương án, tế bào này là *in vitro*.

Sáng chế đưa ra phương pháp điều trị bệnh liên quan đến miR-21 bao gồm việc cho đối tượng mắc bệnh liên quan đến miR-21 sử dụng hợp chất được đề xuất theo sáng chế. Theo một số phương án, động vật là người.

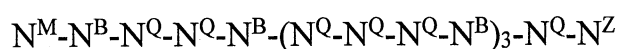
Hợp chất được mô tả trong bản mô tả này được đề xuất sử dụng trong liệu pháp điều trị.

Sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 22 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit I sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



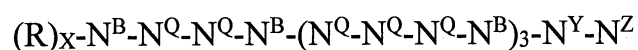
trong đó mỗi R độc lập là, nucleosit không vòng đôi; X là từ 1 đến 4; mỗi N^B độc lập là nucleosit hai vòng; mỗi N^Q độc lập là nucleosit không vòng đôi; và mỗi N^Z độc lập là nucleosit cải biến.

Sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 19 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit II sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó N^M độc lập là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; mỗi N^B độc lập là nucleosit hai vòng; mỗi N^Q độc lập là nucleosit không vòng đôi; và N^Z độc lập là nucleosit cải biến.

Sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 19 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit III sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó mỗi R là nucleosit không vòng đôi; X là từ 1 đến 4; mỗi N^B là nucleosit hai vòng; mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; N^Y là nucleosit cải biến hoặc nucleosit không cải biến; và mỗi N^Z là nucleosit cải biến.

Sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 19 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit IV sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; mỗi N^B là nucleosit hai vòng; mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; N^Y là nucleosit cải biến hoặc nucleosit không cải biến; và N^Z là nucleosit cải biến.

Sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 19 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit V sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; mỗi N^B là nucleosit hai vòng; mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và N^Z là nucleosit cải biến.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit I hoặc III, X là 1, X là 2, X là 3, hoặc X là 4.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, hoặc 22 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit I, II, III, IV hoặc V. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, oligonucleotit cải biến này bao gồm 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, hoặc 22 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit I, II, III, IV hoặc V.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung ít nhất 90%,

bổ sung ít nhất 95%, hoặc bổ sung 100% với trình tự nucleobazơ của miR-21 (SEQ ID NO: 1).

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, nucleobazơ ở vị trí 1 của miR-21 bắt cặp với nucleobazơ thứ nhất ở đầu tận cùng 3' của oligonucleotit cải biến này.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit hai vòng được chọn độc lập từ LNA nucleosit, cEt nucleosit, và ENA nucleosit.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, ít nhất hai nucleosit không vòng đôi bao gồm gốc đường khác với gốc còn lại. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi có cùng loại gốc đường.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit hai vòng là cEt nucleosit. Theo một số phương án, cEt nucleosit là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án, cEt nucleosit là R-cEt nucleosit. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit hai vòng là LNA nucleosit.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi được chọn độc lập từ β -D-deoxyribonucleosit, β -D-ribonucleosit, 2'-O-metyl nucleosit, 2'-O-metoxymetyl nucleosit, 2'-flonucleosit. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi được chọn độc lập từ β -D-deoxyribonucleosit, và 2'-O-metoxymetyl nucleosit. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metoxymetyl nucleosit.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi nucleosit hai vòng bao gồm nucleobazơ không metyl hóa.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, không nhiều hơn hai nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, mỗi nucleosit không vòng đôi còn lại là β -D-deoxyribonucleosit.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, nucleosit không vòng đôi gần nhất ở đầu 5' và đầu 3' là 2'-O-metoxyletyl nucleosit và mỗi nucleosit không vòng đôi còn lại là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, hai nucleosit không vòng đôi là 2'-MOE nucleosit và mỗi nucleosit không vòng đôi còn lại là β -D-deoxyribonucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit I hoặc III, mỗi nucleosit trong R là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I hoặc III, ba nucleosit trong R là 2'-O-metoxyletyl nucleosit và một nucleosit trong R là β -D-deoxyribonucleosit.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, ít nhất một liên kết bên trong nucleosit là liên kết bên trong nucleosit được cải biến. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết bên trong nucleosit được cải biến. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được cải biến này là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, ít nhất một nucleosit bao gồm nucleobazơ được cải biến. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, ít nhất một xytosin là 5-metyl xytosin. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, mỗi xytosin là 5-metylxytosin. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, xytosin ở vị trí hai của oligonucleotit cải biến này là 5-metylxytosin.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, R bao gồm bốn nucleosit liên kết $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$, trong đó N^{R1} là 2'-O-metoxyletyl nucleosit và mỗi nucleosit trong $N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ là β -D-deoxyribonucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình

tự nucleosit I, mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là 2'-O-metoxetyl nucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1; mỗi N^B là LNA nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1; mỗi N^B là LNA nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là LNA nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit II, N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit II, N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là 2'-O-metoxetyl nucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; mỗi N là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit II, N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit; mỗi N^B là LNA nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit II, N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit; mỗi N^B là LNA nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là LNA nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; N^Y là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; N^Y là β-D-deoxyribonucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β-D-deoxyribonucleosit; N^Y là S-cEt nucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit IV, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; N^Y là β -D-deoxyribonucleosit; N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit IV, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; N^Y là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit IV, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; N^Y là S-cEt nucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit V, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 4, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Sáng chế mô tả phương pháp ức chế hoạt tính của miR-21 bao gồm việc cho tế bào tiếp xúc với hợp chất được đề xuất theo sáng chế. Theo một số phương án, tế bào này là *in vivo*. Theo một số phương án, tế bào này là *in vitro*. Theo một số phương án, tế bào này là tế bào nguyên bào sợi, tế bào tăng sinh quá mức, tế bào tạo keratin, hoặc tế bào thiếu oxy. Theo một số phương án, tế bào nguyên bào sợi này là tế bào nguyên bào sợi tăng sinh quá mức.

Sáng chế mô tả phương pháp làm giảm sự biểu hiện collagen ở tế bào bao gồm việc cho tế bào này tiếp xúc với hợp chất được đề xuất theo sáng chế.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát của bệnh liên quan đến miR-21, bao gồm việc cho đối tượng này sử dụng hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế.

Theo một số phương án, bệnh là bệnh xơ hóa. Theo một số phương án bệnh xơ hóa là xơ hóa thận, xơ hóa phổi, xơ hóa gan, xơ hóa tim, xơ hóa da, xơ hóa do tuổi già, xơ hóa lách, xơ cứng bì, hoặc xơ hóa sau cấy ghép.

Theo một số phương án, bệnh xơ hóa là xơ hóa thận và biểu hiện ở đối tượng mắc bệnh được chọn từ xơ cứng tiểu cầu thận, xơ cứng ống thận mô kẽ, bệnh thận IgA, xơ hóa mô kẽ/teo ống thận; tổn thương thận mạn tính, bệnh tiểu cầu, viêm thận tiểu cầu, đái tháo đường, xơ cứng tiểu cầu thận khu trú từng vùng nguyên phát, bệnh màng thận, bệnh cầu thận phá hủy, nhiễm trùng thận mạn tái phát, và bệnh lý thận giai đoạn cuối. Theo một số phương án, bệnh xơ hóa thận do chấn thương thận cấp tính hoặc tái diễn.

Theo một số phương án, bệnh xơ hóa là xơ hóa gan và biểu hiện ở đối tượng mắc bệnh được chọn từ tổn thương gan mạn tính, nhiễm trùng gan, gan nhiễm mỡ không liên quan đến uống rượu, và xơ gan.

Theo một số phương án, xơ cứng phổi là xơ cứng phổi tự phát, hoặc đối tượng mắc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.

Theo một số phương án, bệnh là bệnh viêm.

Sáng chế mô tả phương pháp thúc đẩy quá trình làm lành vết thương ở đối tượng bao gồm việc cho đối tượng có vết thương cấp tính hoặc mạn tính sử dụng hợp chất bất kỳ theo sáng chế. Theo một số phương án, vết thương mạn tính là vết thương do phẫu thuật cấp tính hoặc mạn tính, vết thương sâu, tổn thương đứt, tổn thương dập nát, tổn thương do cắt, tổn thương do bỏng, vết rách, vết thương do bị cắn, loét động mạch, loét tĩnh mạch, loét do huyết áp, hoặc loét do đái tháo đường. Theo một số phương án, hợp chất này tùy ý được sử dụng cho vết thương.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị rối loạn tăng sinh ở đối tượng bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế.

Phương pháp bất kỳ được mô tả theo sáng chế có thể bao gồm việc lựa chọn đối tượng có sự tăng biểu hiện miR-21 trong một hoặc nhiều mô.

Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế cho đối tượng làm giảm sự biểu hiện collagen.

Theo một số phương án, đối tượng cần cải thiện chức năng của cơ quan, trong đó chức năng cơ quan được chọn từ chức năng tim, chức năng phổi, chức năng gan, và chức năng thận. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế để cải thiện chức năng của cơ quan ở đối tượng, trong đó

chức năng cơ quan được chọn từ chức năng tim, chức năng phổi, chức năng gan, và chức năng thận.

Phương pháp bất kỳ được mô tả theo sáng chế bao gồm việc đánh giá chức năng thận ở đối tượng, phương pháp này có thể bao gồm đo nồng độ nitơ urê máu trong máu của đối tượng; đo nồng độ creatinin trong máu của đối tượng; đo nồng độ thanh thải creatinin ở đối tượng; đo nồng độ protein niệu ở đối tượng; đo tỷ lệ albumin:Cr ở đối tượng; và/hoặc đo lượng thải nước tiểu ở đối tượng.

Phương pháp bất kỳ được mô tả theo sáng chế có thể bao gồm việc đánh giá chức năng gan ở đối tượng, phương pháp này có thể bao gồm đo nồng độ alanin aminotransferaza trong máu của đối tượng; đo nồng độ aspartat aminotransferaza trong máu của đối tượng; đo nồng độ bilirubin trong máu của đối tượng; đo nồng độ albumin trong máu của đối tượng; đo thời gian prothrombin ở đối tượng; đo tình trạng cổ trướng ở đối tượng; và/hoặc đo bệnh não ở đối tượng.

Phương pháp bất kỳ được mô tả theo sáng chế có thể bao gồm việc đánh giá chức năng phổi ở đối tượng, phương pháp này có thể bao gồm đo dung tích sống ở đối tượng; đo dung tích sống gắng sức ở đối tượng; đo thể tích thở ra gắng sức trong giây đầu ở đối tượng; đo lưu lượng thở ra tối đa ở đối tượng; đo dòng thở ra gắng sức ở đối tượng; đo thể tích thông khí tối đa ở đối tượng; xác định tỷ số giữa thể tích thở ra gắng sức trong giây đầu với dung tích sống gắng sức ở đối tượng; đo tỷ số thông khí/thông máu ở đối tượng; đo sự lọc khí nitơ ở đối tượng; và/hoặc đo thể tích khí tuyệt đối trong một hoặc nhiều phổi của đối tượng.

Phương pháp bất kỳ được mô tả theo sáng chế có thể bao gồm việc đánh giá chức năng tim ở đối tượng, phương pháp này có thể bao gồm đo cung lượng tim ở đối tượng; đo thể tích tim bóp ở đối tượng; đo tốc độ tổng máu tâm thu trung bình ở đối tượng; đo áp suất tâm thu ở đối tượng; đo phân suất tổng máu thất trái ở đối tượng; xác định chỉ số co bóp ở đối tượng; xác định chỉ số tim ở đối tượng; đo tỷ phần co thất trái ở đối tượng; đo tốc độ trung bình co sợi chu vi ở đối tượng; đo biểu đồ tốc độ dòng trong thất trái ở đối tượng; đo biểu đồ tốc độ dòng tĩnh mạch phổi ở đối tượng; và/hoặc đo vận tốc đỉnh đầu tâm trương của van hai lá của đối tượng.

Phương pháp bất kỳ được mô tả theo sáng chế có thể bao gồm việc sử dụng cho đối tượng ít nhất một tác nhân trị liệu được chọn từ tác nhân kháng viêm, tác nhân ức

chế miễn dịch, tác nhân chống đái tháo đường, digoxin, thuốc giãn mạch, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin II (ACE), chất phong bế thụ thể angiotensin II (ARB), chất chặn kênh canxi, isosorbide dinitrat, hydralazin, nitrat, hydralazin, chất chặn beta, peptit kích thích bài tiết natri trong nước tiểu, heparinoit, và chất ức chế yếu tố sinh trưởng mô liên kết. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm là tác nhân kháng viêm không thuộc nhóm steroid, trong đó tác nhân kháng viêm không thuộc nhóm steroid được chọn tùy ý từ ibuprofen, chất ức chế COX-1 và chất ức chế COX-II. Theo một số phương án, tác nhân ức chế miễn dịch được chọn từ corticosteroid, xyclophosphamit, và mycophenolat mofetil. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm là corticosteroid, trong đó corticosteroid tùy ý là prednison. Theo một số phương án, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin II (ACE) được chọn từ captopril, enalapril, lisinopril, benazepril, quinapril, fosinopril, và ramipril. Theo một số phương án, chất phong bế thụ thể angiotensin II (ARB) được chọn từ candesartan, irbesartan, olmesartan, losartan, valsartan, telmisartan, và eprosartan.

Theo một số phương án, bệnh là bệnh ung thư. Theo một số phương án, bệnh ung thư là ung thư gan, ung thư vú, ung thư bàng quang, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư ruột kết, ung thư phổi, ung thư não, ung thư máu, ung thư tụy, ung thư đầu và cổ, ung thư lưỡi, ung thư dạ dày, ung thư da, hoặc ung thư tuyến giáp. Theo một số phương án, ung thư gan là ung thư biểu mô tế bào gan. Theo một số phương án, ung thư não là u nguyên bào xốp đa hình. Theo một số phương án, ung thư máu là bệnh bạch cầu tủy xương cấp tính, bệnh bạch cầu lympho bào cấp tính, bệnh bạch cầu tế bào đơn nhân cấp tính, đa u tủy, bệnh bạch cầu lympho bào mạn tính, bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính, u lympho hodgkin, hoặc u lympho không hodgkin.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp bao gồm việc sử dụng ít nhất một liệu pháp điều trị kháng ung thư bổ sung cho đối tượng. Theo một số phương án, liệu pháp điều trị kháng ung thư là tác nhân phá hủy ADN, chất ức chế tăng sinh, kháng - folat, chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng, tác nhân kháng tạo mạch, chất ức chế thụ thể tyrosin kinaza, chất ức chế kinaza, chất ức chế yếu tố tăng trưởng, tác nhân gây độc tế bào, xạ trị, hoặc phẫu thuật cắt bỏ khối u. Theo một số phương án, tác nhân phá hủy ADN là 1,3-bis(2-cloetyl) -1-nitrosoure, busulfan, carboplatin, carmustin, clorambuxil, xisplatin, xyclophosphamit, dacarbazin, daunorubixin, doxorubixin, epirubixin, etopozit, idarubixin, ifosfamid, irinotexan, lomustin, mecloretamin,

melphalan, mitomycin C, mitoxantron, oxaliplatin, temozolomit, hoặc topotecan. Theo một số phương án, kháng folat là methotrexat, aminopterin, thymidylat syntaza, serin hydroxymetyltransferaza, folylpolyglutamyl synthetaza, g-glutamyl hydrolaza, glyxinamit-ribonucleotit transformylaza, leucovorin, amino-imidazol-carboxamit-ribonucleotit transformylaza, 5-flouraxil, hoặc chất vận chuyển folat. Theo một số phương án, chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng là erlotinib, hoặc gefitinib. Theo một số phương án, chất ức chế sự tạo mạch là bevaxizumab, thalidomit, carboxyamidotriazol, TNP-470, CM101, IFN- α , yếu tố tiểu cầu-4, suramin, SU5416, thrombospondin, chất đối kháng VEGFR, yếu tố ức chế sự tạo mạch có nguồn gốc từ sụn, chất ức chế metalloproteinaza nền, angiostatin, endostatin, 2-metoxiestradiol, tecogalan, tetrathiomolybdat, prolactin, hoặc linomit. Theo một số phương án, chất ức chế kinaza là bevaxizumab, BIBW 2992, xetuximab, imatinib, trastuzumab, gefitinib, ranibizumab, pegaptanib, sorafenib, dasatinib, sunitinib, erlotinib, nilotinib, lapatinib, panitumumab, vandetanib, E7080, pazopanib, mubritinib, hoặc fostamatinib.

Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế cho đối tượng mắc ung thư làm giảm kích thước và/hoặc số lượng khối u. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế cho đối tượng mắc ung thư ngăn chặn hoặc làm chậm sự gia tăng kích thước và/hoặc số lượng khối u. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế cho đối tượng mắc ung thư ngăn chặn hoặc làm chậm quá trình di căn. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế cho đối tượng mắc ung thư kéo dài thời gian sống và hoặc sự sống mà bệnh không tiến triển của đối tượng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp bao gồm việc chọn lựa đối tượng có mức alpha-fetoprotein trong huyết thanh tăng và hoặc des-gamma-carboxyprothrombin trong huyết thanh tăng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp bao gồm việc làm giảm alpha-fetoprotein trong huyết thanh và/hoặc des-gamma-carboxyprothrombin trong huyết thanh. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp bao gồm việc lựa chọn động vật có chức năng gan bất thường.

Theo phương pháp bất kỳ được đề xuất theo sáng chế, đối tượng là người.

Theo phương pháp bất kỳ được đề xuất theo sáng chế, hợp chất này có mặt dưới dạng dược phẩm.

Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể được sử dụng trong trị liệu. Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong điều trị bệnh xơ hóa. Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong thúc đẩy quá trình làm lành vết thương. Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể được sử dụng trong ngăn chặn và/hoặc làm chậm sự khởi phát di căn.

Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong điều trị bệnh tim.

Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong bào chế thuốc. Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong bào chế thuốc điều trị bệnh xơ hóa. Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong bào chế thuốc để thúc đẩy quá trình làm lành vết thương. Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong bào chế thuốc điều trị bệnh ung thư. Hợp chất bất kỳ được đề xuất theo sáng chế có thể sử dụng trong bào chế thuốc phòng ngừa và/hoặc làm chậm sự khởi phát di căn.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện tỷ số albumin với creatinin trong nước tiểu (ACR, $\mu\text{gAlb/mgCr}$) ở chuột mô hình tái tưới máu do thiếu máu cục bộ/cắt bỏ thận (IR/Nx) được cho dùng hợp chất kháng miR21 như được mô tả trong ví dụ 5.

Fig.2 thể hiện sự biểu hiện (A) collagen 1A1 và (B) collagen 3A1 ở thận của chuột mô hình UUO được cho dùng hợp chất kháng miR21, như được mô tả trong ví dụ 6.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả có nghĩa giống như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực của sáng chế đề cập. Trừ khi có định nghĩa cụ thể khác, danh pháp được sử dụng liên quan đến, và các quy trình và kỹ thuật, hóa phân tích, hóa hữu cơ tổng hợp, và y và hóa dược được mô tả trong bản mô tả là các danh pháp đã biết và thường được sử dụng trong lĩnh vực này. Trong trường hợp có nhiều định nghĩa cho thuật ngữ, các định nghĩa trong phần này được ưu tiên. Các kỹ thuật chuẩn có thể được sử dụng trong hóa tổng hợp, hóa phân tích, bào chế dược, đóng gói và phân phối, và điều trị của đối

tượng. Một số kỹ thuật và quy trình này có thể được tìm thấy trong tài liệu như “Hydrat carbone Modifications in Antisense Research” biên tập bởi Sangvi và Cook, American Chemical Society, Washington D.C., 1994; và “Remington's Pharmaceutical Sciences,” Mack Publishing Co., Easton, Pa., 18th edition, 1990; và tài liệu này được kết hợp bằng cách viện dẫn cho mục đích bất kỳ. Trong đó được cho phép, toàn bộ patent, đơn yêu cầu cấp patent, đơn được công bố và các công bố, trình tự trên GENBANK, trang web và các nguồn tài liệu được công bố khác được viện dẫn toàn bộ bộc lộ ở đây, trừ khi có quy định khác, được kết hợp bằng cách viện dẫn toàn bộ. Trong đó việc viện dẫn đến URL hoặc kí hiệu nhận dạng hoặc địa chỉ khác, cần phải hiểu rằng các kí hiệu này có thể thay đổi và thông tin cụ thể trên internet có thể thay đổi, nhưng thông tin tương đương có thể được tìm thấy bằng cách tra cứu trên internet. Do đó, viện dẫn chứng minh sự sẵn có và phổ biến công bố thông tin này.

Trước khi bộc lộ và mô tả chế phẩm và phương pháp theo sáng chế, cần phải hiểu rằng thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả là chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể và không làm giới hạn sáng chế. Cần chú ý rằng, như được sử dụng trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ đi kèm, các dạng số ít “một” bao gồm cả việc đề cập đến số nhiều trừ khi nội dung rõ ràng mô tả khác.

Định nghĩa

“Xơ hóa” là sự hình thành và phát triển mô liên kết sợi quá mức trong cơ quan hoặc mô. Theo một số phương án, xơ hóa xảy ra là quá trình phục hồi hoặc tái hoạt hóa. Theo một số phương án, xơ hóa xảy ra để đáp ứng lại hư hại hoặc tổn thương. Thuật ngữ “xơ hóa” được hiểu là sự hình thành và phát triển mô liên kết sợi quá mức trong cơ quan hoặc mô là quá trình phục hồi hoặc tái hoạt hóa, đối lập với quá trình hình thành mô sợi như là một thành phần thông thường của cơ quan hoặc mô.

“Đối tượng nghi ngờ mắc” là đối tượng biểu hiện một hoặc nhiều dấu hiệu lâm sàng của bệnh.

“Đối tượng nghi ngờ mắc xơ hóa” là đối tượng biểu hiện một hoặc nhiều dấu hiệu lâm sàng của bệnh xơ hóa.

“Nguyên bào sợi” là tế bào tạo mô liên kết.

“Rối loạn tăng sinh nguyên bào sợi” là rối loạn được đặc trưng bởi sự tăng sinh và/hoặc hoạt hóa nguyên bào sợi quá mức.

“Ung thư gan” là u gan ác tính, dạng ung thư gan nguyên phát hoặc ung thư gan do di căn. Theo một số phương án, ung thư gan bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ung thư phát sinh từ tế bào gan, ví dụ, ung thư gan và ung thư biểu mô tế bào gan; ung thư tế bào gan thể xơ lá; và ung thư đường mật (hoặc ung thư ống dẫn mật).

“Di căn” là quá trình ung thư phát tán từ vị trí xuất hiện đầu tiên của khối u nguyên phát tới các vị trí khác in vivo. Quá trình di căn của khối u nguyên phát phản ánh nhiều giai đoạn, bao gồm sự tách từ tế bào khối u nguyên phát lân cận, tồn tại trong hệ tuần hoàn, và sinh trưởng trong vị trí thứ cấp.

“Thời gian sống toàn bộ” là khoảng thời gian mà đối tượng sống sót sau khi chẩn đoán hoặc điều trị bệnh. Theo một số phương án, bệnh là bệnh ung thư. Theo một số phương án, thời gian sống toàn bộ là thời gian sống sót sau khi chẩn đoán. Theo một số phương án, thời gian sống toàn bộ là thời gian sống sót sau khi bắt đầu điều trị.

“Sống sót mà bệnh không tiến triển” là khoảng thời gian đối tượng mắc bệnh sống, mà bệnh không trầm trọng thêm. Theo một số phương án, sống sót mà bệnh không tiến triển được đánh giá bằng phân giai đoạn hoặc cho điểm bệnh. Theo một số phương án, sống sót mà bệnh không tiến triển của đối tượng mắc ung thư gan được đánh giá thông qua việc đo kích thước khối u, số lượng khối u và/hoặc di căn.

“Kháng miR” là oligonucleotit có trình tự nucleobazơ bổ sung với ARN nhỏ. Theo một số phương án, kháng miR là oligonucleotit cải biến.

“Kháng miR-X” trong đó “miR-X” biểu thị một ARN nhỏ cụ thể, chỉ oligonucleotit có trình tự nucleobazơ bổ sung với miR-X. Theo một số phương án, kháng miR-X bổ sung hoàn toàn với miR-X. Theo một số phương án, kháng miR-X bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95% với miR-X. Theo một số phương án, kháng miR-X là oligonucleotit cải biến.

“miR-21” là miARN trưởng thành có trình tự nucleobazơ UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA (SEQ ID NO: 1).

“trình tự vòng-gốc của miR-21” là trình tự vòng-gốc có trình tự nucleobazơ
UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCAUGGCAAC
ACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA (SEQ ID NO: 2).

“Axit nucleic đích” là axit nucleic mà hợp chất oligome được thiết kế để lai với axit nucleic đích.

“Hướng đích” là quá trình thiết kế và chọn lọc trình tự nucleobazơ sẽ lai với axit nucleic đích.

“Được hướng đích tới” là có trình tự nucleobazơ cho phép phản ứng lai với axit nucleic đích.

“Sự ăn khớp đích” là tương tác của oligonucleotit với ARN nhỏ mà nó bổ sung, theo cách làm thay đổi hoạt tính, biểu hiện hoặc nồng độ của ARN nhỏ. Theo một số phương án, sự ăn khớp đích chỉ kháng miR tương tác với ARN nhỏ mà nó bổ sung, do đó hoạt tính của ARN nhỏ bị ức chế.

“Điều biến” chỉ sự làm biến đổi chức năng, lượng hoặc hoạt tính. Theo một số phương án, điều biến là làm tăng chức năng, lượng hoặc hoạt tính. Theo một số phương án, điều biến là làm giảm chức năng, lượng hoặc hoạt tính.

“Biểu hiện” chỉ các hoạt động và các bước bất kỳ mà qua đó thông tin được mã hóa trong gen được chuyển hóa thành cấu trúc có mặt và hoạt động trong tế bào.

“Vị trí đích 5'” chỉ nucleobazơ của axit nucleic đích bổ sung với nucleobazơ gần nhất ở đầu 3' của oligonucleotit cụ thể.

“Vị trí đích 3'” chỉ nucleobazơ của axit nucleic đích bổ sung với nucleobazơ gần nhất ở đầu 5' của oligonucleotit cụ thể.

“Vùng” là một phần của nucleosit liên kết nằm trong axit nucleic. Theo một số phương án, oligonucleotit có trình tự nucleobazơ bổ sung với một phần của axit nucleic đích. Ví dụ, theo một số phương án oligonucleotit bổ sung với một phần của trình tự vòng-gốc của ARN nhỏ. Theo một số phương án, oligonucleotit bổ sung hoàn toàn với một phần của trình tự vòng-gốc của ARN nhỏ.

“Đoạn” là một tiểu phần hoặc phần nhỏ hơn của vùng.

“Trình tự nucleobazơ” là thứ tự sắp xếp của các nucleobazơ liên tiếp trong hợp chất oligome hoặc axit nucleic, thông thường được liệt kê theo chiều 5' đến 3', không phụ thuộc vào gốc đường, liên kết và/hoặc sự cải biến nucleobazơ bất kỳ.

“Các nucleobazơ kề nhau” là các nucleobazơ nằm ngay cạnh nhau trong axit nucleic.

“Sự bổ sung của nucleobazơ” là khả năng của hai nucleobazơ liên kết cặp đôi không cộng hóa trị với nhau nhờ liên kết hydro.

“Bổ sung” chỉ một axit nucleic có khả năng lai với một axit nucleic khác hoặc với oligonucleotit. Theo một số phương án, bổ sung chỉ oligonucleotit có khả năng lai với axit nucleic đích.

“Bổ sung hoàn toàn” là mỗi nucleobazơ của oligonucleotit có khả năng bắt cặp với nucleobazơ tại mỗi vị trí tương ứng của axit nucleic đích. Theo một số phương án, oligonucleotit bổ sung hoàn toàn với ARN nhỏ, tức là mỗi nucleobazơ của oligonucleotit bổ sung với nucleobazơ tại mỗi vị trí tương ứng của ARN nhỏ. Theo một số phương án, oligonucleotit mà trong đó mỗi nucleobazơ bổ sung với nucleobazơ nằm trong một phần của trình tự vòng-gốc của ARN nhỏ là bổ sung hoàn toàn với trình tự vòng-gốc của ARN nhỏ.

“Tỷ lệ phần trăm bổ sung” là tỷ lệ phần trăm nucleobazơ của oligonucleotit mà bổ sung với phần có độ dài tương ứng của axit nucleic đích. Tỷ lệ phần trăm bổ sung được tính bằng cách lấy số lượng nucleobazơ của oligonucleotit mà bổ sung với nucleobazơ tại các vị trí tương ứng trong axit nucleic đích chia cho tổng số nucleobazơ trong oligonucleotit.

“Tỷ lệ phần trăm tương đồng” là số lượng nucleobazơ của axit nucleic thứ nhất mà tương đồng với nucleobazơ tại các vị trí tương ứng của axit nucleic thứ hai, chia cho tổng số nucleobazơ của axit nucleic thứ nhất. Theo một số phương án, axit nucleic thứ nhất là ARN nhỏ và axit nucleic thứ hai là ARN nhỏ. Theo một số phương án, axit nucleic thứ nhất là oligonucleotit và axit nucleic thứ hai là oligonucleotit.

“Lai” chỉ sự gắn kết của axit nucleic bổ sung xảy ra nhờ liên kết bổ sung của nucleobazơ.

“Lỗi bắt cặp” là nucleobazơ của axit nucleic thứ nhất không có khả năng bắt cặp với nucleobazơ ở vị trí tương ứng của axit nucleic thứ hai.

“Tương đồng” trong trình tự nucleobazơ, có nghĩa là có trình tự nucleobazơ giống nhau, không phụ thuộc vào gốc đường, liên kết, và/hoặc các cải biến nucleobazơ và không phụ thuộc vào tình trạng metyl hóa của gốc pyrimidin bất kỳ có mặt.

“ARN nhỏ” là phân tử ARN nội sinh, không mã hóa, có chiều dài từ 18 và 25 nucleobazơ, là sản phẩm của phản ứng cắt phân tử ARN nhỏ tiền thân nhờ enzym Dicer. Ví dụ về ARN nhỏ trưởng thành được tìm thấy trong dữ liệu về ARN nhỏ đã biết như miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/>). Theo một số phương án, ARN nhỏ được viết tắt là “microARN” hoặc “miR”.

“ARN nhỏ tiền thân” hoặc “pre-miR” là phân tử ARN không mã hóa có cấu trúc kẹp tóc, là sản phẩm của phản ứng phân cắt phân tử pri-miR bằng enzym ribonucleaza đặc hiệu ARN sợi kép đã biết như Drosha.

“Trình tự vòng-gốc” chỉ phân tử ARN có cấu trúc kẹp tóc và có chứa trình tự của ARN nhỏ trưởng thành. Trình tự ARN nhỏ tiền thân và trình tự vòng-gốc có thể chồng lớp lên nhau. Ví dụ về trình tự vòng-gốc được tìm thấy trong dữ liệu về ARN nhỏ đã biết như miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/>).

“ARN nhỏ tiền thân đầu” hoặc “pri-miR” là phân tử ARN không mã hóa có cấu trúc kẹp tóc là cơ chất cho enzym ribonucleaza đặc hiệu ARN sợi kép Drosha.

“Tiền chất ARN nhỏ” là thể phiên mã có nguồn gốc từ ADN genom và bao gồm ARN cấu trúc, không mã hóa có chứa một hoặc nhiều trình tự ARN nhỏ. Ví dụ, theo một số phương án tiền chất ARN nhỏ là ARN nhỏ tiền thân (pre-microRNA). Theo một số phương án, tiền chất ARN nhỏ là ARN nhỏ tiền thân đầu (pri-microRNA).

“Thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ” là thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ.

“Thể phiên mã đơn cistron” là tiền chất ARN nhỏ có chứa một trình tự ARN nhỏ.

“Thể phiên mã đa cistron” là tiền chất ARN nhỏ có chứa hai hoặc nhiều trình tự ARN nhỏ.

“Trình tự hạt nhân” là trình tự nucleobazơ gồm từ 6 đến 8 nucleobazơ kề nhau của các nucleobazơ từ 1 đến 9 ở đầu tận cùng 5' của trình tự ARN nhỏ trưởng thành.

“Trình tự bắt cặp với trình tự hạt nhân” là trình tự nucleobazơ bổ sung với trình tự hạt nhân, và có cùng chiều dài với trình tự hạt nhân.

“Hợp chất oligome” là hợp chất bao gồm nhiều tiểu đơn vị monome liên kết với nhau. Hợp chất oligome bao gồm oligonucleotit.

“Oligonucleotit” là hợp chất bao gồm nhiều nucleosit liên kết, mỗi nucleosit có thể được cải biến hoặc không được cải biến, không phụ thuộc lẫn nhau.

“Liên kết giữa các nucleosit có trong tự nhiên” là liên kết phosphodiester 3' đến 5' giữa các nucleosit.

“Đường tự nhiên” là đường trong ADN (2'-H) hoặc ARN (2'-OH).

“Liên kết giữa các nucleosit” là liên kết cộng hóa trị giữa các nucleosit liên kế nhau.

“Nucleosit liên kết” là nucleosit được nối với nhau bằng liên kết cộng hóa trị.

“Nucleobazơ” là gốc dị vòng có khả năng bắt cặp bằng liên kết không cộng hóa trị với nucleobazơ khác.

“Nucleosit” là nucleobazơ liên kết với gốc đường.

“Nucleotit” là nucleosit có nhóm phosphat liên kết cộng hóa trị với gốc đường của nucleosit.

“Hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm” một số nucleosit liên kết là hợp chất bao gồm oligonucleotit cải biến có số lượng nucleosit liên kết cụ thể. Do đó, hợp chất này có thể bao gồm các nhóm thế hoặc các nhóm liên hợp bổ sung. Trừ khi được chỉ định khác, hợp chất này không bao gồm nucleosit bổ sung bất kỳ ngoài các oligonucleotit này.

“Hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm” một số nucleosit liên kết là hợp chất bao gồm oligonucleotit cải biến có số lượng nucleosit liên kết cụ thể. Do đó, hợp chất này có thể bao gồm nhóm thế hoặc nhóm liên hợp bổ sung. Trừ khi được chỉ định khác, hợp chất này không bao gồm nucleosit bổ sung bất kỳ ngoài các nucleosit của oligonucleotit cải biến này.

“Oligonucleotit cải biến” là oligonucleotit có một hoặc nhiều các cải biến so với đầu tận cùng, gốc đường, nucleobazơ, và/hoặc liên kết giữa các nucleosit có trong tự nhiên. Oligonucleotit cải biến có thể bao gồm nucleosit không được cải biến.

“Oligonucleotit cải biến sợi đơn” là oligonucleotit cải biến mà không được đặt cạnh sợi bổ sung.

“Nucleosit cải biến” là nucleosit có sự thay đổi bất kỳ so với nucleosit có trong tự nhiên. Nucleosit cải biến có thể có gốc đường được cải biến, và nucleobazơ không được cải biến. Nucleosit cải biến có thể có gốc đường được cải biến và nucleobazơ được cải biến. Nucleosit cải biến có thể có gốc đường tự nhiên và nucleobazơ được cải biến. Theo một số phương án, nucleosit cải biến là nucleosit hai vòng. Theo một số phương án, nucleosit cải biến là nucleosit không vòng đôi.

“Liên kết giữa các nucleosit được cải biến” là sự thay đổi bất kỳ so với liên kết giữa các nucleosit có trong tự nhiên.

“Liên kết phosphorothioat giữa các nucleosit” là liên kết giữa các nucleosit trong đó một trong số các nguyên tử không phải cầu nối là nguyên tử lưu huỳnh.

“Gốc đường được cải biến” là sự thế và/hoặc thay đổi bất kỳ so với gốc đường tự nhiên.

“Nucleobazơ không được cải biến” là các bazơ dị vòng có trong tự nhiên của ARN hoặc ADN: các bazơ purin adenin (A) và guanin (G), và các bazơ pyrimidin thymin (T), xytosin (C) (bao gồm 5-metylxytosin), và uraxil (U).

“5-metylxytosin” là xytosin có chứa nhóm methyl được gắn ở vị trí 5.

“Xytosin không methyl hóa” là xytosin không có nhóm methyl được gắn ở vị trí 5.

“Nucleobazơ được cải biến” là nucleobazơ bất kỳ mà không phải nucleobazơ không được cải biến.

“Furanosyl” là cấu trúc bao gồm vòng 5 cạnh bao gồm bốn nguyên tử cacbon và một nguyên tử oxy.

“Furanosyl có trong tự nhiên” là ribofuranosyl như được tìm thấy trong ARN có trong tự nhiên hoặc deoxyribofuranosyl như được tìm thấy trong ADN có trong tự nhiên.

“Gốc đường” là furanosyl có trong tự nhiên hoặc gốc đường được cải biến.

“Gốc đường được cải biến” là gốc đường được thế hoặc nhóm thay thế đường.

“Gốc đường được thế” là furanosyl không có trong tự nhiên. Gốc đường được thế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở gốc đường có chứa các cải biến ở vị trí 2', vị trí 5' và/hoặc vị trí 4' của furanosyl có trong tự nhiên. Một số gốc đường được thế là gốc đường hai vòng.

“Nhóm thay thế đường” là cấu trúc không bao gồm furanosyl và có thể thay thế furanosyl có trong tự nhiên của nucleosit, sao cho tạo thành nucleosit có khả năng (1) kết hợp vào trong oligonucleotit và (2) lai với nucleosit bổ sung. Các cấu trúc này bao gồm những biến đổi đơn giản đối với furanosyl, như các vòng có chứa số lượng nguyên tử khác (ví dụ vòng có 4, 6, hoặc 7 cạnh); thay thế oxy của furanosyl bằng nguyên tử không phải oxy (ví dụ cacbon, lưu huỳnh, hoặc nitơ); hoặc cả thay đổi về số lượng nguyên tử và sự thay thế oxy. Các cấu trúc này có thể bao gồm những thay thế tương ứng với các cấu trúc được mô tả đối với gốc đường được thế (ví dụ nhóm thay thế đường hai vòng carboxyclic 6 cạnh tùy ý bao gồm các nhóm thế bổ sung). Nhóm thay thế đường còn bao gồm sự thay thế đường phức tạp hơn (ví dụ hệ axit nucleic peptit không vòng). Nhóm thay thế đường bao gồm không giới hạn ở morpholino, xyclohexenyl và xyclohexitol.

“Đường 2'-O-metyl” hoặc “đường 2'-OMe” là đường có cải biến O-metyl ở vị trí 2'.

“Đường 2'-O-metoxyletyl” hoặc “đường 2'-MOE” là đường có cải biến O-metoxyletyl ở vị trí 2'.

“2'-O-flo” hoặc “2'-F” là đường có cải biến flo ở vị trí 2'.

“Gốc đường hai vòng” là gốc đường được cải biến bao gồm vòng 4 đến 7 cạnh (bao gồm không giới hạn ở furanosyl) bao gồm một cầu nối nối hai nguyên tử của vòng 4 đến 7 cạnh tạo thành vòng thứ hai, tạo ra cấu trúc hai vòng. Theo một số phương án, vòng 4 đến 7 cạnh là vòng đường. Theo một số phương án, vòng 4 đến 7 cạnh là furanosyl. Theo một số phương án, cầu nối nối hai nguyên tử cacbon ở vị trí 2' và nguyên tử cacbon ở vị trí 4' của furanosyl.

“Gốc đường của axit nucleic bị khóa (LNA)” là gốc đường được thế bao gồm cầu nối (CH₂)-O giữa các nguyên tử của vòng furanoza ở vị trí 4' và 2'.

“Gốc đường ENA” là gốc đường được thể có cầu nối $(CH_2)_2-O$ giữa các nguyên tử của vòng furanoza ở vị trí 4' và 2'.

“Gốc đường etyl cưỡng bức (Constrained ethyl - cEt)” là gốc đường được thể chứa cầu nối $CH(CH_3)-O$ giữa nguyên tử của vòng furanoza ở vị trí 4' và 2'. Theo một số phương án, cầu nối $CH(CH_3)-O$ bị ép theo hướng S. Theo một số phương án, $(CH_2)_2-O$ bị ép theo hướng R.

“Gốc đường S-cEt” là gốc đường được thể có cầu nối $CH(CH_3)-O$ giữa các nguyên tử của vòng furanoza ở vị trí 4' và 2' bị ép theo hướng S.

“Gốc đường R-cEt” là gốc đường được thể có cầu nối $CH(CH_3)-O$ giữa các nguyên tử của vòng furanoza ở vị trí 4' và 2' bị ép theo hướng R.

“2'-O-metyl” nucleosit là nucleosit cải biến ở vị trí 2' có cải biến gốc đường ở vị trí 2'-O-metyl.

“2'-O-metoxyletyl nucleosit” là nucleosit cải biến ở vị trí 2' có cải biến gốc đường ở vị trí 2'-O-metoxyletyl. 2'-O-metoxyletyl nucleosit có thể bao gồm nucleobazơ cải biến hoặc không được cải biến.

“2'-flo nucleosit” là nucleosit cải biến ở vị trí 2' có cải biến gốc đường ở vị trí 2'-flo. 2'-flo nucleosit có thể bao gồm nucleobazơ cải biến hoặc không được cải biến.

“Nucleosit hai vòng” là nucleosit cải biến ở vị trí 2' có gốc đường hai vòng. Nucleosit hai vòng có thể có nucleobazơ cải biến hoặc không được cải biến.

“cEt nucleosit” là nucleosit chứa gốc đường cEt. cEt nucleosit có thể bao gồm nucleobazơ cải biến hoặc không được cải biến.

“S-cEt nucleosit” là nucleosit chứa gốc đường S-cEt.

“R-cEt nucleosit” là nucleosit chứa gốc đường R-cEt.

“Nucleosit không vòng đôi” là nucleosit mà có gốc đường không phải là đường hai vòng. Theo một số phương án, nucleosit không vòng đôi bao gồm đường có trong tự nhiên. Theo một số phương án, nucleosit không vòng đôi bao gồm đường cải biến. Theo một số phương án, nucleosit không vòng đôi là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án, nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metoxyletyl nucleosit.

“ β -D-deoxyribonucleosit” là nucleosit ADN có trong tự nhiên. β -D-deoxyribonucleosit có thể bao gồm nucleobazơ cải biến hoặc không được cải biến.

“ β -D-ribonucleosit” là nucleosit ARN có trong tự nhiên. β -D-ribonucleosit có thể bao gồm nucleobazơ cải biến hoặc không được cải biến.

“LNA nucleosit” là nucleosit chứa gốc đường LNA.

“ENA nucleosit” là nucleosit chứa gốc đường ENA.

“Mô típ” là cách bố trí của nucleobazơ, đường, và/hoặc liên kết bên trong nucleosit trong oligonucleotit được cải biến và/hoặc không được cải biến. Theo một số phương án, mô típ là trình tự nucleosit.

“Trình tự nucleosit” là cách bố trí của các cải biến nucleosit trong oligonucleotit cải biến hoặc vùng của nó. Trình tự nucleosit là mô típ mô tả sự sắp xếp của các cải biến nucleosit trong oligonucleotit.

“Oligonucleotit cải biến hoàn toàn” là mỗi nucleobazơ, mỗi đường, và/hoặc mỗi liên kết giữa các nucleosit được cải biến.

“Oligonucleotit cải biến đồng nhất” là mỗi nucleobazơ, mỗi đường, và/hoặc mỗi liên kết giữa các nucleosit có sự cải biến giống nhau trong toàn bộ oligonucleotit cải biến này.

“Cải biến làm bền vững” là cải biến đối với nucleosit mà làm tăng cường độ bền cho oligonucleotit cải biến, khi có mặt của nucleaza, so với độ bền do 2'-deoxynucleosit được liên kết bằng liên kết phosphodiester bên trong nucleosit. Ví dụ, theo một số phương án, cải biến làm bền vững là cải biến nucleosit làm bền vững. Theo một số phương án, cải biến làm bền vững là cải biến liên kết bên trong nucleosit.

“Nucleosit bền vững” là nucleosit được cải biến để làm tăng độ bền với nucleaza cho oligonucleotit, so với độ bền do 2'-deoxynucleosit. Theo một phương án, nucleosit bền vững là nucleosit cải biến ở vị trí 2'.

“Liên kết bền vững giữa các nucleosit” là liên kết giữa các nucleosit mà làm cải thiện độ bền với nucleaza cho oligonucleotit so với độ bền do liên kết phosphodiester bên trong nucleosit. Theo một phương án, liên kết bền vững giữa các nucleosit là liên kết phosphothioat giữa các nucleosit.

“Đối tượng” là người hoặc động vật không phải người được chọn để xử lý hoặc điều trị.

“Đối tượng cần” là tình trạng mà trong đó đối tượng được xác định là cần được trị liệu hoặc điều trị.

“Đối tượng nghi ngờ mắc” là đối tượng biểu hiện một hoặc nhiều triệu chứng lâm sàng của bệnh.

“Cấp thuốc” là cung cấp tác nhân được liệu hoặc chế phẩm cho đối tượng, và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, cung cấp bởi chuyên gia y tế và tự cung cấp.

“Cấp thuốc qua đường tiêm” là việc phân phối thuốc thông qua đường tiêm hoặc truyền.

Cấp thuốc qua đường tiêm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dưới da, trong tĩnh mạch, hoặc trong cơ.

“Cấp thuốc qua đường dưới da” là việc cấp thuốc ngay dưới da.

“Cấp thuốc qua đường tĩnh mạch” là việc cấp thuốc vào trong tĩnh mạch.

“Cấp thuốc trong tim” là việc cấp thuốc vào trong tim. Theo một số phương án, cấp thuốc vào trong tim thực hiện bằng cách đặt ống thông. Theo một số phương án, cấp thuốc vào trong tim xảy ra bằng cách phẫu thuật tim mở.

“Cấp thuốc qua đường phổi” là việc cấp thuốc vào phổi.

“Việc sử dụng đồng thời” chỉ việc cung cấp đồng thời hai tác nhân theo cách bất kỳ mà trong đó tác động dược lý của cả hai biểu hiện ở bệnh nhân tại cùng thời điểm. Việc sử dụng đồng thời không yêu cầu cả hai tác nhân được sử dụng trong một dược phẩm, trong cùng một dạng phân liều, hoặc theo cùng đường sử dụng. Tác động của cả hai tác nhân này không cần phải biểu hiện tại cùng thời điểm. Tác động này chỉ cần gộp chồng nhau trong một khoảng thời gian và không cần phải cùng tồn tại.

“Khoảng thời gian” chỉ khoảng thời gian mà trong đó hoạt tính hoặc sự kiện tiếp diễn. Theo một số phương án, khoảng thời gian điều trị là khoảng thời gian trong đó liều dùng của tác nhân được liệu hoặc dược phẩm được sử dụng.

“Liệu pháp điều trị” chỉ phương pháp điều trị bệnh. Theo một số phương án, liệu pháp điều trị bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, liệu pháp hóa trị, xạ trị, hoặc sử dụng tác nhân được liệu.

“Điều trị” là việc ứng dụng một hoặc nhiều quy trình cụ thể được sử dụng để chữa trị hoặc cải thiện bệnh. Theo một số phương án, quy trình cụ thể là việc sử dụng một hoặc nhiều tác nhân được liệu.

“Cải thiện” chỉ sự làm giảm nhẹ mức độ trầm trọng của ít nhất một biểu hiện của tình trạng bệnh hoặc bệnh. Theo một số phương án, việc cải thiện bao gồm việc làm trì hoãn hoặc làm chậm trong quá trình tiến triển của một hoặc nhiều biểu hiện của tình trạng bệnh hoặc bệnh. Mức độ trầm trọng của các biểu hiện có thể được xác định bằng phép đo chủ thể hoặc khách thể đã được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

“Đang có nguy cơ phát triển” chỉ tình trạng mà trong đó đối tượng được dự đoán là phát triển tình trạng bệnh hoặc bệnh. Theo một số phương án, đối tượng có nguy cơ phát triển tình trạng bệnh hoặc bệnh biểu hiện một hoặc nhiều triệu chứng của tình trạng bệnh hoặc bệnh, nhưng không biểu hiện số triệu chứng đủ để chẩn đoán mắc tình trạng bệnh hoặc bệnh. Theo một số phương án, đối tượng có nguy cơ phát triển tình trạng bệnh hoặc bệnh biểu hiện một hoặc nhiều triệu chứng của tình trạng bệnh hoặc bệnh, nhưng mức độ nhẹ hơn yêu cầu cần được chuẩn đoán là mắc tình trạng bệnh hoặc bệnh.

“Phòng ngừa sự khởi phát” để chỉ việc phòng ngừa sự phát triển của tình trạng bệnh hoặc bệnh ở đối tượng người mà có nguy cơ phát triển bệnh hoặc tình trạng bệnh. Theo một số phương án, đối tượng có nguy cơ phát triển bệnh hoặc tình trạng bệnh tiếp nhận phép điều trị tương tự như phép điều trị do đối tượng đã mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh tiếp nhận.

“Trì hoãn sự khởi phát” chỉ làm trì hoãn sự phát triển của tình trạng bệnh hoặc bệnh ở đối tượng là người có nguy cơ phát triển bệnh hoặc tình trạng bệnh. Theo một số phương án, đối tượng có nguy cơ phát triển bệnh hoặc tình trạng bệnh tiếp nhận phép điều trị tương tự như phép điều trị do đối tượng đã mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh tiếp nhận.

“Tác nhân trị liệu” là tác nhân được liệu được sử dụng để chữa trị, cải thiện hoặc phòng ngừa bệnh.

“Liều dùng” là lượng cụ thể của tác nhân dược liệu được đề xuất cho một lần sử dụng. Theo một số phương án, một liều có thể được sử dụng trong hai hoặc nhiều viên thuốc to, viên nén, hoặc tiêm. Ví dụ, theo một số phương án, trong đó mong muốn là sử dụng dưới da, liều dùng mong muốn yêu cầu một lượng không dễ được cung cấp bằng một liều tiêm. Theo các phương án này, hai hoặc nhiều liều tiêm có thể đạt được liều mong muốn. Theo một số phương án, một liều có thể được dùng trong hai hoặc nhiều lần tiêm để hạn chế thấp nhất phản ứng tại vị trí tiêm cho đối tượng. Theo một số phương án, một liều được dùng dưới dạng truyền chậm.

“Đơn vị phân liều” là dạng mà trong đó tác nhân dược liệu là được cung cấp. Theo một số phương án, đơn vị phân liều là lọ nhỏ chứa oligonucleotit đông khô. Theo một số phương án, đơn vị phân liều là lọ nhỏ chứa oligonucleotit được hoàn nguyên.

“Lượng có hiệu quả điều trị” chỉ lượng của tác nhân dược liệu tạo ra hiệu quả điều trị cho động vật.

“Dược phẩm” là hỗn hợp gồm nhiều chất thích hợp để sử dụng cho đối tượng bao gồm tác nhân dược liệu. Ví dụ, dược phẩm có thể bao gồm dung dịch nước vô trùng.

“Tác nhân dược liệu” là hợp chất tạo ra hiệu quả trị liệu khi được sử dụng cho đối tượng.

“Thành phần hoạt dược” chỉ hợp chất trong dược phẩm tạo ra hiệu quả mong muốn.

“Chức năng cơ quan được cải thiện” chỉ sự thay đổi về chức năng của cơ quan đến giới hạn bình thường. Theo một số phương án, chức năng cơ quan được đánh giá bằng cách đo các phân tử có trong máu của đối tượng. Ví dụ, theo một số phương án, chức năng gan được cải thiện được đánh giá bằng sự giảm nồng độ transaminaza của gan trong máu.

“Thông số an toàn chấp nhận được” chỉ các thông số về tác dụng phụ mà nằm trong giới hạn chấp nhận được về mặt lâm sàng.

“Tác dụng phụ” chỉ những phản ứng sinh lý có thể quy cho là do phép điều trị ngoài các tác dụng mong muốn. Theo một số phương án, các tác dụng phụ bao gồm, không giới hạn, phản ứng tại vị trí tiêm, bất thường trong kiểm tra chức năng gan, bất thường chức năng thận, gây độc gan, gây độc thận, bất thường ở hệ thần kinh trung

ương, và bệnh cơ. Các tác dụng phụ này có thể được phát hiện trực tiếp hoặc gián tiếp. Ví dụ, tăng mức aminotransferaza trong huyết thanh có thể cho biết gây độc gan hoặc bất thường chức năng gan. Ví dụ, tăng bilirubin có thể cho biết gây độc gan hoặc bất thường chức năng gan.

“Phản ứng tại vị trí tiêm” là phản ứng viêm hoặc đỏ bất thường ở da tại vị trí tiêm của đối tượng.

“Sự tuân thủ của đối tượng” là sự tôn trọng liệu pháp điều trị được khuyến cáo hoặc được kê đơn bởi đối tượng.

“Sự tuân theo” là sự thực hiện theo đúng liệu pháp điều trị được khuyến cáo bởi đối tượng.

“Liệu pháp điều trị được khuyến cáo” là phép điều trị được khuyến cáo bởi chuyên gia y tế để điều trị, cải thiện, làm chậm hoặc phòng ngừa bệnh.

Tổng quan

miR-21 là ARN nhỏ được biểu hiện khắp nơi và có liên quan đến nhiều quá trình của tế bào, bao gồm quá trình biệt hóa tế bào, tăng sinh, sự chết tế bào theo chương trình và sự luân chuyển chất nền. Ngoài ra, miR-21 có liên quan đến nhiều bệnh. miR-21 thường không được điều hòa trong ung thư, và sự ức chế miR-21 đã chứng minh sự giảm sinh trưởng khối u trong một số mô hình ung thư ở động vật. Sự ức chế miR-21 trong mô hình động vật bị phì đại tim đã chứng minh vai trò của miR-21 trong bệnh tim. Vai trò trong bệnh xơ hóa đã được chứng minh trong mô hình động vật bị xơ hóa tim, xơ hóa thận, và xơ hóa phổi. Nghiên cứu về sự ức chế miR-21 trong mô hình nuôi cấy mô đã chứng minh rằng sự ức chế miR-21 thúc đẩy quá trình làm lành vết thương. Do đó, các chất ức chế miR-21 là hữu dụng trong nhiều nghiên cứu và thực hành lâm sàng.

Để xác định khả năng của các chất ức chế miR-21, một số lượng lớn các hợp chất kháng miR-21 đã được thiết kế. Hợp chất được thay đổi về chiều dài, và số lượng, sự sắp xếp, và độ tương đồng của nucleosit hai vòng và nucleosit không vòng đôi. Một loạt các hợp chất ban đầu được thử nghiệm trong thử nghiệm luxiferaza *in vitro*, thử nghiệm này xác định nhóm phụ của hợp chất là hợp chất có hoạt tính *in vitro*. Sau đó, các hợp chất có hoạt tính *in vitro* này được thử nghiệm trong thử nghiệm *in vivo* để xác định các hợp chất là các chất ức chế miR-21 *in vivo* hiệu quả. Từ sàng lọc *in vitro* và *in vivo* ban

đầu, một số hợp chất được chọn là cơ sở để thiết kế các hợp chất bổ sung. Mỗi tương quan quan sát được qua thử nghiệm giữa cấu trúc và hoạt tính (cả *in vitro* và *in vivo*) được sử dụng để thông báo cho việc thiết kế các hợp chất bổ sung này, với những thay đổi hơn nữa về chiều dài và chọn lọc và sắp xếp nucleosit hai vòng và nucleosit không vòng đôi. Các thử nghiệm sàng lọc *in vitro* và *in vivo* sau đó được lặp lại đối với các hợp chất bổ sung này. Một số hợp chất cũng được thử nghiệm về các đặc tính khác, ví dụ, tính nhạy với hoạt tính exonucleaza. Quan sát được rằng hợp chất có hoạt tính *in vitro* mạnh nhất không nhất thiết là hợp chất có hoạt tính *in vivo* mạnh nhất, và hơn nữa một số hợp chất có hoạt tính *in vitro* trung bình lại là hợp chất có hoạt tính *in vivo* cao. Trong số 178 hợp chất được sàng lọc *in vitro* trong quá trình này, 60 hợp chất được xác định là có hoạt tính trong thử nghiệm luxiferaza. Trong số 60 hợp chất có hoạt tính *in vitro* này, một nhóm nhỏ đã được xác định là có hoạt tính *in vivo*. Thông qua quá trình thiết kế và sàng lọc hợp chất lặp lại này, quan sát được rằng hợp chất có các cách sắp xếp cụ thể của các cải biến vòng đôi và không vòng đôi là các chất ức chế miR-21 *in vivo* hiệu quả. Do đó, các hợp chất này là hữu dụng để điều biến các quá trình trong tế bào mà được thúc đẩy nhờ hoạt tính của miR-21. Ngoài ra, các hợp chất này là hữu dụng để điều trị, phòng ngừa và/hoặc làm chậm sự khởi phát bệnh liên quan đến miR-21. Các bệnh này có thể được đặc trưng bởi sự biểu hiện cao bất thường của miR-21, so với các mẫu không bệnh. Các bệnh này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xơ hóa, tổn thương thận cấp tính, phì đại tim, nhồi máu cơ tim, và ung thư. Ngoài ra, các chế phẩm và phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng để thúc đẩy quá trình làm lành vết thương.

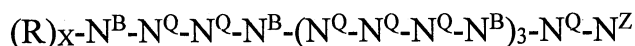
Một số oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21

Sáng chế đề xuất oligonucleotit cải biến có một số trình tự nucleosit vòng đôi và không vòng đôi. Oligonucleotit cải biến có trình tự được xác định trong bản mô tả là các chất ức chế hoạt tính của miR-21 hiệu quả.

Mỗi nucleosit trong trình tự nucleosit được minh họa trong bản mô tả được thể hiện theo chiều từ 5' đến 3'.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 22 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này

bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit I sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó mỗi R là nucleosit không vòng đôi; X là từ 1 đến 4;

mỗi N^B là nucleosit hai vòng;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và

mỗi N^Z là nucleosit cải biến.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, X là 1. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, X là 2. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, X là 3. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, X là 4.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 19 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit sau đây II theo chiều từ 5' đến 3':



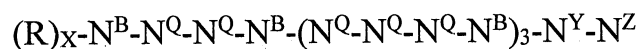
trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng;

mỗi N^B là nucleosit hai vòng;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và

N^Z là nucleosit cải biến.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 22 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit sau đây III theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó mỗi R là nucleosit không vòng đôi; X là từ 1 đến 4;

mỗi N^B là nucleosit hai vòng;

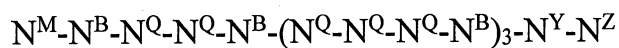
mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi;

N^Y là nucleosit cải biến hoặc nucleosit không cải biến; và

mỗi N^Z là nucleosit cải biến.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, X là 1. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, X là 2. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, X là 3. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, X là 4.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 19 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit sau đây IV theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng;

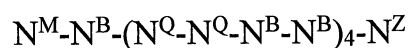
mỗi N^B là nucleosit hai vòng;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi;

N^Y là nucleosit cải biến hoặc nucleosit không cải biến; và

N^Z là nucleosit cải biến.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 19 nucleosit liên kết, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit sau đây V theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng;

mỗi N^B là nucleosit hai vòng;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và

N^Z là nucleosit cải biến.

Các phương án sau đây áp dụng đối với trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả, bao gồm trình tự nucleosit I đến V.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, hoặc 22 nucleosit liền kề của trình tự nucleosit được mô tả trong sáng chế.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung ít nhất 90%, với miR-21 (SEQ ID NO: 1). Theo một số phương án, trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung ít nhất 95%, với (SEQ ID NO: 1). Theo một số phương án, trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung 100% với (SEQ ID NO: 1).

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 sao cho vị trí 1 của ARN nhỏ cặp đôi với nucleobazơ ở đầu tận cùng 3' của oligonucleotit này. Ví dụ:

5' -UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3' (miR-21; SEQ ID NO: 1)

||||||||||||||||

3' -ATCGAATAGTCTGACTACA-5' (kháng miR-21; SEQ ID NO: 3);

5' -UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3' (miR-21; SEQ ID NO: 1)

||||||||||||||||

3' -ATCGAATAGTCTGACTACAACT-5' (kháng miR-21; SEQ ID NO: 4) .

Cần phải hiểu rằng, trong SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4, mỗi "T" trong trình tự này có thể độc lập là nucleobazơ "T" hoặc nucleobazơ "U", và hợp chất này có trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3 hoặc SEQ ID NO: 4 có thể bao gồm toàn bộ T', toàn bộ U', hoặc tổ hợp bất kỳ của U' và T'. Do đó, sự có mặt của "T" ở nhiều vị trí khác nhau trong SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4 trong toàn bộ bản mô tả sáng chế và trong danh mục trình tự đi kèm không giới hạn liệu nucleobazơ cụ thể đó là "T" hay "U."

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, mỗi nucleosit hai vòng được chọn độc lập từ LNA nucleosit, cEt nucleosit, và ENA nucleosit. Theo một số phương án, các gốc đường trong ít nhất hai nucleosit hai vòng khác với gốc đường còn lại. Theo một số phương án, tất cả nucleosit hai vòng có gốc đường giống với gốc còn lại. Theo một số phương án, mỗi nucleosit hai vòng là cEt nucleosit. Theo một số phương án, mỗi nucleosit hai vòng là LNA nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, cEt nucleosit là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, cEt nucleosit là R-cEt nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi được chọn độc lập từ β -D-deoxyribonucleosit, β -D-ribonucleosit, 2'-O-metyl nucleosit, 2'-O-metoxyletyl nucleosit, và 2'-flonucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi được chọn độc lập từ β -D-deoxyribonucleosit, và 2'-O-metoxyletyl nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, ít nhất hai nucleosit không vòng đôi bao gồm gốc đường khác với gốc còn lại và được chọn độc lập từ β -D-deoxyribonucleosit, β -D-ribonucleosit, 2'-O-metyl nucleosit, 2'-O-metoxyletyl nucleosit, và 2'-flonucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, ít nhất hai nucleosit không vòng đôi bao gồm gốc đường khác với gốc còn lại và được chọn độc lập từ β -D-deoxyribonucleosit và 2'-O-metoxyletyl nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi có cùng loại gốc đường và được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit, β -D-ribonucleosit, 2'-O-metyl nucleosit, 2'-O-metoxyletyl nucleosit, và 2'-flonucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, mỗi nucleosit không vòng đôi là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án, mỗi nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metyl nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, không nhiều hơn 3 trong số nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, không nhiều hơn 2 trong số nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, không nhiều hơn 1 trong số nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metoxyletyl nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, một nucleosit không vòng đôi là 2'-MOE nucleosit và nucleosit không vòng đôi còn lại là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án, hai nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metoxyletyl nucleosit và nucleosit không vòng đôi còn lại là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án, ba nucleosit không vòng đôi là 2'-O-metoxyletyl nucleosit và nucleosit không vòng đôi còn lại là β -D-deoxyribonucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, nucleosit không vòng đôi gần nhất đầu 5' và nucleosit không vòng đôi gần nhất đầu 3' là 2'-O-metoxyletyl nucleosit, và nucleosit không vòng đôi còn lại là β -D-deoxyribonucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ I, trong đó X là 4, mỗi nucleosit trong R là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, trong đó X là 4, hai nucleosit trong R là β -D-deoxyribonucleosit và hai nucleosit trong R là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, trong đó X là 4, ba nucleosit trong R là β -D-deoxyribonucleosit và một nucleosit trong R là 2'-O-metoxyletyl nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, R là $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ trong đó N^{R1} là 2'-MOE nucleosit, N^{R2} là β -D-deoxyribonucleosit, N^{R3} là β -D-deoxyribonucleosit, và N^{R4} là β -D-deoxyribonucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, R bao gồm bốn nucleosit liên kết $N^{R1}-N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$, trong đó N^{R1} là 2'-O-metoxyletyl nucleosit và mỗi nucleosit trong $N^{R2}-N^{R3}-N^{R4}$ là β -D-deoxyribonucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 4, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, X là 1 và mỗi nucleosit trong R là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit I, X là 4 và mỗi nucleosit trong R là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 4, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit II, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit II, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit II, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là LNA nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit II, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là LNA nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là LNA nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, R là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; và X là 1. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, R là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; X là 1; và mỗi N^Q là nucleosit không cải biến. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, R là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; X là 1; mỗi N^Q là nucleosit không cải biến; mỗi

N^B được chọn độc lập từ S-cEt nucleosit và LNA nucleosit; và N^Y được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit, 2'-O-metoxyletyl nucleosit, S-cEt nucleosit, và LNA nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, R là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; X là 1; và mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, R là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; X là 1; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; mỗi N^B được chọn độc lập từ S-cEt nucleosit và LNA nucleosit; và N^Y được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit, 2'-O-metoxyletyl nucleosit, S-cEt nucleosit, và LNA nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, R là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; X là 1; mỗi N^Q là nucleosit không cải biến; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; và N^Y được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit, 2'-O-metoxyletyl nucleosit, và S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, R là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; X là 1; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; và N^Y được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit, 2'-O-metoxyletyl nucleosit, và S-cEt nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến trong trình tự III có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit IV, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B được chọn từ S-cEt nucleosit và LNA nucleosit; mỗi N^Q được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit và 2'-O-metoxyletyl nucleosit; N^Y được chọn từ 2'-O-metoxyletyl nucleosit, S-cEt nucleosit, LNA nucleosit, và β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z được chọn từ 2'-O-metoxyletyl nucleosit, LNA nucleosit, và S-cEt nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến trong trình tự IV có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit IV, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit và 2'-O-metoxyletyl nucleosit; N^Y được chọn từ 2'-O-metoxyletyl nucleosit, S-cEt nucleosit, và β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z được chọn từ 2'-O-metoxyletyl nucleosit và S-cEt nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến trong trình tự IV có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit IV, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; N^Y là S-cEt nucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến trong trình tự IV có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit V, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B được chọn từ S-cEt nucleosit và LNA nucleosit; mỗi N^Q được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit và 2'-O-metoxyletyl nucleosit; và N^Z được chọn từ 2'-O-metoxyletyl nucleosit, LNA nucleosit, và S-cEt nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến trong trình tự V có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit V, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z được chọn từ 2'-O-metoxyletyl nucleosit và S-cEt nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến trong trình tự V có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit V, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến trong trình tự V có trình tự nucleobazơ là SEQ ID NO: 3, trong đó mỗi T trong trình tự này được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có trình tự nucleobazơ và các cải biến như được thể hiện trong Bảng 1. Các cải biến nucleosit được thể hiện như sau: nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "E" là 2'-MOE nucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "L" là LNA nucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "S" là S-cEt nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit. Chỉ số dưới "Me" biểu thị nhóm 5-metyl trên gốc bazơ của nucleosit.

Bảng 1: Các hợp chất kháng miR-21

Hợp chất số	Trình tự và hóa học (5' đến 3')	SEQ ID NO
25068	$T_E^{Me}C_EA_EA_EC_SA_ET_CSA_EG_ET_CST_EGA_EU_SA_EA_EG_ECSTA_E$	4
25070	$A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E$	3
25072	$A_EC_SA_ET_CSA_EG_ET_CST_EGA_EU_SA_EA_EG_ECSTA_E$	3
25082	$T_E^{Me}CAAC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E$	4
25922	$A_E^{Me}C_SAT^{Me}C_SAGT^{Me}C_STGAT_SAAG^{Me}C_STA_E$	3
25923	$A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_S$	3
25924	$A_E^{Me}C_SAT^{Me}C_SAGT^{Me}C_STGAT_SAAG^{Me}C_STA_S$	3
25114	$A_E^{Me}C_LAT^{Me}C_LAGT^{Me}C_LTGAT_LAAG^{Me}C_LTA_E$	3
25115	$A_E^{Me}C_LAT^{Me}C_LAGT^{Me}C_LTGAT_LAAG^{Me}C_LTA_L$	3
25221	$A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_SU_SA_S$	3
25220	$A_EC_SATC_SA_SGTC_SU_SGAU_SA_SAGC_SU_SA_E$	3

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, oligonucleotit cải biến bao gồm 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, hoặc 22 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit nêu trong trình tự nucleosit I. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit nêu trong trình tự nucleosit II. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit nêu trong trình tự nucleosit III. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit nêu trong trình tự nucleosit IV. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit nêu trong trình tự nucleosit V.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế bao gồm ít nhất một liên kết giữa các nucleosit được cải biến. Theo một số phương án, mỗi liên kết giữa các nucleosit là liên kết giữa các nucleosit được cải

biến. Theo một số phương án, liên kết giữa các nucleosit được cải biến này là liên kết phosphothioat giữa các nucleosit.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ trong đó ít nhất một nucleobazơ là xytosin. Theo một số phương án, ít nhất một xytosin là 5-metyl xytosin. Theo một số phương án, mỗi xytosin là 5-metyl xytosin. Theo một số phương án, ít nhất một nucleosit bao gồm nucleobazơ được cải biến.

Oligonucleotit cải biến có thể trải qua phản ứng cắt bởi exonucleaza và/hoặc endonucleaza ở các vị trí khác nhau trong toàn oligonucleotit cải biến này. Các sản phẩm của phản ứng cắt bằng enzym này có thể duy trì hoạt tính ức chế miR-21, và do đó được xem là các chất chuyển hóa có hoạt tính. Do đó, sản phẩm chuyển hóa của oligonucleotit cải biến có thể được sử dụng trong các phương pháp được mô tả trong sáng chế.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit được chọn từ Bảng 2A, trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; mỗi N^B là nucleosit hai vòng; mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và N^Z là nucleosit cải biến.

Bảng 2A: Sản phẩm chuyển hóa có trình tự nucleosit II

5'																		3'
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^Z
	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^Z
		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^Z
			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^Z
				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^Z
					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^Z
						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^Z
							N^Q	N^B	N^Q	N^Q	N^Q	N^B	N^Q	N^Q	N^Q	N^B	N^Q	N^Z
								N^B	N^Q	N^Q	N^Q	N^B	N^Q	N^Q	N^Q	N^B	N^Q	N^Z
									N^Q	N^Q	N^Q	N^B	N^Q	N^Q	N^Q	N^B	N^Q	N^Z
										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 ^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 ^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 ^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 ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B		
						N ^Q	N ^B	N ^Q	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 ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B		
							N ^B	N ^Q	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 ^Q	N ^B	N ^Q	
								N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B		
									N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit được chọn từ Bảng 2B, trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; mỗi N^B là nucleosit hai vòng; mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; N^Y là nucleosit cải biến hoặc nucleosit không cải biến; và N^Z là nucleosit cải biến.

Bảng 2B: Sản phẩm chuyển hóa có trình tự nucleosit IV

5'																		3'
----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

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 ^Y	N ^Z
	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 ^Y	N ^Z
		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 ^Y	N ^Z
			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 ^Y	N ^Z
				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 ^Y	N ^Z
					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 ^Y	N ^Z
						N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	N ^Z
							N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	N ^Z
								N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	N ^Z
									N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	N ^Z
										N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	N ^Z
											N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	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 ^Y	
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 ^Y	
	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 ^Y	
		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 ^Y	
			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 ^Y	
				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 ^Y	
					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 ^Y	
						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 ^Y	
							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 ^Y	
								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 ^Y	
									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 ^Y	

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit được chọn từ Bảng 2C, trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng; mỗi N^B là nucleosit hai vòng; mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và N^Z là nucleosit cải biến.

Bảng 2C: Sản phẩm chuyển hóa có trình tự nucleosit VII

5'																		3'
N ^M	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
		N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
			N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
				N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
					N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
						N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
							N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
								N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
									N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
										N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
											N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z
N ^M	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	
N ^M	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B		
	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	
	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B		

		N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	
		N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B		
			N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	
			N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B		
				N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	
				N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B		
					N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	
					N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B		
						N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	
						N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B		
						N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B		
						N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B			
							N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B		
							N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B			
								N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B		
								N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B			
								N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^B				

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit và trình tự nucleobazơ được chọn từ Bảng 3A. Nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “E” là 2’-MOE nucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “S” là S-cEt nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit. Nucleobazơ có thể có hoặc không bao gồm nhóm metyl ở vị trí 5’.

Bảng 3A: Sản phẩm chuyển hóa của hợp chất số 25070

5’																		3’
N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	N ₅	N ₆	N ₇	N ₈	N ₉	N ₁₀	N ₁₁	N ₁₂	N ₁₃	N ₁₄	N ₁₅	N ₁₆	N ₁₇	N ₁₈	N ₁₉
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

	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
										G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
											A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _E
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	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	

								C _s	T	G	A	U _s	A	A	G	C _s		
									T	G	A	U _s	A	A	G	C _s	T	
									T	G	A	U _s	A	A	G	C _s		
										G	A	U _s	A	A	G	C _s	T	

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit và trình tự nucleobazơ được chọn từ Bảng 3B. Nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “E” là 2’-MOE nucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “S” là S-cEt nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit. Nucleobazơ có thể có hoặc không bao gồm nhóm methyl ở vị trí 5’.

Bảng 3B: Sản phẩm chuyển hóa của hợp chất số 25923

5'																		3'
N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	N ₅	N ₆	N ₇	N ₈	N ₉	N ₁₀	N ₁₁	N ₁₂	N ₁₃	N ₁₄	N ₁₅	N ₁₆	N ₁₇	N ₁₈	N ₁₉
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
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
										G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
											A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S
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	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	

						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
										G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit và trình tự nucleobazơ được chọn từ Bảng 3C. Nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “E” là 2’-MOE nucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “S” là S-cEt nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit. Nucleobazơ có thể có hoặc không bao gồm nhóm methyl ở vị trí 5’.

Bảng 3C: Sản phẩm chuyển hóa của hợp chất số 25221

5'																		3'
N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	N ₅	N ₆	N ₇	N ₈	N ₉	N ₁₀	N ₁₁	N ₁₂	N ₁₃	N ₁₄	N ₁₅	N ₁₆	N ₁₇	N ₁₈	N ₁₉
A _E	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S

										G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
											A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S
A _E	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
A _E	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S		
										G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit và trình tự nucleobazơ được chọn từ Bảng 3D. Nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “E” là 2’-MOE nucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “S” là S-cEt nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết

phosphothioat bên trong nucleosit. Nucleobazơ có thể có hoặc không bao gồm nhóm methyl ở vị trí 5'.

Bảng 3D: Sản phẩm chuyển hóa của hợp chất số 25220

5'																		3'
N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	N ₅	N ₆	N ₇	N ₈	N ₉	N ₁₀	N ₁₁	N ₁₂	N ₁₃	N ₁₄	N ₁₅	N ₁₆	N ₁₇	N ₁₈	N ₁₉
A _E	C _S	A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
	C _S	A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
		A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
			T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
				C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
					A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
						G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
							T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
								C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
									U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
										G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
											A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E
A _E	C _S	A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	
A _E	C _S	A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S		
	C _S	A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	
	C _S	A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S		
		A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	
		A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S		
			T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	
			T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S		
				C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	
				C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S		
					A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	

						As	G	T	Cs	Us	G	A	Us	As	A	G	Cs		
							G	T	Cs	Us	G	A	Us	As	A	G	Cs	Us	
							G	T	Cs	Us	G	A	Us	As	A	G	Cs		
								T	Cs	Us	G	A	Us	As	A	G	Cs	Us	
								T	Cs	Us	G	A	Us	As	A	G	Cs		
									Cs	Us	G	A	Us	As	A	G	Cs	Us	
									Cs	Us	G	A	Us	As	A	G	Cs		
										Us	G	A	Us	As	A	G	Cs	Us	
										Us	G	A	Us	As	A	G	Cs		
											G	A	Us	As	A	G	Cs	Us	

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm nhiều hơn 19 nucleosit liên kết, và bao gồm trình tự nucleosit được mô tả trong bản mô tả. Nucleosit có mặt ngoài nucleosit được mô tả bởi trình tự nucleosit này có thể được cải biến hoặc không được cải biến. Ví dụ, oligonucleotit cải biến bao gồm 21 nucleosit liên kết và có trình tự nucleobazơ bổ sung với miR-21 có thể có trình tự nucleosit II, có chiều dài 19 nucleosit liên kết. Hai nucleosit bổ sung này có thể có chứa gốc đường được cải biến hoặc không được cải biến. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 19 nucleosit liên kết và bao gồm trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 20 nucleosit liên kết và bao gồm trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 21 nucleosit liên kết và bao gồm trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 22 nucleosit liên kết và bao gồm trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 23 nucleosit liên kết và bao gồm trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 24 nucleosit liên kết và bao gồm trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 25 nucleosit liên kết và bao gồm trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả.

Sử dụng theo sáng chế

Điều biến hoạt tính của miR-21

Các hợp chất theo sáng chế là các chất ức chế đặc hiệu và hiệu quả hoạt tính của miR-21, và do đó hữu dụng để điều biến hoạt tính của miR-21.

ARN nhỏ liên kết và ức chế sự biểu hiện của ARN thông tin. Trong một số trường hợp, sự ức chế hoạt tính của ARN nhỏ dẫn đến sự giải ức chế ARN thông tin, có nghĩa là sự biểu hiện của ARN thông tin được tăng lên ở mức ARN và/hoặc protein. Sáng chế đề xuất phương pháp điều biến sự biểu hiện của các thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21, bao gồm việc cho tế bào tiếp xúc với hợp chất theo sáng chế, trong đó hợp chất này bao gồm oligonucleotit cải biến có trình tự bổ sung với miR-21.

Theo một số phương án, thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21 là YOD1, và việc ức chế miR-21 dẫn đến sự tăng mức ARN thông tin YOD1. Theo một số phương án, thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21 là PPAR-alpha, và việc ức chế miR-21 dẫn đến sự tăng mức ARN thông tin PPAR-alpha. Theo một số phương án, thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21 là RNF167.

Theo một số phương án, thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21 là SPG20. Theo một số phương án, sự ức chế miR-21 ở gan dẫn đến sự tăng mức ARN thông tin SPG20.

Theo một số phương án, sau khi cho tế bào tiếp xúc với hợp chất theo sáng chế, quan sát được mức ARN thông tin của thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21 tăng lên ít nhất 1,5 lần. Theo một số phương án, sau khi cho tế bào tiếp xúc với hợp chất theo sáng chế, quan sát được mức ARN thông tin của thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21 tăng lên ít nhất 2,0 lần. Theo một số phương án, mức ARN thông tin của thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ tăng lên ít nhất 2,5 lần. Theo một số phương án, mức ARN thông tin của thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ tăng lên ít nhất 3,0 lần. Theo một số phương án, mức ARN thông tin của thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ tăng lên ít nhất 3,5 lần. Theo một số phương án, mức ARN thông tin của thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ tăng lên ít nhất 4,0 lần. Theo một số phương án, mức ARN thông tin của thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ tăng lên ít nhất 4,5 lần. Theo một số phương án, mức ARN thông tin của thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ tăng lên ít nhất 5,0 lần.

Một số ARN nhỏ đã biết là hướng đích một số ARN thông tin, trong một số trường hợp là hàng trăm ARN thông tin. Sự ức chế hoạt tính của một ARN nhỏ có thể dẫn đến sự thay đổi phát hiện được trong biểu hiện nhiều đích của ARN nhỏ. Sáng chế đề xuất phương pháp điều biến nhiều thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21, bao gồm việc ức chế hoạt tính của miR-21, trong đó xảy ra sự thay đổi biểu hiện gen diện rộng.

Theo một số phương án, có thể quan sát được sự thay đổi kiểu hình sau khi ức chế miR-21 bằng hợp chất theo sáng chế. Sự thay đổi kiểu hình này có thể xảy ra mà có hoặc không có sự thay đổi phát hiện được về biểu hiện của thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21.

Rối loạn tăng sinh

Đáp ứng sinh lý bình thường đối với những hư hại hoặc tổn thương ở cơ quan hoặc mô bao gồm quá trình làm lành mô bị tổn thương, đây là một quá trình sinh học cơ bản cần thiết để tồn tại. Trong quá trình làm lành này, sau khi các vật thể ngoại lai, vi khuẩn và mô bị hư hại bị loại bỏ, nguyên bào sợi di chuyển đến vị trí tổn thương để tạo lớp nền ngoại bào mới, lớp nền này sau đó được tổ chức về mặt cấu trúc như một phần của giai đoạn tổ chức lại mô.

Nguyên bào sợi là tế bào được tìm thấy nhiều nhất trong mô liên kết, và chịu trách nhiệm tổng hợp reticulin và các sợi đàn hồi khác làm giá đỡ cho chất nền ngoại bào và đóng vai trò là một phần quan trọng trong việc làm lành vết thương thông thường (Sempowski, G.D. et al., 2002. Wound Repair Regeneration. 3: 120-131). Nguyên bào sợi chịu trách nhiệm cho việc phủ collagen, cần thiết để làm lành mô bị tổn thương và phục hồi cấu trúc và chức năng của nó. Trong quá trình làm lành vết thương, nguyên bào sợi đã được hoạt hóa được chuyển dạng thành nguyên bào sợi cơ, là nguyên bào sợi tiết collagen alpha-SMA+. Trong giai đoạn đầu của quá trình làm lành vết thương, nguyên bào sợi cơ tạo ra metaloproteaza nền, enzym này phá hủy màng đáy và cho phép tế bào viêm tụ tập một cách hiệu quả đến vị trí tổn thương. Trong giai đoạn sau của quá trình làm lành tổn thương, nguyên bào sợi cơ thúc đẩy sự co vết thương, quá trình mà qua đó các mép của vết thương di chuyển đến tâm của vết thương. Do đó, hoạt tính của nguyên bào sợi là cần thiết cho quá trình làm lành vết thương thông thường.

Nguyên bào sợi mà tham gia vào quá trình làm lành tổn thương thông thường có thể có nguồn gốc từ tế bào trung mô tại chỗ, được thu nạp từ tủy xương, hoặc bắt nguồn

từ quá trình chuyển tiếp biểu mô-trung mô. Quá trình chuyển tiếp biểu mô-trung mô (Epithelial-mesenchymal transition-EMT) mô tả một loạt sự thay đổi nhanh chóng về kiểu hình của tế bào (Kalluri, R. và Neilson, E.G. 2003. J. Clin. Invest. 112: 1776-1784) trong suốt quá trình này tế bào biểu mô không thay đổi mất sự tiếp xúc tế bào-tế bào, đạt được các đặc tính của trung mô và biểu hiện kiểu hình di trú. Nguyên bào sợi lưu trú, thâm nhiễm tế bào sợi hoặc tế bào tương tự tế bào ngoại mạch cũng có thể tham gia vào quá trình phục hồi tổn thương.

Trong một số điều kiện, quá trình làm lành mô xảy ra quá mức, dẫn đến sự tích tụ dư thừa các thành phần của chất nền ngoại bào (ECM) và tổ chức lại vật chất của ECM, góp phần vào sự hình thành vết sẹo xơ vĩnh viễn. Sự hình thành mô liên kết sợi quá mức này, một quá trình đã biết là xơ hóa, góp phần vào sự thay đổi bất thường trong cấu trúc mô và tác động đến chức năng của các cơ quan bình thường.

Xơ hóa có thể xảy ra ở bộ phận bất kỳ *in vivo*, và có thể bắt nguồn từ các tổn thương khác nhau bao gồm tổn thương thân thể, trao đổi chất, thiếu máu cục bộ, nhiễm trùng, viêm hoặc tổn thương miễn dịch. Mặc dù, vị trí trên cơ thể, nguồn gốc, và biểu hiện lâm sàng của xơ hóa có thể đa dạng, nhưng đều có các dấu hiệu bệnh lý quan trọng chung cho tất cả các dạng xơ hóa. Không kể đến vị trí xảy ra xơ hóa, quá trình xơ hóa bao gồm sự tiết và hoạt hóa các xytokin tiền xơ hóa, sự mở rộng và hoạt hóa quần thể tế bào trung mô, tổng hợp và tổ chức lại chất nền ngoại bào, và cuối cùng dẫn đến phá hủy mô bình thường. Xơ hóa nếu không được điều trị có thể dẫn đến nhiều tình trạng bệnh ở mô khác nhau bao gồm tim, phổi, thận, gan, mắt và da.

Như đã chứng minh trong bản mô tả, sự ức chế miR-21 trong mô hình xơ hóa dẫn đến giảm lắng đọng collagen. Do đó, sáng chế đề xuất các chế phẩm và phương pháp để điều trị, phòng ngừa, và/hoặc làm chậm sự khởi phát xơ hóa, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất chứa oligonucleotit cải biến, trong đó oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21. Đối tượng này có thể đã tiếp nhận chẩn đoán bệnh xơ hóa, có thể có nguy cơ phát triển xơ hóa, hoặc có thể bị nghi ngờ mắc xơ hóa.

Theo một số phương án, đối tượng mắc xơ hóa bị xơ hóa thận, xơ hóa phổi, xơ hóa gan, xơ hóa tim, xơ hóa da, xơ hóa do tuổi già, xơ hóa lách, xơ cứng bì, hoặc xơ hóa sau cấy ghép.

Nhiều bệnh hoặc bất thường ở thận được đặc trưng bởi sự có mặt của xơ hóa. Do đó, hợp chất theo sáng chế hữu dụng để điều trị, cải thiện, phòng ngừa, và/hoặc làm chậm sự khởi phát bệnh thận bất kỳ mà được đặc trưng bởi sự có mặt của xơ hóa. Theo một số phương án, đối tượng mắc xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh thận. Theo một số phương án, đối tượng có nguy cơ phát triển xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh thận. Theo một số phương án, đối tượng nghi ngờ mắc xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh thận. Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng mắc, có nguy cơ phát triển, hoặc nghi ngờ mắc xơ hóa, trong đó đối tượng này bị bệnh hoặc tình trạng bệnh thận. Bệnh hoặc tình trạng bệnh thận có thể là một hoặc nhiều trong số các bệnh sau, không giới hạn, bệnh tiểu cầu, xơ cứng ống thận mô kẽ, bệnh thận IgA, xơ hóa mô kẽ/teo ống thận, xơ cứng tiểu cầu thận, viêm thận tiểu cầu, đái tháo đường, xơ cứng tiểu cầu thận từng phần cục bộ nguyên phát, bệnh màng thận, bệnh cầu thận phá hủy, nhiễm trùng thận mạn tái phát, đái tháo đường, bệnh thận do đái tháo đường, nhiễm trùng thận mạn tái phát, tăng huyết áp, tăng huyết áp toàn thân, tăng huyết áp trong cầu thận, hoặc bệnh lý thận giai đoạn cuối.

Bệnh thận mạn tính có thể được đặc trưng bởi sự có mặt của xơ hóa. Do đó, theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh thận là bệnh thận mạn tính. Theo một số phương án, đối tượng có nguy cơ phát triển bệnh thận mạn tính. Theo một số phương án, đối tượng có tổn thương thận cấp tính có nguy cơ phát triển xơ hóa và/hoặc bệnh thận mạn tính. Do đó, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng cho đối tượng mắc tổn thương thận cấp tính, để phòng ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát xơ hóa và/hoặc bệnh thận mạn tính.

Theo một số phương án, đối tượng mắc xơ hóa bị xơ hóa thận do chấn thương thận cấp tính hoặc tái diễn. Chấn thương này có thể do phẫu thuật, liệu pháp hóa trị, xạ trị, đào thải mô ghép, đào thải mô cấy ghép mạn tính, và đào thải mô cấy ghép cấp tính.

Theo một số phương án, xơ hóa thận có thể do tiếp xúc với tác nhân bất kỳ có thể là độc tố hại thận sau khi phơi nhiễm cấp hoặc mạn tính. Các tác nhân này bao gồm tác nhân dược liệu, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở thuốc giảm đau, thuốc kháng viêm không thuộc nhóm steroid, thuốc kháng sinh, lithi, cyclosporin, mesalazin, chất cản quang, tác nhân hóa trị liệu; độc tố nghề nghiệp, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở kim loại nặng; và các độc tố từ môi trường, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở kim

loại nặng (ví dụ catmi, thủy ngân clorua) hoặc độc tố hại thận từ thực vật (ví dụ axit aristolochic).

Nhiều bệnh hoặc bất thường ở gan được đặc trưng bởi sự có mặt của xơ hóa. Do đó, theo một số phương án, đối tượng mắc xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh gan. Theo một số phương án, đối tượng có nguy cơ phát triển xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh gan. Theo một số phương án, đối tượng nghi ngờ mắc xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh gan. Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng mắc, có nguy cơ phát triển, hoặc nghi ngờ mắc xơ hóa, trong đó đối tượng bị bệnh hoặc tình trạng bệnh gan. Theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh gan có thể là một hoặc nhiều bệnh sau, không giới hạn ở, tổn thương gan mạn tính, viêm gan do nhiễm virus (bao gồm viêm gan C và viêm gan B), bệnh mỡ gan không do uống rượu (NAFLD), gan nhiễm mỡ không liên quan đến uống rượu (NASH), bệnh gan do uống rượu (ALD), gan nhiễm mỡ do uống rượu, xơ hóa cầu, hoặc xơ gan. Theo một số phương án bệnh hoặc tình trạng bệnh gan có liên quan đến việc tiếp xúc với hóa chất độc. Theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh gan là do tiếp xúc với tác nhân dược liệu, ví dụ acetaminophen. Theo một số phương án, đối tượng tiếp nhận liệu pháp hóa trị có nguy cơ bị xơ gan và/hoặc tổn thương gan mạn tính.

Xơ hóa có thể có ở nhiều bệnh hoặc bất thường ở phổi. Do đó, theo một số phương án, đối tượng mắc xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh phổi. Theo một số phương án, đối tượng có nguy cơ phát triển xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh phổi. Theo một số phương án, đối tượng nghi ngờ mắc xơ hóa bị bệnh hoặc tình trạng bệnh phổi. Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng mắc, có nguy cơ phát triển, hoặc nghi ngờ mắc xơ hóa, trong đó đối tượng bị bệnh hoặc tình trạng bệnh phổi. Theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh phổi có thể là một hoặc nhiều bệnh sau, không giới hạn, xơ hóa phổi, xơ hóa phổi nguyên phát, hoặc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính. Theo một số phương án, xơ hóa phổi may là do hít phải các chất dạng hạt, như các chất trong silica gel, amiăng, chất ô nhiễm trong không khí hoặc khói thuốc lá.

Theo một số phương án bệnh xơ hóa là xơ hóa tim.

Theo một số phương án bệnh xơ hóa là xơ hóa da. Theo một số phương án bệnh xơ hóa là xơ hóa do tuổi già. Theo một số phương án bệnh xơ hóa là xơ hóa lách.

Xơ cứng bì là bệnh tự miễn mạn tính được đặc trưng bởi xơ hóa, cùng với các triệu chứng khác. Theo một số phương án, đối tượng mắc xơ hóa bị xơ cứng bì. Theo một số phương án, đối tượng mắc xơ cứng bì bị xơ hóa trong các cơ quan bên trong, ngoài xơ hóa da.

Xơ hóa thường xảy ra trong các cơ quan được cấy ghép, dẫn đến làm mất chức năng của cơ quan và cuối cùng là đào thải mạn tính cơ quan được cấy ghép. Phòng ngừa hoặc điều trị xơ hóa trong cơ quan được cấy ghép có thể phòng ngừa hoặc làm chậm sự đào thải mạn tính cơ quan được cấy ghép, hoặc nói theo cách khác là có thể kéo dài hoạt động của cơ quan được cấy ghép. Do đó, theo một số phương án, đối tượng bị xơ hóa sau cấy ghép. Theo một số phương án, xơ hóa sau cấy ghép là xơ hóa thận sau cấy ghép. Theo một số phương án, cấy ghép đi kèm với xơ hóa là xơ hóa gan sau cấy ghép. Theo một số phương án, hợp chất được mô tả trong bản mô tả được dùng trước khi cấy ghép. Theo một số phương án, hợp chất được mô tả trong bản mô tả được dùng đồng thời với cấy ghép. Theo một số phương án, hợp chất được mô tả trong bản mô tả được dùng sau khi cấy ghép.

Sáng chế đề xuất phương pháp để điều trị đối tượng mắc rối loạn tăng sinh nguyên bào sợi. Theo một số phương án, các phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho đối tượng mắc hoặc nghi ngờ mắc rối loạn tăng sinh nguyên bào sợi oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ bổ sung với miARN hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án, miARN là miR-21.

Ung thư và di căn

Biểu hiện của miR-21 cao bất thường đã được chứng minh trong nhiều loại ung thư. Ngoài ra, sự ức chế miR-21 trong mô hình *in vitro* và *in vivo* đã chứng minh rằng các chất ức chế miR-21 là hữu dụng để ức chế các quá trình tế bào mà hỗ trợ cho sinh trưởng của tế bào ung thư, cũng như để điều trị bệnh ung thư.

Do đó, theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được sử dụng để điều trị, phòng ngừa, cải thiện, và/hoặc làm chậm sự khởi phát ung thư. Theo một số phương án, bệnh ung thư là ung thư gan, ung thư vú, ung thư phổi, ung thư ruột kết, ung thư buồng trứng, ung thư cổ tử cung, bệnh bạch cầu, u lympho, ung thư não, ung thư thực quản, U lympho Hodgkin, u lympho không Hodgkin, ung thư thận, u melanin, u tủy, ung thư miệng, ung thư tụy, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư trực tràng, ung thư dạ dày, ung thư

bằng quang, ung thư tuyến giáp, hoặc ung thư tinh hoàn. Theo một số phương án, ung thư gan là ung thư biểu mô tế bào gan. Theo một số phương án, ung thư gan là do di căn của ung thư bắt nguồn từ bộ phận khác in vivo, ví dụ ung thư xương, ung thư ruột kết hoặc ung thư vú.

Theo một số phương án, trong ung thư gan, miR-21 tăng và nồng độ của một hoặc nhiều thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21 giảm. Theo một số phương án, thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21 giảm là SPG20.

Theo một số phương án, ung thư gan là ung thư biểu mô tế bào gan (HCC). Chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan thường được thực hiện bằng kiểm tra hình ảnh gan như siêu âm ổ bụng, chụp cắt lớp vi tính (CT) xoắn ốc hoặc chụp CT ba pha. Các kiểm tra hình ảnh này có thể được thực hiện cùng với việc đo nồng độ trong máu của alpha-fetoprotein và/hoặc des-gamma-carboxyprothrombin. Trong một số đối tượng, có thể sử dụng MRI thay cho chụp CT. Kiểm tra hình ảnh gan cho phép đánh giá kích thước, số lượng, vị trí của khối u, sự di căn ra bên ngoài gan, sự mở rộng và hoặc xâm lấn của khối u vào động mạch và tĩnh mạch gan. Đánh giá này nhằm mục đích để xác định phương pháp điều trị hoặc biện pháp can thiệp chữa trị thích hợp. Chẩn đoán cuối cùng thường được xác nhận bằng sinh thiết kim tiêm và kiểm tra mô bệnh học.

Do đó, theo một số phương án, ung thư gan được phát hiện sau khi chụp cắt lớp vi tính (CT) phát hiện ra khối u. Theo một số phương án, ung thư gan được phát hiện sau khi chụp cộng hưởng từ (MRI). Theo một số phương án, HCC được đặc trưng bởi một khối u nguyên phát. Theo một số phương án, HCC được đặc trưng bởi nhiều khối u nguyên phát. Theo một số phương án, HCC được đặc trưng bởi khối u nguyên phát được xác định xấu với dạng phát triển thâm nhiễm. Theo một số phương án, HCC là một khối u nguyên phát có xâm lấn vào mạch máu. Theo một số phương án, HCC được đặc trưng bởi nhiều khối u nguyên phát có xâm lấn vào mạch máu. Theo một số phương án, HCC đã di căn đến một hoặc nhiều hạch bạch huyết. Theo một số phương án, hạch bạch huyết là hạch bạch huyết vùng. Theo một số phương án, HCC đã di căn đến một hoặc nhiều mô ở xa. Theo một số phương án, HCC đã di căn đến các vùng khác của gan, tĩnh mạch cửa, hạch bạch huyết, tuyến thượng thận, xương hoặc phổi. Theo một số phương án, xơ hóa đã diễn ra.

Một số hệ thống đã được sử dụng để dự báo tiên lượng bệnh HCC, bao gồm hệ TNM, hệ Okuda, Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) và lõi CLIP. Mỗi hệ thống này kết hợp bốn đặc tính đã được công nhận là các yếu tố quyết định quan trọng của sự sống: mức độ trầm trọng của bệnh gan, kích thước khối u, sự mở rộng của khối u sang cấu trúc lân cận, và sự xuất hiện di căn. Hệ TNM phân loại HCC thành giai đoạn I, II, III, IV, hoặc V. BCLC phân loại HCC thành giai đoạn A1, A2, A3, A4, B, C, và D, và bao gồm việc xem xét chấm điểm Child-Pugh.

Theo một số phương án, ung thư gan được chia thành giai đoạn Giai đoạn 1, Giai đoạn 2, Giai đoạn 3A, Giai đoạn 3B, Giai đoạn 3C, hoặc Giai đoạn 4. Giai đoạn 1 được đặc trưng bởi ung thư có kích thước không lớn hơn 2 cm và chưa bắt đầu lan tỏa. Ở Giai đoạn 2, ung thư tấn công vào mạch máu trong gan, hoặc có nhiều hơn một khối u trong gan. Ở Giai đoạn 3A, ung thư có kích thước lớn hơn 5 cm và đã xâm lấn vào mạch máu gần gan. Ở Giai đoạn 3B, ung thư đã xâm lấn vào các cơ quan lân cận, như ruột hoặc dạ dày, nhưng chưa xâm lấn vào hạch bạch huyết. Ở Giai đoạn 3C ung thư có thể có kích thước bất kỳ và đã xâm lấn vào gần hạch bạch huyết. Ở Giai đoạn 4 ung thư đã xâm lấn vào các bộ phận của cơ thể ở cách xa gan hơn, như phổi.

Các dấu chỉ sinh học ở máu của đối tượng có thể được sử dụng để củng cố chẩn đoán ung thư gan, giai đoạn ung thư gan, hoặc phát triển tiên lượng về sự sống sót. Các dấu chỉ sinh học này bao gồm các dấu chỉ sinh học của khối u trong máu, như alpha-fetoprotein và des-gamma carboxyprothrombin. Theo một số phương án, đối tượng có nồng độ alpha-fetoprotein trong máu tăng. Theo một số phương án đối tượng có nồng độ des-gamma carboxyprothrombin trong máu tăng.

Đối tượng mắc ung thư gan còn có thể có chức năng gan bất thường. Chức năng gan có thể được đánh giá bằng các thử nghiệm về chức năng gan, thử nghiệm này đo, ngoài các dấu chỉ khác, nồng độ transaminaza của gan trong máu. Theo một số phương án, đối tượng có chức năng gan bất thường có nồng độ transaminaza của gan trong máu tăng. Transaminaza của gan trong máu bao gồm alanin aminotransferaza (ALT) và aspartat aminotransferaza (AST). Theo một số phương án, đối tượng có chức năng gan bất thường có bilirubin trong máu tăng. Theo một số phương án, đối tượng có nồng độ albumin trong máu bất thường.

Theo một số phương án, chức năng gan của đối tượng được đánh giá bằng hệ phân loại Child-Pugh, hệ này xác định ba loại chức năng gan. Trong hệ thống phân loại này, các điểm được quy định cho phép đo một trong năm hợp chất: nồng độ bilirubin, nồng độ albumin, thời gian prothrombin, dịch cổ trướng, và bệnh não. Một điểm được quy định cho mỗi đặc tính trong số các đặc tính có mặt sau đây: bilirubin máu ít hơn 2,0 mg/dl; albumin máu nhiều hơn 3,5 mg/dl; thời gian prothrombin ít hơn 1,7 tỉ số chuẩn hóa quốc tế (INR); không có dịch cổ trướng; hoặc không có bệnh não. Hai điểm được quy định cho mỗi đặc tính trong số các đặc tính có mặt sau đây: bilirubin máu là 2-3 mg/dl; bilirubin máu là 3,5 đến 2,8 mg/dl; thời gian prothrombin là 1,7-2,3 INR; dịch cổ trướng nhẹ đến trung bình; hoặc bệnh não nhẹ. Ba điểm được quy định cho mỗi đặc tính trong số các đặc tính có mặt sau đây: bilirubin nhiều hơn 3,0 mg/dl; albumin máu ít hơn 2,8 mg/dl; thời gian prothrombin nhiều hơn 2,3 INR; dịch cổ trướng trầm trọng đến khó chữa; hoặc bệnh não trầm trọng. Cộng điểm lại và xếp Loại A với 5-6 điểm, Loại B với 7-9 điểm, và Loại C với 10-15 điểm,

Đối tượng mắc ung thư gan có thể mắc trước, hoặc đồng thời mắc viêm gan C mạn tính, viêm gan B mạn tính, bệnh gan nhiễm mỡ không do uống rượu hoặc xơ gan. Đối tượng mắc ung thư gan đồng thời với và/hoặc do viêm gan C, viêm gan B, bệnh gan nhiễm mỡ không do uống rượu, hoặc xơ gan có thể được điều trị bằng các phương pháp được mô tả trong bản mô tả.

Đáp ứng của đối tượng đối với phép điều trị có thể được đánh giá bằng các thử nghiệm tương tự như các thử nghiệm đã được sử dụng để chẩn đoán ung thư gan, bao gồm, không giới hạn, chụp CT, MRI, và sinh thiết kim tiêm. Đáp ứng đối với phép điều trị cũng có thể được đánh giá bằng cách đo các dấu chỉ sinh học trong máu, để so sánh với nồng độ của các dấu chỉ sinh học trước khi điều trị.

miR-21 cũng liên quan đến quá trình di căn. Trong khi EMT không xảy ra trong quá trình sinh lý bình thường, EMT có liên quan đến quá trình di căn. Sự liên quan của EMT trong quá trình tiến triển khối u đã được phát hiện trong một số nghiên cứu (Greenburg, G. and Hay, E. 1986. *Dev. Biol.* 115: 363-379; Boyer, B. et al., 1989. *J. Cell. Biol.* 109: 1495-1509; Uehara, Y. et al., 1992. *J. Cell. Biol.* 117: 889-894). Các tế bào biểu mô được giữ cùng nhau nhờ integrin với chất nền ngoại bào nằm dưới (ECM) được gọi là màng đáy. Mặt khác, tế bào trung mô có khả năng xâm lấn và di chuyển qua

cấu trúc ba chiều của ECM. Do đó, EMT ít nhất giống trên bề mặt sự chuyển dạng của tế bào bám dính bình thường sang kiểu hình di căn.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị, phòng ngừa, cải thiện, và/hoặc làm chậm sự khởi phát di căn. Di căn có thể xuất hiện từ sự di trú của tế bào ung thư từ vị trí ban đầu bất kỳ đến vị trí ung thư thứ cấp bất kỳ.

Tổn thương thận cấp tính

Tổn thương thận cấp tính là sự giảm chức năng thận nhanh chóng, có thể xảy ra trong một số trường hợp sau, bao gồm thể tích máu thấp, nhiễm độc, và tắc nghẽn đường tiết niệu. Quan sát thấy sự tăng miR-21 trong mô hình tổn thương thận cấp tính. Do đó, theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được sử dụng để điều trị, phòng ngừa, cải thiện, và/hoặc làm chậm sự khởi phát tổn thương thận cấp tính. Theo một số phương án, tổn thương thận cấp tính có thể là hậu quả của việc tiếp xúc với một số chất độc, như độc tố trong môi trường hoặc các tác nhân điều trị ung thư. Tổn thương thận cấp tính có thể xuất phát từ những tổn thương ở thận, ví dụ trong các tình trạng bệnh lý như viêm thận tiểu cầu, hoại tử ống thận cấp, và viêm thận mô kẽ cấp tính. Theo một số phương án, tổn thương thận cấp tính là do tắc nghẽn đường tiết niệu, liên quan đến tăng sản tiền liệt tuyến lành tính, sỏi thận, đặt ống thông đường tiết niệu bị tắc, sỏi bàng quang, u ác tính ở thận, niệu quản, bàng quang. Theo một số phương án, tổn thương thận cấp tính có thể tiến triển thành xơ hóa và/hoặc bệnh thận mạn tính. Do đó, theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được sử dụng cho đối tượng mắc tổn thương thận cấp tính để phòng ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát xơ hóa và/hoặc bệnh thận mạn tính. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được sử dụng cho đối tượng để tăng cường phục hồi tổn thương thận cấp tính.

Bệnh tim

Sự tăng biểu hiện miR-21 được thấy ở người mắc bệnh tim, và sự ức chế miR-21 trong mô hình động vật tương ứng đã chứng minh sự cải thiện xơ hóa tim và chức năng tim. Do đó, theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được sử dụng để điều trị, phòng ngừa, cải thiện, và/hoặc làm chậm sự khởi phát nhiều bệnh tim. Theo một số phương án, bệnh tim là xơ hóa tim, tim to bất thường, phì đại tim, giãn tim, bệnh cơ tim phì đại, suy tim, tổ chức lại sau nhồi máu cơ tim, nhồi máu cơ tim, bệnh cơ tim (ví dụ, bệnh cơ tim phì đại, bệnh cơ tim hạn chế, bệnh giãn cơ tim (DCM), bệnh giãn cơ tim

nguyên phát, hoặc bệnh giãn cơ tim kèm loạn nhịp), suy tim tâm trương, rung nhĩ mạn tính, tăng huyết áp động mạch phổi nguyên phát, hội chứng suy kiệt phổi cấp tính, hội chứng brugada, bệnh dẫn truyền tim tiến triển, viêm màng ngoài tim do tăng urê máu, bệnh cơ tim do anthraxyclin, xơ hóa động mạch, xơ hóa bạch huyết sau khi chiếu xạ, bệnh sarcoid, xơ cứng bì, bệnh tăng sinh sợi đàn hồi nội mạc tim, dư thừa serotonin, bệnh van tim, xơ hóa tâm nhĩ, rung nhĩ, bệnh van hai lá, tăng huyết áp, loạn chức năng tâm thất mạn tính, quá tải áp suất và thể tích, hoặc xơ hóa cơ tim.

Các quá trình tế bào

Sáng chế đề xuất các chế phẩm và phương pháp để làm giảm hoặc ngăn chặn sự tăng sinh hoặc hoạt hóa nguyên bào sợi. Sáng chế còn đề xuất các chế phẩm và phương pháp để ức chế tổng hợp chất nền ngoại bào, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở sự tổng hợp collagen, fibronectin, collagenaza, hoặc chất ức chế metalloproteinaza ở mô.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều biến các quá trình tế bào có liên quan đến sự chuyển tiếp biểu mô-trung mô (epithelial-mesenchymal transition-EMT). Các phương pháp này bao gồm việc cho tế bào biểu mô tiếp xúc với hợp chất bao gồm oligonucleotit cải biến, trong đó oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21. Theo một số phương án, việc tiếp xúc này làm chậm quá trình chuyển đổi của tế bào biểu mô thành nguyên bào sợi. Theo một số phương án, việc tiếp xúc này ngăn chặn quá trình chuyển của tế bào biểu mô thành nguyên bào sợi.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có thể làm dừng, làm chậm hoặc làm giảm quá trình tăng sinh của tế bào ung thư. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có thể cảm ứng sự chết tế bào theo chương trình ở các tế bào ung thư. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có thể làm giảm sự sống sót của tế bào ung thư.

Theo một số phương án, tế bào biểu mô là tế bào ung thư. Theo một số phương án, việc tiếp xúc này làm chậm quá trình di căn của tế bào ung thư. Theo một số phương án, việc tiếp xúc này ngăn chặn quá trình di căn của tế bào ung thư.

Một số kết quả lâm sàng

Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất hoặc phương pháp theo sáng chế dẫn đến một hoặc nhiều kết quả lâm sàng mong muốn ở đối tượng. Những cải thiện này

có thể được sử dụng để xác định mức độ đáp ứng với điều trị của đối tượng.

Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là cải thiện bệnh xơ hóa. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm chậm tiến triển hơn nữa của bệnh xơ hóa. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm ngừng sự tiến triển hơn nữa của bệnh xơ hóa. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm giảm sự xơ hóa. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm giảm hàm lượng collagen trong cơ quan bị xơ hóa.

Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là cải thiện xơ hóa trong cơ quan hoặc mô bất kỳ. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm chậm tiến triển hơn nữa của bệnh xơ hóa. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm ngừng sự tiến triển hơn nữa của bệnh xơ hóa. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm giảm sự xơ hóa. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm giảm hàm lượng collagen trong cơ quan được tác động.

Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là cải thiện chức năng thận. Chức năng thận có thể được đánh giá bằng cách một hoặc nhiều phương pháp đã biết phổ biến được tiến hành trong thực hành lâm sàng, bao gồm, không giới hạn: đo nitơ urê máu trong máu của đối tượng; đo nồng độ creatinin trong máu của đối tượng; đo nồng độ thanh thải creatinin ở đối tượng; đo nồng độ protein niệu ở đối tượng; đo tỉ số microalbumin:creatinin ở đối tượng; đo lượng thải nước tiểu ở đối tượng; đo nồng độ mARN phân tử-1 (KIM-1) trong nước tiểu của đối tượng tổn thương thận; và/hoặc đo nồng độ clusterin trong nước tiểu.

Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là cải thiện chức năng gan. Chức năng gan có thể được đánh giá bằng một hoặc nhiều phương pháp đã biết phổ biến được tiến hành trong thực hành lâm sàng, bao gồm, không giới hạn: đo nồng độ alanin aminotransferaza trong máu của đối tượng; đo nồng độ aspartat aminotransferaza trong máu của đối tượng; đo nồng độ bilirubin trong máu của đối tượng; đo nồng độ albumin trong máu của đối tượng; đo thời gian prothrombin ở đối tượng; đo tình trạng cổ trướng ở đối tượng; và/hoặc đo bệnh não ở đối tượng.

Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là cải thiện chức năng phổi ở đối tượng mắc xơ hóa phổi. Theo một số phương án, đối tượng mắc xơ hóa phổi tự phát. Chức năng phổi có thể được đánh giá bằng một hoặc nhiều phương pháp đã biết

phổ biến được tiến hành trong thực hành lâm sàng, bao gồm, không giới hạn: đo dung tích sống ở đối tượng; đo dung tích sống gắng sức ở đối tượng; đo thể tích thở ra gắng sức trong giây đầu ở đối tượng; đo lưu lượng thở ra tối đa ở đối tượng; đo dòng thở ra gắng sức ở đối tượng; đo thể tích thông khí tối đa ở đối tượng; xác định tỷ lệ giữa thể tích thở ra gắng sức trong giây đầu với dung tích sống gắng sức ở đối tượng; đo xác định tỷ số thông khí/thông máu ở đối tượng; đo sự thải khí nitơ ở đối tượng; đo đo thể tích khí tuyệt đối trong một hoặc nhiều phổi của đối tượng; và sử dụng thử nghiệm đi bộ 6 phút.

Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là cải thiện chức năng tim ở đối tượng mắc xơ hóa tim. Chức năng tim có thể được đánh giá bằng một hoặc nhiều phương pháp đã biết phổ biến được tiến hành trong thực hành lâm sàng, bao gồm, không giới hạn: đo cung lượng tim ở đối tượng; đo thể tích tim bóp ở đối tượng; đo tốc độ tổng máu tâm thu trung bình ở đối tượng; đo áp suất tâm thu ở đối tượng; đo phân suất tổng máu thất trái ở đối tượng; xác định chỉ số co bóp ở đối tượng; xác định chỉ số tim ở đối tượng; đo chỉ số co hồi thất trái ở đối tượng; đo tốc độ trung bình co ngắn chu vi thất trái ở đối tượng; đo vận tốc dòng vào thất trái ở đối tượng; đo vận tốc dòng ở tĩnh mạch phổi ở đối tượng; đo vận tốc vòng van hai lá đỉnh đầu tâm trương của đối tượng.

Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm giảm số lượng khối u và/hoặc làm giảm kích thước khối u ở đối tượng mắc ung thư. Theo một số phương án, kết quả lâm sàng mong muốn là làm giảm số lượng tế bào ung thư ở đối tượng mắc ung thư. Kết quả lâm sàng mong muốn khác bao gồm kéo dài thời gian sống toàn bộ của đối tượng, và/hoặc kéo dài thời gian sống mà bệnh không tiến triển của đối tượng. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế ngăn chặn sự tăng kích thước khối u và/hoặc số lượng khối u. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế ngăn chặn quá trình di căn. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế làm chậm hoặc làm dừng quá trình di căn. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế ngăn chặn sự tái phát khối u. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế ngăn chặn sự tái phát di căn khối u.

Các kết quả lâm sàng mong muốn có thể được đánh giá bằng cách đo các dấu chỉ sinh học trong máu. Theo một số phương án, việc sử dụng hợp chất theo sáng chế có thể dẫn đến sự giảm alpha-fetoprotein trong máu và/hoặc des-gamma carboxyprothrombin

trong máu. Việc sử dụng hợp chất theo sáng chế có thể còn dẫn đến cải thiện chức năng gan, như được minh chứng bằng sự giảm nồng độ ALT và/hoặc AST trong máu.

Một số phép trị liệu bổ sung

Điều trị bệnh xơ hóa hoặc tình trạng bệnh lý bất kỳ trong số các tình trạng được đề cập trong bản mô tả có thể bao gồm nhiều hơn một liệu pháp. Cụ thể, theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng mắc hoặc nghi ngờ mắc bệnh xơ hóa bao gồm việc sử dụng ít nhất một liệu pháp điều trị bổ sung để sử dụng oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ bổ sung với miR-21.

Theo một số phương án, ít nhất một liệu pháp điều trị bổ sung bao gồm tác nhân được liệu.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm tác nhân kháng viêm. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm tác nhân kháng viêm thuộc nhóm steroid. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm thuộc nhóm steroid là corticosteroid. Theo một số phương án, corticosteroid là prednison. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm thuốc kháng viêm không thuộc nhóm steroid. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm không thuộc nhóm steroid là ibuprofen, chất ức chế COX-I, hoặc chất ức chế COX-II.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm tác nhân ức chế miễn dịch. Theo một số phương án, tác nhân ức chế miễn dịch là corticosteroid, cyclophosphamid, hoặc mycophenolat mofetil.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm tác nhân chống đái tháo đường. Tác nhân chống đái tháo đường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, biguanit, chất ức chế glucosidaza, insulin, sulfonylure, và thiazolidinedion.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm chất phong bế thụ thể angiotensin II (ARB). Theo một số phương án, chất phong bế thụ thể angiotensin II là candesartan, irbesartan, olmesartan, losartan, valsartan, telmisartan, hoặc eprosartan.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thuốc lợi tiểu (ví dụ sprionolacton, eplerenon, furosemit), thuốc làm tăng co cơ (ví dụ dobutamin, milrinon), digoxin, thuốc giãn mạch, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin II (ACE) (ví dụ captopril, enalapril, lisinopril, benazepril, quinapril,

fosinopril, và ramipril), chất chặn kênh canxi, isosorbide dinitrat, hydralazin, nitrat (ví dụ isosorbide mononitrat, isosorbide dinitrat), hydralazin, chất chặn beta (ví dụ carvedilol, metoprolol), và peptit kích thích bài tiết natri qua nước tiểu (ví dụ nesiritit).

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm heparinoit. Theo một số phương án, heparinoit là pentosan polysulfat.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu là tác nhân được liệu phong bế một hoặc nhiều đáp ứng với tín hiệu tạo xơ.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu là tác nhân trị liệu kháng yếu tố tăng trưởng mô liên kết. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu kháng CTGF là kháng thể đơn dòng kháng CTGF.

Theo một số phương án, liệu pháp điều trị bổ sung có thể là tác nhân được liệu làm tăng cường hệ miễn dịch của cơ thể, bao gồm xyclophosphamit liều thấp, thymostimulin, vitamin và các chất dinh dưỡng bổ sung (ví dụ chất chống oxi hóa, bao gồm vitamin A, C, E, beta-caroten, kẽm, selen, glutathion, coenzym Q-10 và echinacea), và vacxin, ví dụ phức hợp kích thích miễn dịch (ISCOM), bao gồm chế phẩm vacxin trong đó kết hợp sự đa trình diện kháng nguyên và tá được.

Theo một số phương án, liệu pháp điều trị bổ sung được lựa chọn để điều trị hoặc làm giảm tác dụng phụ của một hoặc nhiều chế phẩm được theo sáng chế. Các tác dụng phụ này bao gồm, không giới hạn, phản ứng tại vị trí tiêm, bất thường trong kiểm tra chức năng gan, bất thường chức năng thận, gây độc gan, gây độc thận, bất thường ở hệ thần kinh trung ương, và bệnh cơ. Ví dụ, tăng mức aminotransferaza trong huyết thanh có thể cho biết gây độc gan hoặc bất thường chức năng gan. Ví dụ, tăng bilirubin có thể cho biết gây độc gan hoặc bất thường chức năng gan.

Ví dụ khác về tác nhân được liệu bổ sung bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các globulin miễn dịch, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở globulin miễn dịch tiêm tĩnh mạch (IVIg); thuốc giảm đau (ví dụ axetaminophen); salixylat; thuốc kháng sinh; thuốc kháng virus; tác nhân kháng nấm; chất biến đổi hệ adrenergic; hormon (ví dụ steroid đồng hóa, androgen, estrogen, calxitonin, progestin, somatostatin, và hormon tuyến giáp); chất điều biến miễn dịch; thuốc giãn cơ; thuốc kháng histamin; tác nhân loãng xương (ví dụ biphosphonat, calxitonin, và estrogen); prostaglandin, tác nhân

kháng tạo u; tác nhân tâm lý trị liệu; thuốc giảm đau; các sản phẩm từ cây sồi độc hoặc cây sơn độc; kháng thể; và vaccin.

Điều trị bệnh ung thư thường bao gồm nhiều hơn một liệu pháp điều trị. Cụ thể, theo một số phương án sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm hoặc ngăn ngừa sự di căn bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất chứa oligonucleotit cải biến, trong đó oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21, và sử dụng ít nhất một liệu pháp điều trị bổ sung là liệu pháp điều trị kháng ung thư.

Theo một số phương án, liệu pháp điều trị kháng ung thư là liệu pháp hóa trị. Các tác nhân hóa trị liệu thích hợp bao gồm doxorubicin, cyclophosphamid, ifosfamid, methotrexat, vinblastin, cisplatin, 5-fluoraxil, gemcitabin, doxorubicin, mitomycin c, sorafenib, etoposid, carboplatin, epirubicin, irinotecan và oxaliplatin. Tác nhân hóa trị liệu thích hợp khác bao gồm hợp chất oligome, khác với hợp chất hướng đích tới miR-21 được đề xuất theo sáng chế, được sử dụng để điều trị ung thư.

Theo một số phương án, liệu pháp điều trị kháng ung thư là liệu pháp xạ trị. Theo một số phương án, liệu pháp điều trị kháng ung thư là phẫu thuật cắt bỏ khối u. Theo một số phương án, liệu pháp điều trị kháng ung thư là tác nhân phá hủy ADN, chất ức chế tăng sinh, kháng - folat, chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng, tác nhân kháng tạo mạch, chất ức chế thụ thể tyrosin kinaza, chất ức chế kinaza, chất ức chế yếu tố tăng trưởng, hoặc tác nhân gây độc tế bào.

Theo một số phương án, tác nhân phá hủy ADN là 1,3-bis(2-chloroethyl) -1-nitrosoure, busulfan, carboplatin, carmustin, chlorambucil, cisplatin, cyclophosphamid, dacarbazin, daunorubicin, doxorubicin, epirubicin, etoposid, idarubicin, ifosfamid, irinotecan, lomustin, mecloretamin, melphalan, mitomycin C, mitoxantron, oxaliplatin, temozolomit, hoặc topotecan.

Theo một số phương án, kháng - folat là methotrexat, aminopterin, thymidylat syntaza, serin hydroxymetyltransferaza, folylpolyglutamyl synthetaza, g-glutamyl hydrolaza, glyxinamid-ribonucleotit transformylaza, leucovorin, amino-imidazol-carboxamid-ribonucleotit transformylaza, 5-fluoraxil, hoặc chất vận chuyển folat.

Theo một số phương án, thụ thể yếu tố tăng trưởng là erlotinib, hoặc gefitinib.

Theo một số phương án, chất ức chế sự tạo mạch là bevaxizumab, thalidomit, carboxyamidotriazol, TNP-470, CM101, IFN- α , yếu tố tiêu cầu-4, suramin, SU5416, thrombospondin, chất đối kháng VEGFR, yếu tố ức chế sự tạo mạch có nguồn gốc từ sụn, chất ức chế metaloproteinaza nền, angiostatin, endostatin, 2-metoxiestradiol, tecogalan, tetrathiomolybdat, prolactin, hoặc linomit.

Theo một số phương án, chất ức chế kinaza là bevaxizumab, BIBW 2992, xetuximab, imatinib, trastuzumab, gefitinib, ranibizumab, pegaptanib, sorafenib, dasatinib, sunitinib, erlotinib, nilotinib, lapatinib, panitumumab, vandetanib, E7080, pazopanib, mubritinib, hoặc fostamatinib.

Một số trình tự nucleobazơ của ARN nhỏ

Oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleosit được mô tả trong bản mô tả có trình tự nucleobazơ bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1), hoặc tiền thân của nó (SEQ ID NO: 2). Theo một số phương án, mỗi nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này có khả năng trải qua sự cặp đôi bazơ với nucleobazơ tại mỗi vị trí tương ứng trong trình tự nucleobazơ của miR-21, hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án trình tự nucleobazơ của oligonucleotit cải biến có thể có một hoặc nhiều cặp bazơ bắt cặp sai so với trình tự nucleobazơ của miR-21 hoặc trình tự tiền thân, và vẫn có khả năng lai với trình tự đích của nó.

Do trình tự miR-21 được chứa trong trình tự tiền thân của miR-21, oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ bổ sung với miR-21 cũng bổ sung với vùng trong phân tử tiền thân của miR-21.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm một số nucleosit liên kết tương đương với chiều dài của miR-21.

Theo một số phương án, số lượng nucleosit liên kết của oligonucleotit cải biến nhỏ hơn chiều dài của miR-21. Oligonucleotit cải biến có một số nucleosit liên kết nhỏ hơn chiều dài của miR-21, trong đó mỗi nucleobazơ của oligonucleotit cải biến này bổ sung với mỗi nucleobazơ ở vị trí tương ứng của miR-21, được xem là oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ bổ sung hoàn toàn với vùng của trình tự miR-21. Ví dụ, oligonucleotit cải biến bao gồm 19 nucleosit liên kết, trong đó mỗi nucleobazơ bổ sung với vị trí tương ứng của miR-21 có chiều dài 22 nucleobazơ, bổ sung hoàn toàn với vùng gồm 19 nucleobazơ của miR-21. Oligonucleotit cải biến này có trình tự bổ sung toàn

phần khoảng 86% với toàn bộ chiều dài của miR-21, và có trình tự bổ sung 100% với phần gồm 19 nucleobazơ của miR-21.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm trình tự nucleobazơ mà bổ sung với trình tự gốc, tức là oligonucleotit cải biến bao gồm trình tự đối gốc. Theo một số phương án, trình tự gốc trình tự gốc hexame. Theo một số phương án, trình tự gốc là nucleobazơ 1-6 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc là nucleobazơ 2-7 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc là nucleobazơ 3-8 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc là trình tự gốc heptame. Theo một số phương án, trình tự gốc heptame là nucleobazơ 1-7 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc heptame là nucleobazơ 2-8 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc là trình tự gốc octame. Theo một số phương án, trình tự gốc octame là nucleobazơ 1-8 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc octame là nucleobazơ 2-9 của miR-21.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ có một lỗi bắt cặp so với trình tự nucleobazơ của miR-21, hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ có hai lỗi bắt cặp so với trình tự nucleobazơ của miR-21, hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ có không nhiều hơn hai lỗi bắt cặp so với trình tự nucleobazơ của miR-21, hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án, các nucleobazơ bắt cặp sai nằm kề nhau. Theo một số phương án, các nucleobazơ bắt cặp sai không nằm kề nhau.

Theo một số phương án, số lượng nucleosit liên kết của oligonucleotit cải biến nhiều hơn chiều dài của miR-21. Theo một số phương án, nucleobazơ của một nucleosit khác bổ sung với nucleobazơ của trình tự vòng-gốc của miR-21. Theo một số phương án, số lượng nucleosit liên kết của oligonucleotit cải biến nhiều hơn một so với chiều dài của miR-21. Theo một số phương án, nucleosit bổ sung này ở đầu tận cùng 5' của oligonucleotit. Theo một số phương án, nucleosit bổ sung ở đầu tận cùng 3' của oligonucleotit. Theo một số phương án, số lượng nucleosit liên kết của oligonucleotit cải biến nhiều hơn hai so với chiều dài của miR-21. Theo một số phương án, hai nucleosit bổ sung này nằm ở đầu tận cùng 5' của oligonucleotit. Theo một số phương án, hai nucleosit bổ sung này nằm ở đầu tận cùng 3' của oligonucleotit. Theo một số phương án, một nucleosit bổ sung nằm ở đầu tận cùng 5' và một nucleosit bổ sung nằm

ở đầu tận cùng 3' của oligonucleotit. Theo một số phương án, vùng của oligonucleotit có thể bổ sung hoàn toàn với trình tự nucleobazơ của miR-21, nhưng toàn bộ oligonucleotit cải biến không bổ sung hoàn toàn với miR-21. Ví dụ, oligonucleotit cải biến bao gồm 24 nucleosit liên kết, trong đó nucleobazơ của nucleosit 1 đến 23 bổ sung với vị trí tương ứng của miR-21 đó là đoạn dài 22 nucleobazơ, có phần 22 nucleosit là bổ sung hoàn toàn với trình tự nucleobazơ của miR-21 và khoảng 96% bổ sung toàn phần với trình tự nucleobazơ của miR-21.

Một số Oligonucleotit cải biến

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 30 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 15 đến 30 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 15 đến 25 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 15 đến 19 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 15 đến 16 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 19 đến 24 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 21 đến 24 nucleosit liên kết.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 8 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 9 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 10 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 11 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 12 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 13 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 14 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 15 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 16 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 17 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 18 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 19 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 20 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 21 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 22 nucleosit liên kết. Theo một số phương án,

oligonucleotit cải biến bao gồm 23 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 24 nucleosit liên kết. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm 25 nucleosit liên kết.

Trình tự nucleobazơ đã nêu trong bản mô tả, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự được nêu trong ví dụ và trong danh mục trình tự, là độc lập của cải biến bất kỳ đối với axit nucleic. Do đó, axit nucleic được xác định bởi trình tự SEQ ID NO có thể bao gồm, một cách độc lập, một hoặc nhiều các cải biến đối với một hoặc nhiều gốc đường, đối với một hoặc nhiều liên kết bên trong nucleosit, và/hoặc một hoặc nhiều nucleobazơ.

Mặc dù danh mục trình tự nộp kèm đơn sáng chế này xác định mỗi trình tự nucleobazơ là “ARN” hoặc “ADN” theo yêu cầu, thực tế, các trình tự này có thể được cải biến với tổ hợp bất kỳ của các cải biến hóa học. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng hiểu rằng ký hiệu “ARN” hoặc “ADN” để mô tả oligonucleotit cải biến bất kỳ. Ví dụ, oligonucleotit cải biến chứa nucleosit có gốc đường 2'-OH và bazơ thymine có thể được mô tả là ADN có gốc đường được cải biến (2'-OH thay cho 2'-H của ADN tự nhiên) hoặc ARN có bazơ cải biến (thymine (uracil được methyl hóa) thay cho uracil của ARN tự nhiên).

Do đó, trình tự axit nucleic được đề xuất theo sáng chế, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự trong danh mục trình tự, được dự tính để bao hàm axit nucleic chứa tổ hợp bất kỳ của ARN và/hoặc ADN tự nhiên hoặc được cải biến, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở axit nucleic có nucleobazơ được cải biến. Bằng các ví dụ và không giới hạn, oligonucleotit có trình tự nucleobazơ “ATCGATCG” bao gồm oligonucleotit bất kỳ có trình tự nucleobazơ này, bất kể là được cải biến hoặc không được cải biến, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hợp chất chứa bazơ ARN, như oligonucleotit có trình tự “AUCGAUCG” và oligonucleotit có một số bazơ ADN và một số bazơ ARN như “AUCGATCG” và oligonucleotit có bazơ được cải biến khác, như “AT^{me}CGAUCG,” trong đó ^{me}C là 5-methylcytosine. Tương tự, oligonucleotit có trình tự nucleobazơ “AUCGAUCG” bao gồm oligonucleotit bất kỳ có trình tự nucleobazơ này, bất kể là được cải biến hoặc không được cải biến, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hợp chất chứa Bazơ ADN, như các oligonucleotit có trình tự “ATCGATCG” và các oligonucleoti có một số bazơ ADN và một số bazơ ARN như “AUCGATCG” và

oligonucleotit có các bazơ được cải biến khác, như “AT^{me}CGAUCG,” trong đó ^{me}C là 5-methylxytosin.

Một số cải biến

Theo một số phương án, oligonucleotit theo sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều cải biến ở nucleobazơ, đường, và/hoặc liên kết bên trong nucleosit, và do đó là oligonucleotit cải biến. Nucleobazơ, đường, và/hoặc liên kết bên trong nucleosit được cải biến có thể được chọn qua một dạng không được cải biến bởi vì các đặc tính mong muốn như, ví dụ, tăng hấp thụ tế bào, tăng ái lực đối với oligonucleotit khác hoặc axit nucleic đích và tăng độ bền khi có mặt nucleaza.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm một hoặc nhiều nucleosit cải biến. Theo một số phương án, nucleosit cải biến là nucleosit ổn định. Ví dụ về nucleosit ổn định là nucleosit cải biến ở gốc đường.

Theo một số phương án, nucleosit cải biến là nucleosit cải biến ở gốc đường. Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở gốc đường có thể còn bao gồm gốc bazơ dị vòng tự nhiên hoặc được cải biến và/hoặc liên kết bên trong nucleosit tự nhiên hoặc được cải biến và có thể bao gồm các cải biến khác không phụ thuộc vào việc cải biến ở gốc đường. Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở gốc đường là nucleosit cải biến ở vị trí 2', trong đó nhân đường được cải biến ở vị trí 2' cacbon so với riboza hoặc 2'-deoxy-riboza tự nhiên.

Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở vị trí 2' có gốc đường hai vòng. Theo một số phương án, gốc đường hai vòng là đường D trong cấu hình alpha. Theo một số phương án, gốc đường hai vòng là đường D trong cấu hình beta. Theo một số phương án, gốc đường hai vòng là đường L trong cấu hình alpha. Theo một số phương án, gốc đường hai vòng là đường L trong cấu hình beta.

Theo một số phương án, gốc đường hai vòng bao gồm nhóm cầu nối giữa nguyên tử cacbon vị trí 2' và 4'. Theo một số phương án, nhóm cầu nối gồm từ 1 đến 8 nhóm hai gốc liên kết. Theo một số phương án, gốc đường hai vòng gồm từ 1 đến 4 nhóm hai gốc liên kết. Theo một số phương án, gốc đường hai vòng gồm 2 hoặc 3 nhóm hai gốc liên kết. Theo một số phương án, gốc đường hai vòng gồm 2 nhóm hai gốc liên kết. Ví dụ về phần tử thể đường ở vị trí 4' đến 2', bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: $-[C(R_a)(R_b)]_n-$, $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$, $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ or, $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$; $4'-CH_2-$

2', 4'-(CH₂)₂-2', 4'-(CH₂)₃-2'; 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (cEt) và 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2', và các chất tương tự của nó (xem ví dụ patent Mỹ 7,399,845, cấp ngày 15 tháng 7 năm 2008); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' và các chất tương tự của nó, (xem ví dụ WO2009/006478, công bố ngày 8 tháng 1 năm 2009); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' và các chất tương tự của nó (xem ví dụ WO2008/150729, công bố ngày 11 tháng 12 năm 2008); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (xem ví dụ US2004/0171570, công bố ngày 2 tháng 9 năm 2004); 4'-CH₂-O-N(R)-2', và 4'-CH₂-N(R)-O-2', trong đó mỗi R độc lập là H, nhóm bảo vệ, hoặc C₁-C₁₂ alkyl; 4'-CH₂-N(R)-O-2', trong đó R là H, C₁-C₁₂ alkyl, hoặc nhóm bảo vệ (xem, patent Mỹ 7,427,672, cấp ngày 23 tháng 9 năm 2008); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (xem ví dụ Chattopadhyaya, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); và 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' và các chất tương tự của nó (xem, công bố đơn quốc tế PCT số WO 2008/154401, công bố ngày 8 tháng 12 năm 2008).

Theo một số phương án, cầu nối 4' đến 2' độc lập nhau bao gồm 1 hoặc từ 2 đến 4 nhóm liên kết được chọn độc lập từ -[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-, và -N(R_a)-;

trong đó:

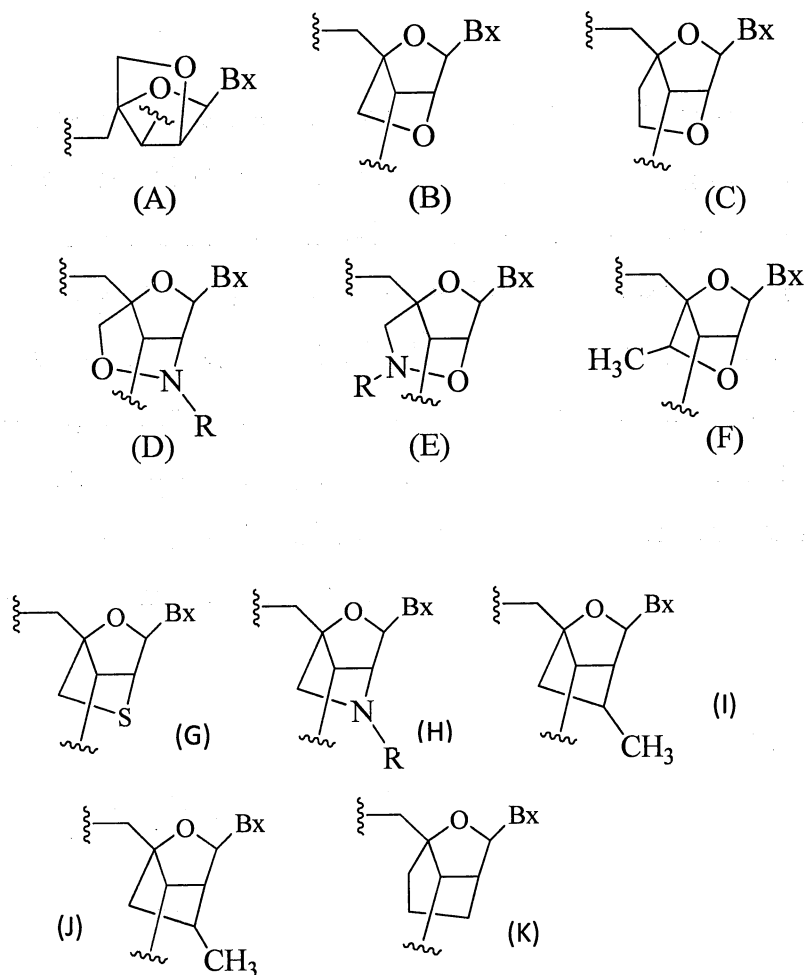
x là 0, 1, hoặc 2;

n là 1, 2, 3, hoặc 4;

mỗi R_a và R_b độc lập là H, nhóm bảo vệ, hydroxyl, C₁-C₁₂ alkyl, C₁-C₁₂ alkyl được thế, C₂-C₁₂ alkenyl, C₂-C₁₂ alkenyl được thế, C₂-C₁₂ alkynyl, C₂-C₁₂ alkynyl được thế, C₅-C₂₀ aryl, C₅-C₂₀ aryl được thế, gốc dị vòng, gốc dị vòng được thế, heteroaryl, heteroaryl được thế, gốc alixyclic C₅-C₇, gốc alixyclic C₅-C₇ được thế, halogen, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, acyl (C(=O)-H), acyl được thế, CN, sulfonyl (S(=O)₂-J₁), hoặc sulfoxyl (S(=O)-J₁); và

mỗi J₁ và J₂ độc lập là H, C₁-C₁₂ alkyl, C₁-C₁₂ alkyl được thế, C₂-C₁₂ alkenyl, C₂-C₁₂ alkenyl được thế, C₂-C₁₂ alkynyl, C₂-C₁₂ alkynyl được thế, C₅-C₂₀ aryl, C₅-C₂₀ aryl được thế, acyl (C(=O)-H), axyl được thế, gốc dị vòng, gốc dị vòng được thế, C₁-C₁₂ aminoalkyl, C₁-C₁₂ aminoalkyl được thế, hoặc nhóm bảo vệ.

Nucleosit chứa gốc đường hai vòng như vậy được gọi là nucleosit hai vòng hoặc BNA. Theo một số phương án, nucleosit hai vòng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, (A) α -L-Metylenoxy ($4' \text{-CH}_2\text{-O-2}'$) BNA; (B) β -D-Metylenoxy ($4' \text{-CH}_2\text{-O-2}'$) BNA; (C) Etylenoxy ($4' \text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-2}'$) BNA; (D) Aminooxy ($4' \text{-CH}_2\text{-O-N(R)-2}'$) BNA; (E) Oxyamino ($4' \text{-CH}_2\text{-N(R)-O-2}'$) BNA; (F) Metyl(metylenoxy) ($4' \text{-CH(CH}_3\text{)-O-2}'$) BNA (còn được gọi là etyl cưỡng bức hoặc cEt); (G) metylen-thio ($4' \text{-CH}_2\text{-S-2}'$) BNA; (H) metylen-amino ($4' \text{-CH}_2\text{-N(R)-2}'$) BNA; (I) metyl vòng cacbon ($4' \text{-CH}_2\text{-CH(CH}_3\text{)-2}'$) BNA; (J) c-MOE ($4' \text{-CH}_2\text{-OMe-2}'$) BNA và (K) propylen vòng cacbon ($4' \text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-2}'$) BNA như được mô tả dưới đây.



trong đó Bx là gốc nucleobazơ và R độc lập là H, nhóm bảo vệ, hoặc $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alkyl.

Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở vị trí 2' bao gồm nhóm thế ở vị trí 2' được chọn từ halo, allyl, amino, azido, SH, CN, OCN, CF_3 , OCF_3 , O-, S-, hoặc $\text{N(R}_m\text{)-}$

alkyl; O-, S-, hoặc N(R_m)-alkenyl; O-, S- hoặc N(R_m)-alkynyl; O-alkylenyl-O-alkyl, alkynyl, alkaryl, aralkyl, O-alkaryl, O-aralkyl, O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n) or O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), trong đó mỗi R_m và R_n độc lập là H, nhóm bảo vệ amino hoặc C₁-C₁₀ alkyl được thế hoặc không được thế. Các nhóm thế này ở vị trí 2' còn có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm thế được chọn độc lập từ hydroxyl, amino, alkoxy, carboxy, benzyl, phenyl, nitro (NO₂), thiol, thioalkoxy (S-alkyl), halogen, alkyl, aryl, alkenyl và alkynyl.

Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở vị trí 2' bao gồm nhóm thế ở vị trí 2' được chọn từ F, NH₂, N₃, OCF₃, O-CH₃, O(CH₂)₃NH₂, CH₂-CH=CH₂, O-CH₂-CH=CH₂, OCH₂CH₂OCH₃, O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂, và N-được thế axetamit (O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n) trong đó mỗi R_m và R_n độc lập là H, nhóm bảo vệ amino hoặc C₁-C₁₀ alkyl được thế hoặc không được thế.

Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở vị trí 2' bao gồm nhóm thế ở vị trí 2' được chọn từ F, OCF₃, O-CH₃, OCH₂CH₂OCH₃, 2'-O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(CH₃)₂, -O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂, và O-CH₂-C(=O)-N(H)CH₃.

Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở vị trí 2' bao gồm nhóm thế ở vị trí 2' được chọn từ F, O-CH₃, và OCH₂CH₂OCH₃.

Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở gốc đường là 4'-thio nucleosit cải biến. Theo một số phương án, nucleosit cải biến ở gốc đường là 4'-thio-2'-nucleosit cải biến. 4'-thio nucleosit cải biến có β-D-ribonucleosit trong đó 4'-O được thay thế bằng 4'-S. 4'-thio-2'-nucleosit cải biến là 4'-thio-nucleosit cải biến có nhóm 2'-OH được thay thế bằng nhóm thế ở vị trí 2'. Nhóm thế ở vị trí 2' thích hợp bao gồm 2'-OCH₃, 2'-O-(CH₂)₂-OCH₃, và 2'-F.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm một hoặc nhiều các cải biến bên trong nucleosit. Theo một số phương án, mỗi liên kết bên trong nucleosit của oligonucleotit cải biến là liên kết bên trong nucleosit được cải biến. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được cải biến bao gồm nguyên tử phospho.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm ít nhất một liên kết phosphorothioat bên trong nucleosit. Theo một số phương án, mỗi liên kết bên trong nucleosit của oligonucleotit cải biến là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit.

Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được cải biến không bao gồm nguyên tử phospho. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được hình thành bởi alkyl mạch ngắn liên kết bên trong nucleosit. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được hình thành bởi xycloalkyl liên kết bên trong nucleosit. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được hình thành bởi hỗn hợp dị nguyên tử và alkyl liên kết bên trong nucleosit. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được hình thành bởi hỗn hợp dị nguyên tử và xycloalkyl liên kết bên trong nucleosit. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được hình thành bởi một hoặc nhiều dị nguyên tử mạch ngắn liên kết bên trong nucleosit. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit được hình thành bởi một hoặc nhiều dị vòng liên kết bên trong nucleosit. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit có mạch amit. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit có hỗn hợp các thành phần N, O, S và CH₂.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm một hoặc nhiều nucleobazơ được cải biến. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm một hoặc nhiều gốc 5-metylxytosin. Theo một số phương án, mỗi xytosin của oligonucleotit cải biến bao gồm 5-metylxytosin.

Theo một số phương án, nucleobazơ được cải biến được chọn từ 5-hydroxymetyl xytosin, 7-deazaguanin và 7-deazaadenin. Theo một số phương án, nucleobazơ được cải biến được chọn từ 7-deaza-adenin, 7-deazaguanosin, 2-aminopyridin và 2-pyridon. Theo một số phương án, nucleobazơ được cải biến được chọn từ pyrimidin được thế ở vị trí 5, 6-azapyrimidin và N-2, N-6 và purin được thế ở vị trí O-6, bao gồm 2 aminopropyladenin, 5-propynyluraxil và 5-propynylxytosin.

Theo một số phương án, nucleobazơ được cải biến bao gồm dị vòng đa vòng. Theo một số phương án, nucleobazơ được cải biến bao gồm dị vòng ba vòng. Theo một số phương án, nucleobazơ được cải biến bao gồm dẫn xuất của phenoxazin. Theo một số phương án, phenoxazin có thể còn được cải biến để tạo thành nucleobazơ đã biết trong lĩnh vực như kẹp-G.

Một số được phẩm

Sáng chế đề xuất được phẩm chứa oligonucleotit. Theo một số phương án, được phẩm này được sử dụng để điều trị các rối loạn chuyển hóa, và tình trạng bệnh lý liên

quan. Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 30 nucleosit liên kết và có trình tự nucleobazo complementary miR-21, hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 30 nucleosit liên kết và có trình tự nucleobazo bổ sung với miR-21, hoặc tiền thân của nó.

Các đường sử dụng thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, miệng, trực tràng, qua niêm mạc, trong ruột, trong ruột, khu trú, thuốc đạn, qua xông hít, nội tủy mạc, trong tim, trong tâm thất, trong màng bụng, trong mũi, trong mắt, trong niệu quản, và đường tiêm (ví dụ trong tĩnh mạch, tiêm bắp, trong tủy sống, và tiêm dưới da). Theo một số phương án, sử dụng dược phẩm qua đường nội tủy mạc để đạt được sự tiếp xúc khu trú mà không phải tiếp xúc toàn thân. Ví dụ, dược phẩm có thể được tiêm thẳng vào khu vực mong muốn có hiệu quả (ví dụ trong gan).

Theo một số phương án, dược phẩm được dùng ở dạng phân liều đơn vị (ví dụ viên nén, viên nang, viên thuốc to, v.v.). Theo một số phương án, dược phẩm bao gồm oligonucleotit cải biến với liều nằm trong khoảng được chọn từ 25 mg đến 800 mg, 25 mg đến 700 mg, 25 mg đến 600 mg, 25 mg đến 500 mg, 25 mg đến 400 mg, 25 mg đến 300 mg, 25 mg đến 200 mg, 25 mg đến 100 mg, 100 mg đến 800 mg, 200 mg đến 800 mg, 300 mg đến 800 mg, 400 mg đến 800 mg, 500 mg đến 800 mg, 600 mg đến 800 mg, 100 mg đến 700 mg, 150 mg đến 650 mg, 200 mg đến 600 mg, 250 mg đến 550 mg, 300 mg đến 500 mg, 300 mg đến 400 mg, và 400 mg đến 600 mg. Theo một số phương án, dược phẩm này bao gồm oligonucleotit cải biến với liều được chọn từ 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg, 140 mg, 145 mg, 150 mg, 155 mg, 160 mg, 165 mg, 170 mg, 175 mg, 180 mg, 185 mg, 190 mg, 195 mg, 200 mg, 205 mg, 210 mg, 215 mg, 220 mg, 225 mg, 230 mg, 235 mg, 240 mg, 245 mg, 250 mg, 255 mg, 260 mg, 265 mg, 270 mg, 270 mg, 280 mg, 285 mg, 290 mg, 295 mg, 300 mg, 305 mg, 310 mg, 315 mg, 320 mg, 325 mg, 330 mg, 335 mg, 340 mg, 345 mg, 350 mg, 355 mg, 360 mg, 365 mg, 370 mg, 375 mg, 380 mg, 385 mg, 390 mg, 395 mg, 400 mg, 405 mg, 410 mg, 415 mg, 420 mg, 425 mg, 430 mg, 435 mg, 440 mg, 445 mg, 450 mg, 455 mg, 460 mg, 465 mg, 470 mg, 475 mg, 480 mg, 485 mg, 490 mg, 495 mg, 500 mg, 505 mg, 510 mg, 515 mg, 520 mg, 525 mg, 530 mg, 535 mg, 540 mg, 545 mg, 550 mg, 555 mg, 560 mg, 565 mg, 570 mg, 575 mg, 580 mg, 585

mg, 590 mg, 595 mg, 600 mg, 605 mg, 610 mg, 615 mg, 620 mg, 625 mg, 630 mg, 635 mg, 640 mg, 645 mg, 650 mg, 655 mg, 660 mg, 665 mg, 670 mg, 675 mg, 680 mg, 685 mg, 690 mg, 695 mg, 700 mg, 705 mg, 710 mg, 715 mg, 720 mg, 725 mg, 730 mg, 735 mg, 740 mg, 745 mg, 750 mg, 755 mg, 760 mg, 765 mg, 770 mg, 775 mg, 780 mg, 785 mg, 790 mg, 795 mg, và 800 mg. Theo một số phương án, dược phẩm bao gồm liều của oligonucleotit cải biến được chọn từ 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg, và 800mg.

Theo một số phương án, tác nhân dược liệu là oligonucleotit cải biến được đông khô vô trùng mà có thể hoàn nguyên với chất pha loãng thích hợp, ví dụ nước vô trùng để tiêm hoặc nước muối vô trùng để truyền. Sản phẩm được hoàn nguyên được dùng làm dung dịch tiêm dưới da hoặc truyền tĩnh mạch sau khi pha loãng trong nước muối. Sản phẩm thuốc đông khô bao gồm oligonucleotit cải biến đã được chuẩn bị trong nước để tiêm, hoặc hoặc trong nước muối để truyền, được điều chỉnh đến giá trị pH 7,0-9,0 bằng axit hoặc bazơ trong quá trình bào chế, và sau đó được đông khô. Oligonucleotit cải biến được đông khô có thể gồm 25-800 mg oligonucleotit. Cần phải hiểu rằng sản phẩm này bao gồm 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, và 800 mg oligonucleotit được cải biến đông khô. Ngoài ra, theo một số phương án, oligonucleotit được cải biến đông khô là lượng oligonucleotit nằm trong khoảng được chọn từ 25 mg đến 800 mg, 25 mg đến 700 mg, 25 mg đến 600 mg, 25 mg đến 500 mg, 25 mg đến 400 mg, 25 mg đến 300 mg, 25 mg đến 200 mg, 25 mg đến 100 mg, 100 mg đến 800 mg, 200 mg đến 800 mg, 300 mg đến 800 mg, 400 mg đến 800 mg, 500 mg đến 800 mg, 600 mg đến 800 mg, 100 mg đến 700 mg, 150 mg đến 650 mg, 200 mg đến 600 mg, 250 mg đến 550 mg, 300 mg đến 500 mg, 300 mg đến 400 mg, và 400 mg đến 600 mg. Sản phẩm thuốc đông khô có thể được đóng gói trong lọ thủy tinh sạch tít I 2 mL (được xử lý bằng amoni sulfat), đầy bằng nút cao su bromobutyl và bọc kín bằng giấy nhôm FLIP-OFF®.

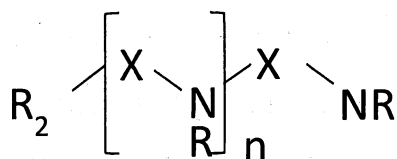
Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa thêm các thành phần phụ khác thường có trong dược phẩm, với nồng độ sử dụng được chấp nhận trong lĩnh vực này. Do đó, ví dụ, chế phẩm có thể chứa các chất có hoạt tính dược lý, tương thích, bổ sung như, ví dụ, thuốc trị ngứa, chất làm se da, thuốc gây mê cục bộ hoặc tác nhân kháng viêm, hoặc có thể chứa thêm các chất hữu dụng trong việc bào chế vật lý

các dạng phân liều khác nhau của chế phẩm theo sáng chế, như thuốc nhuộm màu, chất tạo hương vị, chất bảo quản, chất chống oxi hóa, chất làm mờ, chất làm dày và chất ổn định. Tuy nhiên, các chất này khi được bổ sung, không được làm nhiều quá mức hoạt tính sinh học của các thành phần trong chế phẩm của sáng chế. Chế phẩm có thể được tiệt trùng và, nếu muốn có thể được trộn với các chất phụ trợ, ví dụ chất bôi trơn, chất bảo quản, chất ổn định, chất làm ẩm, chất nhũ hóa, muối để điều chỉnh áp suất thẩm thấu, chất đệm, chất tạo màu, chất điều vị, và/hoặc chất thơm và các chất tương tự mà không tương tác bất lợi với (các) oligonucleotit của chế phẩm.

Gốc lipit đã được sử dụng trong liệu pháp điều trị bằng axit nucleic trong nhiều phương pháp khác nhau. Trong một phương pháp, axit nucleic được đưa vào trong thể liposom hoặc lipoplex đã được tạo ra trước từ hỗn hợp gồm lipit cation và lipit tự nhiên. Trong một phương pháp khác, phức ADN với lipit đơn hoặc đa cation được tạo thành mà không có lipit tự nhiên. Theo một số phương án, gốc lipit được chọn để làm tăng sự phân bố của tác nhân được liệu đến tế bào hoặc mô. Theo một số phương án, gốc lipit được chọn để làm tăng sự phân bố của tác nhân được liệu đến mô mỡ. Theo một số phương án, gốc lipit được chọn để làm tăng sự phân bố của tác nhân được liệu mô cơ.

Theo một số phương án, INTRALIPIT được sử dụng để bào chế được phẩm chứa oligonucleotit. Intralipit là nhũ tương chất béo được điều chế để sử dụng theo đường tĩnh mạch. Nó được làm từ 10% dầu đậu tương, 1,2% phospholipit lòng đỏ trứng, 2,25% glyxerin, và nước để tiêm. Ngoài ra, natri hydroxit đã được bổ sung vào để điều chỉnh độ pH sao cho độ pH trong sản phẩm cuối nằm trong khoảng từ 6 đến 8,9.

Theo một số phương án, được phẩm theo sáng chế bao gồm hợp chất polyamin hoặc gốc lipit được tạo phức với axit nucleic. Theo một số phương án, các chế phẩm này bao gồm một hoặc nhiều hợp chất, mỗi hợp chất có cấu trúc được xác định bởi công thức (Z) hoặc muối được dụng của nó,



trong đó mỗi X^a và X^b , cho mỗi lần xuất hiện, độc lập là C_{1-6} alkylen; n là 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5; mỗi R độc lập là H, trong đó ít nhất $n + 2$ của các gốc R trong ít nhất khoảng 80% phân tử của hợp chất này có công thức (Z) trong chế phẩm không phải là H; m là 1, 2, 3 hoặc 4; Y hoặc O, NR^2 , hoặc S; R^1 là alkyl, alkenyl, hoặc alkynyl; mỗi gốc tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nhóm thế; và R^2 là H, alkyl, alkenyl, hoặc alkynyl; mỗi gốc này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nhóm thế; với điều kiện là, nếu $n = 0$, thì ít nhất $n + 3$ của các gốc R không phải là H. Các chế phẩm như vậy được mô tả trong công bố đơn PCT số WO/2008/042973, được kết hợp vào bản mô tả bằng cách viện dẫn toàn bộ để bộc lộ các chế phẩm lipit. Một số chế phẩm khác được mô tả trong tài liệu của Akinc et al., *Nature Biotechnology* **26**, 561 - 569 (01/05/2008), được kết hợp vào bản mô tả bằng cách viện dẫn toàn bộ để bộc lộ các chế phẩm lipit.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều oligonucleotit cải biến và một hoặc nhiều tá dược. Theo một số phương án, tá dược được chọn từ nước, dung dịch muối, rượu, polyetylen glycol, gelatin, lactoza, amylaza, magie stearat, bột talc, axit silixic, parafin nhớt, hydroxymetyl xenluloza và polyvinylpyrrolidon.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế được bào chế nhờ sử dụng các kỹ thuật đã biết, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở trộn, hòa tan, tạo hạt, tạo hình trứng chim, nghiền thành bột, nhũ hóa, bao nang, quá trình đúc hoặc nén.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế là lipit (ví dụ nhũ tương, cồn ngọt và/hoặc dung dịch). Theo một số phương án, dược phẩm lipit được bào chế nhờ sử dụng các thành phần đã biết trong lĩnh vực, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, nước, glycol, dầu, rượu, chất tạo hương vị, chất bảo quản, và chất tạo màu.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế là chất rắn (ví dụ bột, viên nén, và/hoặc viên nang). Theo một số phương án, dược phẩm rắn chứa một hoặc nhiều oligonucleotit được bào chế nhờ sử dụng các thành phần đã biết trong lĩnh vực, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tinh bột, đường, chất pha loãng, chất tạo hạt, chất bôi trơn, chất liên kết, và chất tạo phân tán.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế được bào chế dưới dạng chế phẩm kho. Các chế phẩm kho này thường hoạt động lâu hơn các chế phẩm không phải kho. Theo một số phương án, các chế phẩm này được sử dụng bằng cách cấy dưới da

(ví dụ dưới da hoặc trong bắp) hoặc bằng đường tiêm bắp. Theo một số phương án, các chế phẩm kho được bào chế nhờ sử dụng các vật liệu polyme hoặc vật liệu kỵ nước (ví dụ nhũ tương trong dầu tương thích) hoặc nhựa trao đổi ion, hoặc dưới dạng các chất dẫn xuất hòa tan được ít, ví dụ, như muối tan được ít.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm hệ phân phối. Ví dụ về các hệ phân phối bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, liposom và nhũ tương. Một số hệ phân phối là hữu dụng để điều chế dược phẩm bao gồm hệ phân phối chứa hợp chất kỵ nước. Theo một số phương án, một số dung môi hữu cơ như dimetylsulfoxit được sử dụng.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều phân tử phân phối đặc hiệu mô được thiết kế để phân phối một hoặc nhiều tác nhân dược liệu theo sáng chế đến các loại mô hoặc tế bào đặc hiệu. Ví dụ, theo một số phương án, dược phẩm bao gồm liposom được bao bằng kháng thể đặc hiệu mô.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm hệ đồng dung môi. Một số hệ đồng dung môi này bao gồm, ví dụ, benzyl alcohol, chất hoạt động bề mặt không phân cực, polyme hữu cơ trộn lẫn được với nước, và pha chứa nước. Theo một số phương án, các hệ đồng dung môi được sử dụng đối với hợp chất kỵ nước. Ví dụ không giới hạn về hệ đồng dung môi là hệ đồng dung môi VPD, là dung dịch chứa etanol tuyệt đối chứa 3% khối lượng/thể tích benzyl alcohol, 8% khối lượng/thể tích của chất hoạt động bề mặt không phân cực Polysorbate 80™ và 65% khối lượng/thể tích polyetylen glycol 300. Tỷ phần trong hệ đồng dung môi có thể thay đổi nhiều mà không làm thay đổi đáng kể các đặc tính độ hòa tan và độc tính. Ngoài ra, độ đồng nhất của các thành phần đồng dung môi có thể được thay đổi: ví dụ, các chất hoạt động bề mặt khác có thể được sử dụng thay vì Polysorbate 80™; kích cỡ phân đoạn polyetylen glycol có thể được thay đổi; các polyme tương thích sinh học khác có thể thay thế cho polyetylen glycol, ví dụ polyvinyl pyrrolidon; và các đường hoặc polysaccarit khác có thể thay thế cho dextroza.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm hệ giải phóng duy trì. Ví dụ không giới hạn về hệ giải phóng duy trì này là nền bán thấm chứa polyme rắn kỵ nước. Theo một số phương án, hệ giải phóng duy trì có thể, tùy thuộc vào tính chất

hóa học của chúng, giải phóng tác nhân dược liệu trong một khoảng thời gian theo giờ, ngày, tuần hoặc tháng.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế được bào chế để sử dụng qua đường miệng. Theo một số phương án, dược phẩm được bào chế bằng cách kết hợp một hoặc nhiều hợp chất chứa oligonucleotit cải biến với một hoặc nhiều chất mang dược dụng. Một số chất mang cho phép dược phẩm được bào chế dưới dạng viên nén, viên tròn, trứng chim, viên nang, dạng lỏng, gel, si rô, huyền phù đặc, hỗn dịch và dạng tương tự, để đối tượng sử dụng qua đường uống. Theo một số phương án, dược phẩm để sử dụng qua đường miệng thu được bằng cách trộn oligonucleotit và một hoặc nhiều tá dược rắn. Tá dược thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất độn, như đường, bao gồm lactoza, sucroza, manitol, hoặc sorbitol; chế phẩm xenluloza như, ví dụ, tinh bột ngô, tinh bột lúa mì, tinh bột gạo, tinh bột khoai tây, gelatin, gôm tragacanth, methyl xenluloza, hydroxypropylmethyl-xenluloza, natri carboxymethylxenluloza, và/hoặc polyvinylpyrrolidon (PVP). Theo một số phương án, hỗn hợp này tùy ý là nền và các chất bổ trợ tùy ý được bổ sung. Theo một số phương án, dược phẩm được tạo hình để thu được viên nén hoặc lõi hình trứng chim. Theo một số phương án, chất gây rã (ví dụ polyvinyl pyrrolidon liên kết ngang, thạch, hoặc axit alginic hoặc muối của nó, như natri alginat) được bổ sung.

Theo một số phương án, lõi hình trứng chim được đề xuất có lớp vỏ bao. Theo một số phương án, dung dịch đường đậm đặc có thể được sử dụng, dung dịch đường này có thể tùy ý có chứa gôm arabic, bột talc, polyvinyl pyrrolidon, gel carbopol, polyetylen glycol, và/hoặc titan dioxit, chất hòa tan sơn, và dung môi hữu cơ thích hợp hoặc hỗn hợp dung môi. Thuốc nhuộm hoặc chất màu có thể được bổ sung vào viên nén hoặc lớp vỏ bao hình trứng chim.

Theo một số phương án, dược phẩm để sử dụng qua đường miệng là viên nang đẩy khớp làm từ gelatin. Một số viên nang đẩy khớp bao gồm một hoặc nhiều tác nhân dược liệu theo sáng chế trong hỗn hợp với một hoặc nhiều chất độn như lactoza, chất liên kết như tinh bột, và/hoặc chất bôi trơn như bột talc hoặc magie stearat và, tùy ý, chất ổn định. Theo một số phương án, dược phẩm để sử dụng qua đường miệng là viên nang được bao kín, mềm được làm từ gelatin và chất dẻo hóa, như glyxerol hoặc sorbitol. Trong các viên nang mềm này, một hoặc nhiều tác nhân dược liệu theo sáng chế được

hòa tan hoặc được tạo hỗn dịch trong chất lỏng thích hợp, như dầu chất béo, parafin lỏng, hoặc polyetylen glycol lỏng. Ngoài ra, có thể bổ sung chất làm ổn định.

Theo một số phương án, dược phẩm được bào chế để sử dụng qua đường miệng. Các dược phẩm này là viên nén hoặc viên ngậm được bào chế theo cách thông thường.

Theo một số phương án, dược phẩm được bào chế để sử dụng theo đường tiêm (ví dụ tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, tiêm bắp, v.v.). Theo một số phương án, dược phẩm bao gồm chất mang và được bào chế trong dung dịch nước, như nước hoặc dung dịch đệm tương thích sinh lý như dung dịch Hanks, dung dịch Ringer, hoặc dung dịch đệm nước muối sinh lý. Theo một số phương án, các thành phần khác được đưa vào (ví dụ các thành phần hỗ trợ cho tính tan hoặc dùng như chất bảo quản). Theo một số phương án, các hỗn dịch tiêm được bào chế nhờ sử dụng các chất mang lỏng thích hợp, các tác nhân tạo hỗn dịch và các chất tương tự. Các dược phẩm để tiêm có mặt ở dạng phân liều đơn vị, ví dụ trong ống thuốc tiêm hoặc trong vật chứa đa liều. Các dược phẩm để tiêm là các hỗn dịch, dung dịch hoặc nhũ tương trong chất mang dạng dầu hoặc nước, và có thể chứa các chất dùng trong bào chế như chất tạo hỗn dịch, chất làm ổn định và/hoặc chất làm phân tán. Các dung môi thích hợp để sử dụng trong dược phẩm để tiêm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung môi ưa béo và dầu chất béo, như dầu đậu tương, este của axit béo tổng hợp, như etyl oleat hoặc triglycerit, và liposom. Hỗn dịch tiêm trong nước có thể chứa các chất làm tăng độ nhớt của hỗn dịch, như natri carboxymetyl xenluloza, sorbitol, hoặc dextran. Tùy ý, các hỗn dịch này có thể còn chứa chất ổn định thích hợp hoặc các chất làm tăng độ hòa tan của tác nhân dược liệu để cho phép bào chế dung dịch có nồng độ cao.

Theo một số phương án, dược phẩm được bào chế để sử dụng qua niêm mạc. Theo một số phương án các chất thẩm thấu thích hợp với hàng rào cần được thấm qua được sử dụng trong chế phẩm. Các chất thẩm thấu này là đã được biết rộng rãi trong lĩnh vực.

Theo một số phương án, dược phẩm được bào chế để sử dụng bằng cách xông hít. Các dược phẩm để xông hít này được bào chế ở dạng phun xịt trong túi nén khí hoặc ống phun. Các dược phẩm này bao gồm chất nổ đẩy, ví dụ diclodi-flometan, tricloflometan, diclotetrafluetan, cacbon dioxit hoặc các khí thích hợp khác. Theo một số phương án sử dụng sol khí nén áp, đơn vị phân liều có thể được xác định bằng van

mà phân phối một lượng đo được. Theo một số phương án, viên nang và viên đạn để sử dụng trong ống hít hoặc khí dung có thể được bào chế. Các dạng bào chế này bao gồm hỗn hợp bột chứa tác nhân được liệu theo sáng chế và bột nền thích hợp như lactoza hoặc tinh bột.

Theo một số phương án, dược phẩm được bào chế để sử dụng qua trực tràng, như viên thuốc đạn hoặc chất lỏng thụt rửa. Các dược phẩm này bao gồm các thành phần đã biết, như bơ cacao, và/hoặc glyxerit khác.

Theo một số phương án, dược phẩm được bào chế để sử dụng khu trú. Các dược phẩm này bao gồm chất nền tạo ẩm nhẹ, như thuốc hoặc kem. Ví dụ về các chất nền thuốc mỡ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, mỡ dầu hỏa, mỡ dầu hỏa và silicon bay hơi và lanolin và nước trong nhũ tương dầu. Ví dụ về các chất nền kem thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kem lạnh và thuốc mỡ ưa nước.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm oligonucleotit cải biến với lượng có hiệu quả điều trị. Theo một số phương án, lượng có hiệu quả điều trị là đủ để phòng ngừa, làm giảm hoặc cải thiện các triệu chứng của bệnh hoặc kéo dài thời gian sống của đối tượng được điều trị. Việc xác định lượng có hiệu quả điều trị nằm trong khả năng của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều oligonucleotit cải biến theo sáng chế được bào chế dưới dạng tiền thuốc. Theo một số phương án, khi sử dụng *in vivo*, tiền thuốc được chuyển hóa hóa học thành dạng oligonucleotit có hoạt tính sinh học, được lý và trị liệu cao hơn. Theo một số phương án, tiền thuốc là hữu dụng bởi vì chúng dễ sử dụng hơn dạng có hoạt tính tương ứng. Ví dụ, trong một số trường hợp, tiền thuốc có thể có tính sinh khả dụng hơn (ví dụ thông qua việc sử dụng theo đường miệng) so với dạng có hoạt tính tương ứng. Trong một số trường hợp, tiền thuốc có thể có độ hòa tan được cải thiện so với dạng có hoạt tính tương ứng. Theo một số phương án, tiền thuốc ít tan trong nước hơn dạng có hoạt tính tương ứng. Trong một số trường hợp, các tiền thuốc này có sự chuyển qua màng tế bào tốt hơn, trong đó sự hòa tan trong nước là bất lợi đối với. Theo một số phương án, tiền thuốc là este. Theo một số phương án, este được chuyển hóa thủy phân thành axit cacboxylic khi sử dụng. Trong một số trường hợp axit cacboxylic chứa hợp chất là dạng có hoạt tính tương ứng. Theo một số phương án,

tiền thuốc bao gồm peptit ngắn (polyaminoaxit) liên kết với nhóm axit. Theo một số phương án, peptit bị cắt khi sử dụng để tạo thành dạng có hoạt tính tương ứng.

Theo một số phương án, tiền thuốc được tạo ra bằng cách cải biến hợp chất có hoạt tính được lý như hợp chất có hoạt tính sẽ được tái sinh khi sử dụng *in vivo*. Tiền thuốc có thể được thiết kế để làm thay đổi độ ổn định chuyển hóa hoặc đặc tính vận chuyển của thuốc, che giấu tác dụng phụ hoặc độc tính, để cải thiện hương vị của thuốc hoặc làm thay đổi các đặc tính hoặc thuộc tính của thuốc. Bằng kiến thức về các quy trình được động học và chuyển hóa thuốc *in vivo*, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, khi đã biết hợp chất có hoạt tính được lý, có thể thiết kế tiền thuốc của hợp chất này (xem ví dụ Nogrady (1985) *Medicinal Chemistry A Biochemical Approach*, Oxford University Press, New York, pages 388-392).

Một số đường sử dụng thuốc

Theo một số phương án, việc sử dụng cho đối tượng bao gồm sử dụng qua đường tiêm. Theo một số phương án, việc sử dụng cho đối tượng bao gồm sử dụng trong tĩnh mạch. Theo một số phương án, việc sử dụng cho đối tượng bao gồm sử dụng dưới da.

Theo một số phương án, việc sử dụng cho đối tượng bao gồm sử dụng trong động mạch. Theo một số phương án, việc sử dụng cho đối tượng bao gồm sử dụng trong tim. Các phương pháp thích hợp để sử dụng trong tim bao gồm sử dụng ống thông, hoặc sử dụng trong quá trình phẫu thuật tim hở. Theo một số phương án, sử dụng bao gồm việc dùng ống stent.

Theo một số phương án, sử dụng bao gồm sử dụng theo đường phổi. Theo một số phương án, sử dụng theo đường phổi bao gồm việc đưa oligonucleotit đã được tạo dạng sol khí vào phổi của đối tượng bằng cách xông hít. Sau khi cho đối tượng xông hít oligonucleotit dạng sol khí, oligonucleotit phân bố đến các tế bào của cả mô phổi bình thường và bị viêm, bao gồm phế nang đại thực bào, bạch cầu ái toan, biểu mô, nội mạc mạch máu, và biểu mô phế quản. Dụng cụ thích hợp để phân phối được phẩm chứa oligonucleotit cải biến bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dụng cụ ống xịt chuẩn. Các chế phẩm và phương pháp để điều biến kích cỡ giọt nhỏ nhờ sử dụng dụng cụ ống xịt đến các phần đặc hiệu đích của đường hô hấp và phổi là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Các dụng cụ phân phối thuốc thích hợp bao gồm ống hít bột khô hoặc ống hít liều định sẵn.

Theo một số phương án, dược phẩm được sử dụng để đạt được sự tiếp xúc cục bộ mà không phải là tiếp xúc toàn thân. Ví dụ, sử dụng theo đường phối phân phối được phẩm đến phổi, với sự tiếp xúc toàn thân động vật.

Các đường sử dụng thích hợp khác bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đường miệng, trực tràng, qua niêm mạc, trong ruột, trong ruột, khu trú, thuốc đạn, nội tủy mạc, trong tâm thất, trong màng bụng, trong mũi, trong mắt, trong bắp, trong tủy sống, và trong niệu quản.

Một số hợp chất

Sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến có một số trình tự nucleosit, và việc sử dụng các hợp chất này để điều biến hoạt tính, nồng độ hoặc sự biểu hiện của axit nucleic đích. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm oligonucleotit. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm oligonucleotit. Theo một số phương án, oligonucleotit là oligonucleotit cải biến. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bổ sung với phân tử ARN nhỏ không mã hóa. Theo một số phương án, ARN nhỏ không mã hóa là miR-21.

Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm oligonucleotit cải biến nằm cạnh sợi bổ sung, tức là hợp chất này bao gồm hợp chất oligome sợi kép. Theo một số phương án, sự lai của oligonucleotit cải biến với sợi bổ sung tạo thành ít nhất một đầu bằng. Theo một số phương án, sự lai của oligonucleotit cải biến với sợi bổ sung tạo thành đầu bằng ở mỗi đầu tận cùng của hợp chất sợi kép oligome. Theo một số phương án, đầu tận cùng của oligonucleotit cải biến bao gồm một hoặc nhiều nucleosit liên kết bổ sung so với số lượng nucleosit liên kết của sợi bổ sung. Theo một số phương án, một hoặc nhiều nucleosit bổ sung nằm ở đầu tận cùng 5' oligonucleotit. Theo một số phương án, một hoặc nhiều nucleosit bổ sung nằm ở đầu tận cùng 3' của oligonucleotit. Theo một số phương án, ít nhất một nucleobazơ của nucleosit của một hoặc nhiều nucleosit bổ sung bổ sung với ARN đích. Theo một số phương án, mỗi nucleobazơ của một hoặc nhiều nucleosit bổ sung bổ sung với ARN đích. Theo một số phương án, đầu tận cùng của sợi bổ sung bao gồm một hoặc nhiều nucleosit liên kết bổ sung so với số lượng nucleosit liên kết của oligonucleotit. Theo một số phương án, một hoặc nhiều nucleosit liên kết bổ sung ở đầu tận cùng 3' của sợi bổ sung. Theo một số phương án, một hoặc nhiều nucleosit liên kết bổ sung ở đầu tận cùng 5' của sợi bổ sung. Theo một số phương án,

hai nucleosit liên kết bổ sung nối với đầu tận cùng. Theo một số phương án, một nucleosit bổ sung nối với đầu tận cùng.

Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm oligonucleotit cải biến được liên hợp với một hoặc nhiều gốc làm tăng cường hoạt tính, sự phân bố nội bào hoặc hấp thu tế bào của oligonucleotit đối nghĩa thu được. Theo một số phương án, gốc này là gốc cholesterol. Theo một số phương án, gốc này là gốc lipid. Các gốc liên hợp bổ sung bao gồm hydrat carbon, phospholipit, biotin, phenazin, folat, phenanthridin, anthraquinon, acridin, florescein, rhodamin, coumarin, và thuốc nhuộm. Theo một số phương án, nhóm liên hợp được gắn trực tiếp vào oligonucleotit. Theo một số phương án, nhóm liên hợp được gắn vào oligonucleotit cải biến bằng gốc nối được chọn từ amino, hydroxyl, axit cacboxylic, thiol, chưa bão hòa (ví dụ liên kết đôi hoặc liên kết ba), 8-amino-3,6-dioxaoctanoic axit (ADO), succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl) xyclohexan-1-carboxylat (SMCC), axit 6-aminoheptanoic (AHEX hoặc AHA), C₁-C₁₀ alkyl được thế, C₂-C₁₀ alkenyl được thế hoặc không được thế, và C₂-C₁₀ alkynyl được thế hoặc không được thế. Theo một số phương án, nhóm thế được chọn từ hydroxyl, amino, alkoxy, carboxy, benzyl, phenyl, nitro, thiol, thioalkoxy, halogen, alkyl, aryl, alkenyl và alkynyl.

Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm oligonucleotit cải biến có một hoặc nhiều nhóm ổn định được gắn vào một hoặc hai đầu tận cùng của oligonucleotit cải biến để làm tăng các đặc tính như, ví dụ, độ ổn định của nucleaza. Được bao gồm trong nhóm ổn định là các cấu trúc mũ. Các cải biến ở đầu tận cùng này bảo vệ oligonucleotit cải biến tránh khỏi sự phân cắt bằng exonucleaza, và có thể hỗ trợ trong việc phân phối và/hoặc định vị trong tế bào. Mũ có thể ở đầu tận cùng 5' (mũ 5'), hoặc ở đầu tận cùng 3' (3'-cap), hoặc có thể có ở cả hai đầu tận cùng. Các cấu trúc mũ bao gồm, ví dụ, mũ deoxy abasic đảo ngược.

Các cấu trúc mũ thích hợp bao gồm 4',5'-metylen nucleotit, 1-(beta-D-erythrofuransyl) nucleotit, 4'-thio nucleotit, carboxycyclic nucleotit, 1,5-anhydrohexitol nucleotit, L-nucleotit, alpha-nucleotit, nucleobazơ cải biến, liên kết phosphorodithioat, threo-pentofuransyl nucleotit, axycyclic 3',4'-seco nucleotit, axycyclic 3,4-dihydroxybutyl nucleotit, axycyclic 3,5-dihydroxypentyl nucleotit, gốc 3'-3'- nucleotit đảo ngược, gốc 3'-3'- abasic đảo ngược, gốc 3'-2'- nucleotit đảo ngược, gốc 3'-2'- abasic đảo ngược, 1,4-butandiol phosphat, 3'-phosphoramidat, hexylphosphat, aminohexyl phosphat, 3'-

phosphat, 3'-phosphorothioat, phosphorodithioat, gốc methylphosphonat cầu nối, và gốc methylphosphonat không cầu nối 5'-amino-alkyl phosphat, 1,3-diamino-2-propyl phosphat, 3-aminopropyl phosphat, 6-aminohexyl phosphat, 1,2-aminododecyl phosphat, hydroxypropyl phosphat, gốc 5'-5'- nucleotit đảo ngược, gốc 5'-5'-abasic đảo ngược, 5'-phosphoramidat, 5'-phosphorothioat, 5'-amino, 5'-phosphoramidat cầu nối và/hoặc không cầu nối, phosphorothioat, và gốc 5'-mercapto.

Một số liệu pháp điều trị bổ sung

Điều trị bệnh liên quan đến miR-21 có thể bao gồm nhiều hơn một liệu pháp điều trị. Theo một số phương án sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng mắc hoặc nghi ngờ mắc bệnh liên quan đến miR-21 bao gồm việc sử dụng ít nhất một liệu pháp điều trị bổ sung để sử dụng oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ bổ sung với ARN nhỏ.

Theo một số phương án, ít nhất một liệu pháp điều trị bổ sung bao gồm tác nhân được liệu.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm tác nhân kháng viêm. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm là tác nhân kháng viêm thuộc nhóm steroid. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm thuộc nhóm steroid là corticosteroid. Theo một số phương án, corticosteroid là prednison. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm thuốc kháng viêm không thuộc nhóm steroid. Theo một số phương án, tác nhân kháng viêm không thuộc nhóm steroid là ibuprofen, chất ức chế COX-I, hoặc chất ức chế COX-II.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm tác nhân chống đái tháo đường. Tác nhân chống đái tháo đường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, biguanides, chất ức chế glucosidaza, insulin, sulfonylure, và thiazolidinedion.

Theo một số phương án, tác nhân được liệu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thuốc lợi tiểu (ví dụ sprinolacton, eplerenon, furosemit), thuốc làm tăng co cơ (ví dụ dobutamin, milrinon), digoxin, thuốc giãn mạch, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin II (ACE) (ví dụ captopril, enalapril, lisinopril, benazepril, quinapril, fosinopril, và ramipril), chất phong bế thụ thể angiotensin II (ARB) (ví dụ candesartan, irbesartan, olmesartan, losartan, valsartan, telmisartan, eprosartan), chất chặn kênh canxi, isosorbide dinitrat, hydralazin, nitrat (ví dụ isosorbide mononitrat, isosorbide

dinitrat), hydralazin, chất chặn beta (ví dụ carvedilol, metoprolol), và peptit kích thích bài tiết natri qua nước tiểu (ví dụ nesiritit).

Theo một số phương án, tác nhân dược liệu bao gồm heparinoit. Theo một số phương án, heparinoit là pentosan polysulfat.

Theo một số phương án, tác nhân dược liệu là tác nhân dược liệu phong bế một hoặc nhiều đáp ứng với tín hiệu tạo xơ.

Theo một số phương án, tác nhân dược liệu là tác nhân trị liệu kháng yếu tố tăng trưởng mô liên kết. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu kháng CTGF là kháng thể đơn dòng kháng CTGF.

Theo một số phương án, liệu pháp điều trị bổ sung có thể là tác nhân dược liệu làm tăng cường hệ miễn dịch của cơ thể, bao gồm xyclophosphamit liều thấp, thymostimulin, vitamin và các chất dinh dưỡng bổ sung (ví dụ chất chống oxi hóa, bao gồm vitamin A, C, E, beta-caroten, kẽm, selen, glutathion, coenzym Q-10 và echinacea), và vaccin, ví dụ phức hợp kích thích miễn dịch (ISCOM), bao gồm chế phẩm vaccin trong đó kết hợp sự đa trình diện kháng nguyên và tá dược.

Theo một số phương án, liệu pháp điều trị bổ sung được lựa chọn để điều trị hoặc làm giảm tác dụng phụ của một hoặc nhiều chế phẩm dược theo sáng chế. Các tác dụng phụ này bao gồm, không giới hạn, phản ứng tại vị trí tiêm, bất thường trong kiểm tra chức năng gan, bất thường chức năng thận, gây độc gan, gây độc thận, bất thường ở hệ thần kinh trung ương, và bệnh cơ. Ví dụ, tăng mức aminotransferaza trong huyết thanh có thể cho biết gây độc gan hoặc bất thường chức năng gan. Ví dụ, tăng bilirubin có thể cho biết gây độc gan hoặc bất thường chức năng gan.

Ví dụ khác về tác nhân dược liệu bổ sung bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các globulin miễn dịch, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở globulin miễn dịch tiêm tĩnh mạch (IVIg); thuốc giảm đau (ví dụ axetaminophen); salixylat; thuốc kháng sinh; thuốc kháng virus; tác nhân kháng nấm; chất biến đổi hệ adrenergic; hormon (ví dụ steroid đồng hóa, androgen, estrogen, calxitonin, progestin, somatostatin, và hormon tuyến giáp); chất điều biến miễn dịch; thuốc giãn cơ; thuốc kháng histamin; tác nhân loãng xương (ví dụ biphosphonat, calxitonin, và estrogen); prostaglandin, tác nhân kháng tạo u; tác nhân tâm lý trị liệu; thuốc giảm đau; các sản phẩm từ cây sồi độc hoặc cây sơn độc; kháng thể; và vaccin.

Kit

Sáng chế cũng đề xuất kit. Theo một số phương án, kit bao gồm một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế chứa oligonucleotit cải biến, trong đó trình tự nucleobazơ của oligonucleotit bổ sung với trình tự nucleobazơ của miR-21. Hợp chất bổ sung với miR-21 có thể có trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong bản mô tả. Theo một số phương án, hợp chất bổ sung với miR-21 có thể được trình bày trong lọ. Một loạt các lọ nhỏ, ví dụ 10 lọ, có thể có trong, ví dụ, gói pha chế. Theo một số phương án, lọ được sản xuất sao cho có thể đông bằng xi lanh. Kit có thể còn có hướng dẫn sử dụng hợp chất bổ sung với miR-21.

Theo một số phương án, kit có thể được sử dụng để phân phối hợp chất bổ sung với miR-21 cho đối tượng. Trong các trường hợp này, ngoài các hợp chất hợp chất bổ sung với miR-21, kit có thể còn bao gồm một hoặc nhiều vật sau: xi lanh, gạc tẩm cotton, bông gòn, và/hoặc tấm lót lưới. Theo một số phương án, hợp chất bổ sung với miR-21 có thể có trong xi lanh được nạp sẵn (như xi lanh một liều, ví dụ, kim tiêm 27 gauge, 1,27cm (½ inch) có nắp bảo vệ kim tiêm), mà không phải trong lọ. Một loạt xi lanh được nạp sẵn, ví dụ 10 cái, có thể có trong, ví dụ, gói pha chế. Kit cũng có thể có hướng dẫn sử dụng hợp chất bổ sung với miR-21.

Một số mô hình thử nghiệm

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các phương pháp sử dụng và/hoặc thử nghiệm oligonucleotit cải biến theo sáng chế trong mô hình thử nghiệm. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể lựa chọn và thay đổi quy trình chuẩn đối với các mô hình thử nghiệm để đánh giá tác nhân được liệu của sáng chế.

Nhìn chung, oligonucleotit cải biến được thử nghiệm đầu tiên trong tế bào nuôi cấy. Các loại tế bào thích hợp bao gồm các tế bào mà có liên quan đến loại tế bào mà sự phân phối của oligonucleotit cải biến đến đó được mong muốn *in vivo*. Ví dụ, loại tế bào thích hợp cho nghiên cứu của các phương pháp được mô tả trong bản mô tả bao gồm tế bào nguyên thủy hoặc tế bào nuôi cấy.

Theo một số phương án, mức độ oligonucleotit cải biến can thiệp vào hoạt tính của miR-21 được đánh giá trong tế bào nuôi cấy. Theo một số phương án, hoạt tính ức chế của ARN nhỏ có thể được đánh giá bằng cách đo nồng độ của ARN nhỏ. Theo cách khác, nồng độ của thể phiên mã được điều hòa bởi ARN nhỏ được dự đoán hoặc được

phê chuẩn có thể được đo. Hoạt tính ức chế của ARN nhỏ có thể dẫn đến sự tăng thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21, và/hoặc protein được mã hóa bởi thể phiên mã được điều hòa bởi miR-21. Ngoài ra, theo một số phương án, có thể đánh giá một số kiểu hình xuất hiện.

Một số mô hình động vật là sẵn có đối với chuyên gia để nghiên cứu miR-21 trong mô hình bệnh ở người. Ví dụ, các chất ức chế miR-21 có thể được nghiên cứu trong mô hình bệnh ung thư như mô hình ghép ngoại lai trực hướng, mô hình ung thư do độc tố, hoặc mô hình ung thư do di truyền. Trong các mô hình ung thư này, có thể tiến hành các nghiên cứu để đánh giá hiệu quả của các chất ức chế miR-21 đến kích thước khối u, số lượng khối u, thời gian sống toàn bộ, và/hoặc thời gian sống mà bệnh không tiến triển.

Hiệu quả của các chất ức chế miR-21 đến chức năng tim và bệnh xơ hóa có thể được nghiên cứu trong các mô hình đóng qua động mạch chủ hoặc nhồi máu cơ tim, mỗi mô hình bao gồm chức năng tim bất thường và xơ hóa. Mô hình xơ hóa thận bao gồm tắc nghẽn niệu quản một bên và thiếu máu cục bộ/tổn thương tái tưới máu. Trong giai đoạn sớm, mô hình tổn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ thận có thể được sử dụng đối với tổn thương thận cấp tính, trong khi giai đoạn muộn dùng mô hình xơ hóa thận. Mô hình xơ hóa gan được gây ra bởi, ví dụ, nhiễm độc cacbon tetrachlorua hoặc cắt bỏ ống mật. Hiệu quả của miR-21 đối với xơ hóa phổi có thể được nghiên cứu, ví dụ, trong mô hình xơ hóa phổi do bleomycin. Mô hình làm lành vết thương cũng có sẵn cho các chuyên gia, ví dụ chuột C57Bl/KsJ-db/db, biểu hiện một số đặc tính của bệnh đái tháo đường khởi phát ở người trưởng thành, như làm lành vết thương chậm rõ rệt.

Thử nghiệm định lượng

Hiệu quả của việc ức chế miR-21 đối nghĩa sau khi sử dụng oligonucleotit cải biến có thể được đánh giá bằng nhiều phương pháp khác nhau đã biết trong lĩnh vực. Theo một số phương án, các phương pháp này được sử dụng để định lượng nồng độ của ARN nhỏ trong tế bào hoặc mô *in vitro* hoặc *in vivo*. Theo một số phương án, sự thay đổi về nồng độ của ARN nhỏ được đo bằng phân tích microarray. Theo một số phương án, sự thay đổi về nồng độ của ARN nhỏ được đo bằng một trong số các thử nghiệm PCR có bán sẵn, như TaqMan® micro-ARN Assay (Applied Biosystems). Theo một số phương án, sự ức chế miR-21 đối nghĩa được đánh giá bằng cách đo nồng độ mRNA

và/hoặc protein của đích của miR-21. Sự ức chế miR-21 đối nghĩa thường dẫn đến sự tăng nồng độ mRNA và/hoặc protein của đích của ARN nhỏ.

Thử nghiệm về sự ăn khớp đích

Điều biến hoạt tính của ARN nhỏ bằng kháng miR hoặc giả ARN nhỏ có thể được đánh giá bằng cách đo sự ăn khớp đích. Theo một số phương án, sự ăn khớp đích được đánh giá bằng nét đặc trưng microarray của ARN thông tin. Trình tự của ARN thông tin mà được điều biến (tăng hoặc giảm) bằng kháng miR hoặc giả ARN nhỏ được nghiên cứu cho trình tự gốc của microARN, để so sánh sự điều biến ARN thông tin là đích của ARN nhỏ để điều biến ARN thông tin mà không phải là đích của ARN nhỏ. Trong phương pháp này, tương tác giữa kháng miR với miR-21, hoặc giả miR-21 với đích của nó, có thể được đánh giá. Trong trường hợp của kháng miR, ARN thông tin mà mức độ biểu hiện của nó tăng được sàng lọc đối với trình tự mRNA bao gồm sự bắt cặp gốc với ARN nhỏ mà bổ sung với kháng miR.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được trình bày nhằm mục đích minh họa đầy đủ hơn một số phương án của sáng chế. Tuy nhiên, không trong trường hợp nào các ví dụ này được hiểu là giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng ứng dụng các nguyên lý cơ bản của phát hiện này để thiết kế nhiều hợp chất khác mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Sàng lọc *in vitro* các hợp chất kháng miR-21

Nhiều hợp chất kháng miR hướng đích miR-21 và bao gồm cEt nucleosit được đánh giá về hiệu quả ức chế của chúng lên hoạt tính của miR-21. Như được thể hiện trong Bảng A, các hợp chất này khác nhau về chiều dài và số, loại và vị trí sắp xếp của nucleosit cải biến. 25919 bao gồm 2'-MOE và 2'-flo nucleosit và được biết là ức chế miR-21, và do đó được đưa vào làm đối chứng dương. Các hợp chất còn lại bao gồm cEt nucleosit kết hợp với 2'-MOE nucleosit và/hoặc β -D-deoxyribonucleosit.

Bảng A: Các hợp chất kháng miR-21

Hợp chất số	Trình tự và hóa học (5' đến 3')	SEQ ID NO
25919	U _E C _E A _F A _F C _F A _F U _F C _F A _F G _F U _F C _E U _E G _E A _F U _F A _F A _F G _F C _F U _E A _E	4
25067	T _E ^{Me} CA _S A ^{Me} CA _S T ^{Me} CAG _S T ^{Me} CTGA _S TAAG _S ^{Me} CTA _E	4
25068	T _E ^{Me} C _E A _E 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	4
25070	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S TA _E	3
25071	A _E ^{Me} CA _S T ^{Me} CAG _S T ^{Me} CTGA _S TAAG _S ^{Me} CTA _E	3
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
25077	A _E T _E ^{Me} C _E A _S G _S T _E ^{Me} C _E T _E G _S A _S T _E A _S G _S ^{Me} C _E T _E A _E	5
25082	T _E ^{Me} CAAC _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S TA _E	4
25731	A _E T _E ^{Me} C _E A _E G _E T _E ^{Me} C _E T _E G _S A _S T _E A _S A _S G _E ^{Me} C _E U _S A _S	5

Trong Bảng A trên, nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “E” là 2'-MOE nucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “S” là S-cEt nucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “F” là 2'-flo nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit. Chỉ số dưới “Me” biểu thị nhóm 5-metyl trên bazơ pyrimidin của nucleosit.

Các hợp chất này được đánh giá về hoạt tính ức chế miR-21 trong thử nghiệm luxiferaza. Cấu trúc cảm biến ARN nhỏ luxiferaza được thiết kế nhờ sử dụng pGL3-MCS2 (Promega). Cấu trúc này được đưa vào tế bào Hela để đánh giá khả năng của hợp chất kháng miR để ức chế hoạt tính của miR-21. Trong thử nghiệm này, sự có mặt của miR-21 trong tế bào Hela liên kết với vị trí cùng nguồn gốc trong cấu trúc cảm biến luxiferaza, và ức chế sự biểu hiện của luxiferaza. Khi kháng miR thích hợp được đưa vào tế bào, nó liên kết với miR-21 và làm giảm nhẹ ức chế sự biểu hiện của luxiferaza. Do đó, trong thử nghiệm này kháng miR mà là các chất ức chế hiệu quả sự biểu hiện của miR-21 sẽ dẫn đến sự tăng biểu hiện luxiferaza.

Ngày 1: Tế bào Hela (ATCC), được chuyển nhiễm ổn định với cấu trúc luxiferaza được thiết kế để chứa trình tự bổ sung của miR-21, được nuôi cấy trong bình T-170 (BD

Falcon) với mật độ $3,5 \times 10^6$ tế bào/bình. Tế bào Hela được sinh trưởng trong môi trường Eagle được cải biến của Dulbecco với nồng độ glucoza cao (Invitrogen).

Ngày 2: mỗi bình chứa tế bào Hela được chuyển nhiễm với 0,5ug plasmit cảm biến pRL (Promega) biểu hiện Renilla để được sử dụng trong chuẩn hóa. Tế bào Hela được chuyển nhiễm nhờ sử dụng 20ul Lipofectamin 2000/bình (Invitrogen). Sau 4 giờ chuyển nhiễm, rửa tế bào bằng PBS và trypsin hóa. Cấy trải tế bào Hela với mật độ 40k/giếng trong đĩa 24 giếng (BD Falcon) và để qua đêm.

Ngày 3: Tế bào Hela được chuyển nhiễm với kháng miR nhờ sử dụng Lipofectin (Invitrogen) ở nồng độ 2,5ul Lipofectin/100nM ASO/ml Opti-MEM I Reduced Serum Medium (Invitrogen) trong 4 giờ. Sau khi chuyển nhiễm ASO, tế bào Hela được nuôi cấy lại bằng môi trường Eagle được cải biến của Dulbecco với nồng độ glucoza cao (Invitrogen).

Ngày 4: Tế bào Hela được ly giải tích cực và đo hoạt tính luxiferaza nhờ sử dụng Hệ thống phân tích báo cáo Luxiferaza kép (Promega).

Thử nghiệm luxiferaza được thực hiện để đánh giá khả năng kháng miR với trình tự nucleosit được mô tả trong bản mô tả để ức chế hoạt tính của miR-21. Kết quả được so sánh với xử lý 'bất chức', trong đó các tế bào tiếp nhận xử lý không kháng miR. Thử nghiệm này được lặp lại và các kết quả của hai lần lặp lại thử nghiệm được thể hiện trong Bảng B sau đây, giá trị luxiferaza được chuẩn hóa so với hoạt tính beta-galactosidaza.

Bảng B: Hoạt tính ức chế của các hợp chất kháng miR-21

Xử lý	Nồng độ Oligonucleotit					
	500nM	100nM	20nM	4nM	.8nM	.16nM
Chuyển nhiễm bất chức	39	40	47	50	33	45
25919	202	171	114	84	53	40
25067	42	30	41	43	23	38
25068	122	97	86	64	54	45
25070	165	132	128	99	87	65

25071	42	53	63	50	36	48
25072	143	115	86	76	49	40
25077	40	42	33	45	33	34
25082	202	176	147	112	89	70
25731	59	38	39	32	45	34

Như được minh họa trong Bảng B, một vài hợp chất có chứa cEt đã chứng minh sự ức chế miR-21 theo cách phụ thuộc liều: 25068, 25070, 25072, và 25082.

Ví dụ 2: Các biến thể của nucleosit cải biến của hợp chất 25070 kháng miR-21

Như được thể hiện trong ví dụ nêu trên, 25070 là chất ức chế hiệu quả hoạt tính của miR-21 trong thử nghiệm luxiferaza. Để đánh giá những thay đổi về loại nucleosit cải biến ở các vị trí khác nhau của 25070, các hợp chất kháng miR-21 bổ sung được thiết kế như được thể hiện trong Bảng C.

Bảng C: Các hợp chất kháng miR-21 bổ sung

Số tham chiếu	Trình tự và hóa học (5' đến 3')	Biến thể so với 25070
25070	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S TA _E (SEQ ID NO: 3)	Không
25922	A _E ^{Me} C _S AT ^{Me} C _S AGT ^{Me} C _S TGAT _S AAG ^{Me} C _S TA _E (SEQ ID NO: 3)	Mỗi xytosin là 5-metyl xytosin
25923	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S TA _S (SEQ ID NO: 3)	nucleosit đầu tận cùng 3' là cEt nucleosit chứ không phải là 2'-MOE nucleosit
25924	A _E ^{Me} C _S AT ^{Me} C _S AGT ^{Me} C _S TGAT _S AAG ^{Me} C _S TA _S (SEQ ID NO: 3)	nucleosit đầu tận cùng 3' là cEt nucleosit chứ không phải là 2'-MOE nucleosit và mỗi

		xytosin là 5-metyl xytosin
25116	A_E $MeC_SA_ET_E^{Me}C_SA_EG_ET_E^{Me}C_ST_EG_EA_E^{Me}T_SA_EA_EG_E^{Me}C_ST_EA_E$ (SEQ ID NO: 3)	Mỗi nucleosit không vòng đôi là 2'-MOE nucleosit và mỗi mỗi xytosin là 5-metyl xytosin
25117	$A_E^{Me}C_LA_ET_E^{Me}C_LA_EG_ET_E^{Me}C_LT_EG_EA_E^{Me}T_LA_EA_EG_E^{Me}C_LT_EA_E$ (SEQ ID NO: 3)	Mỗi nucleosit không vòng đôi là 2'-MOE nucleosit và mỗi mỗi xytosin là 5-metyl xytosin

Trong Bảng F nêu trên, nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “E” là 2'-MOE nucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “S” là S-cEt nucleosit. Nucleosit có chỉ số dưới “F” là 2'-flo nucleosit. mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit. Chỉ số dưới “Me” là có nhóm 5-metyl trên bazơ pyrimidin của nucleosit.

Thử nghiệm luxiferaza được thực hiện như được mô tả trong bản mô tả để đánh giá khả năng của kháng miR trong Bảng F để ức chế hoạt tính của miR-21. Kết quả được so sánh với xử lý bất ‘bất chước’, trong đó tế bào tiếp nhận xử lý không kháng miR. Thử nghiệm được lặp lại và kết quả của hai lần lặp lại thử nghiệm được thể hiện trong Bảng D sau đây, theo sự thay đổi về số lần giá trị luxiferaza so với xử lý bất chước.

Bảng D: Thử nghiệm Luxiferaza đánh giá các hợp chất kháng miR-21 khác nhau

Xử lý	Nồng độ của hợp chất kháng miR					
	50,0	16,7	5,6	1,9	0,6	0,2
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

Như được minh họa trong Bảng D, một số hợp chất chứa cEt đã chứng minh sự ức chế miR-21 theo cách phụ thuộc liều, ngoài các hợp chất 25070: 25922, 25923, và 25924. Các hợp chất kháng miR-21 25116 và 25117, mỗi hợp chất này có chứa sự cải biến gốc đường ở mỗi nucleosit, trong đó mỗi xytosin là 5-metylxytosin, không phải chất ức chế hiệu quả của miR-21.

Ví dụ 3: So sánh các trình tự nucleosit làm cho các hợp chất có hoạt tính kháng miR-21

Để xác định mối quan hệ giữa trình tự nucleosit mà mang lại hoạt tính cho các hợp chất kháng miR-21, sự sắp xếp của các nucleosit được cải biến và không được cải biến được so sánh qua hoạt tính của các hợp chất kháng miR-21, được thể hiện trong Bảng E.

Bảng E: Các hợp chất chứa cEt có hoạt tính kháng miR-21

Hàng tương ứng trong bảng dưới đây	Hợp chất số	Trình tự và hóa học (5' đến 3')	SEQ ID NO
1	25068	$T_E^{Me}C_EA_EA_EC_SAE_TEC_SAEGETEC_STEGEAEUSAEAEGETEC_STEAE$	4
2	25070	$A_EC_SATC_SAGTC_STGAUS_AAGC_STA_E$	3
3	25072	$A_EC_SAE_TEC_SAEGETEC_STEGEAEUSAEAEGETEC_STEAE$	3
4	25082	$T_E^{Me}CAAC_SATC_SAGTC_STGAUS_AAGC_STA_E$	4
5	25922	$A_E^{Me}C_SAT^{Me}C_SAGT^{Me}C_STGAT_S AAG^{Me}C_STA_E$	3
6	25923	$A_EC_SATC_SAGTC_STGAUS_AAGC_STA_S$	3
7	25924	$A_E^{Me}C_SAT^{Me}C_SAGT^{Me}C_STGAT_S AAG^{Me}C_STA_S$	3

Bảng F: Các cấu trúc được sắp xếp để so sánh của các hợp chất chứa cEt có hoạt tính kháng miR-21

	Nucleobazơ và gốc đường														
	T _E	MeC _E	A _E	A _E	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T _E	G _E	A _E
1															
2					C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A
3					C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T _E	G _E	A _E
4	T _E	MeC	A	A	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A
5					MeC _S	A	T	MeC _S	A	G	T	MeC _S	T	G	A
6					C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A
7					MeC _S	A	T	MeC _S	A	G	T	MeC _S	T	G	A

Việc so sánh sự sắp xếp của các nucleosit được cải biến và không được cải biến (Bảng F trên) cho thấy một số trình tự nucleosit là chung với mỗi hợp chất kháng miR-21 có hoạt tính cao.

Ví dụ, so sánh cấu trúc ở đầu tận cùng 5' của mỗi hợp chất cho thấy vùng nằm trong khoảng từ 1 đến 4 nucleosit, mỗi nucleosit là nucleosit không vòng đôi (Cột 'R' trong Bảng G dưới đây). Vùng tiếp theo có một nucleosit hai vòng, tiếp theo là hai nucleosit không vòng đôi, tiếp theo là một nucleosit hai vòng (Cột '1' trong Bảng G dưới đây).

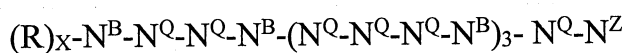
Phần tiếp theo sau đoạn gồm bốn nucleosit lặp lại, ba nucleosit không vòng đôi, tiếp theo là một nucleosit hai vòng, và đoạn gồm bốn nucleosit này xảy ra tổng số ba lần (Cột '2' trong Bảng G dưới đây).

Trong mỗi hợp chất kháng miR-21 hiệu quả, hai nucleosit đầu tận cùng 3' là nucleosit không vòng đôi (Cột 'T' trong Bảng G dưới đây).

Bảng G: Cấu trúc trình tự nucleosit

Vùng	R	1	2	T
Loại nucleosit	N ^Q Chiều dài từ 1 đến 4	N ^B -N ^Q -N ^Q -N ^B	(N ^Q -N ^Q -N ^Q -N ^B) ₃	N ^Q -N ^Z

Trình tự nucleosit này được trình bày bởi công thức I sau đây, theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó mỗi R là nucleosit không vòng đôi; X là từ 0 đến 4;

mỗi N^B là nucleosit hai vòng;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và

mỗi N^Z là nucleosit cải biến.

Công thức này bao gồm mỗi nucleosit trong trình tự nucleosit của các hợp chất có hoạt tính kháng miR-21 25068, 25070, 25072, 25082, 25922, 25923, và 25924, chứng minh

rằng trình tự nucleosit I tạo ra hoạt tính kháng miR hiệu quả, với tính linh động được cho phép trong việc chọn lựa nucleosit hai vòng, nucleosit không vòng đôi, và nucleosit cải biến. Do đó, sáng chế đề xuất các chế phẩm chứa oligonucleotit cải biến có nucleobazơ bổ sung với miR-21 và trình tự nucleosit được mô tả bởi công thức I.

Để xác định mối quan hệ giữa trình tự nucleosit mà mang lại hoạt tính cho các hợp chất kháng miR-21 hiệu quả mà có chiều dài gồm 19 nucleosit liên kết, sự sắp xếp của các nucleosit được cải biến và không được cải biến được so sánh trong tất cả các hợp chất có hoạt tính cao, được thể hiện trong Bảng H. Để minh họa cho sự sắp xếp tương tự của một số nucleosit, các hợp chất được thể hiện lại trong Bảng I.

Bảng H: Các hợp chất kháng miR-21 hiệu quả

Dòng tương ứng trong Bảng I	Hợp chất số	Trình tự và hóa học (5' đến 3')	SEQ ID NO:
1	25070	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S TA _E	3
3	25922	A _E ^{Me} C _S AT ^{Me} C _S AGT ^{Me} C _S TGAT _S AAG ^{Me} C _S TA _E	3
4	25923	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S TA _S	3
5	25924	A _E ^{Me} C _S AT ^{Me} C _S AGT ^{Me} C _S TGAT _S AAG ^{Me} C _S TA _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

Bảng I: Sự sắp xếp và so sánh nucleosit của các hợp chất kháng miR-21 hiệu quả được thể hiện trong Bảng H

Nucleobazo và gốc đường																			
1	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
2	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	A _E	^{Me} C _S	A	T	^{Me} C _S	A	G	T	^{Me} C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	^{Me} C _S	T	A _E
4	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
5	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

Sự so sánh sắp xếp của các nucleosit được cải biến và không được cải biến (Bảng I trên đây) cho thấy một số trình tự nucleosit là chung cho mỗi hợp chất kháng miR-21 hiệu quả cao mà có chiều dài gồm 19 nucleosit liên kết.

Ví dụ, so sánh các cấu trúc ở đầu tận cùng 5' của mỗi hợp chất cho thấy một nucleosit cải biến, không phải là nucleosit hai vòng (Cột 'N^M' trong Bảng J dưới đây). Vùng tiếp theo có một nucleosit hai vòng, tiếp theo là hai nucleosit không vòng đôi, tiếp theo là một nucleosit hai vòng (Cột '1' trong Bảng J dưới đây).

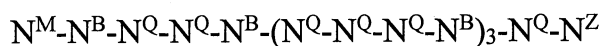
Phần tiếp theo nằm sau đoạn lặp gồm bốn nucleosit, ba nucleosit không vòng đôi, tiếp sau là một nucleosit hai vòng, và đoạn gồm bốn nucleosit lặp lại tổng số ba lần (Cột '2' trong Bảng J dưới đây).

Trong mỗi kháng miR-21 hoạt tính, phần tiếp theo nucleosit cuối cùng ở đầu tận cùng 3' là nucleosit không cải biến (Cột 'N' trong Bảng J dưới đây). Nucleosit ở đầu tận cùng 3', bổ sung với nucleobazo ở vị trí 1 của miR-21, là nucleosit cải biến (Cột 'N^Z' trong Bảng J dưới đây).

Bảng J: Sự giống nhau về trình tự nucleosit

Vùng	N ^M	1	2	N	N ^Z
Loại nucleosit	N ^M	N ^B -N ^Q -N ^Q -N ^B	(N ^Q -N ^Q -N ^Q -N ^B) ₃	N ^Q	N ^Z

Trình tự nucleosit này được thể hiện bằng công thức II sau đây, theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng;

mỗi N^B là nucleosit hai vòng;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và

N^Z là nucleosit cải biến.

Dữ liệu được đưa ra trong bản mô tả đã chứng minh rằng trình tự nucleosit này mang lại hoạt tính cho hợp chất kháng miR-21, và ngoài ra, hoạt tính của hợp chất này được duy trì với nhiều loại nucleosit cải biến khác nhau. Do đó, sáng chế đề xuất các chế phẩm chứa oligonucleotit cải biến có trình tự nucleobazơ bổ sung với miR-21 và trình tự nucleosit có cấu trúc II.

Các phân tích tương tự được thực hiện với nhóm gồm các hợp chất kháng miR-21, bao gồm 25211 và 25220. Giống với kết quả của các công thức trên đây, các công thức III đến V được thiết lập.

Ví dụ 2: Sự ức chế miR-21 trong mô hình xơ hóa thận

Tắc nghẽn niệu quản một bên (Unilateral ureteral obstruction -UUO) là mô hình thử nghiệm được thiết lập phù hợp về tổn thương thận dẫn đến xơ hóa mô kẽ, và do đó được sử dụng như một mô hình thử nghiệm phản ánh bệnh thận ở người. UUO được gây ra bởi phẫu thuật ghép một ống niệu quản. Do xơ hóa được đặc trưng bởi sự tăng collagen, sự có mặt và mức độ xơ hóa thận có thể được xác định bằng cách đo hàm lượng collagen. Cả collagen 1A1 (Col 1A1) và collagen 3A1 (Col 3A1) được đo để đánh giá hàm lượng collagen. Xơ hóa

thận có thể quan sát được bằng cách nhuộm mẫu mô với đỏ pico-sirius để phát hiện sự tăng hàm lượng collagen. Xơ hóa thận cũng có thể quan sát được bằng cách đo lượng hydroxyprolin, là thành phần chính của collagen, trong mẫu.

Các hợp chất kháng miR-21 có chứa cEt được phát hiện là có hiệu quả trong thử nghiệm luxiferaza đã được kiểm tra trong mô hình xơ hóa thận UUO. 25919 chứa các cải biến 2'-MOE và 2'-flo được biết là ức chế hoạt tính của miR-21 *in vivo* và được đưa vào làm đối chứng dương. Nhóm gồm 8 động vật, mỗi nhóm được xử lý như sau: chỉ UUO, UUO với PBS, hoặc UUO với hợp chất kháng miR-21. So với ngày của quy trình UUO, PBS hoặc hợp chất kháng miR-21 được sử dụng ở các ngày -3, -1, và +5. Các hợp chất kháng miR-21 được sử dụng với liều 20 mg/kg. Do hợp chất kháng miR được sử dụng trước quy trình UUO, phác đồ liều dùng này được xem là điều trị dự phòng. Vào ngày 11, động vật bị giết và tách lấy thận để đo sự biểu hiện collagen. Đo sự biểu hiện collagen bằng phản ứng real-time PCR và chuẩn hóa lần đầu tới GAPDH và sau đó đến động vật đối chứng giả. Sự biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1 được thể hiện trong Bảng K dưới đây.

Bảng K: Một số hợp chất kháng miR-21 cảm ứng sự biểu hiện collagen trong mô hình UUO

Nhóm xử lý	Động vật số	Collagen 1A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Giá trị trung bình	Collagen 3A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Giá trị trung bình
Đối chứng giả	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

	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	
UO-25082	1	122,2	91,7	62,9	59,1
	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	
UO-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	

Nghiên cứu này được lặp lại 2 đến 3 lần với mỗi nhóm xử lý trên đây. Phân tích meta các nghiên cứu cho thấy rằng xử lý bằng 25070 cho khả năng cao nhất như đã phán

đoán bằng biểu hiện collagen dẫn đến ức chế collagen 1A1 40% và ức chế collagen 3A1 30%. Hợp chất 25068 cũng có hiệu quả trong việc làm giảm biểu hiện collagen, nhưng mức độ ít hơn các hợp chất 25070, 25072 và 25082, trong khi các chất ức chế miR-21 hiệu quả trong thử nghiệm *in vitro* được mô tả trong bản mô tả, đã không chứng minh một cách nhất quán sự giảm biểu hiện collagen.

Nghiên cứu UUO được lặp lại để xác định hoạt tính của hợp chất 25070. Hợp chất kháng miR được cho sử dụng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg. Kết quả trong Bảng L dưới đây xác nhận rằng hợp chất 25070 là chất ức chế biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1 hiệu quả.

Bảng L: Sử dụng hợp chất 25070 nhằm mục đích dự phòng làm giảm sự biểu hiện collagen trong mô hình UUO

Điều trị	Động vật	Collagen 1A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Giá trị trung bình	Collagen 3A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Giá trị trung bình
Đối chứng giả	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	

Sự so sánh các nghiên cứu UUO cho thấy hợp chất 25070 là chất ức chế có hiệu quả cao sự biểu hiện collagen trong mô hình UUO, do đó 25070 là ứng cử viên làm tác nhân điều trị để điều trị bệnh xơ hóa, bao gồm xơ hóa thận.

Ví dụ 3: So sánh kháng miR-21 với chất phong bế thụ thể angiotensin

Chất phong bế thụ thể angiotensin irbesartan đã được biết là phong bế sự hình thành xơ cứng ống thận mô kẽ trong mô hình tổn thương thận cấp tính được đặc trưng bởi bệnh xơ hóa. Hiệu quả của hợp chất 25070 được so sánh với irbesartan trong mô hình UUO xơ hóa.

Nhóm xử lý đối chứng bao gồm chỉ UUO (Đối chứng giả) và UUO với PBS được dùng theo đường dưới da. Nhóm đối chứng bổ sung bao gồm UUO với chất mang Tween-MC/20 dùng theo đường miệng. 25070 được dùng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg vào thời điểm 5 ngày trước, 2 ngày trước, và 3 ngày sau quy trình UUO. Irbesartan được dùng theo đường miệng hàng ngày vào các ngày 0 đến 7 sau quy trình UUO. Các động vật bị giết vào Ngày 10 sau quy trình UUO. Thu lấy mô thận để đánh giá sự biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1. Kết quả được thể hiện trong Bảng M dưới đây, và thể hiện sự giảm có ý nghĩa thống kê ($p < .05$ bằng ANOVA một chiều) trong biểu hiện Coll1A1 ở các động vật được điều trị bằng 25070, so với động vật được điều trị bằng nước muối. Irbesartan

không gây ra sự giảm biểu hiện Col1A1 có ý nghĩa thống kê. Cả irbesartan và 25070 gây ra sự giảm biểu hiện Col3a1 có ý nghĩa thống kê, với 25070 gây ra sự giảm mạnh hơn irbesartan.

Bảng M: 25070 làm giảm sự biểu hiện collagen ở mức độ lớn hơn irbesartan trong mô hình UUO

Nhóm	Động vật số	Colagen 1A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Giá trị trung bình	Colagen 3A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Giá trị trung bình
Đối chứng giả	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	
Chất mang UUO- Tween/MC (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-Irbesartan (PO)	1	125,4	117,8	65,5	73,2
	2	86,7		(không có mẫu)	
	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	

Một dấu hiệu khác của bệnh xơ hóa tỷ lệ phần trăm mô thận thể hiện sự biểu hiện collagen sau quy trình UUO. Do đó, mô thận cũng được lấy để phân tích mô học, để đánh giá những phần mô thận mà thể hiện sự tăng biểu hiện collagen; kết quả được thể hiện trong

Bảng N dưới đây. ‘Phân đoạn vùng collagen’ được đánh giá về mặt mô học thông qua việc xử lý hình ảnh định lượng của vùng mô thận được nhuộm đỏ bằng thuốc nhuộm đỏ picosirius; tỷ lệ phần trăm được phát hiện có màu đỏ được chuẩn hóa bằng vùng của bộ phận thận. Do các lát cắt mô được phân tích về hình dáng mờ, trong khi các mẫu trong các Bảng M và N được lấy từ cùng một nghiên cứu, việc đánh số các mẫu trong Bảng N dưới đây không nhất thiết tương ứng với việc đánh số các mẫu trong Bảng M trên đây.

Bảng N: 25070 làm giảm sự biểu hiện collagen ở phạm vi rộng hơn irbesartan trong mô hình UUO

Nhóm	(không giống như các số của PCR)	Phân đoạn vùng Collagen (%)	Trung bình
Đối chứng giả	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-Tween/MC vehicle (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-Irbesartan (PO)	1	6,105	8,0
	2	7,481	
	3	15,877	
	4	7,914	
	5	6,614	
	6	5,706	
	7	7,798	
	8	6,154	

Các kết quả này đã chứng minh rằng sự ức chế miR-21 bằng 25070 ức chế sự biểu hiện collagen với hoạt tính lớn hơn irbesartan, ngoài ra còn xác nhận rằng 25070 là ứng cử viên tiềm năng để điều trị, phòng ngừa và/hoặc làm thuyên giảm bệnh xơ hóa.

Ví dụ 4: Sự ức chế miR-21 trong mô hình thiếu máu cục bộ/tổn thương tái tưới máu

Mô hình thiếu máu cục bộ/tổn thương tái tưới máu (IRI) được tạo ra trong chuột nhờ thắt động mạch thận một bên hoặc hai bên, dẫn đến hoại tử ống thận, gây viêm, và xơ hóa. Rối loạn chức năng thận có thể xảy ra sớm (<5 ngày) hoặc muộn (>7 ngày) trong mô hình này, với các thời điểm sớm hữu ích để kiểm tra các ứng cử tác nhân để điều trị tổn thương thận cấp tính, và các thời điểm muộn hơn hữu ích đối với bệnh xơ hóa mạn tính trong mô hình.

Các hợp chất kháng miR-21 được thử nghiệm trong mô hình IRI một bên. IRI một bên được gây bầm ứng trong thời gian khoảng 30 phút. Các nhóm xử lý như sau: Quy trình IRI giả; IRI với PBS được dùng theo đường dưới da; IRI với hợp chất 25070 kháng miR-21 được dùng theo đường trong bụng với liều 20 mg/kg; Hợp chất 25919 kháng miR-21 được cải biến 2'-flo/2'-MOE được dùng theo đường trong bụng với liều 20 mg/kg; và hợp chất 25319 kháng miR-21 có lỗi bắt cặp được cải biến 2'-flo/2' (có ba lỗi bắt cặp trong trình tự của miR-21) được dùng theo đường trong bụng với liều 20 mg/kg. PBS hoặc hợp chất kháng miR được dùng vào các ngày 5, 6, và 7 sau IRI, và động vật được giết 14 ngày sau IRI. Khi hợp chất kháng miR được dùng 5 ngày sau tổn thương thận, hoặc muộn hơn, khi xơ hóa đã xảy ra ở một mức độ nào đó, phác đồ điều trị này được xem là phác đồ điều trị chứ không phải phác đồ dự phòng.

Mô thận được thu lại để phân tích biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1 (được thể hiện trong Bảng O), và phân đoạn vùng collagen (được thể hiện trong Bảng P). 'Phân đoạn vùng collagen' được phân tích về hình dáng mù, trong khi các mẫu trong Bảng O và P được lấy từ cùng một nghiên cứu, việc đánh số các mẫu trong Bảng O không tương ứng với việc đánh số các mẫu trong Bảng P. Lỗi xử lý mẫu làm cho phân đoạn vùng collagen không được phân tích về xử lý đối chứng lỗi bắt cặp control kháng miR-21, do đó kết quả đối với nhóm thử nghiệm này được trình bày chỉ với sự biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1. Trong nghiên cứu này, hợp chất 25070 gây ra sự giảm phân đoạn vùng collagen có ý nghĩa thống kê.

Bảng O: 25070 gây giảm sự biểu hiện collagen trong mô hình IRI với việc dùng liều vào các ngày 5, 6, và 7

Nhóm	Động vật số	Collagen 1A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Trung bình	Collagen 3A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Trung bình
Đối chứng giả	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	
	6	42,2		34,9	
	7	64,1		56,1	
	8	96,4		82,8	
IRI-25070	1	81,7	50,2	57,8	34,2
	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	

Bảng P: 25070 gây giảm phân đoạn vùng collagen trong mô hình IRI với việc dùng liều với việc dùng liều vào các ngày 5, 6, và 7

Nhóm	Động vật (không giống với PCR)	Phân đoạn vùng collagen (#)	Trung bình
Đối chứng giả	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
	2	8,254	
	3	8,095	
	4	8,559	

	5	8,681	
	6	6,31	
	7	8,416	
	8	9,905	
IRI-25070	1	10,266	9,7
	2	11,772	
	3	10,267	
	4	8,404	
	5	7,862	
	6	6,975	
	7	8,381	
	8	13,773	

Một nghiên cứu tương tự được thực hiện với cùng các nhóm được xử lý và các ngày xử lý bổ sung. Trong nghiên cứu này, việc điều trị được dùng theo đường trong bụng vào các ngày 5, 6, 7, 14, và 21 sau quy trình IRI. Động vật được giết vào Ngày 27, và mô thận được thu nhận để phân tích biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1, giống như phân đoạn vùng collagen. ‘Phân đoạn vùng collagen’ được phân tích về hình dáng mù, trong khi các mẫu trong Bảng Q và R từ cùng một nghiên cứu, việc đánh số các mẫu trong Bảng Q dưới đây không tương ứng với việc đánh số các mẫu trong Bảng R. Trong nghiên cứu này, 25070 gây ra sự giảm có ý nghĩa thống kê trong phân đoạn vùng collagen.

Bảng Q: 25070 gây ra sự giảm biểu hiện collagen trong mô hình IRI với việc dùng liều vào các ngày 5, 6, 7, 14, và 21

Nhóm	Động vật số	Collagen 1A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Trung bình	Collagen 3A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Trung bình
Đối chứng giả	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	
	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	

Bảng R: 25070 gây ra sự giảm phân đoạn vùng collagen trong mô hình IRI với việc dùng liều vào các ngày 5, 6, 7, 14, và 21

Nhóm	Động vật (không giống PCR)	Phân đoạn vùng collagen (#)	Trung bình
Đối chứng giả	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	
	6	10,695	
	7	13,978	
	8	10,12	

Các nghiên cứu này đã chứng minh sự giảm hàm lượng collagen sau khi ức chế miR-21 trong mô hình tổn thương thận cấp tính. Do đó, hợp chất 25070 kháng miR-21 là tác nhân điều trị để điều trị tổn thương thận cấp tính. Ví dụ, phòng ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát xơ hóa sau tổn thương thận cấp tính có thể phòng ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát bệnh thận mạn tính.

Để đánh giá tính linh động trong việc sử dụng hợp chất 25070 kháng miR-21, hoạt tính của hợp chất này trong nghiên cứu 14 ngày trên đây, trong đó kháng miR-21 được dùng vào các ngày 3, 5, và 7 sau quy trình IRI, đến một nghiên cứu 14 ngày khác, trong đó kháng miR-21 được dùng theo đường trong bụng vào các ngày 3, 5, và 7 sau quy trình IRI. Dữ liệu trong Bảng S chứng minh rằng sự ức chế biểu hiện collagen tương tự được quan sát trong nghiên cứu này, đã chỉ ra rằng phác đồ dùng liều này có thể thay đổi được. Sự thay đổi số lần trong biểu hiện collagen 1A1 hoặc collagen 3A1, so với động vật đối chứng giả được thể hiện trong Bảng S, và cho thấy sự giảm biểu hiện collagen có ý nghĩa thống kê phác đồ dùng liều.

Bảng S: 25070 gây giảm sự biểu hiện collagen trong mô hình IRI với việc dùng liều vào các ngày 3, 5, và 7

Nhóm	Động vật số	Collagen 1A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Trung bình	Collagen 3A1 (Biểu hiện được chuẩn hóa)	Trung bình
Đối chứng giả	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	
	7	20,9		23,5	

	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 (Ngày 3,5,7)	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		30,3	
	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 (Ngày 5,6,7)	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		9,7	

	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	

Ví dụ 5: Sự ức chế miR-21 trong mô hình tổn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ/ cắt bỏ thận

Mô hình tổn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ/ cắt bỏ thận (IR/Nx) được tạo ra trong chuột thông qua việc thắt tạm thời một bên động mạch của một thận, dẫn đến hoại tử ống, viêm, và xơ hóa, sau đó loại bỏ thận thứ hai ở thời điểm sau. Trong mô hình này, giai đoạn loại chức năng thận cấp tính là hữu ích để thử nghiệm các tác nhân ứng cử để điều trị tổn thương thận cấp tính (tức là cho đến 5 ngày đầu tiên), và các giai đoạn loạn chức năng thận sau hữu ích đối với mô hình xơ hóa mạn tính (tức là khoảng sau 5 ngày).

Các hợp chất kháng miR-21 được thử nghiệm trong mô hình IR/Nx. 25109, có lỗi bắt cặp bazơ thứ 6 với miR-21, được sử dụng làm hợp chất đối chứng (A_EA_SATC_STGTC_STCAU_SAATA_SAA_E; trong đó nucleosit không có chỉ số dưới là β -deoxynucleosit; nucleosit có chỉ số dưới “E” là 2’-MOE nucleosit; nucleosit có chỉ số dưới “S” là S-cEt nucleosit; và toàn bộ liên kết bên trong nucleosit là liên kết phosphorothioat bên trong nucleosit).

IR một bên được gây ra trong khoảng thời gian 30 phút. Nhóm xử lý như sau: Quy trình IR giả; IR với PBS được dùng theo đường dưới da; IR với hợp chất đối chứng 25109 có lỗi bắt cặp được dùng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg; IR với hợp chất kháng miR-21 25070 được dùng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg; và IR với hợp chất 25923 kháng miR-21 được dùng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg. PBS hoặc kháng miR được dùng vào các ngày 2, 3, 4, và 8 sau IR. Vào ngày 8, cắt bỏ thận khỏe từ mỗi động vật, và giết động vật vào ngày 9. Ngay trước khi giết, thu lấy nước tiểu bằng cách chọc vào bàng quang.

Đo tỷ số albumin và creatinin niệu trong nước tiểu từ mỗi chuột. Kết quả của thử nghiệm này được thể hiện trong Fig.1. Trong nghiên cứu này, cả hợp chất 25070 và 25923 gây ra sự giảm có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ albumin và creatinin niệu. Giá trị hình học của tỷ số albumin và creatinin trong mỗi nhóm chuột là 16 $\mu\text{gAlb/mgCr}$ (mẫu đối chứng chỉ cắt bỏ thận), 127 $\mu\text{gAlb/mgCr}$ (đối chứng IR/Nx, PBS), 140 $\mu\text{gAlb/mgCr}$ (đối chứng IR/Nx, 25109), 40 $\mu\text{gAlb/mgCr}$ (IR/Nx, 25070), và 31 $\mu\text{gAlb/mgCr}$ (IR/Nx, 25923). Nitơ ure trong máu và nồng độ creatinin trong huyết thanh tương tự trong tất cả chuột IR/Nx, và gia tăng so với chuột đối chứng chỉ cắt bỏ thận (dữ liệu không được thể hiện trong bản mô tả).

Ví dụ 6: Sự sống sót của chuột mô hình IR/Nx sau khi dùng các hợp chất kháng miR-21

Tỷ lệ sống sót của chuột mô hình IR/Nx hai ngày sau cắt bỏ thận được xác định qua sáu thử nghiệm khác nhau để xác định liệu việc sử dụng các hợp chất kháng miR-21 có làm tăng sự sống sót. Trong ba thử nghiệm đầu tiên, hợp chất kháng miR-21 được dùng vào các ngày 5, 6, và 7 sau tổn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ, và cắt bỏ thận thực hiện vào ngày 10 hoặc ngày 11. Trong ba thử nghiệm lần thứ hai, hợp chất kháng miR-21 được dùng vào các ngày 2, 3, và 4, và cắt bỏ thận vào ngày 7. Tỷ lệ sống sót của chuột IR/Nx trong mỗi thử nghiệm được thể hiện trong Bảng T.

Bảng T: 25070 làm tăng tỷ lệ sống của chuột IR/Nx hai ngày sau cắt bỏ thận.

Nghiên cứu	Ngày Nx	Tỷ lệ sống 2 ngày sau Nx		Liều dùng 25070
		PBS	25070	
1	Ngày 10	58,3%	91,7%	30 mg/kg
2	Ngày 11	50%	83,3%	30 mg/kg
3	Ngày 10	50%	66,6%	20 mg/kg
Tổng kết (ngày 10/11 Nx)		55% (20/36)	80% (29/36)	
4	Ngày 7	41,7%	75%	20 mg/kg
5	Ngày 7	50%	66,7%	20 mg/kg
6	Ngày 7	66,7%	66,7%	20 mg/kg

Tổng kết (ngày 7 Nx)	52% (19/36)	69% (25/36)	
----------------------	-------------	-------------	--

Trong ba thử nghiệm đầu tiên, trong đó cắt bỏ thận vào ngày 10 hoặc ngày 11, tỷ lệ sống của chuột được xử lý PBS là 55%, trong khi tỷ lệ sống của chuột được xử lý với 25070 là 80% ($P=0,02$ nhờ sử dụng Thử nghiệm 1-sided Fisher's Exact Test). Trong ba thử nghiệm thứ hai, trong đó cắt bỏ thận vào ngày 7, tỷ lệ sống của chuột được xử lý PBS là 52%, trong khi tỷ lệ sống của chuột được xử lý với 25070 là 69% ($P=0,11$ nhờ sử dụng 1-sided Fisher's Exact Test).

Ví dụ 7: Thiết kế các hợp chất kháng miR-21 bổ sung

Sau khi sử dụng hợp chất 25070 cho chuột, phát hiện ra rằng khoảng 50% hợp chất này có mặt ở mô thận bị thiếu nucleosit đầu tận cùng 3' sau khi tiêm 7 ngày. Tính ổn định của hợp chất 25070 và 25923 được đánh giá trong thử nghiệm dịch treo mô đồng thể gan *ex vivo*. Trong thử nghiệm này, 5 μ M oligonucleotit được nuôi cấy trong dịch treo mô đồng thể gan (50 mg mô cho mỗi mL) trong 24 giờ ở 37°C. Sau khi nuôi cấy, tách chiết oligonucleotit bằng phương pháp chiết lỏng lỏng (Liquid-Liquid Extraction-LLE), sau đó là chiết pha rắn (Solid-Phase Extraction-SPE). Số lượng và chiều dài của oligonucleotit được đo bằng phương pháp khối phổ thời gian bay sắc ký lỏng hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry (HPLC-TOF MS)). Hoạt tính nucleaza dịch treo mô đồng thể gan được xác nhận bằng cách sử dụng oligonucleotit đối chứng, bao gồm hợp chất có tính kháng đối với hoạt tính nucleaza đã biết, hợp chất nhạy với hoạt tính 3'-exonucleaza, và hợp chất nhạy với hoạt tính endonucleaza. Hợp chất chuẩn bên trong được sử dụng để kiểm soát hiệu suất chiết. Trong thử nghiệm này, khoảng 58% hợp chất 25070 có mặt dưới dạng hợp chất có chiều dài đủ, và khoảng 27% hợp chất 25070 thiếu nucleosit đầu tận cùng 3'. Khoảng 68% hợp chất 25923 có mặt dưới dạng hợp chất có chiều dài đủ, và khoảng 18% hợp chất này thiếu nucleosit đầu tận cùng 3'.

Các hợp chất bổ sung được thiết kế, và các hợp chất này được thử nghiệm về tính ổn định *ex vivo* và *in vivo*. *Ex vivo* được thực hiện như mô tả trên đây. Đối với thử nghiệm *in vivo*, các hợp chất được sử dụng cho chuột, tiến hành phân lập mô thận, và tách chiết và

nhận diện hợp chất để thử nghiệm *ex vivo*. Bảng U thể hiện cấu trúc cho các hợp chất 25923, 25220 và 25221, và kết quả đánh giá tính ổn định.

Bảng U: Tính ổn định của hợp chất 25923, 25220 và 25221 *ex vivo* và *in vivo*

Hợp chất	Cấu trúc	<i>ex vivo</i> (gan)			<i>in vivo</i> (thận)	
		N%I	%N-1	%Endo	N(%)	N-1(%)
25923	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S TA _S	17	13	2-3	58±3	14±5
25220	A _E C _S ATC _S AsGTC _S UsGAU _S AsAGC _S UsA _E	3	0	3	67±16	16±6
25221	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S UsA _S	3	0	3	76±4	4±1

Các hợp chất 25220 và 25221, cũng như 25923, được thử nghiệm trong mô hình UUO về hiệu quả của chúng đối với bệnh xơ hóa. Nhóm gồm 8 động vật, mỗi nhóm được xử lý như sau: Phẫu thuật giả, UUO với PBS, UUO với 25220, UUO với 25221, hoặc UUO với 25923. So với ngày của quy trình UUO, PBS hoặc hợp chất kháng miR-21 được dùng vào các ngày -5, -3, và +3. Các hợp chất kháng miR-21 được sử dụng với liều 20 mg/kg. Khi hợp chất kháng miR được dùng trước quy trình UUO, phác đồ dùng liều này được xem là điều trị dự phòng. Vào ngày 10, động vật được giết và tách lấy thận để đánh giá sự biểu hiện collagen. Sự biểu hiện collagen được đo bằng PCR thời gian thực và chuẩn hóa đến GAPDH.

Kết quả của thử nghiệm này được thể hiện trên Fig.2. Sự biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1 được thể hiện trên Fig.2A và 2B, tương ứng. Việc sử dụng hợp chất 25220 hoặc 25221 làm giảm biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1 một lượng có ý nghĩa thống kê (* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$), giống như việc sử dụng hợp chất 25923.

Các cải biến khác nhau của sáng chế, ngoài các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này từ phần mô tả trên đây. Các cải biến này đều nằm trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ kèm theo. Mỗi tài liệu viện dẫn (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bài báo trên tạp chí, patent, công bố

đơn patent Mỹ và không phải của Mỹ, công bố đơn patent quốc tế, số đăng ký trên GENBANK®, và tài liệu tương tự) được trích dẫn trong đơn đăng ký sáng chế này được kết hợp cụ thể trong bản mô tả bằng cách viện dẫn toàn bộ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Oligonucleotit cải biến gồm 19 nucleosit liên kết và có cấu trúc:

5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), trong đó các nucleosit không có chỉ số dưới theo sau là β -D-deoxyribonucleosit; các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "E" là nucleosit 2'-O-metoxetyl (2'-MOE); và các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "S" là nucleosit etyl được ràng buộc bởi S (S-cEt); và trong đó mỗi liên kết giữa các nucleosit là liên kết phosphorothioat.

2. Oligonucleotit cải biến gồm 16, 17, hoặc 18 nucleosit liên kết có cấu trúc:

(SEQ ID NO: 3) 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3'

trong đó các nucleosit không có chỉ số dưới theo sau là β -D-deoxyribonucleosit; các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "E" là nucleosit 2'-O-metoxetyl (2'-MOE); và các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "S" là nucleosit etyl được ràng buộc bởi S (S-cEt); và trong đó mỗi liên kết giữa các nucleosit là liên kết phosphorothioat.

3. Oligonucleotit cải biến theo điểm 2, trong đó oligonucleotit này gồm 18 nucleosit liên kết có cấu trúc:

(SEQ ID NO: 3) 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3'.

4. Oligonucleotit cải biến theo điểm 3, trong đó oligonucleotit này gồm 18 nucleosit liên kết và có cấu trúc:

5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_ST-3' (nucleobazơ 1-18 được nêu trong SEQ ID NO: 3).

5. Oligonucleotit cải biến theo điểm 3, trong đó oligonucleotit này gồm 18 nucleosit liên kết và có cấu trúc: 5'-C_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (nucleobazơ 2-19 được nêu trong SEQ ID NO: 3).

6. Oligonucleotit cải biến theo điểm 2, trong đó oligonucleotit này gồm 17 nucleosit liên kết có cấu trúc:

(SEQ ID NO: 3) 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3'.

7. Oligonucleotit cải biến theo điểm 6, trong đó oligonucleotit này gồm 17 nucleosit liên kết và có cấu trúc: 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_S-3' (nucleobazơ 1-17 được nêu trong SEQ ID NO: 3).
8. Oligonucleotit cải biến theo điểm 6, trong đó oligonucleotit này gồm 17 nucleosit liên kết và có cấu trúc: 5'-C_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_ST-3' (nucleobazơ 2-18 được nêu trong SEQ ID NO: 3).
9. Oligonucleotit cải biến theo điểm 6, trong đó oligonucleotit này gồm 17 nucleosit liên kết và có cấu trúc: 5'-ATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (nucleobazơ 3-19 được nêu trong SEQ ID NO: 3).
10. Oligonucleotit cải biến theo điểm 2, trong đó oligonucleotit này gồm 16 nucleosit liên kết có cấu trúc:
(SEQ ID NO: 3) 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3'.
11. Oligonucleotit cải biến theo điểm 10, trong đó oligonucleotit này gồm 16 nucleosit liên kết và có cấu trúc: 5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAG-3' (nucleobazơ 1-16 được nêu trong SEQ ID NO: 3).
12. Oligonucleotit cải biến theo điểm 10, trong đó oligonucleotit này gồm 16 nucleosit liên kết và có cấu trúc: 5'-C_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_S-3' (nucleobazơ 2-17 được nêu trong SEQ ID NO: 3).
13. Oligonucleotit cải biến theo điểm 10, trong đó oligonucleotit này gồm 16 nucleosit liên kết và có cấu trúc: 5'-ATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_ST-3' (nucleobazơ 3-18 được nêu trong SEQ ID NO: 3).
14. Oligonucleotit cải biến theo điểm 10, trong đó oligonucleotit này gồm 16 nucleosit liên kết và có cấu trúc: 5'-TC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (nucleobazơ 4-19 được nêu trong SEQ ID NO: 3).
15. Dược phẩm chứa oligonucleotit cải biến theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14 và chất pha loãng dược dụng.
16. Dược phẩm theo điểm 15, là dung dịch chứa nước vô trùng.
17. Dược phẩm về cơ bản gồm oligonucleotit cải biến trong dung dịch chứa nước vô trùng, trong đó oligonucleotit cải biến gồm 19 nucleosit liên kết và có cấu trúc:

5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), trong đó các nucleosit không có chỉ số dưới theo sau là β-D-deoxyribonucleosit; các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "E" là các nucleosit 2'-O-metoxyletyl (2'-MOE); và các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "S" là các nucleosit etyl được ràng buộc bởi S (S-cEt); và trong đó mỗi liên kết giữa các nucleosit là liên kết phosphorothioat.

18. Chế phẩm đông khô chứa oligonucleotit cải biến gồm 19 nucleosit liên kết và có cấu trúc:

5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), trong đó các nucleosit không có chỉ số dưới theo sau là β-D-deoxyribonucleosit; các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "E" là các nucleosit 2'-O-metoxyletyl (2'-MOE); và các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "S" là các nucleosit etyl được ràng buộc bởi S (S-cEt); và trong đó mỗi liên kết giữa các nucleosit là liên kết phosphorothioat.

19. Chế phẩm đông khô về cơ bản gồm oligonucleotit cải biến gồm 19 nucleosit liên kết và có cấu trúc:

5'-A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E-3' (SEQ ID NO: 3), trong đó các nucleosit không có chỉ số dưới theo sau là β-D-deoxyribonucleosit; các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "E" là các nucleosit 2'-O-metoxyletyl (2'-MOE); và các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "S" là các nucleosit etyl được ràng buộc bởi S (S-cEt); và trong đó mỗi liên kết giữa các nucleosit là liên kết phosphorothioat.

20. Hợp chất chứa oligonucleotit cải biến có cấu trúc:

(SEQ ID NO: 3) A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_STA_E,

trong đó các nucleosit không có chỉ số dưới theo sau là β-D-deoxyribonucleosit; các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "E" là các nucleosit 2'-O-metoxyletyl (2'-MOE); và các nucleosit được theo sau bởi chỉ số dưới "S" là các nucleosit etyl được ràng buộc bởi S (S-cEt).

21. Hợp chất theo điểm 20, trong đó ít nhất một liên kết giữa các nucleosit là liên kết phosphorothioat.

22. Hợp chất theo điểm 20, trong đó mỗi liên kết giữa các nucleosit là liên kết phosphorothioat.
23. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 22 trong đó oligonucleotit cải biến được tiếp hợp với một hoặc nhiều gốc tăng cường hoạt tính, sự phân bố tế bào hoặc sự hấp thụ tế bào.
24. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 23, trong đó oligonucleotit cải biến được tiếp hợp với gốc được chọn từ lipit, cholesterol, hydrat cacbon, phospholipit, biotin, phenazin, và folat.
25. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 24 và chất mang dược dụng.

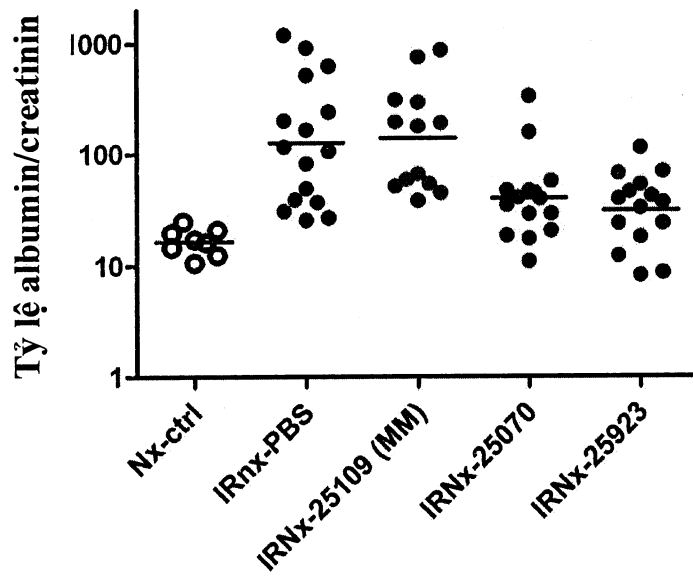


FIG. 1

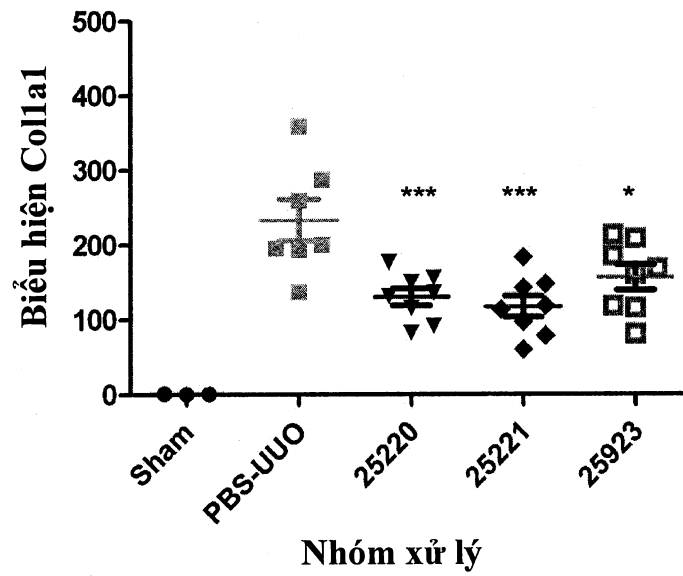
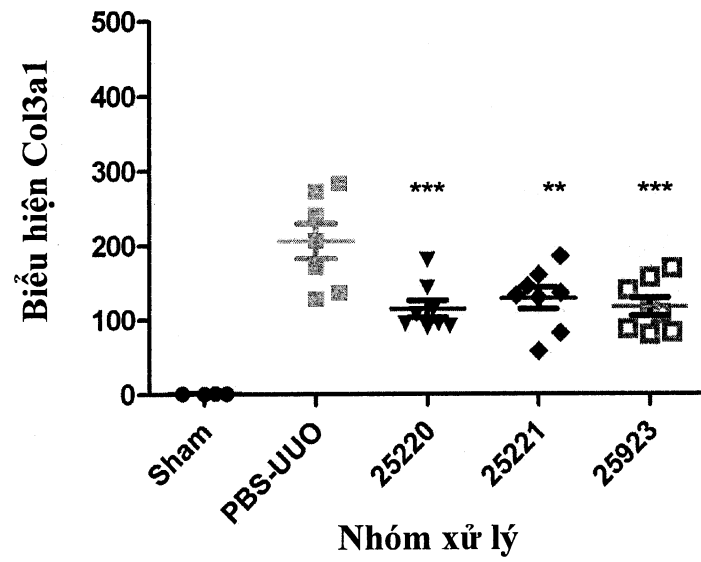
A**B**

FIG.2

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> SANOFI

<120> OLIGONUCLEOTIT ĐỂ SỬ DỤNG TRONG VIỆC ỨC CHẾ HOẠT TÍNH CỦA MIR-21, HỢP CHẤT CHỨA OLIGONUCLEOTIT NÀY VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

<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> Sáng chế phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> ARN

<213> Loài người

<400> 1

uagcuuauca gacugauguu ga

22

<210> 2

<211> 72

<212> ARN

<213> Loài người

<400> 2

ugucggguag cuuaucaagac ugauguugac uguugaauca cauggcaaca ccagucgaug 60

ggcugucuga ca

72

<210> 3

<211> 19

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 3

acatcagtct gataagcta

19

<210> 4

<211> 22
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 4
tcaacatcag tctgataagc ta

22