



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0028820

(51)⁷ C12N 15/113; A61P 13/12; A61P 43/00; (13) B
A61K 31/712; A61P 35/00

(21) 1-2014-03590 (22) 24/04/2013
(86) PCT/US2013/037913 24/04/2013 (87) WO2013/163258 31/10/2013
(30) 61/741,783 25/04/2012 US; 61/717,927 24/10/2012 US; 61/779,913 13/03/2013 US
(45) 25/07/2021 400 (43) 25/02/2015 323A
(73) SANOFI (FR)
54, rue la Boétie, 75008, Paris, France
(72) BHAT, Balkrishen (IN); MARCUSSON, Eric (US).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT CHỨA OLIGONUCLEOTIT CẢI BIẾN ĐỂ ĐIỀU BIẾN HOẠT TÍNH
CỦA MIR-21 VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm và phương pháp ức chế hoạt tính của miR-21. Chế phẩm này có chứa một số trình tự cải biến nucleosit tạo ra các chất ức chế hiệu quả hoạt tính của miR-21. Chế 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 (microRNAs), 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

Sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến, trong đó trình tự bazơ

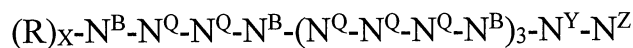
nucleotit của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 và trong đó oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleosit được mô tả ở đây.

Sáng chế đề xuất 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 *trong cơ thể*. Theo một số phương án, tế bào này là *trong ống nghiệm*.

Sáng chế đề xuất 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, đối tượng là người. Theo một số phương án, đối tượng là chó.

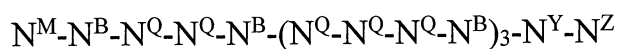
Hợp chất được mô tả trong bản mô tả này được đề xuất sử dụng trong liệu pháp điều trị.

Sáng chế đề xuất hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 22 nucleosit liên kết, trong đó trình tự bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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.

Sáng chế đề xuất các hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 15 nucleosit liên, kết trong đó trình tự bazơ nucleotit 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 VI sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và mỗi N^B là nucleosit hai vòng.

Sáng chế đề xuất các hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 19 nucleosit liên, trong đó trình tự bazơ nucleotit 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 VII sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó mỗi 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 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 III. 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, hoặc 19 nucleosit liên kế có trình tự nucleosit IV, V, hoặc VII. 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, hoặc 15 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit VI. 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 III. 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, hoặc 19 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit IV, V, hoặc VII. 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, hoặc 15 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit VI.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế, trình tự bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến này bổ sung ít nhất 90% bổ sung ít nhất 95%, hoặc bổ sung 100% với trình tự bazơ nucleotit 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, bazơ nucleotit ở vị trí 1 của miR-21 bắt cặp với bazơ nucleotit 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, 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 hai vòng chứa bazơ nucleotit không-metyl hóa.

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-metoxyletyl 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-metoxyletyl 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-metoxyletyl 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 là gốc đường khác nhau. 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 gốc đường cùng loại.

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 III, mỗi nucleosit trong R là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit 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 trình tự nucleosit III, mỗi R là 2'-O-metoxyletyl 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-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, mỗi R là 2'-O-metoxyletyl 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-metoxyletyl 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 IV, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q là được chọn độc lập từ β -D-deoxyribonucleosit và 2'-O-metoxyletyl nucleosit; N^Y là β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit IV, oligonucleotit cải biến có cấu trúc:

$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S TGAU_S AAGC_S TA_S$ (SEQ ID NO: 3); hoặc

$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S TGAU_S AAGC_S U_S A_S$ (SEQ ID NO: 3).

trong đó nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "E" là 2'-MOE nucleosit; và nucleosit có chỉ số dưới "S" 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 trình tự nucleosit V, oligonucleotit cải biến có cấu trúc:

$A_E C_S ATC_S A_S GTC_S U_S GAU_S A_S AGC_S U_S A_E$ (SEQ ID NO: 3);

trong đó nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "E" là 2'-MOE nucleosit; và nucleosit có chỉ số dưới "S" là S-cEt nucleosit.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit VI, mỗi N^Q là nucleosit cải biến không phải nucleosit hai vòng. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VI, mỗi N^Q , độc lập, được chọn từ 2'-O-metoxyletyl nucleosit và β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VI, mỗi N^Q là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VI, mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VI, mỗi N^Q là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; và mỗi N^B là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VI, mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit nucleosit; và mỗi N^B là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án bất kỳ trong số các phương án về trình tự nucleosit VI, oligonucleotit cải biến có thể có 0, 1, hoặc 2 lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án này, oligonucleotit cải biến có 0 lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có 1 lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có 2 lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án về trình tự nucleosit, oligonucleotit cải biến có cấu trúc:

$^{Me}C_E A_S A_S T_E C_S U_S A_E A_E U_S A_S A_E G_E C_S T_E A_S$ (SEQ ID NO: 7);

trong đó nucleosit có chỉ số dưới "E" là 2'-MOE nucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "S" là S-cEt nucleosit; and ^{Me}C is 5-methyl xytosin.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit VII, mỗi N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q được chọn độc lập từ 2'-O-metyl nucleosit và β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z được chọn độc lập từ S-cEt nucleosit và 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VII, mỗi 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 về trình tự nucleosit VII, mỗi N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q được chọn độc lập từ 2'-O-2'-O-metyl nucleosit và β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VII, mỗi N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q được chọn độc lập từ 2'-O-metyl nucleosit và β -D-

deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VII, oligonucleotit cải biến có cấu trúc:

A_EC_SA_ET_EC_SA_EG_ET_EC_STGAU_SAAGC_SU_SA_S (SEQ ID NO: 3).

Theo một số phương án, hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 22 nucleosit liên kết, trong đó oligonucleotit cải biến bao gồm ít nhất 8, 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, hoặc ít nhất 19 nucleosit liên kết có cấu trúc được chọn từ cấu trúc trong Bảng 1. Theo một số phương án, hợp chất chứa oligonucleotit cải biến có cấu trúc được chọn từ cấu trúc trong Bảng 1.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế, ít nhất một liên kết bên trong nucleosit là liên kết bên trong nucleosit cải biến. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế, mỗi liên kết bên trong nucleosit là modified liên kết bên trong nucleosit cải biến. Theo một số phương án, liên kết bên trong nucleosit cải biến là liên kết bên trong nucleosit phosphorothioat.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế, ít nhất một nucleosit chứa bazơ nucleotit cải biến. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất 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 theo sáng chế, mỗi xytosin là 5-methylxytosin. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế, xytosin ở vị trí số 2 của oligonucleotit cải biến là 5-methylxytosin.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế, oligonucleotit cải biến có trình tự bazơ nucleotit của trình tự được chọn từ các SEQ ID NO: 3 đến 10, trong đó mỗi T trong trình tự được chọn độc lập từ T và U.

Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế, oligonucleotit cải biến có 0, 1, 2, hoặc 3 lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án về hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế, oligonucleotit cải biến có 0, 1, hoặc 2 lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án này, oligonucleotit cải biến có 0 lỗi bắt cặp so với trình tự

bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có 1 lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có 2 lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21.

Sáng chế đề xuất 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 *trong cơ thể*. Theo một số phương án, tế bào này là *trong ống nghiệm*. Theo một số phương án, tế bào này là tế bào nguyên bào sợi, tế bào biểu mô, tế bào hình sao, tế bào tạo keratin, hoặc tế bào sợi. Theo một số phương án, tế bào là tế bào tăng sinh quá mức 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 đề xuất phương pháp ức chế hoạt tính của miR-21 hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được đề xuất theo sáng chế. Theo một số phương án, tế bào là *trong cơ thể*. Theo một số phương án, tế bào là *trong ống nghiệm*. Theo một số phương án, tế bào là tế bào nguyên bào sợi, tế bào tăng sinh quá mức, tế bào tạo keratin, hoặc tế bào thiếu oxy.

Sáng chế đề xuất 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 đề xuất 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, và/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 hoặc tình trạng 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 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,

bệnh thận mãn tính do tổn thương thận cấp (AKI), tổn hại thận do tiếp xúc với chất độc trong môi trường và/hoặc sản phẩm tự nhiên, 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 (như nhiễm virus viêm gan B và/hoặc nhiễm virus viêm gan C), gan nhiễm mỡ không liên quan đến uống rượu, bệnh gan do uống rượu, tổn hại gan do tiếp xúc với chất độc trong môi trường và/hoặc sản phẩm tự nhiên, 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 đề xuất 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 đông 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 đề xuất 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 đề xuất 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 đề xuất theo sáng chế bao gồm việc đánh giá chức năng thận ở đối tượng, phương pháp này có thể bao gồm việc 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: creatinin ở đối tượng; đo thải nước tiểu ở đối tượng; đo lọc bỏ inulin trong nước tiểu của đối tượng; đo nồng độ osmol nước tiểu ở đối tượng; đo tỷ lệ osmol trong nước tiểu ở đối tượng; đo huyết niệu ở đối tượng; đo xystatin C trong máu và/hoặc nước tiểu của đối tượng; và/hoặc đo lipocalin trung tính liên hệ với gelatinaza (NGAL) trong máu hoặc nước tiểu của đối tượng.

Phương pháp bất kỳ được đề xuất 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; đo bệnh não ở đối tượng; và/hoặc đo xơ cứng gan, ví dụ, sử dụng siêu âm đàn hồi thoáng qua.

Phương pháp bất kỳ được đề xuất 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 đề xuất 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

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 đề xuất 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, heparin, chất ức chế yếu tố sinh trưởng mô liên kết, và chất ức chế yếu tố sinh trưởng biến nạp. 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, cyclophosphamid, 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, ung thư tuyến giáp, u nguyên bào thần kinh, ung thư thực quản, u trung biểu mô, u nguyên bào thần kinh, ung thư xương, ung thư thận, ung thư tinh hoàn, ung thư trực tràng, ung thư cổ, hoặc ung thư buồng trứng. 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, u thần kinh đệm hỗn hợp, hoặc u thần kinh đệm ít nhánh. Theo một số phương án, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình là u nguyên bào thần kinh đệm đa hình mào thần kinh, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình cổ điển, hoặc u nguyên bào thần kinh đệm đa hình trung mô. 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, ung thư da là u melanin. Theo một số phương án, ung thư thận là ung thư biểu mô tế bào thận. Theo một số phương án, ung thư vú là ung thư biểu mô ống tại chỗ, ung thư biểu mô thùy, ung thư vú ba tiêu cực, ung thư biểu mô tủy, ung thư biểu mô ống nhỏ, và ung thư biểu mô dạng nhầy.

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-nitrosourea, 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 metotrexat, aminopterin, thymidylat syntaza, serin hydroxymetyltransferaza, folyilpolyglutamyl synthetaza, g-glutamyl hydrolaza, glyxinamid-ribonucleotit transformylaza, leucovorin, amino-imidazol-carboxamid-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 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.

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 một số phương án, đối tượng là người. Theo một số phương án, đối tượng là chó.

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 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 văn tắt hình vẽ

Fig.1 thể hiện thay đổi về biểu hiện (A) collagen 1A1 và (B) collagen 3A1 ở thận của chuột mô hình UUO được sử dụng một số hợp chất kháng miR-21, như được mô tả trong Ví dụ 1.

Fig.2 thể hiện thay đổi về biểu hiện (A) collagen 1A1 và (B) collagen 3A1 ở thận của chuột mô hình UUO được sử dụng một số hợp chất kháng miR-21, như được mô tả trong Ví dụ 1.

Fig.3 thể hiện thay đổi về biểu hiện (A) collagen 1A1 và (B) collagen 3A1 ở thận của chuột mô hình UUO được sử dụng một số hợp chất kháng miR-21, như được mô tả trong Ví dụ 2.

Fig.4 thể hiện (A) thay đổi về biểu hiện collagen 1A1, (B) thay đổi về biểu hiện collagen 3A1, và (C) phân đoạn vùng collagen trong thận của chuột mô hình IRI một bên được sử dụng một số hợp chất kháng miR-21, như được mô tả trong Ví dụ 3.

Fig.5 thể hiện (A) tỷ lệ albumin so với creatinin nước tiểu ở thận của chuột mô hình IR/Nx được sử dụng hợp chất 36328 hoặc hợp chất đối chứng, (B) tỷ lệ albumin so

với creatinin nước tiểu ở thận của chuột mô hình IR/Nx được sử dụng hợp chất 36284, và (C) tỷ lệ albumin so với creatinin nước tiểu ở thận của chuột mô hình IR/Nx được sử dụng hợp chất 25220, như được mô tả trong Ví dụ 4.

Fig.6 thể hiện (A) hoạt tính luxiferaza của hợp chất kháng miR-21 và (B) hiệu quả chống tăng sinh của hợp chất kháng miR-21 trong các tế bào nuôi cấy, như được mô tả trong Ví dụ 6.

Fig.7 thể hiện thay đổi về biểu hiện (A) collagen 1A1 và (B) collagen 3A1 ở thận của chuột mô hình UUO được sử dụng một số hợp chất kháng miR-21, 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 chuyên gia 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 được 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 được, 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 "Carbohydrate 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 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.

“Hội chứng Alport” là dạng di truyền của bệnh thận trong đó xảy ra mức độ bất thường của bệnh màng đáy cầu thận (GBM), dẫn đến xơ hoá mô kẽ, xơ cứng tiểu cầu thận và cuối cùng mất chức năng thận. Bệnh còn thường được đặc trưng bởi khuyết tật thính giác và bất thường thị giác.

“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.

“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 trong cơ thể. 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.

“Tạm dừng phát triển hơn” là làm dừng sự chuyển của tình trạng y học lên trạng thái nặng hơn.

“Làm chậm phát triển hơn” là làm giảm tỷ lệ mà tại đó tình trạng y học chuyển sang trạng thái nặng hơn.

“Suy yếu chức năng thận” means làm giảm chức năng thận, relative to normal chức năng thận.

“Kéo dài thời gian thẩm tách” là duy trì chức năng thận để kéo dài nhu cầu xử lý thẩm tách thận.

“Kéo dài thời gian ghép thận” là duy trì chức năng thận để kéo dài nhu cầu ghép thận.

“Cải thiện chức năng thận” là thay đổi chức năng thận hướng về các giới hạn bình thường. Theo một số phương án, cải thiện chức năng thận được đo bằng giảm nitơ urê máu, giảm nồng độ protein niệu, giảm albumin niệu, v.v.

“Làm tăng triển vọng sống” là kéo dài thời gian sống của đối tượng bằng cách điều trị một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh ở đối tượng.

“Huyết niệu” là có mặt tế bào hồng cầu trong nước tiểu.

“Albumin niệu” là có mặt quá nhiều albumin trong nước tiểu, và bao gồm nhưng không giới hạn, albumin niệu thường, albumin niệu thường cao, microalbumin niệu và macroalbumin niệu. Thông thường, màng chắn thấm lọc tiểu cầu, bao gồm podoxyt, màng đáy cầu thận và tế bào nội mô, ngăn protein huyết thanh rò rỉ vào nước tiểu. Albumin niệu có thể phản ánh tổn thương của màng thấm tiểu cầu. Albumin niệu có thể được tính từ mẫu nước tiểu 24, mẫu nước tiểu qua đêm hoặc mẫu nước tiểu tại chỗ.

“Albumin niệu thường cao” là albumin niệu tăng đặc trưng bởi (i) bài tiết 15 đến <30 mg albumin vào nước tiểu mỗi 24 giờ và/hoặc (ii) tỷ lệ albumin/creatinin bằng 1,25 đến <2,5 mg/mmol (hoặc 10 đến <20 mg/g) ở nam giới hoặc 1,75 đến <3,5 mg/mmol (hoặc 15 đến <30 mg/g) ở nữ giới.

“Microalbumin niệu” là albumin niệu tăng đặc trưng bởi (i) bài tiết 30 đến 300 mg albumin vào nước tiểu mỗi 24 giờ và/hoặc (ii) tỷ lệ albumin/creatinin of 2,5 đến <25 mg/mmol (hoặc 20 đến <200 mg/g) ở nam giới hoặc 3,5 đến <35 mg/mmol (hoặc 30 đến <300 mg/g) ở nữ giới.

“Macroalbumin niệu” là albumin niệu tăng đặc trưng bởi bài tiết nhiều hơn 300 mg albumin vào nước tiểu mỗi 24 giờ và/hoặc (ii) tỷ lệ albumin/creatinin >25 mg/mmol (hoặc >200 mg/g) ở nam giới hoặc >35 mg/mmol (or >300 mg/g) ở nữ giới.

“Tỷ lệ albumin/creatinin” là tỷ lệ albumin nước tiểu (mg/dL) mỗi creatinin nước tiểu (g/dL) và được biểu hiện bằng mg/g. Tỷ lệ albumin/creatinin có thể được tính từ mẫu nước tiểu tại chỗ và có thể được sử dụng làm ước tính bài tiết albumin trong khoảng thời gian 24 giờ.

“Tỷ lệ lọc tiểu cầu ước tính (eGFR) hoặc “Tỷ lệ lọc tiểu cầu (GFR)” là đo xem thận lọc creatinin tốt thế nào, và được dùng làm ước tính xem bao nhiêu máu đi qua tiểu cầu mỗi phút. Các kết quả thông thường có thể nằm trong khoảng 90-120 mL/phút/1,73

m². Các mức dưới 60 mL/phút/1,73 m² trong 3 hoặc nhiều tháng có thể là dấu hiệu của bệnh thận mãn tính. Các mức dưới 15 mL/phút/1,73 m² có thể là dấu hiệu của suy thận.

“Nồng độ protein niệu” là có quá nhiều protein huyết thanh. Nồng độ protein niệu có thể được đặc trưng bởi bài tiết > 250 mg protein vào nước tiểu mỗi 24 giờ và/hoặc tỷ lệ protein nước tiểu so với creatinin nước tiểu bằng $\geq 0,20$ mg/mg. Protein huyết thanh tăng cùng với nồng độ protein niệu bao gồm, nhưng không giới hạn, albumin.

“Nitơ urê máu” hoặc “BUN” là đo lượng nitơ trong máu dưới dạng urê. Gan tạo ra urê trong chu kỳ urê là phế phẩm của quá trình tiêu hoá protein, và urê được loại khỏi máu bằng thận. Máu của người lớn bình thường có thể chứa từ 7 đến 21 mg nitơ urê mỗi 100 ml (7–21 mg/dL) của máu. Đo nitơ urê máu được dùng làm dấu hiệu về sức khoẻ thận. Nếu thận không có khả năng loại bỏ urê khỏi máu một cách bình thường, thì đối tượng có nguy cơ mắc BUN.

“Bệnh thận giai đoạn cuối (ESRD)” là suy chức năng thận hoàn toàn hoặc gần như hoàn toàn.

“Kháng-miR” là oligonucleotit có trình tự bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit bổ sung với miR-X. Theo một số phương án, kháng-miR-X bổ sung hoàn toàn với miR-X (cụ thể là, bổ sung 100%). 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 bazơ nucleotit UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA (SEQ ID NO: 1).

“trình tự vòng-gốc của miR-21” là trình tự vòng-gốc có trình tự bazơ nucleotit UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCAUGGCAACA CCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA (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 bazơ nucleotit sẽ lai với axit nucleic đích.

“Được hướng đích tới” là có trình tự bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit của axit nucleic đích bổ sung với bazơ nucleotit gần nhất ở đầu 3' của oligonucleotit cụ thể.

“Vị trí đích 3'” chỉ bazơ nucleotit của axit nucleic đích bổ sung với bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit” là thứ tự sắp xếp của các bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit bất kỳ.

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

“Sự bổ sung của bazơ nucleotit” là khả năng của hai bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit của oligonucleotit có khả năng bắt cặp với bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit của oligonucleotit bổ sung với bazơ nucleotit tại mỗi vị trí tương ứng của ARN nhỏ. Theo một số phương án, oligonucleotit mà trong đó mỗi bazơ nucleotit bổ sung với bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit của oligonucleotit mà bổ sung với bazơ nucleotit tại các vị trí tương ứng trong axit nucleic đích chia cho tổng số bazơ nucleotit trong oligonucleotit.

“Tỷ lệ phần trăm tương đồng” là số lượng bazơ nucleotit của axit nucleic thứ nhất mà tương đồng với bazơ nucleotit tại các vị trí tương ứng của axit nucleic thứ hai, chia cho tổng số bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit.

“Lỗi bắt cặp” là bazơ nucleotit của axit nucleic thứ nhất không có khả năng bắt cặp Watson-Crick với bazơ nucleotit ở vị trí tương ứng của axit nucleic thứ hai.

“Tương đồng” trong trình tự bazơ nucleotit, có nghĩa là có trình tự bazơ nucleotit giống nhau, không phụ thuộc vào gốc đường, liên kết, và/hoặc các cải biến bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit, 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 cặp 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 bazơ nucleotit gồm từ 6 đến 8 bazơ nucleotit kề nhau của các bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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 bên trong 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 bên trong 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.

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

“Nucleosit” là bazơ nucleotit 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 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, bazơ nucleotit, và/hoặc liên kết bên trong 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 bazơ nucleotit không được cải biến. Nucleosit cải biến có thể có gốc đường được cải biến và bazơ nucleotit được cải biến. Nucleosit cải biến có thể có gốc đường tự nhiên và bazơ nucleotit 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 bên trong nucleosit được cải biến” là sự thay đổi bất kỳ so với liên kết bên trong nucleosit có trong tự nhiên.

“Liên kết phosphorothioat bên trong 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.

“Bazơ nucleotit 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.

“Bazơ nucleotit được cải biến” là bazơ nucleotit bất kỳ mà không phải bazơ nucleotit 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 nguyên tử cacbon ở vị trí 2' và nguyên tử cacbon ở vị trí 4' của furanosyl. Các gốc đường hai vòng ví dụ không giới hạn bao gồm LNA, ENA, cEt, S-cEt, và R-cEt.

“Gốc đường của axit nucleic bị khóa (LNA)” là gốc đường được thể bao gồm cầu nối $(CH_2)-O$ 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 etyl - 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, $CH(CH_3)-O$ 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.

“R-cEt gốc đường” 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-metoxylet nucleosit” là nucleosit cải biến ở vị trí 2' có cải biến gốc đường ở vị trí 2'-O-metoxylet. 2'-O-metoxylet nucleosit có thể bao gồm bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit cải biến hoặc không được cải biến.

“cEt nucleosit” là nucleosit chứa gốc đường cEt. cEt nucleosit có thể bao gồm bazơ nucleotit 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-ribonucleosit” là nucleosit ARN có trong tự nhiên.

“LNA nucleosit” là nucleosit chứa gốc đường LNA.

“ENA nucleosit” là nucleosit chứa gốc đường ENA.

“Mô típ” là cách bố trí của bazơ nucleotit, 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.

“Cải biến oligonucleotit hoàn toàn” là mỗi bazơ nucleotit, mỗi đường, và/hoặc mỗi liên kết bên trong nucleosit được cải biến.

“Oligonucleotit cải biến đồng nhất” là mỗi bazơ nucleotit, mỗi đường, và/hoặc mỗi liên kết bên trong 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 bên trong nucleosit” là liên kết bên trong 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 bên trong nucleosit là liên kết phosphothioat bên trong nucleosit.

“Đối tượng” là người hoặc động vật không phải người được chọn để xử lý hoặc điều trị. Theo một số phương án, đối tượng động vật không phải người là chó.

“Đối tượng cần” là 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, và 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 hoặc nhiều 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 gối 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 trị. 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 chuyên gia 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 được 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 được 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 được 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 được liệu. Ví dụ, dược phẩm có thể bao gồm dung dịch nước vô trùng.

“Tác nhân được 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 hoặc nước tiểu 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. Theo một số phương án, cải thiện chức năng thận được đo bởi giảm nitơ urê máu, giảm nồng độ protein niệu, giảm albumin niệu, v.v.

“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 và tổng hợp. 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 *trong ống nghiệm*, thử nghiệm này xác định nhóm phụ của hợp chất là hợp chất có hoạt tính *trong ống nghiệm*. Sau đó, các hợp chất có hoạt tính *trong ống nghiệm* này được thử nghiệm trong thử nghiệm *trong cơ thể* để xác định các hợp chất là các chất ức chế miR-21 *trong cơ thể* hiệu quả. Từ sàng lọc *trong ống nghiệm* và *trong cơ thể* 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 *trong ống nghiệm* và *trong cơ thể*) 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 *trong ống nghiệm* và *trong cơ thể* 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 và độ nhớt trong dung dịch. Quan sát được rằng hợp chất có hoạt tính *trong ống nghiệm* mạnh nhất không nhất thiết là hợp chất có hoạt tính *trong cơ thể* mạnh nhất, và hơn nữa một số hợp chất có hoạt tính *trong ống nghiệm* trung bình lại là hợp chất có hoạt tính *trong cơ thể* cao. Trong số gần 300 hợp chất được sàng lọc *trong ống nghiệm* trong quá trình này, không nhiều hơn 145 hợp chất được xác định là có hoạt tính trong thử nghiệm luxiferaza *trong ống nghiệm*. Trong số các hợp chất có hoạt tính *trong ống nghiệm* này, một nhóm nhỏ đã được xác định là có hoạt tính *trong cơ thể*. 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 *trong cơ thể* 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

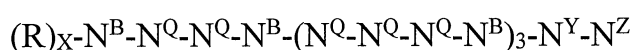
quan đến miR-21. Các bệnh này có thể được đặc trưng bởi sự biểu hiện cao bất thường của miR-21, so với các mẫu không bệnh. Các bệnh này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xơ hóa, tổn thương thận cấp tính, phì đại tim, nhồi máu cơ tim, và ung thư. Ngoài ra, các chế phẩm và phương pháp theo sáng chế 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 bazơ nucleotit 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;

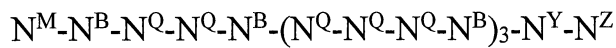
N^Y là nucleosit cải biến hoặc nucleosit không cải biến; và

mỗi N^Z là nucleosit cải biến.

Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, X là 1. Theo một số phương án về trình tự nucleosit III, 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 bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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':



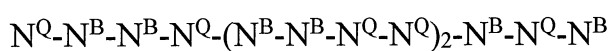
trong đó N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit hai vòng;

mỗi N^B là nucleosit hai vòng;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và

N^Z là nucleosit cải biến.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 đến 15 nucleosit liên kết, trong đó trình tự bazơ nucleotit 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 VI theo chiều từ 5' đến 3':

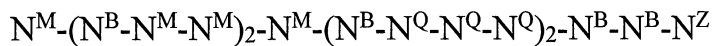


trong đó mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và

mỗi N^B là nucleosit hai vòng.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các hợp chất chứa oligonucleotit cải biến bao gồm 8 to 19 nucleosit liên kết, trong đó trình tự bazơ nucleotit 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 liền kề có trình tự nucleosit sau đây VII theo chiều từ 5' đến 3':



trong đó mỗi 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 III đến VII.

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

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế trình tự bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 sao cho vị trí 1 của ARN nhỏ cặp đôi với bazơ nucleotit 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);

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

|||||||

3'-ATCGAATAGTCTGAC-5' (an anti-miR-21; SEQ ID NO: 5);

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

|||||||

3'-ATCGAATAGTCTGACT-5' (an anti-miR-21; SEQ ID NO: 6);

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

|||||||

3'-ATCGAATAGTCTGACTAC-5' (an anti-miR-21; SEQ ID NO: 9);

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế, trình tự bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21 sao cho vị trí 2 của ARN nhỏ cặp đôi với bazơ nucleotit ở đầu tận cùng 3' của oligonucleotit này. Ví dụ:

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

|||||||

3'-TCGAATAGTCTGACTACA-5' (an anti-miR-21; SEQ ID NO: 10);

Theo một số phương án về trình tự nucleosit bất kỳ được mô tả trong sáng chế trình tự bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến này bổ sung với miR-21, và có 1 đến 3 lỗi bất cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bổ sung với miR-21, và có 1 lỗi bất cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bổ sung với miR-21, và có 2 lỗi bất cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự của trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 3 đến 6, 9, và 10, nhưng với 1 hoặc 2 thay đổi bazơ nucleotit. Ví dụ:

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

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

3'-ATCGAATAATCTAAC-5' (an anti-miR-21; SEQ ID NO: 7);

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

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

3'-TTCGAATAGTCTGACTACA-5' (an anti-miR-21; SEQ ID NO: 8);

Cần phải hiểu rằng, trong các SEQ ID NO: 3 đến 10, mỗi “T” trong trình tự này có thể độc lập là bazơ nucleotit “T” hoặc bazơ nucleotit “U”, và hợp chất này có trình tự nêu trong các SEQ ID NO: 3 đến 10 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 các SEQ ID NO: 3 đến 10 trong toàn bộ bản mô tả sáng chế và trong danh mục trình tự đi kèm không giới hạn liệu bazơ nucleotit 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-metoxymetyl 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-metoxymetyl 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-deoxyribonucleosit, 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 được chọn độc lập từ β -D-deoxyribonucleosit, 2'-O-metyl nucleosit, 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 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 bazơ nucleotit được chọn từ các SEQ ID NO: 3 đến 10, 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 độc lập được chọn từ S-cEt nucleosit LNA và nucleosit; mỗi N^Q độc lập 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 về trình tự nucleosit IV, N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q được chọn độc lập 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 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 bazơ nucleotit được chọn từ các SEQ ID NO: 3 đến 10, 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 độc lập được chọn từ S-cEt nucleosit và LNA nucleosit; mỗi N^Q độc lập 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 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 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 bazơ nucleotit được chọn từ các SEQ ID NO: 3 đến 10, 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 VI, mỗi N^B là S-cEt nucleosit; và mỗi N^Q là 2'-O-metoxyletyl nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VI, mỗi N^B là S-cEt nucleosit; và mỗi N^Q là β -D-deoxyribonucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến trong trình tự VI có trình tự bazơ nucleotit được chọn từ các SEQ ID NO: 5 và 7, 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 VII, mỗi N^M là 2'-O-metoxyletyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q được chọn độc lập từ 2'-O-metyl nucleosit và β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z được chọn từ S-cEt nucleosit và 2'-O-metoxyletyl

nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VII, mỗi 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 S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VII, mỗi N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q được chọn độc lập từ 2'-O-metyl nucleosit và β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là S-cEt nucleosit. Theo một số phương án về trình tự nucleosit VII, mỗi N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit; mỗi N^B là S-cEt nucleosit; mỗi N^Q được chọn độc lập từ 2'-O-metyl nucleosit và β -D-deoxyribonucleosit; và N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến của trình tự VII có trình tự bazơ nucleotit được chọn từ các SEQ ID NO: 3 đến 10, 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 ít nhất 8, 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, hoặc ít nhất 19 nucleosit liên kề trong trình tự bazơ nucleotit và các cải biến (cụ thể là, “cấu trúc”) như được thể hiện trong Bảng 1. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có cấu trúc được chọn từ cấu trúc 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 “M” là 2'-O-metyl nucleosit; nucleosit có chỉ số dưới “S” là S-cEt nucleosit.

Bảng 1: Các hợp chất kháng miR-21

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.

Hợp chất số	Trình tự và hóa học (5' đến 3')	SEQ ID NO	Trình tự
25221	$A_EC_SATC_SAGTC_STGAU_SAAGC_SUsA_S$	3	III, IV
25220	$A_EC_SATC_SAsGTC_SUsGAU_SAsAGC_SUsA_E$	3	V
36328	$^{Me}C_EAsG_ST_EC_SUsG_EA_EUsA_SAE_G_EC_ST_EAs$	5	VI
36284	$^{Me}C_EAsAsT_EC_SUsA_EA_EUsA_SAE_G_EC_ST_EAs$	7	VI
36232	$CA_SG_STC_SUsGAU_SAsAGC_STAs$	5	VI

36039	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S TA _S	3	III, IV
36730	U _S CAG _S TCU _S G _S AU _S AA _S GC _S U _S A _S	6	
36731	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36842	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _S AU _S AA _S GC _S U _S A _S	3	
36843	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _M AU _S AA _M GC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36844	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _M AU _S AA _M GC _S U _S T _E	8	III, IV, VII
36845	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _M U _S AA _M GC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36846	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _M U _S AA _M GC _S U _S T _E	8	III, IV, VII
36847	A _E C _S ATC _S A _S GTC _S U _S GAU _S A _S AGC _S U _S T _E	8	V
36000	A _E C _S ATC _S A _E G _E T _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36001	A _E C _S ATC _S AG _E T _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36002	A _E C _S ATC _S AGT _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36003	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36004	A _E C _S AT _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36005	A _E C _S ATC _S A _E G _E T _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36006	A _E C _S ATC _S AG _E T _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36007	A _E C _S ATC _S AGT _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36008	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S T _E	8	III, IV

36009	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S	10	III, IV, VII
36010	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S A _M AGC _S U _S	10	III, IV, VII
36011	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _M U _S AAGC _S U _S	10	III, IV, VII
36012	C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	9	III, IV, VII
36016	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E TC _S TGA _M U _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36017	A _E C _S A _E TC _S A _E G _E TC _S TGA _M U _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36018	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E TC _S TGAU _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36019	A _E C _S A _E TC _S A _E G _E TC _S TGAU _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36020	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _M A _S	3	III, IV
36021	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _M U _S AAGC _S U _M A _S	3	III, IV
36022	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E TC _S TGA _M U _S AAGC _S U _M A _S	3	III, IV
36023	A _E C _S A _E TC _S A _E G _E TC _S TGA _M U _S AAGC _S U _M A _S	3	III, IV
36024	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S A _M AGC _S U _M A _S	3	III, IV
36025	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E TC _S TGAU _S A _M AGC _S U _M A _S	3	III, IV
36026	A _E C _S A _E TC _S A _E G _E TC _S TGAU _S A _M AGC _S U _M A _S	3	III, IV
36027	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _M A _S	3	III, IV

36028	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _C S TGAU _S AAGC _S U _M A _S	3	III, IV
36029	A _E C _S A _E T _C S A _E G _E T _C S TGAU _S AAGC _S U _M A _S	3	III, IV
36030	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _M T _E	8	III, IV
36031	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _C S TGAU _S AAGC _S U _M T _E	8	III, IV
36032	A _E C _S A _E T _C S A _E G _E T _C S TGAU _S AAGC _S U _M T _E	8	III, IV
36033	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _S GAU _S A _M AGC _S U _S A _S	3	
36034	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _M GAU _S A _M AGC _S U _S A _S	3	
36035	A _E C _S A _T C _S A _M G _T C _S U _M GAU _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36040	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S T _E GAU _S A _E AGC _S U _S A _S	3	
36041	A _E C _S A _T C _S A _E G _T C _S T _E GAU _S A _E AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36045	A _E C _S A _T E _C S A _E G _E T _E C _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36046	A _E C _S A _T C _S A _E G _E T _E C _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36047	A _E C _S A _T C _S A _G E _T E _C S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36048	A _E C _S A _T C _S A _G T _E C _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36049	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _S GAU _S A _M AGC _S U _S T _E	8	
36050	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _M GAU _S A _M AGC _S U _S T _E	8	
36051	A _E C _S A _T C _S A _M G _T C _S U _M GAU _S A _M AGC _S U _S T _E	8	III, IV
36055	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _S GAU _S A _S AGC _S U _S	10	V
36239	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _S GAU _S A _E AGC _S U _S A _S	3	
36968	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _C S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36969	A _E C _S A _E T _C S A _E G _E T _C S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36970	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S T _E	8	III,

			IV, VII
36971	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _C S TGAU _S AAGC _S U _S T _E	8	III, IV
36972	A _E C _S A _E T _C S A _E G _E T _C S TGAU _S AAGC _S U _S T _E	8	III, IV
36973	A _E C _S A _T E _C S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36974	A _E C _S A _E T _C S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36975	A _E C _S A _E T _E C _S A _G E _T E _C S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36976	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _T E _C S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36977	A _E C _S A _T C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36978	A _E C _S A _E T _E C _S A _G T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36979	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _T C _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36980	A _E C _S A _T C _S A _G E _T E _C S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36981	A _E C _S A _T C _S A _G T _E C _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36982	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S T _E A _S	3	III, IV, VII
36984	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAG _E C _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36985	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AA _E GC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36986	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AA _E GC _S U _S A _S	3	III, IV, VII

36988	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _A E _U S _A AGC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36989	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _E A _U S _A AGC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36990	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _E GA _U S _A AGC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36992	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _U S _A MAGC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36993	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _A M _U S _A AGC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36994	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _A M _U S _A MAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36995	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _A M _U S _A MAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36996	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _A M _U S _A MAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36997	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _A M _U S _A MAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36998	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _A M _U S _A MAGC _S U _S A _S	3	III, IV
36999	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S A _S	3	III, IV

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 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 này bao gồm ít nhất 8 nucleosit liên kết có trình tự nucleosit nêu trong trình tự nucleosit VI. 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 VII.

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 bên trong nucleosit được cải biến. Theo một số phương án, 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, oligonucleotit cải biến có trình tự bazơ nucleotit trong đó ít nhất một bazơ nucleotit là xytozin. Theo một số phương án, ít nhất một xytosin là 5-metyl xytozin. Theo một số phương án, mỗi xytosin là 5-metyl xytozin. Theo một số phương án, ít nhất một nucleosit bao gồm bazơ nucleotit 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; N^Y là nucleosit cải biến hoặc nucleosit không cải biến; và N^Z là nucleosit cải biến.

Bảng 2A: 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	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		

			Q	B	Q	Q	Q	B	Q	Q	Q	B	Q	Q	Q	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 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; và N^Z là nucleosit cải biến.

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

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	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		

			Q	B	Q	Q	Q	B	Q	Q	Q	B	Q	Q	Q	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 mỗi N^B là nucleosit hai vòng; và mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi.

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

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

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

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit được chọn từ Bảng 2D, trong đó N^M là nucleosit cải biến 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 2D: Sản phẩm chuyển hóa có trình tự nucleosit VII

5'																		3'
N _M	N _B	N _M	N _M	N _B	N _M	N _M	N _M	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	N _Z
	N _B	N _M	N _M	N _B	N _M	N _M	N _M	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	N _Z
		N _M	N _M	N _B	N _M	N _M	N _M	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	N _Z
			N _M	N _B	N _M	N _M	N _M	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	N _Z
				N _B	N _M	N _M	N _M	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	N _Z
					N _M	N _M	N _M	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	N _Z
						N _M	N _M	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	N _Z
							N _M	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	N _Z

								N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	N Z
									N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	N Z
										N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	N Z
											N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	N Z
N M	N B	N M	N M	N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	
N M	N B	N M	N M	N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B		
	N B	N M	N M	N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	
	N B	N M	N M	N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B		
		N M	N M	N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	
		N M	N M	N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B		
			N M	N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	
			N M	N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B		
				N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	
				N B	N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B		
					N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	
					N M	N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B		
						N M	N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N B	
							N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N Q	N B		
								N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N B	N B	
								N M	N B	N Q	N Q	N Q	N B	N Q	N Q	N B		
								N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	

								B	Q	Q	Q	B	Q	Q	Q	B	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 _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 _B	N _Q	N _Q	N _Q	N _B	N _B	

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến hướng đích miR-21 có trình tự nucleosit và trình tự bazơ nucleotit được chọn từ Bảng 3A, Bảng 3B, Bảng 3C, Bảng 3D, hoặc Bảng 3E. 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. Bazơ nucleotit có thể có hoặc không bao gồm nhóm methyl ở vị trí 5’.

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

5’																		3’	SEQ ID NO
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	3
	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	9
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	17
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	18
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	19
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	20
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	21
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	22
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	23
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	24
										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		25
A _E	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			26
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		27
	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			28

		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		29
		A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			30
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		31
			T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			32
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		33
				C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			34
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		35
					A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			36
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		37
						G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			38
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		39
							T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			40
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		41
								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		

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

5'																		3'	SE Q ID NO
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	3
	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	9
		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	17
			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	18
				C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E	19
					A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E	20
						G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E	21
							T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E	22
								C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E	23
									U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S	A _E	24
										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		25
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			26
	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		27
	C _S	A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			28

		A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		29
		A	T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			30
			T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		31
			T	C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			32
				C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		33
				C _S	A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			34
					A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		35
					A _S	G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			36
						G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		37
						G	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			38
							T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		39
							T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			40
								C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		41
								C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			
									U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		
									U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S			
										G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	U _S		

Bảng 3C: Sản phẩm chuyển hóa của hợp chất số 36284

5'														3'	SEQ ID NO
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	
^{Me} C _E	A _S	A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	7
	A _S	A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	42
		A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	43
			T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	44
				C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	45
					U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	46
						A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	
							A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	
^{Me} C _E	A _S	A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E		47
^{Me} C _E	A _S	A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S			48
	A _S	A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E		49
	A _S	A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S			50
		A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E		51
		A _S	T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S			52
			T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E		53
			T _E	C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S			54
				C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E		55
				C _S	U _S	A _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S			

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

Bảng 3D: Sản phẩm chuyển hóa của hợp chất số 36039

5'																		3'	SEQ ID NO
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 _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	3
	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	9
		A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	17
			T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	18
				C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	19
					A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	20
						G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	21
							T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	22
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	23
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	24
										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 _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		25
A _E	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			26
	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		27
	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			28
		A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		29
		A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			30
			T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		31
			T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			32
				C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		33
				C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			34
					A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		35
					A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			36
						G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		37
						G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			38
							T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		39
							T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			40
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T		41
								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		

Bảng 3E: Sản phẩm chuyển hóa của hợp chất số 36731

5'																		3'	SEQ ID NO
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 _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	3
	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	9
		A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	17
			T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	18
				C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	19
					A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	20
						G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	21
							T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	22
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	23
									T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S	A _S	24
										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 _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		25
A _E	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			26
	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		27
	C _S	A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			28
		A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		29
		A _E	T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			30
			T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		31
			T _E	C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			32
				C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		33
				C _S	A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			34
					A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		35
					A _E	G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			36
						G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		37
						G _E	T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			38
							T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		39
							T _E	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S			40
								C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	U _S		41
								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 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 bazơ nucleotit bổ sung với miR-21 có thể có trình tự nucleosit IV, V hoặc VII, có chiều dài 19 nucleosit liên kết, hoặc có thể có trình tự nucleosit VI, có chiều dài 15 nucleosit, hoặc có thể có trình tự nucleosit III, có chiều dài 19 đến 22 nucleosit. Các 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.

Các bệnh và rối loạn

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 trong cơ thể, 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 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. Sáng chế còn đề xuất các chế phẩm 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, Hội chứng Alport, 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.

Sáng chế đề xuất các phương pháp để cải thiện chức năng thận ở đối tượng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm chậm và/hoặc phòng ngừa sự khởi phát bệnh lý thận giai đoạn cuối. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm chậm nhu cầu thẩm tách ở đối tượng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm chậm nhu cầu ghép thận ở đối tượng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm chậm suy yếu chức năng thận ở đối tượng.

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).

Sáng chế đề xuất các phương pháp để điều trị Hội chứng Alport, bao gồm việc cho đối tượng mắc hoặc nghi ngờ mắc Hội chứng Alport oligonucleotit cải biến bổ sung với miR-21. Theo một số phương án, đối tượng được chẩn đoán là mắc Hội chứng Alport trước khi chờ đợi oligonucleotit cải biến. Việc chẩn đoán Hội chứng Alport có thể thực hiện bằng cách đánh giá các thông số bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tiền sử gia đình bệnh nhân, các dấu hiệu lâm sàng (bao gồm nhưng không giới hạn ở nồng độ protein niệu, albumin niệu, huyết niệu, suy GFR, tụt điếc và/hoặc thay đổi thị giác) và các kết quả của sinh thiết mô. Sinh thiết thận có thể được thử nghiệm sự có mặt hay vắng mặt các mạch collagen alpha-3, alpha-4, and alpha-5 kiểu IV. Ngoài ra, sự thay đổi cấu trúc trong tiểu cầu có thể được phát hiện bằng electron microscopy of vật liệu sinh thiết thận. Sinh

thiết da có thể được thử sự có mặt hay vắng mặt mạch collagen alpha-5 kiểu IV, mà thường có mặt trong da và thường vắng mặt trong các đối tượng nam giới có hình liên kết X của Hội chứng Alport. Việc chẩn đoán Hội chứng Alport còn có thể bao gồm sàng lọc đột biến trong một hoặc nhiều gen *Col4a3*, *Col4a4*, or *Col4a5*.

Theo một số phương án, các mức miR-21 tăng trong thận của đối tượng mắc Hội chứng Alport. Theo một số phương án, trước khi cho sử dụng, đối tượng được xác định có mức miR-21 cao trong thận. Mức miR-21 có thể được đo bằng các vật liệu sinh thiết thận.

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.

Sự có mặt hoặc độ xơ hoá có thể được phát hiện bằng cách chọc sinh thiết gan hoặc thông qua phương pháp siêu âm đàn hồi thoáng qua không xâm lấn để đánh giá độ xơ cứng gan, như phương pháp FibroScan®.

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 bazơ nucleotit 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 *trong ống nghiệm* và *trong cơ thể* 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 bàng quang, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư xương, ung thư ruột kết, ung thư phổi, ung thư não, ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư tụy, ung thư đầu và mũi, ung thư lưỡi, ung thư dạ dày, ung thư da, ung thư tuyến giáp, u nguyên bào thần kinh, ung thư thực quản, u trung biểu mô, u nguyên bào thần kinh, ung thư thận, ung thư tinh hoàn, ung thư trực tràng, ung thư cổ, hoặc ung thư buồng trứng. 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 trong cơ thể, ví dụ là ung thư do di căn của ung thư xương, ung thư ruột kết hoặc ung thư vú. Theo một số phương án, ung thư não là u nguyên bào thần kinh đệm đa hình, u thần kinh đệm hỗn hợp, hoặc u thần kinh đệm ít nhánh. Theo một số phương án, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình là u nguyên bào thần kinh đệm đa hình mào thần kinh, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình cổ điển, hoặc u nguyên bào thần kinh đệm đa hình trung mô. Theo một số phương án, ung thư máu ác tính là bạch cầu cấp dòng tủy, bạch cầu lympho bào cấp, bạch cầu đơn nhân cấp, đau tủy xương, bạch cầu lympho bào mạn tính, bạch cầu mạn tính dạng tủy, U lympho Hodgkin, hoặc u lympho không Hodgkin. Theo một số phương án, ung thư da là u melanin. Theo một số phương án, ung thư thận là ung thư biểu mô tế bào thận. Theo một số phương án, ung thư vú là ung thư biểu mô ống tại chỗ, ung thư biểu mô thùy, ung thư vú ba tiêu cực, ung thư biểu

mô tuỷ, ung thư biểu mô ống nhỏ, và ung thư biểu mô dạng nhầy. Theo một số phương án, ung thư là kháng liệu pháp hoá trị.

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 sự chuyển tiếp biểu mô-trung mô (EMT) 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. Tổn thương thận cấp tính có thể phát triển xơ hoá và/hoặc bệnh thận mạn tính. 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 xơ hoá xảy ra do 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, 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 anthraxycin, 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 albumin:creatinin ratio ở đối tượng; đo tỷ lệ lọc tiểu cầu ở đối tượng; đo thải nước tiểu ở đối tượng; đo lọc bỏ inulin trong nước tiểu của đối tượng; đo nồng độ osmol nước tiểu ở

đối tượng; đo nồng độ osmol nước tiểu ở đối tượng; đo huyết niệu ở đối tượng; đo xystatin C trong máu và/hoặc nước tiểu của đối tượng; đo lipocalin trung tính liên hệ với gelatinaza (NGAL) C trong máu hoặc nước tiểu của đối tượng; đo nồng độ mRNA 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, việc dùng thuốc cải thiện chức năng thận ở đối tượng. Theo một số phương án, việc dùng thuốc làm chậm thời gian thẩm tách. Theo một số phương án, việc dùng thuốc làm chậm thời gian ghép thận. Theo một số phương án, việc dùng thuốc làm tăng triển vọng sống của đối tượng. Theo một số phương án, việc dùng thuốc làm giảm huyết niệu. Theo một số phương án, việc dùng thuốc làm chậm khởi phát huyết niệu. Theo một số phương án, việc dùng thuốc làm giảm nồng độ protein niệu. Theo một số phương án, việc dùng thuốc làm chậm khởi phát nồng độ protein niệu.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án theo sáng chế, việc cho dùng oligonucleotit cải biến được hướng đích tới miR-21 cải thiện một hoặc nhiều dấu hiệu của chức năng thận chức năng thận ở đối tượng. Cải thiện các dấu hiệu của chức năng thận bao gồm, nhưng không giới hạn: làm giảm nitơ urê máu ở đối tượng; làm giảm creatinin trong máu của đối tượng; làm tăng lọc bỏ creatinin ở đối tượng; làm giảm nồng độ protein niệu ở đối tượng; làm giảm tỷ lệ albumin:creatinin ở đối tượng; làm tăng tỷ lệ lọc tiểu cầu ở đối tượng; làm tăng lọc bỏ inulin ở đối tượng; làm giảm lipocalin trung tính liên hệ với gelatinaza (NGAL) trong máu của đối tượng; làm giảm Xystatin C trong máu của đối tượng; và làm tăng thải nước tiểu ở đối tượng. Theo một số phương án, nồng độ protein niệu là microalbumin niệu. Theo một số phương án, nồng độ protein niệu là macroalbumin niệu.

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 bazơ nucleotit 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, sulfonilurea, và thiazolidinedion, các chất tương tự GLP-1, và các chất ức chế DPP-IV.

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 chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin II (ACE). Theo một số phương án, chất ức chế ACE là captopril, enalapril, lisinopril, bnazepril, quinapril, fosinopril, hoặc ramipril.

Theo một số phương án, phép trị liệu bổ sung là thẩm tách. Theo một số phương án, phép trị liệu bổ sung là ghép thận.

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 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, tác nhân được liệu là liệu pháp chống yếu tố sinh trưởng biến nạp β . Theo một số phương án, liệu pháp kháng TGF- β là kháng thể đơn dòng kháng TGF- β .

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 vacxin.

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, metotrexat, 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-nitrosourea, 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 metotrexat, 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 bevacizumab, thalidomit, carboxamidotriazol, 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.

Một số trình tự bazơ nucleotit của ARN nhỏ

Oligonucleotit cải biến này có trình tự nucleosit được mô tả trong bản mô tả có trình tự bazơ nucleotit bổ sung với miR-21 (SEQ ID NO: 1), hoặc tiền thân của nó (SEQ ID NO: 2). Theo một số phương án, mỗi bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến này có khả năng trải qua sự cặp đôi bazơ với bazơ nucleotit tại mỗi vị trí tương ứng trong trình tự bazơ nucleotit của miR-21. Theo một số phương án trình tự bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến có thể có một hoặc nhiều cặp bazơ bắt cặp sai so với trình tự bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến này bổ sung với mỗi bazơ nucleotit ở vị trí tương ứng của miR-21, được xem là oligonucleotit cải biến có trình tự bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit bổ sung với vị trí tương ứng của miR-21 có chiều dài 22 bazơ nucleotit, bổ sung hoàn toàn với vùng gồm 19 bazơ nucleotit của miR-21. Oligonucleotit cải biến này có trình tự bổ sung

100% với phần gồm 19 bazơ nucleotit của miR-21, và được xem là bổ sung 100% với miR-21.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến bao gồm trình tự bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 1-6 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc là bazơ nucleotit 2-7 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc là bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 1-7 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc heptame là bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 1-8 của miR-21. Theo một số phương án, trình tự gốc octame là bazơ nucleotit 2-9 của miR-21.

Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự bazơ nucleotit có một lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21, hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự bazơ nucleotit có hai lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21, hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án, oligonucleotit cải biến có trình tự bazơ nucleotit có không nhiều hơn hai lỗi bắt cặp so với trình tự bazơ nucleotit của miR-21, hoặc tiền thân của nó. Theo một số phương án, các bazơ nucleotit bắt cặp sai nằm kề nhau. Theo một số phương án, các bazơ nucleotit 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, bazơ nucleotit của một nucleosit khác bổ sung với bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit 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 mỗi bazơ nucleotit của nucleosit 1 đến 22 bổ sung với vị trí tương ứng của miR-21 đó là đoạn dài 22 bazơ nucleotit, có phần 22 nucleosit là bổ sung hoàn toàn với trình tự bazơ nucleotit của miR-21 và khoảng bổ sung 92% toàn phần với trình tự bazơ nucleotit 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 12 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 12 đến 25 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 12 đến 19 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 12 đến 16 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 bazơ nucleotit 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 bazơ nucleotit.

Mặc dù danh mục trình tự nộp kèm đơn sáng chế này xác định mỗi trình tự bazơ nucleotit 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. Chuyên gia 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 bazơ nucleotit được cải biến. Bằng các ví dụ và không giới hạn, oligonucleotit có trình tự bazơ nucleotit “ATCGATCG” bao gồm oligonucleotit bất kỳ có trình tự bazơ nucleotit 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-metylxytosin. Tương tự, oligonucleotit có trình tự bazơ nucleotit “AUCGAUCG” bao gồm oligonucleotit bất kỳ có trình tự bazơ nucleotit 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-metylxytosin.

Một số cải biến

Theo một số phương án, oligonucleotit theo sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều cải biến ở bazơ nucleotit, đường, và/hoặc liên kết bên trong nucleosit, và do đó là oligonucleotit cải biến. Bazơ nucleotit, 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 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'-CH₂-2', 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-

$C(H)(CH_3)-2'$ (xem ví dụ Chattopadhyaya, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); và $4'-CH_2-C(=CH_2)-2'$ 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:

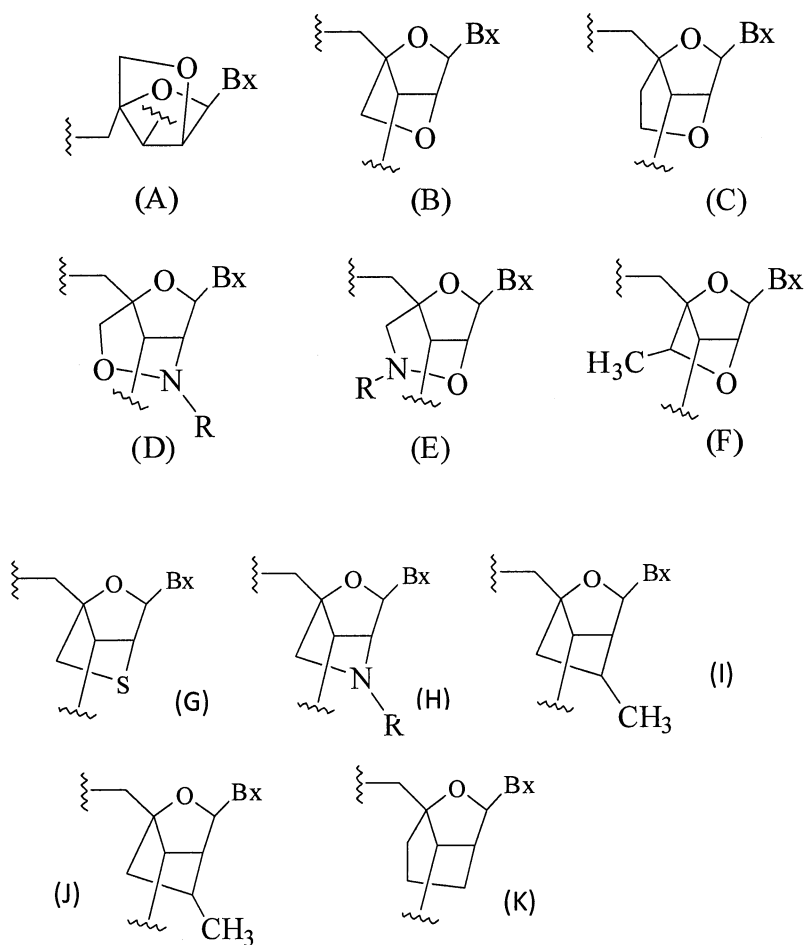
x là 0, 1, hoặc 2;

n là 1, 2, 3, hoặc 4;

mỗi R_a và R_b độc lập là H, nhóm bảo vệ, hydroxyl, C_1 - C_{12} alkyl, C_1 - C_{12} alkyl được thế, C_2 - C_{12} alkenyl, C_2 - C_{12} alkenyl được thế, C_2 - C_{12} alkynyl, C_2 - C_{12} alkynyl được thế, C_5 - C_{20} aryl, C_5 - C_{20} aryl được thế, gốc dị vòng, gốc dị vòng được thế, heteroaryl, heteroaryl được thế, gốc alixyclic C_5 - C_7 , gốc alixyclic C_5 - C_7 được thế, halogen, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $COOJ_1$, acyl ($C(=O)-H$), acyl được thế, CN, sulfonyl ($S(=O)_2-J_1$), hoặc sulfoxyl ($S(=O)-J_1$); và

mỗi J_1 và J_2 độc lập là H, C_1 - C_{12} alkyl, C_1 - C_{12} alkyl được thế, C_2 - C_{12} alkenyl, C_2 - C_{12} alkenyl được thế, C_2 - C_{12} alkynyl, C_2 - C_{12} alkynyl được thế, C_5 - C_{20} aryl, C_5 - C_{20} aryl được thế, acyl ($C(=O)-H$), axyl được thế, gốc dị vòng, gốc dị vòng được thế, C_1 - C_{12} aminoalkyl, C_1 - C_{12} 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 ($4'-CH_2-O-2'$) BNA; (B) β -D-Metylenoxy ($4'-CH_2-O-2'$) BNA; (C) Etylenoxy ($4'-(CH_2)_2-O-2'$) BNA; (D) Aminooxy ($4'-CH_2-O-N(R)-2'$) BNA; (E) Oxyamino ($4'-CH_2-N(R)-O-2'$) BNA; (F) Metyl(metylenoxy) ($4'-CH(CH_3)-O-2'$) BNA (còn được gọi là etyl cưỡng bức hoặc cEt); (G) metylen-thio ($4'-CH_2-S-2'$) BNA; (H) metylen-amino ($4'-CH_2-N(R)-2'$) BNA; (I) metyl carbocyclic ($4'-CH_2-CH(CH_3)-2'$) BNA; (J) c-MOE ($4'-CH_2-OMe-2'$) BNA và (K) propylene carbocyclic ($4'-(CH_2)_3-2'$) BNA như được mô tả dưới đây.



trong đó Bx là gốc bazơ nucleotit và R độc lập là H, nhóm bảo vệ, hoặc C₁-C₁₂ 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, alyl, amino, azido, SH, CN, OCN, CF₃, OCF₃, O-, S-, hoặc N(R_m)-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 bazơ nucleotit 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, bazơ nucleotit được cải biến được chọn từ 5-hydroxymetyl xytosin, 7-deazaguanin và 7-deazaadenin. Theo một số phương án, bazơ nucleotit được cải biến được chọn từ 7-deaza-adenin, 7-deazaguanosin, 2-aminopyridin và 2-pyridon. Theo một số phương án, bazơ nucleotit 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-propynylxytozin.

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

Một số dược phẩm

Sáng chế đề xuất dược phẩm chứa oligonucleotit. Theo một số phương án, dược phẩm này được sử dụng để điều trị xơ hoá, bệnh thận, và ung thư. Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm hợp chất được mô tả theo sáng chế.

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 được phẩm qua đường nội tủy mạc để đạt được sự tiếp xúc khu trú mà không phải tiếp xúc toàn thân. Ví dụ, được phẩm có thể được tiêm thẳng vào khu vực mong muốn có hiệu quả (ví dụ trong gan hoặc thận).

Theo một số phương án, được 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, được 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, được 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), đậy bằng nút cao su bromobutyl và bọc kín bằng giấy nhôm FLIP-OFF®.

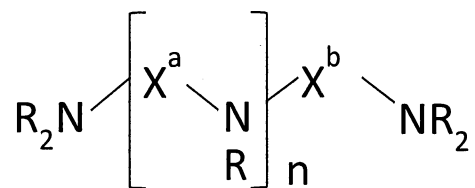
Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa thêm các thành phần phụ khác thường có trong dược phẩm, với nồng độ sử dụng được chấp nhận trong lĩnh vực này. Do đó, ví dụ, chế phẩm có thể chứa các chất có hoạt tính dược lý, tương

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 lipid 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 lipid cation và lipid tự nhiên. Trong một phương pháp khác, phức ADN với lipid đơn hoặc đa cation được tạo thành mà không có lipid tự nhiên. Theo một số phương án, gốc lipid được chọn để làm tăng sự phân bố của tác nhân được liệu đến tế bào hoặc mô. Theo một số phương án, gốc lipid được chọn để làm tăng sự phân bố của tác nhân được liệu đến mô mỡ. Theo một số phương án, gốc lipid 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% phospholipid lòng đỏ trứng, 2,25% glycerin, 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, dược phẩm theo sáng chế bao gồm hợp chất polyamin hoặc gốc lipid 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 lipid. 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 lipid.

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, hydroxymetylxenluloza 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 lipid (ví dụ nhũ tương, cồn ngọt và/hoặc dung dịch). Theo một số phương án, dược phẩm lipid 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 dimethylsulfoxit 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 được 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 được 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 triglyxerit, 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 diclodiflometan, tricloflometan, diclotetrafloetan, 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 dược 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 chuyên gia 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 *trong cơ thể*, 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 *trong cơ thể*. 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 *trong cơ thể*, chuyên gia 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 tiêu. 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 phân đặc hiệu đích của đường hô hấp và phổi là đã biết đối với chuyên gia 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, được 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 phổi 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, qua da, thuốc đạn, nội tửy mạc, trong tâm thất, trong màng bụng, trong mũi, trong mắt, trong bắp, trong tửy 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 bazơ nucleotit của nucleosit của một hoặc nhiều nucleosit bổ sung bổ sung với ARN đích. Theo một số phương án, mỗi bazơ nucleotit 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 carbohydrat, 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-maleimidometyl) xyclohexan-1-carboxylat (SMCC), axit 6-aminoheptanoic (AHX 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, carboxylic nucleotit, 1,5-anhydrohexitol nucleotit, L-nucleotit, alpha-nucleotit, bazơ nucleotit cải biến, liên kết phosphorodithioat, threo-pentofuransyl nucleotit, axyclic 3',4'-seco nucleotit, axyclic 3,4-dihydroxybutyl nucleotit, axyclic 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 metylphosphonat cầu nối, và gốc

methylphosphonat không cầu nối 5'-amino-alkyl phosphat, 1,3-diamino-2-propyl phosphat, 3-aminopropyl phosphat, 6-aminoethyl 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 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 bazơ nucleotit của oligonucleotit bổ sung với trình tự bazơ nucleotit 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. Chuyên gia

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 *trong cơ thể*. 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 bổ sung của mô hình xơ hóa thận là mô hình xơ hóa do axit aristolochic. Mô hình xơ

hóa gan được gây ra bởi, ví dụ, nhiễm độc cacbon tetrachlorua hoặc thất ồng mật. Xơ hóa gan còn có thể do chế độ ăn uống thiếu methionin và colin, gây ra bệnh gan nhiễm mỡ kèm theo xơ hoá liên quan. 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 hoặc ở chuột mà biểu hiện quá mức TGF- β trong phổi. 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.

Mô hình động vật bổ sung bao gồm mô hình chuột hoặc chó mắc Hội chứng Alport. Ví dụ của mô hình chuột mắc Hội chứng Alport là chuột gây mê Col4a3.

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 *trong ống nghiệm* hoặc *trong cơ thể*. 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 mARN 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.

Chuyên gia 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: Các hợp chất kháng miR-21

Nhiều hợp chất kháng miR hướng đích miR-21 và bao gồm cEt nucleosit được thiết kế khác nhau về chiều dài và bổ sung với miR-21, cũng như về số lượng, loại và thay thế các gốc đường cải biến. Các hợp chất được đánh giá về hiệu quả ức chế của chúng lên hoạt tính của miR-21 trong thử nghiệm luxiferaza *trong ống nghiệm*.

Thử nghiệm luxiferaza

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 plasmid 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 Làm giảm 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).

Hoạt tính luxiferaza trong các tế bào kháng miR-21 được so sánh với xử lý ‘bất chức’, trong đó các tế bào tiếp nhận xử lý không kháng-miR.

Một số trong các hợp chất hoạt tính được thể hiện trong Bảng A sau đây. Các cải biến nucleosit được chỉ định 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 “S” là S-cEt nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết bên trong nucleosit phosphothioat. Chỉ số dưới “Me” là nhóm 5-metyl trên cơ sở nucleosit.

Bảng A: Các hợp chất kháng miR-21

Hợp chất số	Trình tự và Hoá học (ô đánh bóng là S-cEt nucleosit)															SEQ ID NO
36328	MeC _E	A _S	G _S	T _E	C _S	U _S	G _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	5
36232	C	A _S	G _S	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A _S	A	G	C _S	T	A _S	5
36234	C	A _S	G _S	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A	A _S	G _S	C	T	A _S	5
36235	C	A _S	G _S	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A	A _S	G	C _S	T	A _S	5
36237	C	A _S	G _S	T	C _S	U _S	G	A	U _S	A	A	G _S	C _S	T	A _S	5

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

Xử lý	Nồng độ Oligonucleotit (uM)					
	50	16,7	5,6	1,9	0,6	0,2
36328	1,1	4,36	1,05	0,93	0,94	0,98
36232	1,1	4,2	5,22	2,37	0,9	0,76
36234	1,02	4,4	4,96	1,67	1,03	0,79
36235	2	6,17	7,57	3,01	1,1	1,01
36237	1,49	6,2	4,35	1,14	0,93	0,99

Như được thể hiện trong Bảng B, hợp chất kháng miR-21 của Bảng A ức chế hoạt tính của miR-21 trong thử nghiệm luxiferaza. Các hợp chất hoạt tính này được chọn để đánh giá tiếp trong mô hình xơ hóa thận *trong cơ thể*...

Mô hình xơ hóa thận UUO

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. Dấu hiệu bổ sung của xơ hóa thận là phần trăm mô thận thể hiện biểu hiện collagen do quy trình UUO. ‘Phân đoạn vùng collagen’ được đo về mô học qua xử lý ảnh định lượng của vùng mô thận mà được nhuộm đỏ bởi nhuộm đỏ picosirius; phần trăm được phát hiện có màu đỏ được chuẩn hóa bằng vùng của bộ phận thận. 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 36232, 36234, 36235, 36237, và 36328 đã được kiểm tra trong mô hình xơ hóa thận UUO. Nhóm gồm các động vật được xử lý như sau: chỉ UUO (n=4), UUO với PBS (n=8), hoặc UUO với hợp chất kháng-miR-21 (n=7 đến 8). So với ngày của quy trình UUO, PBS hoặc hợp chất kháng miR-21 được sử dụng ở các ngày -4, -2, 0, và +3. Các hợp chất kháng miR-21 được sử dụng với liều 20 mg/kg. Do các hợp chất kháng miR được sử dụng trước quy trình UUO, phác đồ liều dùng được xem là điều trị dự phòng. Ở ngày 11, động vật bị giết và tách lấy thận để đo 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. Ý nghĩa thống kê được xác định theo thử nghiệm 1 chiều ANOVA. Như được thể hiện trên Fig.1, xử lý bằng 36232 và 36328 làm giảm biểu hiện collagen 1A1 (Fig.1A) và collagen 3A1 (Fig.1B) theo cách có ý nghĩa thống kê, so với động vật được xử lý giả. Mặc dù chúng là các chất ức chế hoạt tính của miR-21 *trong ống nghiệm*, các hợp chất 36234, 36235, và 36237 không tạo ra sự giảm biểu hiện collagen *trong cơ thể* có ý nghĩa thống kê.

Các kết quả này chứng minh rằng 36328 và 36232 là các tác nhân ứng cử để điều trị hoặc phòng ngừa xơ hóa, bao gồm xơ hóa thận.

Mặc dù các hợp chất 36328 và 36232 có sự thay thế S-cEt nucleosit giống nhau và ức chế miR-21 *trong ống nghiệm* và *trong cơ thể*, nhưng chúng thể hiện bằng cách đánh dấu độ nhớt khác nhau trong dung dịch. 36328 có độ nhớt cao hơn trong dung dịch nước muối, trong khi 36232 không nhớt. Dung dịch nhớt cao có thể không thích hợp để được dùng, ví dụ, ví dụ qua đường tiêm dưới da, do cần thể tích dùng lớn hơn để phù hợp với lượng yêu cầu của kháng-miR, và thể tích càng lớn thì càng khó dùng dưới da. Dung dịch

có độ nhớt thấp hơn có thể được ưu tiên để tạo thuận lợi cho việc dùng tác nhân. Trong nỗ lực để thay đổi độ nhớt của 36328, các cải biến được thiết kế như được thể hiện trong Bảng C. Mỗi hợp chất được thử nghiệm hoạt tính trong thử nghiệm luxiferaza, độ nhớt trong nước, và hoạt tính trong mô hình UUO.

Bảng C: 36328 và các hợp chất liên quan

Hợp chất số	Trình tự và Hoá học (ô đánh bóng là cEt đường; chỉ số dưới là lỗi bắt cặp)															SEQ ID NO
36328	^{Me} C _E	A _S	G _S	T _E	C _S	U _S	G _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	5
36282	^{Me} C _E	A _S	G _S	T _E	<u>A_S</u>	U _S	G _E	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	11
36283	^{Me} C _E	A _S	G _S	T _E	<u>A_S</u>	U _S	<u>A_E</u>	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	12
36284	^{Me} C _E	A _S	<u>A_S</u>	T _E	C _S	U _S	<u>A_E</u>	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	7
36285	^{Me} C _E	A _S	<u>A_S</u>	T _E	C _S	<u>A_S</u>	<u>A_E</u>	A _E	U _S	A _S	A _E	G _E	C _S	T _E	A _S	13

Các kết quả từ thử nghiệm luxiferaza được thể hiện trong Bảng D và được thể hiện là số lần tăng về hoạt tính luxiferaza, so với biến nạp thử. Như được thể hiện trong Bảng D, 36283, 36284 và 36328 ức chế hoạt tính của miR-21. 36282 và 36285 không phải là chất ức chế hiệu quả của miR-21 *trong ống nghiệm*. Hoạt tính ức chế của 36328 từ thử nghiệm riêng biệt (ở trên) được thể hiện để so sánh.

Bảng D: Hoạt tính kháng-miR-21 trong ống nghiệm

Xử lý	Nồng độ của Oligonucleotit (uM)				
	50	16,7	5,6	1,9	0,6
36282	1,67	1,33	1,10	1,13	0,77
36283	5,90	5,50	3,57	2,30	0,60
36284	5,00	5,03	3,67	2,13	1,10
36285	1,27	0,90	0,97	1,03	0,87
36328	1,1	4,36	1,05	0,93	0,94

Các hợp chất được hòa tan trong nước. Sử dụng phương pháp đường dùng, nồng độ oligonucleotit được tính toán phân tích trọng lượng (mg/g) và độ nhớt (cP) được đo bằng máy đo độ nhớt. Các kết quả được thể hiện trong Bảng E.

Bảng E: Độ nhớt của hợp chất kháng-miR-21

Hợp chất số	Độ nhớt cP	Nồng độ mg/g
36282	178	156
36283	147	165
36284	25	184
36285	13	174
36328	212	141

Đưa lỗi bắt cặp đơn vào Hợp chất số 36382 chỉ làm giảm nhẹ độ nhớt, và làm giảm đáng kể hoạt tính ức chế miR-21 trong thử nghiệm luxiferaza. Đưa ba lỗi bắt cặp vào Hợp chất số 36285 làm giảm đáng kể độ nhớt, nhưng tạo ra hoạt tính ức chế miR-21 rất yếu trong thử nghiệm luxiferaza. Các hợp chất 36283 và 36284 mỗi ức chế miR-21 trong thử nghiệm luxiferaza nhưng thể hiện độ nhớt rất khác nhau. Hợp chất 36284 có một lỗi bắt cặp ở vị trí bazơ nucleotit số 3 và một lỗi bắt cặp ở vị trí bazơ nucleotit số 7 và thể hiện độ nhớt rất thấp. Hợp chất 36283 có một lỗi bắt cặp ở vị trí bazơ nucleotit số 3 và một lỗi bắt cặp ở vị trí bazơ nucleotit số 5 được thấy có độ nhớt cao.

Để đánh giá hoạt tính *trong cơ thể*, mỗi một trong số các hợp chất được thử trong mô hình UUO. Các nhóm động vật được xử lý như sau: phẫu thuật giả (n=4), UUO với PBS (n=8), hoặc UUO với hợp chất kháng-miR-21 (n=7 đến 8). 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-miRs 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. Ý nghĩa thống kê được xác định theo thử nghiệm 1 chiều

ANOVA. Như được thể hiện trên Fig.2, xử lý bằng 36283 và 36284 làm giảm biểu hiện collagen 1A1 (Fig.2A) và collagen 3A1 (Fig.2B) theo cách có ý nghĩa thống kê, so với động vật được xử lý giả. Các hợp chất 36282 và 36285 không tạo ra sự giảm có ý nghĩa thống kê biểu hiện collagen *trong cơ thể*.

Các kết quả này chứng minh rằng 36284 làm giảm đáng kể biểu hiện của cả Col1A1 và Col1A3 và thể hiện độ nhớt thấp trong dung dịch.

Ví dụ 2: Ổn định chuyển hoá của hợp chất kháng miR-21

Phát hiện ra rằng một số hợp chất kháng miR-21 đặc biệt dễ chuyển hoá bởi hoạt tính endonucleaza và/hoặc exonucleaza. Để tạo thuận lợi phân bố kháng-miR và kéo dài chu kỳ nửa phân rã, tăng ổn định với sự có mặt của nucleaza *trong cơ thể* có thể còn là đặc điểm mong đợi của hợp chất kháng-miR-21 và do đó, các hợp chất có cấu trúc biến đổi được thử tính ổn định chuyển hoá. Các hợp chất được thử bao gồm 25923, được biết là dễ với hoạt tính nucleaza, và các biến thể cấu trúc 25220 và 25221. Cấu trúc của mỗi hợp chất được thể hiện trong Bảng F. Các cải biến nucleosit là như sau: nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "E" indicate 2'-MOE nucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "S" là S-cEt nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết bên trong nucleosit phosphorothioat.

Bảng F: Các hợp chất kháng-miR-21

Hợp chất số	Trình tự và Hoá học (5' đến 3')																			SEQ ID NO
25923	A _E	C _S	A	T	C _S	A	G	T	C _S	T	G	A	U _S	A	A	G	C _S	T	A _S	3
25220	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	3
25221	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	3

Trong thử nghiệm *ngoài cơ thể*, 5 μ M oligonucleotit được ủ trong chất đồng nhất gan (50 mg mô mỗi ml) trong 24 giờ ở 37 °C. Sau khi ủ, oligonucleotit được tách chiết bằng Tách chiết Chất lỏng - Chất lỏng (LLE) sau đó Tách chiết Pha Chất rắn (SPE). Độ

dài và lượng oligonucleotit được đo bằng khối phổ kế thời gian bay của sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-TOF MS). Hoạt tính nucleaza trong chất đồng nhất mô gan được xác nhận bằng các oligonucleotit đối chứng, mà có trong hợp chất với khả năng kháng đã biết đối với hoạt tính nucleaza, hợp chất để cho hoạt tính 3'-exonucleaza, và hợp chất để cho hoạt tính endonucleaza. Hợp chất tiêu chuẩn bên trong được dùng để kiểm soát hiệu quả tách chiết. Để thử tính ổn định chuyển hoá *trong cơ thể*, các hợp chất được sử dụng cho chuột, mô thận được tách, và việc tách chiết và dò hợp chất được thực hiện trong thử nghiệm *ngoài cơ thể*. Bảng G thể hiện các cấu trúc cho các hợp chất 25923, 25220 và 25221, và các kết quả của phép đo tính ổn định.

Bảng G: Tính ổn định của 25923, 25220 và 25221 *ngoài cơ thể* và *trong cơ thể*

Hợp chất	SEQ ID NO	Cấu trúc	<i>ngoài cơ thể</i> (gan)			<i>trong cơ thể</i> (thận)	
			N ↓ (%)	N-1 (%)	% Endo	N (%)	N-1 (%)
25923	3	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S TA _S	17	13	2-3	58±3	14±5
25220	3	A _E C _S ATC _S A _S GTC _S U _S GAU _S A _S AGC _S U _S A _E	3	0	3	67±16	16±6
25221	3	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S U _S A _S	3	0	3	76±4	4±1

Như được thể hiện trong Bảng G, các hợp chất 25220 và 25221 thể hiện tăng khả năng kháng hoạt tính nucleaza trong cả thử nghiệm *ngoài cơ thể* và *trong cơ thể*.

Để đánh giá hiệu quả của các hợp chất đối với xơ hoá, các hợp chất 25220 và 25221, cũng như 25923, được thử trong mô hình UUO. Mỗi nhóm gồm 8 động vật 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 sử dụng ở các ngày -5, -3, và +3. Các hợp chất kháng-miR-21 được sử dụng với liều 20 mg/kg. Do các 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 10, động vật bị giết và thận được tách ra để đo biểu hiện collagen. Biểu hiện collagen được đo bằng phương pháp real-time PCR và chuẩn hoá đến GAPDH.

Kết quả của thử nghiệm này được thể hiện trong Fig.3. Biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1 như được thể hiện tương ứng trong Fig.3A và 3B. Việc sử dụng hợp chất 25220 hoặc 25221 làm giảm biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1 bằng lượng có ý nghĩa thống kê (* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0.001$), vì đã sử dụng hợp chất 25923.

Các kết quả này đã chứng minh rằng 25220 và 25221 làm giảm đáng kể cả biểu hiện Col1A1 và Col3A1 và thể hiện kháng chuyển hoá bởi nucleaza.

Tính ổn định chuyển hoá của 25284 cũng được thử. Trong thử nghiệm *ngoài cơ thể*, chỉ phát hiện hợp chất chiều dài đầy đủ. *Trong cơ thể*, 96% hợp chất được phát hiện là hợp chất chiều dài đầy đủ. Các kết quả này chứng minh rằng 25284 có khả năng kháng hoạt tính nucleaza cao hơn.

Ví dụ 3: 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) một bên được đặc trưng bởi mô hình tổn thương thận dẫn đến làm tăng xơ hoá mô kẽ. Tổn thương được tạo ra trong chuột nhờ thắt động mạch thận trong khoảng thời gian ngắn, sau đó khôi phục dòng máu. Các kết quả làm ngập lại trong tổn thương nghiêm trọng cho thận, dẫn đến tổn thương mạn tính kèm theo xơ hoá. IRI dẫn đến tổn thương mạn tính thường thấy ở người, do đó mô hình chuột IRI có thể được dùng để kiểm tra các ứng cử tác nhân để điều trị và/hoặc phòng ngừa xơ hoá trong trường hợp tổn thương thận.

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 (Ngày 0). Các nhóm xử lý như sau: Quy trình IRI giả; IRI với PBS được dùng theo đường dưới da; IRI với hợp chất kháng-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 vào Ngày

13. 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 và phân đoạn vùng collagen (như được mô tả trong ví dụ trước). Ý nghĩa thống kê được xác định bằng thử nghiệm 1 chiều ANOVA. Kết quả được thể hiện trên Fig.4. Trong nghiên cứu này, xử lý kháng miR-21 bằng 36328 hoặc 36232 gây ra sự giảm biểu hiện Collal (Fig. 4A; * = $p < 0,05$) và trong phân đoạn vùng collagen (Fig. 4C; *** = $p < 0,0001$). Hợp chất 36232 làm giảm biểu hiện Col3a1 theo cách có ý nghĩa thống kê (Fig. 4B). Hợp chất 36328 làm giảm biểu hiện Col3a1, tuy nhiên sự giảm này không có ý nghĩa thống kê (Fig. 4B).

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 36232 và 36328 kháng-miR-21 là các tác nhân điều trị để điều trị xơ hoá trong trường hợp 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 xơ hoá và bệnh thận mạn tính.

Ví dụ 4: 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 bất cặp bazơ thứ 6 với miR-21, được sử dụng làm hợp chất đối chứng (A_EA_SATC_STGTC_STCAU_SAATA_SAA_E; SEQ ID NO: 14; 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 (n=8); IR với PBS được dùng theo đường dưới da (n=16); IR với hợp chất đối chứng 25109 có lỗi bắt cặp được dùng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg (n=16); và IR với hợp chất kháng-miR-21 36328 được dùng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg (n=16). 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.

Để đánh giá albumin niệu, đo tỷ số albumin và creatinin niệu trong nước tiểu từ mỗi chuột. Kết quả của thử nghiệm này được thể hiện trong Fig.5A. Trong nghiên cứu này, hợp chất 36328 gây ra sự giảm có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ albumin và creatinin niệu (Fig.5A). 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), và 30 $\mu\text{gAlb/mgCr}$ (IR/Nx, 36328). 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).

Trong thử nghiệm được thiết kế tương tự, hợp chất 36284 cũng được thử trong mô hình IR/Nx. IR một bên được gây ra trong khoảng thời gian 30 phút. Nhóm xử lý như sau: quy trình IR giả (n=7); IR với PBS được dùng theo đường dưới da (n=13); và IR với hợp chất kháng miR-21 36284 được dùng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg (n=19). 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 động vật bị giết vào ngày 9. Ngay trước khi giết, thu lấy nước tiểu bằng cách chọc vào bàng quang. Để đánh giá albumin niệu, đo tỷ lệ albumin và creatinin niệu trong nước tiểu từ mỗi chuột. Kết quả của thử nghiệm này được thể

hiện trong Fig.5B. Trong nghiên cứu này, hợp chất 36284 gây ra sự giảm có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ albumin và creatinin niệu.

Hợp chất 25220 cũng được thử trong mô hình IR/Nx model. IR một bên được gây ra trong khoảng thời gian 30 phút. Nhóm xử lý như sau: quy trình IR giả (n=7); IR với PBS được dùng theo đường dưới da (n=13); và IR với hợp chất kháng miR-21 25220 được dùng theo đường dưới da với liều 20 mg/kg (n=19). 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 động vật bị giết vào ngày 9. Ngay trước khi giết, thu lấy nước tiểu bằng cách chọc vào bàng quang. Để đánh giá albumin niệu, đo tỷ lệ albumin và creatinin niệu trong nước tiểu từ mỗi chuột. Kết quả của thử nghiệm này được thể hiện trong Fig.5C. Trong nghiên cứu này, hợp chất 25220 gây ra sự giảm có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ albumin và creatinin niệu.

Ví dụ 5: 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 H.

Bảng H: 36328 làm tăng tỷ lệ sống của chuột IR/Nx hai ngày sau cắt bỏ thận.

Ngày Nx	Tỷ lệ sống 2 ngày sau Nx		Liều dùng kháng miR-21
	PBS	36328	
Ngày 10	50%	75%	20 mg/kg
Ngày 7	66,7%	91,7%	20 mg/kg

Trong thử nghiệm đầu tiên, trong đó cắt bỏ thận vào ngày 10, tỷ lệ sống của chuột được xử lý PBS là 55%, trong khi tỷ lệ sống của chuột được xử lý với 36328 là 75% ($P=0,02$ nhờ sử dụng Thử nghiệm 1-sided Fisher's Exact Test). Trong 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 36328 là 69% ($P=0,11$ nhờ sử dụng 1-sided Fisher's Exact Test).

Ví dụ 6: Các hợp chất kháng miR-21

Các hợp chất kháng miR-21 bổ sung được hướng đích tới miR-21 và bao gồm S-cEt nucleosit được thiết kế khác nhau về độ dài, cũng như số lượng, loại và thay thế các gốc đường cải biến. Các kháng miR này được thể hiện trong Bảng I. Các trình tự nucleosit III, IV, V và VII được thể hiện trong ba dòng thứ nhất của Bảng I. Các cải biến nucleosit được chỉ ra 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 "M" là 2'-O-methyl nucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "S" là S-cEt nucleosit. Mỗi liên kết bên trong nucleosit là liên kết bên trong nucleosit phosphorothioat.

Bảng 1: Các hợp chất kháng miR-21

Hợp chất số	Trình tự nucleosit	Trình tự và Hoá học (ô đánh bóng là nucleosit hai vòng, như S-cEt nucleosit)																				SEQ ID NO	
	III	R	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	N ^Z	
	IV	N ^M	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Y	N ^Z	
	V	N ^M	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z	
	VII	N ^M	N ^B	N ^M	N ^M	N ^M	N ^M	N ^M	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^Q	N ^B	N ^B	N ^Z	
36039	III, IV	A ^E	C ^S	A ^E	T ^E	T ^E	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G	A	U ^S	A	A	G	C ^S	T	A ^S		3
36731	III, IV, VII	A ^E	C ^S	A ^E	T ^E	T ^E	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G	A	U ^S	A	A	G	C ^S	U ^S	A ^S		3
36843	III, IV, VII	A ^E	C ^S	A ^E	T ^E	T ^E	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G ^M	A	U ^S	A	G ^M	G	C ^S	U ^S	A ^S		3
36844	III, IV, VII	A ^E	C ^S	A ^E	T ^E	T ^E	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G ^M	A	U ^S	A	A ^M	G	C ^S	U ^S	T ^E		8
36845	III, IV, VII	A ^E	C ^S	A ^E	T ^E	T ^E	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G	A ^M	U ^S	A ^M	A	G	C ^S	U ^S	A ^S		3
36846	III, IV, VII	A ^E	C ^S	A ^E	T ^E	T ^E	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G	A ^M	U ^S	A ^M	A	G	C ^S	U ^S	T ^E		8
36847	V	A ^E	C ^S	A	T	T	C ^S	A ^S	G	T	C ^S	U ^S	G	A	U ^S	A ^S	A	G	C ^S	U ^S	T ^E		8
36842		A ^E	C ^S	A ^E	T ^E	T ^E	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G ^S	A	U ^S	A	A ^S	G	C ^S	U ^S	A ^S		3
36000	III, IV	A ^E	C ^S	A	T	T	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G	A ^E	U ^S	A ^E	A	G	C ^S	U ^S	A ^S		3
36001	III, IV	A ^E	C ^S	A	T	T	C ^S	A	G ^E	T ^E	C ^S	T	G	A ^E	U ^S	A ^E	A	G	C ^S	U ^S	A ^S		3
36002	III, IV	A ^E	C ^S	A	T	T	C ^S	A	G	T ^E	C ^S	T	G	A ^E	U ^S	A ^E	A	G	C ^S	U ^S	A ^S		3
36003	III, IV	A ^E	C ^S	A	T	T	C ^S	A	G	T	C ^S	T	G	A ^E	U ^S	A ^E	A	G	C ^S	U ^S	A ^S		3
36004	III, IV	A ^E	C ^S	A	T ^E	T ^E	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G	A ^E	U ^S	A ^E	A	G	C ^S	U ^S	T ^E		8
36005	III, IV	A ^E	C ^S	A	T	T	C ^S	A ^E	G ^E	T ^E	C ^S	T	G	A ^E	U ^S	A ^E	A	G	C ^S	U ^S	T ^E		8

36006	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	GE	TE	Cs	T	G	AE	Us	AE	A	G	Cs	Us	TE	8
36007	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	G	TE	Cs	T	G	AE	Us	AE	A	G	Cs	Us	TE	8
36008	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	G	T	Cs	T	G	AE	Us	AE	A	G	Cs	Us	TE	8
36009	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us		10
36010	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us		10
36011	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	A	A	G	Cs	Us		10
36012	III, IV, VII		Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	9
36016	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	AM	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36017	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	AM	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36018	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36019	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36020	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	UM	As	3
36021	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	A	A	G	Cs	UM	As	3
36022	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	AM	Us	A	A	G	Cs	UM	As	3
36023	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	AM	Us	A	A	G	Cs	UM	As	3
36024	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	AM	A	G	Cs	UM	As	3
36025	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	AM	A	G	Cs	UM	As	3
36026	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	AM	A	G	Cs	UM	As	3
36027	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	UM	As	3
36028	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	UM	As	3
36029	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	UM	As	3

36030	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Um	TE	8
36031	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Um	TE	8
36032	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Um	TE	8
36033		AE	Cs	A	T	Cs	As	G	T	Cs	Us	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36034		AE	Cs	A	T	Cs	As	G	T	Cs	Um	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36035	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	AM	G	T	Cs	Um	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36040		AE	Cs	A	T	Cs	As	G	T	Cs	TE	G	A	Us	AE	A	G	Cs	Us	As	3
36041	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	AE	G	T	Cs	TE	G	A	Us	AE	A	G	Cs	Us	As	3
36045	III, IV	AE	Cs	A	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	TE	8
36046	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	TE	8
36047	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	TE	8
36048	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	G	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	TE	8
36049		AE	Cs	A	T	Cs	As	G	T	Cs	Us	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	TE	8
36050		AE	Cs	A	T	Cs	As	G	T	Cs	Um	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	TE	8
36051	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	AM	G	T	Cs	Um	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	TE	8
36055	V	AE	Cs	A	T	Cs	As	G	T	Cs	Us	G	A	Us	As	A	G	Cs	Us		11
36239		AE	Cs	A	T	Cs	As	G	T	Cs	Us	G	A	Us	AE	A	G	Cs	Us	As	3
36968	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36969	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36970	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	TE	8
36971	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	TE	8
36972	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	TE	8
36973	III, IV	AE	Cs	A	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36974	III, IV	AE	Cs	AE	T	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3

36975	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	A	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36976	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	G	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36977	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36978	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	A	G	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36979	III, IV	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	G	T	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36980	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36981	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	G	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36982	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	TE	As	3
36984	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	GE	Cs	Us	As	3
36985	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	AE	G	Cs	Us	As	3
36986	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	AE	A	G	Cs	Us	As	3
36988	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36989	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	GE	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36990	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	TE	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3
36992	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36993	III, IV, VII	AE	Cs	AE	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	A	Us	A	A	G	Cs	Us	As	3

36994	III, IV	AE	Cs	A	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36995	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36996	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	GE	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36997	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	G	TE	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36998	III, IV	AE	Cs	A	T	Cs	A	G	T	Cs	T	G	AM	Us	AM	A	G	Cs	Us	As	3
36999	III, IV	AE	Cs	A	TE	Cs	AE	GE	TE	Cs	T	G	AE	Us	AE	A	G	Cs	Us	As	3

Các hợp chất được chọn từ Bảng I được đánh giá hiệu quả ức chế lên hoạt tính miR-21 trong thử nghiệm luxiferaza *trong ống nghiệm*. Thử nghiệm được thực hiện như được mô tả ở đây, và các kết quả được thể hiện trong Bảng J và Hình 6A.

Bảng J: Dữ liệu luxiferaza của hợp chất kháng miR-21

Nồng độ kháng miR nM	36731	36842	36843	36844	36845	36846	36847	36039
300	7,63	5,34	6,43	26,07	21,90	13,64	8,08	28,53
100	9,72	10,87	5,71	19,33	13,36	26,13	39,10	28,85
33,33	10,76	4,50	6,52	22,11	16,35	20,54	19,46	23,44
11,11	9,38	5,06	5,21	25,46	25,83	21,08	27,84	28,51
3,7	8,53	2,45	5,62	18,61	27,05	29,88	18,21	15,93
1,23	4,49	1,20	2,84	9,28	20,86	17,41	22,11	16,05
0,41	3,51	0,75	1,41	5,04	9,64	12,64	3,44	15,12
0,14	2,60	0,65	6,50	3,24	6,89	5,69	3,71	7,46
0,05	1,52	0,67	0,90	2,66	7,18	5,33	1,74	4,66
0	0,33	0,36	4,34	1,21	1,07	1,19	0,85	0,90

Trên cơ sở dữ liệu trong Bảng J và dữ liệu từ các thử nghiệm lặp lại, quan sát thấy rằng các hợp chất 36731, 36039, 36846 và 36847 ức chế chủ yếu miR-21 trong thử nghiệm luxiferaza.

Một số hợp chất kháng miR-21 được thử thêm về hiệu quả của chúng đối với tăng sinh tế bào trong thử nghiệm *trong ống nghiệm*. Hai kháng miR đối chứng lỗi bắt cặp được dùng (36965 G_EG_SA_EA_EU_S^MC_ET_ET_EA_SACTA_SGACU_SA_SC_S, SEQ ID NO: 15; 36967 G_EA_SA_ET_EA_SA_ET_EA_EU_SAACC_SCCTG_SG_SU_S, SEQ ID NO: 16). Dòng tế bào ung thư tuyến ở người SK-Hep1 được dùng trong thử nghiệm này. SK-Hep1 được trải lên tấm 96 giếng phủ collagen với mật độ bằng 500 tế bào mỗi giếng. Ngày hôm sau, các tế bào được xử lý bằng kháng-miR ở nồng độ nằm trong khoảng 50 nM đến 20 uM (n = 6 giếng cho mỗi xử lý). Không có chất phản ứng chuyển nạp được dùng. Khả năng sinh tồn của tế bào được đo bằng Thử nghiệm Khả năng sinh tồn của Tế bào Phát quang CellTiter-Glo®. Các kết quả được tính là phần trăm của các tế bào sinh tồn được so với đối chứng không

được xử lý. Như được thể hiện trong Bảng K và Fig.6B, các hợp chất 36731, 36846, 36847 và 25220 làm giảm khả năng sinh tồn của tế bào theo cách phụ thuộc nồng độ.

Bảng K: Tác dụng chống tăng sinh của hợp chất kháng miR-21

Hợp chất số	Nồng độ kháng miR								
	50nM	100nM	250nM	500nM	1uM	2uM	5uM	10uM	20uM
36965	103,87	97,48	97,64	81,87	38,01	0	0	0	0
36967	98,50	97,10	95,93	94,11	84,90	47,72	0	0	0
36731	96,92	95,53	51,74	0	0	0	0	0	0
36846	96,95	90,07	0	0	0	0	0	0	0
25220	95,54	91,35	21,37	0	0	0	0	0	0
36847	93,61	93,98	4,41	0	0	0	0	0	0

Các hợp chất làm giảm khả năng sinh tồn của tế bào là tác nhân chữa bệnh ứng cử cho điều trị ung thư.

Để đánh giá hoạt tính *trong cơ thể* trong mô hình xơ hoá, một số hợp chất được thử trong mô hình UUO. Các nhóm động vật được xử lý như sau: phẫu thuật giả (n=4), UUO với PBS (n=8), hoặc UUO với hợp chất kháng-miR-21 (n=8). So với ngày của quy trình UUO, PBS hoặc hợp chất kháng-miR-21 được sử dụng ở các ngày -5, -3, và +3. Các hợp chất kháng-miR-21 được sử dụng với liều 20 mg/kg. Do các 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 10 sau quy trình UUO, động vật bị giết và thận được tách ra để đo biểu hiện collagen. Biểu hiện collagen được đo bằng phương pháp real-time PCR và chuẩn hoá thứ nhất đến GAPDH và sau đó đến động vật đối chứng giả. Ý nghĩa thống kê được xác định theo thử nghiệm 1 chiều ANOVA. Như được thể hiện trên Fig.7, xử lý bằng 36731 và 36055 làm giảm biểu hiện collagen 1A1 (Fig.7A) và collagen 3A1 (Fig.7B) theo cách có ý nghĩa thống kê, so với động vật được xử lý giả (* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$). Các hợp chất 36847 làm giảm biểu hiện collagen 1A1 và collagen 3A1, mặc dù không theo cách có ý nghĩa thống kê trong nghiên cứu này.

Độ nhớt của một số hợp chất cũng được xác định. Các hợp chất được hòa tan trong nước. Sử dụng phương pháp đường dùng, nồng độ oligonucleotit được tính toán phân tích

trọng lượng (mg/g) và độ nhớt (cP) được đo bằng máy đo độ nhớt. Các kết quả được thể hiện trong Bảng L.

Bảng L: Độ nhớt của hợp chất kháng miR-21

Hợp chất số	Độ nhớt cP	Nồng độ mg/g
36731	81	153
36847	128	130
36846	66	150

Các hợp chất 36731 và 36846 thể hiện độ nhớt tương đối thấp, so với 36847 và các hợp chất khác được mô tả ở đây.

Tính ổn định chuyển hoá của một số hợp chất được xác định. Trong thử nghiệm *ngoài cơ thể*, được thực hiện như mô tả ở trên, xấp xỉ 89% hợp chất 36731 chiều dài đầy đủ được phát hiện ra ở cuối thử nghiệm. Do đó, 36731 là hợp chất ổn định cao khi có mặt nucleaza.

Ví dụ 7: Các mô hình ghép ngoại lai

Các mô hình ghép ngoại lai người thường được dùng để đo hiệu quả trong cơ thể của các liệu pháp trị ung thư tiềm năng.

Các mô hình ghép ngoại lai trên cơ sở dòng tế bào được điều chế bằng cách tiêm các tế bào ung thư người vào chuột suy giảm miễn dịch. Các tế bào tiêm vào tạo thành các khối u, và hiệu quả của các tác nhân chống ung thư tiềm năng có thể được đánh giá hiệu quả trên các thông số bao gồm kích thước khối u, số khối u, cấu trúc khối u và tiềm năng chuyển hoá. Các tế bào được nuôi trong nuôi cấy, và sau đó được thu để tiêm vào chuột. Các tế bào từ dòng tế bào ung thư (ví dụ SK-Hep1, Huh7, HeLa293, Hep3B, SNU). Để khởi phát sự phát triển của khối u, xấp xỉ 5×10^6 tế bào được tiêm dưới da vào sườn của chuột suy giảm miễn dịch (ví dụ chuột SCID hoặc chuột khuyết thiếu miễn dịch tuyến ức). Các tế bào được cho tạo thành các khối u có thể tích trung bình lên đến 75 mm².

Các mô hình ghép ngoại lai mô khối u chiết xuất từ người bệnh (mô hình ghép ngoại lai chiết xuất từ người bệnh hoặc mô hình PDX) được thiết lập bằng cách cấy mô cấy của khối u ở người vào chuột suy giảm miễn dịch. Để bảo quản đặc tính của khối u gốc nhiều nhất có thể, mô cấy có thể được nhân giống từ chuột này sang chuột khác, nhưng thường không được nhân giống trong nuôi cấy mô.

Các hợp chất kháng-miR-21 được thử về tác dụng chống ung thư của chúng trong mô hình ghép ngoại lai người. Khi khối u có kích thước phù hợp, chuột được xử lý như sau: PBS (n=5 đến 10); kháng-miR-21 (n=5 đến 10); hoặc lỗi bắt cặp kháng-miR-21 (tùy ý; n=5 đến 10). Các xử lý được sử dụng dưới da, lên đến 3 lần mỗi tuần trong 12 tuần.

Kích thước khối u được đo một đến hai lần mỗi tuần, sử dụng thước kẹp, ví dụ. Trọng lượng cơ thể được đo hai đến ba lần mỗi tuần. Máu được lấy hàng tuần và vào cuối nghiên cứu. Mô khối u và mô khác được lấy vào cuối nghiên cứu.

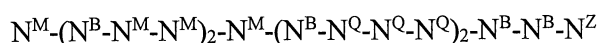
Việc giảm kích thước khối u trong kích thước khối u được quan sát thấy ở chuột được xử lý bằng kháng-miR-21, so với chuột xử lý bằng PBS, đề xuất rằng kháng miR-21 là tác nhân chữa bệnh có thể được dùng cho điều trị ung thư.

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 chuyên gia 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. Hợp chất chứa oligonucleotit cải biến, trong đó trình tự bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến này bổ trợ cho miR-21 (SEQ ID NO: 1) và trong đó oligonucleotit cải biến này:

a) bao gồm 18 hoặc 19 nucleosit liên kết, và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 18 nucleosit liên kết có kiểu nucleosit VII sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



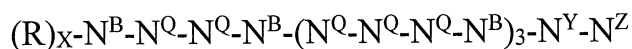
trong đó mỗi N^M là nucleosit cải biến mà không phải là nucleosit vòng đôi;

mỗi N^B là nucleosit vòng đôi;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi; và

N^Z là nucleosit cải biến; hoặc

b) bao gồm 21 hoặc 22 nucleosit liên kết, và trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 21 nucleosit liên kết có kiểu nucleosit III sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



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

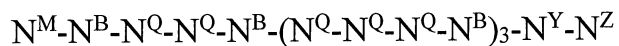
mỗi N^B là nucleosit vòng đôi;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi;

N^Y là nucleosit vòng đôi; và

mỗi N^Z là nucleosit cải biến; hoặc

c) bao gồm 18 hoặc 19 nucleosit liên kết, trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm ít nhất 18 nucleosit liên kết có kiểu nucleosit IV sau đây theo chiều từ 5' đến 3':



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

mỗi N^B là nucleosit vòng đôi;

mỗi N^Q là nucleosit không vòng đôi;

N^Y là nucleosit vòng đôi; và

N^Z là nucleosit cải biến.

2. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó mỗi nucleosit vòng đôi độc lập được chọn từ LNA nucleosit, cEt nucleosit, và ENA nucleosit.
3. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó mỗi nucleosit không vòng đôi độc lập được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit, 2'-O-metyl và 2'-O-metoxetyl nucleosit.

4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó:

a) oligonucleotit cải biến là oligonucleotit cải biến ở điểm 1(a), trong đó:

(i) mỗi N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit;

mỗi N^B là S-cEt nucleosit;

mỗi N^Q độc lập được lựa chọn từ 2'-O-metyl nucleosit và β -D-deoxyribonucleosit; và

N^Z được chọn từ S-cEt nucleosit và 2'-O-metoxetyl nucleosit; hoặc

(ii) mỗi 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 S-cEt nucleosit; hoặc

(iii) mỗi N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit;

mỗi N^B là S-cEt nucleosit;

mỗi N^Q độc lập được chọn từ 2'-O-metyl nucleosit và β -D-deoxyribonucleosit; và

N^Z là S-cEt nucleosit; hoặc

(iv) mỗi N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit;

mỗi N^B là S-cEt nucleosit;

mỗi N^Q độc lập được chọn từ 2'-O-metyl nucleosit and a β -D-deoxyribonucleosit; và

N^Z là 2'-O-metoxetyl nucleosit; hoặc

b) oligonucleotit cải biến là oligonucleotit cải biến ở điểm 1(b), trong đó:

(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;

N^Y là S-cEt nucleosit; và

N^Z là S-cEt nucleosit ; hoặc

(ii) mỗi R là 2'-O-metoxetyl nucleosit; X là 1;

mỗi N^B là S-cEt nucleosit;

mỗi N^Q độc lập được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit và 2'-O-metoxetyl nucleosit;

N^Y là S-cEt nucleosit; và

N^Z là S-cEt nucleosit; hoặc

c) oligonucleotit cải biến là oligonucleotit cải biến ở điểm 1(c), trong đó :

(i) N^M là 2'-O-metoxetyl 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; hoặc

(ii) N^M là 2'-O-metoxetyl nucleosit;

mỗi N^B là S-cEt nucleosit;

mỗi N^Q độc lập được chọn từ β -D-deoxyribonucleosit và 2'-O-metoxetyl nucleosit;

N^Y là S-cEt nucleosit; và

N^Z là S-cEt nucleosit.

5. Hợp chất theo điểm 1 có cấu trúc:

$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G A_U S A A G C_S U_S A_S$ (SEQ ID NO: 3);

trong đó nucleosit không có chỉ số dưới là β -D-deoxyribonucleosit; nucleosit có chỉ số dưới "E" là 2'-MOE nucleosit; và nucleosit có chỉ số dưới "S" là S-cEt nucleosit ; và MeC là 5-metyl xytosin.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trình tự bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến hỗ trợ ít nhất 90%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, hoặc 100% cho trình tự bazơ nucleotit của miR-21 (SEQ ID NO: 1).
7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó oligonucleotit cải biến này bao gồm 18 hoặc 19 nucleosit liên kết thuộc kiểu VII, 21 hoặc 22 nucleosit liên kết thuộc kiểu III, hoặc 18 hoặc 19 nucleosit liên kết thuộc kiểu IV.
8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó ít nhất một liên kết giữa các nucleosit là liên kết giữa các nucleosit được cải biến, hoặc trong đó mỗi liên kết giữa các nucleosit là liên kết giữa các nucleosit được cải biến, và trong đó liên kết giữa các nucleosit được cải biến này tùy ý là liên kết phosphothioat giữa các nucleosit.
9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó ít nhất một xytosin là 5-methyl xytosin, hoặc trong đó mỗi xytosin là 5-methylxytosin.
10. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trình tự bazơ nucleotit của oligonucleotit cải biến được chọn từ các SEQ ID NO: 3, 4, 8, 9 và 10, trong đó mỗi T độc lập được chọn từ T và U.
11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó oligonucleotit cải biến chứa cấu trúc được chọn từ các cấu trúc trong Bảng 1 sau đây:

Hợp chất số	Trình tự và hóa học (5' đến 3')	SEQ ID NO	Trình tự
25221	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGAU _S AAGC _S UsA _S	3	III, IV
25220	A _E C _S ATC _S A _S GTC _S U _S GAU _S A _S AGC _S UsA _E	3	V
36328	^{Me} C _E A _S G _S T _E C _S U _S G _E A _E U _S A _S A _E G _E C _S T _E A _S	5	VI
36284	^{Me} C _E A _S A _S T _E C _S U _S A _E A _E U _S A _S A _E G _E C _S T _E A _S	7	VI
36232	CA _S G _S TC _S U _S GAU _S A _S AGC _S TA _S	5	VI
36039	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S TA _S	3	III, IV
36730	U _S CAG _S TCU _S G _S AU _S AA _S GC _S UsA _S	6	
36731	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S AAGC _S UsA _S	3	III, IV, VII
36842	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TG _S AU _S AA _S GC _S UsA _S	3	

36843	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_M A U_S A A_M G C_S U_S A_S$	3	III, IV, VII
36844	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_M A U_S A A_M G C_S U_S T_E$	8	III, IV, VII
36845	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A M U_S A M A G C_S U_S A_S$	3	III, IV, VII
36846	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A M U_S A M A G C_S U_S T_E$	8	III, IV, VII
36847	$A_E C_S A T C_S A_S G T C_S U_S G A U_S A_S A G C_S U_S T_E$	8	V
36000	$A_E C_S A T C_S A_E G_E T_E C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S A_S$	3	III, IV
36001	$A_E C_S A T C_S A G_E T_E C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S A_S$	3	III, IV
36002	$A_E C_S A T C_S A G T_E C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S A_S$	3	III, IV
36003	$A_E C_S A T C_S A G T C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S A_S$	3	III, IV
36004	$A_E C_S A T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S T_E$	8	III, IV
36005	$A_E C_S A T C_S A_E G_E T_E C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S T_E$	8	III, IV
36006	$A_E C_S A T C_S A G_E T_E C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S T_E$	8	III, IV
36007	$A_E C_S A T C_S A G T_E C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S T_E$	8	III, IV
36008	$A_E C_S A T C_S A G T C_S T G_A E U_S A_E A G C_S U_S T_E$	8	III, IV
36009	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A U_S A A G C_S U_S$	10	III, IV, VII
36010	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A U_S A M A G C_S U_S$	10	III, IV, VII
36011	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A M U_S A A G C_S U_S$	10	III, IV, VII
36012	$C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A U_S A A G C_S U_S A_S$	9	III, IV, VII
36016	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_C_S T G_A M U_S A A G C_S U_S A_S$	3	III, IV
36017	$A_E C_S A_E T_C_S A_E G_E T_C_S T G_A M U_S A A G C_S U_S A_S$	3	III, IV
36018	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_C_S T G_A U_S A M A G C_S U_S A_S$	3	III, IV
36019	$A_E C_S A_E T_C_S A_E G_E T_C_S T G_A U_S A M A G C_S U_S A_S$	3	III, IV
36020	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A M U_S A M A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36021	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A M U_S A A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36022	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_C_S T G_A M U_S A A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36023	$A_E C_S A_E T_C_S A_E G_E T_C_S T G_A M U_S A A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36024	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A U_S A M A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36025	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_C_S T G_A U_S A M A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36026	$A_E C_S A_E T_C_S A_E G_E T_C_S T G_A U_S A M A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36027	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A U_S A A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36028	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_C_S T G_A U_S A A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36029	$A_E C_S A_E T_C_S A_E G_E T_C_S T G_A U_S A A G C_S U_M A_S$	3	III, IV
36030	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_E C_S T G_A U_S A A G C_S U_M T_E$	8	III, IV
36031	$A_E C_S A_E T_E C_S A_E G_E T_C_S T G_A U_S A A G C_S U_M T_E$	8	III, IV
36032	$A_E C_S A_E T_C_S A_E G_E T_C_S T G_A U_S A A G C_S U_M T_E$	8	III, IV

36033	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _S G _A U _S A _M A _G C _S U _S A _S	3	
36034	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _M G _A U _S A _M A _G C _S U _S A _S	3	
36035	A _E C _S A _T C _S A _M G _T C _S U _M G _A U _S A _M A _G C _S U _S A _S	3	III, IV
36040	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S T _E G _A U _S A _E A _G C _S U _S A _S	3	
36041	A _E C _S A _T C _S A _E G _T C _S T _E G _A U _S A _E A _G C _S U _S A _S	3	III, IV
36045	A _E C _S A _T E _C S _A E _G E _T E _C S _T G _A M _U S _A M _A G _C S _U S _T E	8	III, IV
36046	A _E C _S A _T C _S A _E G _E T _E C _S T _G A _M U _S A _M A _G C _S U _S T _E	8	III, IV
36047	A _E C _S A _T C _S A _G E _T E _C S _T G _A M _U S _A M _A G _C S _U S _T E	8	III, IV
36048	A _E C _S A _T C _S A _G T _E C _S T _G A _M U _S A _M A _G C _S U _S T _E	8	III, IV
36049	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _S G _A U _S A _M A _G C _S U _S T _E	8	
36050	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _M G _A U _S A _M A _G C _S U _S T _E	8	
36051	A _E C _S A _T C _S A _M G _T C _S U _M G _A U _S A _M A _G C _S U _S T _E	8	III, IV
36055	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	10	V
36239	A _E C _S A _T C _S A _S G _T C _S U _S G _A U _S A _E A _G C _S U _S A _S	3	
36968	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _C S _T G _A U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV
36969	A _E C _S A _E T _C S _A E _G E _T C _S T _G A _U S _A A _G C _S U _S A _S	3	III, IV
36970	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _G A _U S _A A _G C _S U _S T _E	8	III, IV, VII
36971	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _C S _T G _A U _S A _A G _C S _U S _T E	8	III, IV
36972	A _E C _S A _E T _C S _A E _G E _T C _S T _G A _U S _A A _G C _S U _S T _E	8	III, IV
36973	A _E C _S A _T E _C S _A E _G E _T E _C S _T G _A U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV
36974	A _E C _S A _E T _C S _A E _G E _T E _C S _T G _A U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV
36975	A _E C _S A _E T _E C _S A _G E _T E _C S _T G _A U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV
36976	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _T E _C S _T G _A U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV
36977	A _E C _S A _T C _S A _E G _E T _E C _S T _G A _U S _A A _G C _S U _S A _S	3	III, IV
36978	A _E C _S A _E T _E C _S A _G T _E C _S T _G A _U S _A A _G C _S U _S A _S	3	III, IV
36979	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _T C _S T _G A _U S _A A _G C _S U _S A _S	3	III, IV
36980	A _E C _S A _T C _S A _G E _T E _C S _T G _A U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV
36981	A _E C _S A _T C _S A _G T _E C _S T _G A _U S _A A _G C _S U _S A _S	3	III, IV
36982	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _G A _U S _A A _G C _S T _E A _S	3	III, IV, VII
36984	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _G A _U S _A A _G E _C S _U S _A S	3	III, IV, VII
36985	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _G A _U S _A A _E G _C S _U S _A S	3	III, IV, VII
36986	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _G A _U S _A E _A G _C S _U S _A S	3	III, IV, VII
36988	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _G A _E U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV, VII
36989	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _G E _A U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV, VII
36990	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S T _E G _A U _S A _A G _C S _U S _A S	3	III, IV, VII

36992	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGAU _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36993	A _E C _S A _E T _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _M U _S AAGC _S U _S A _S	3	III, IV, VII
36994	A _E C _S AT _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36995	A _E C _S ATC _S A _E G _E T _E C _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36996	A _E C _S ATC _S AG _E T _E C _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36997	A _E C _S ATC _S AGT _E C _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36998	A _E C _S ATC _S AGTC _S TGA _M U _S A _M AGC _S U _S A _S	3	III, IV
36999	A _E C _S AT _E C _S A _E G _E T _E C _S TGA _E U _S A _E AGC _S U _S A _S	3	III, IV.

12. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kì trong số các điểm nêu trên và chất mang dược dụng.

FIG. 1

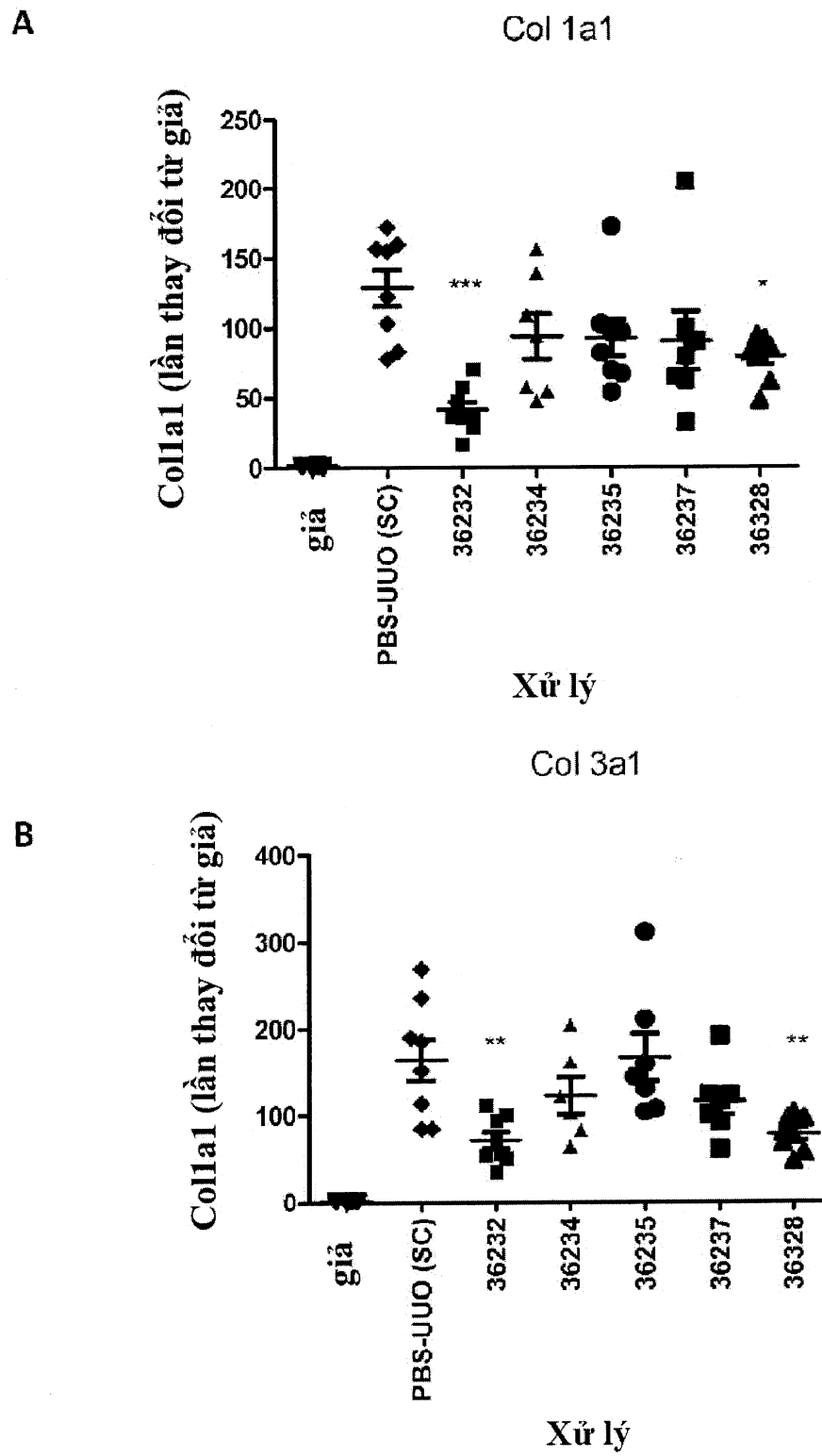
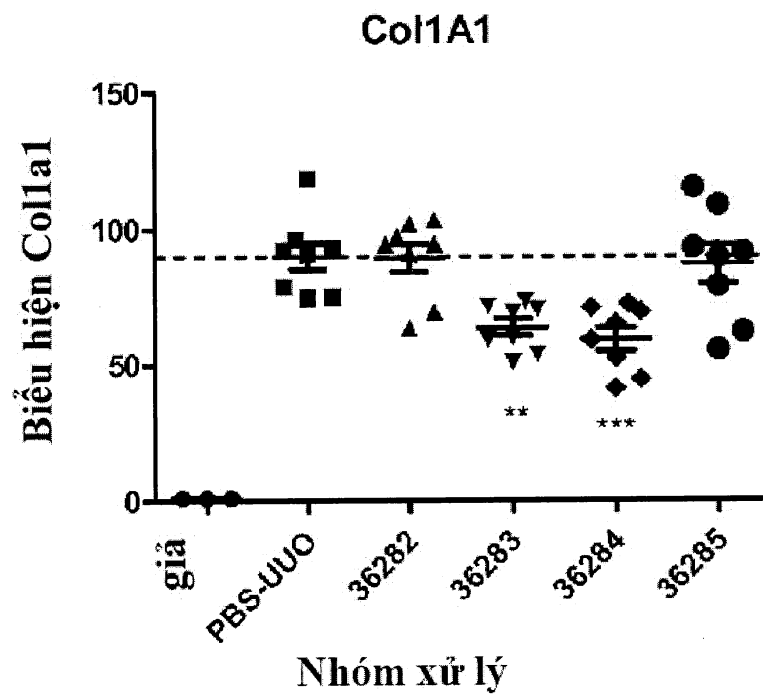


FIG. 2

A



B

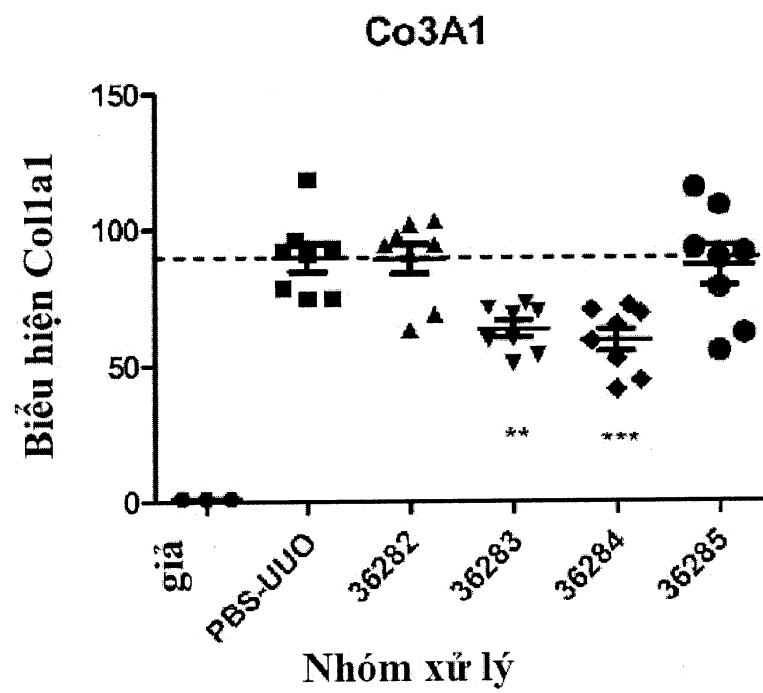


FIG. 3

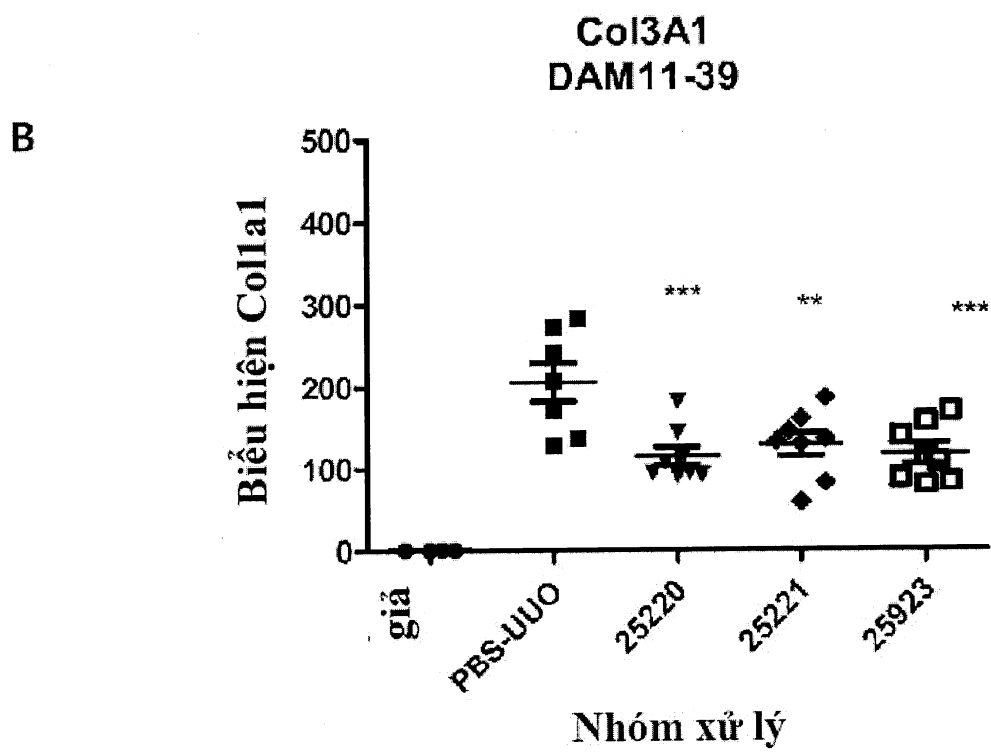
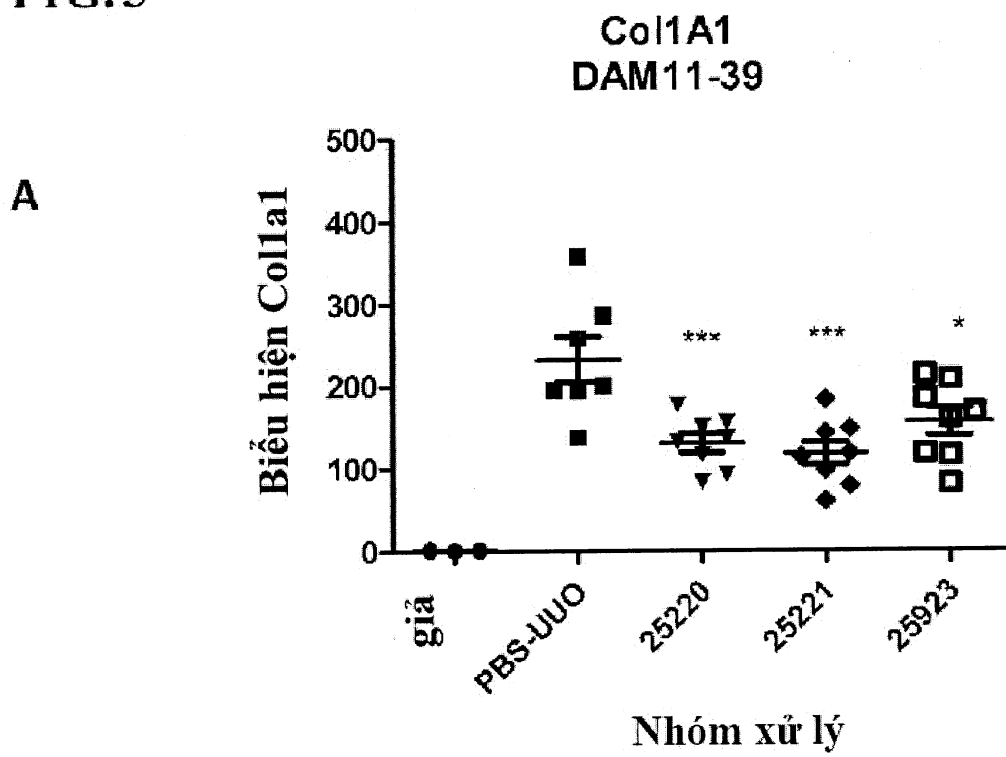
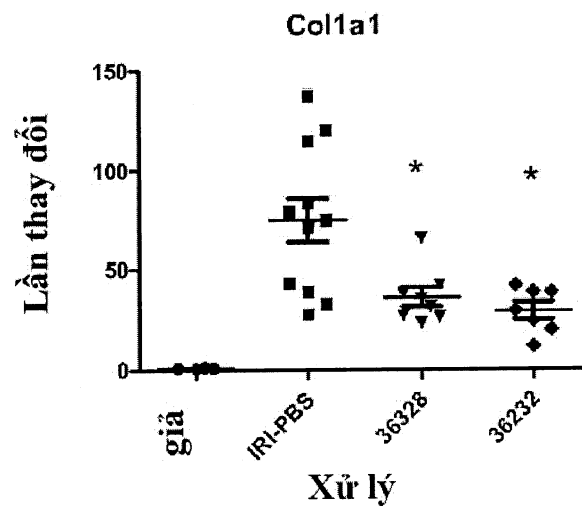
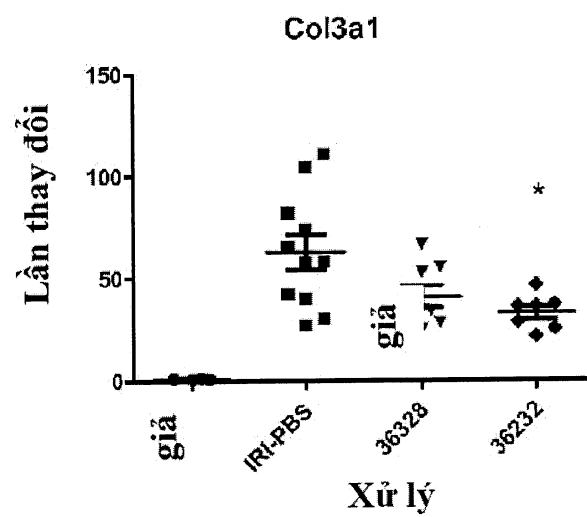


FIG. 4

A



B



C

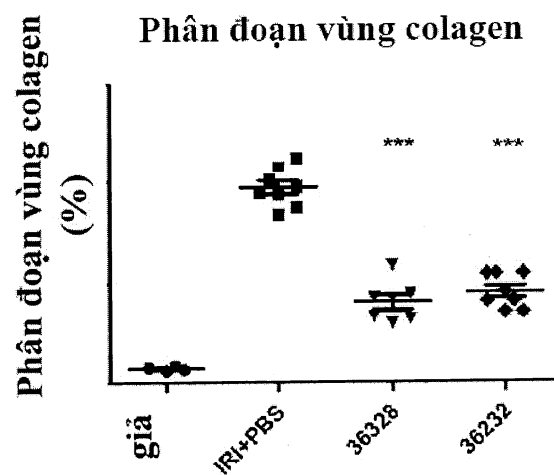
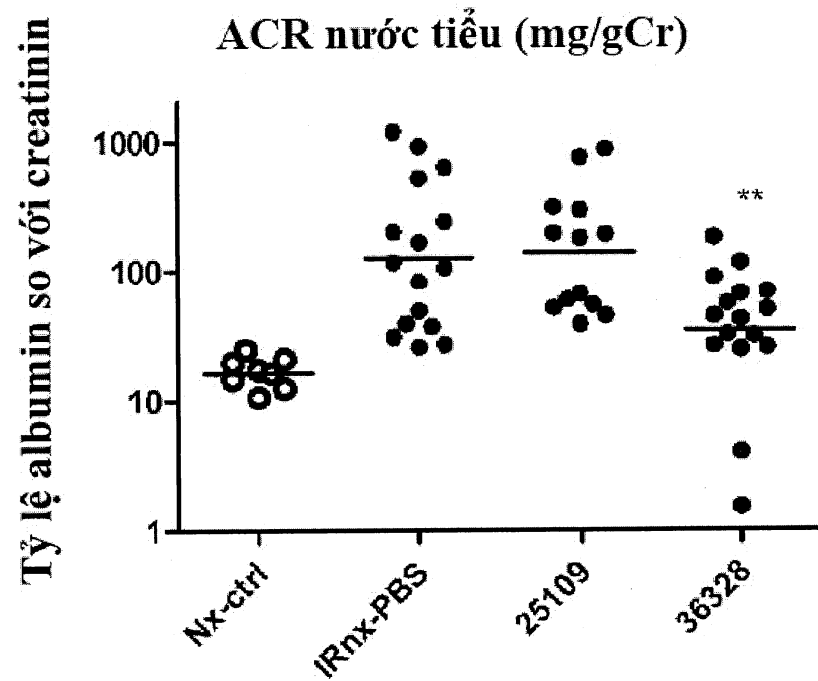


FIG. 5

A



B

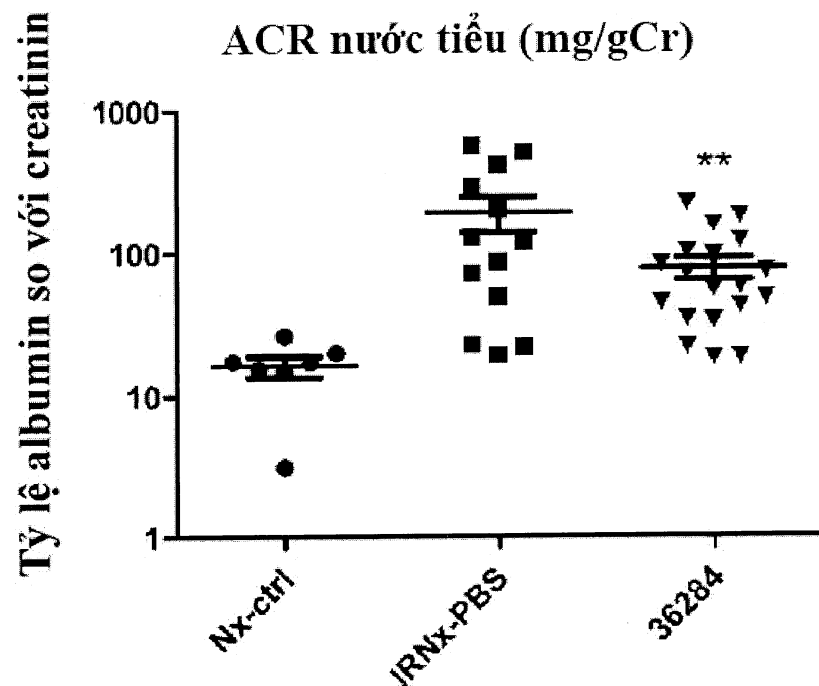


FIG. 5

C

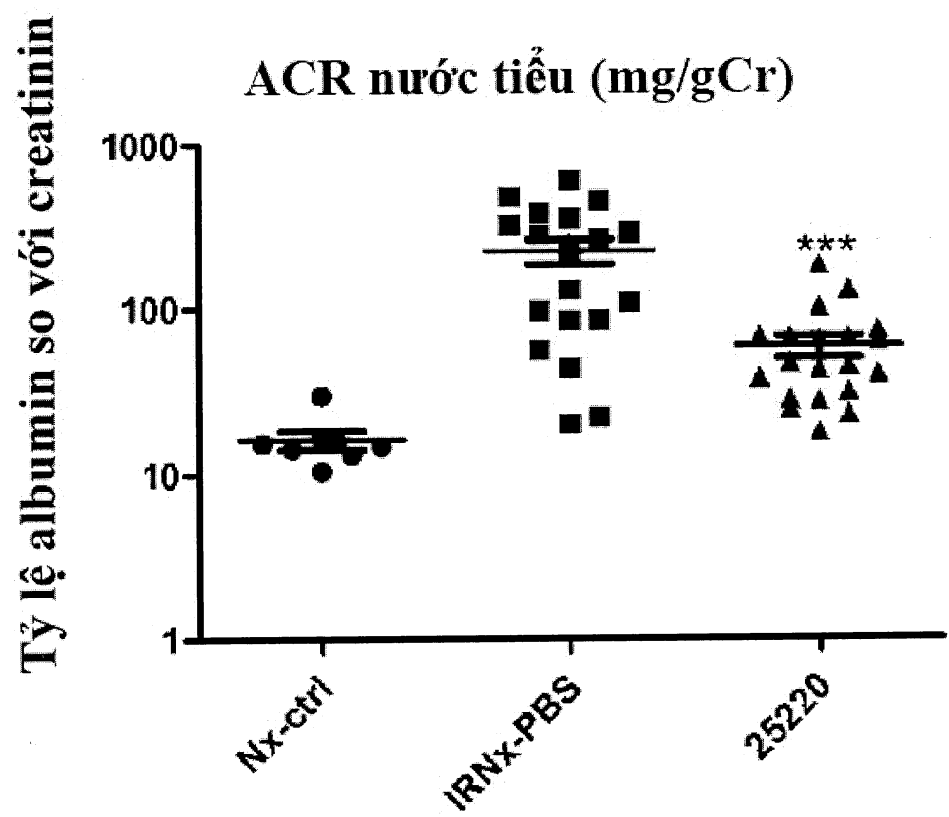
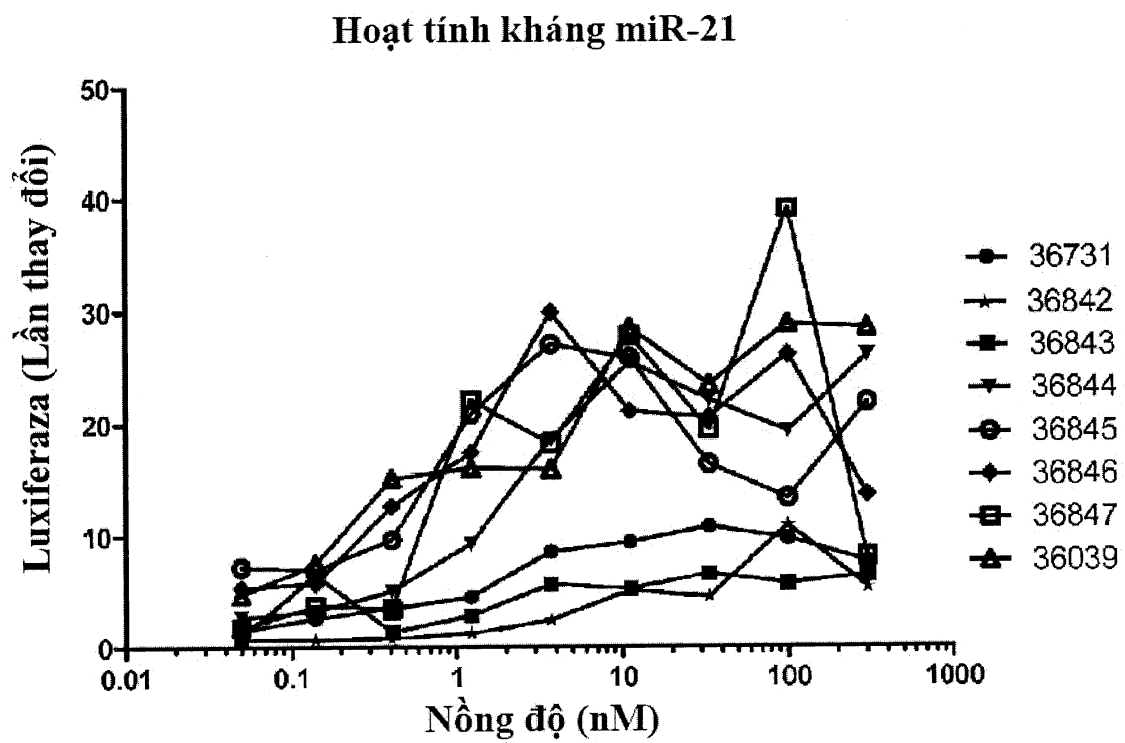


FIG. 6

A



B

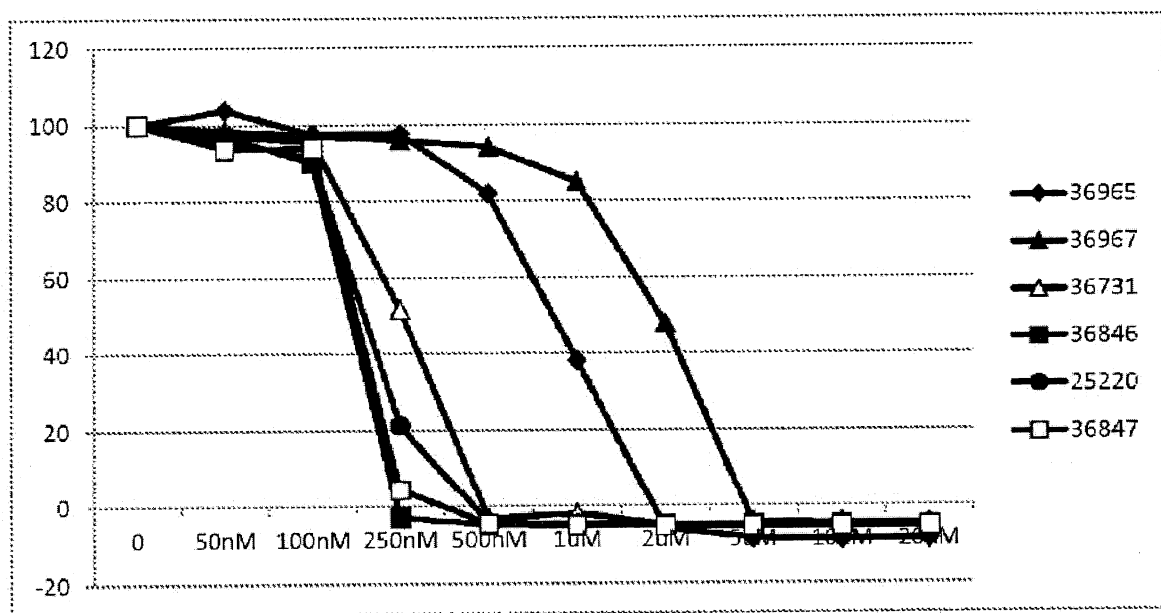
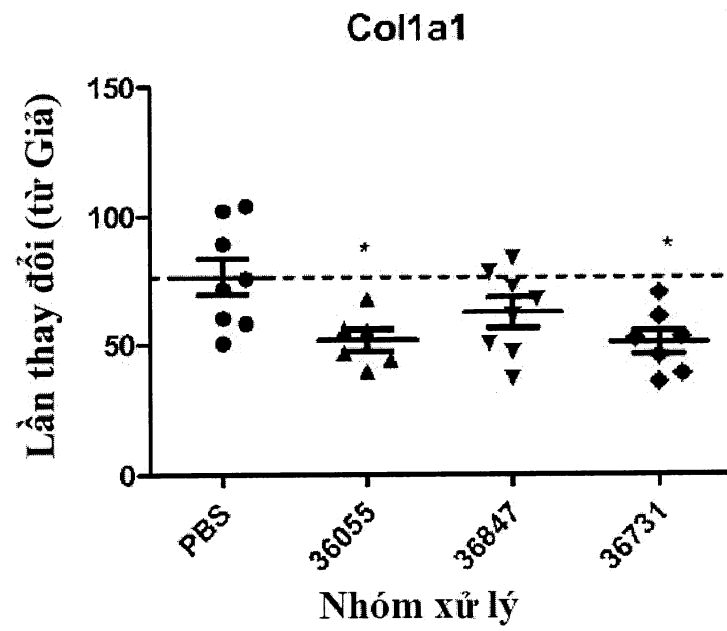
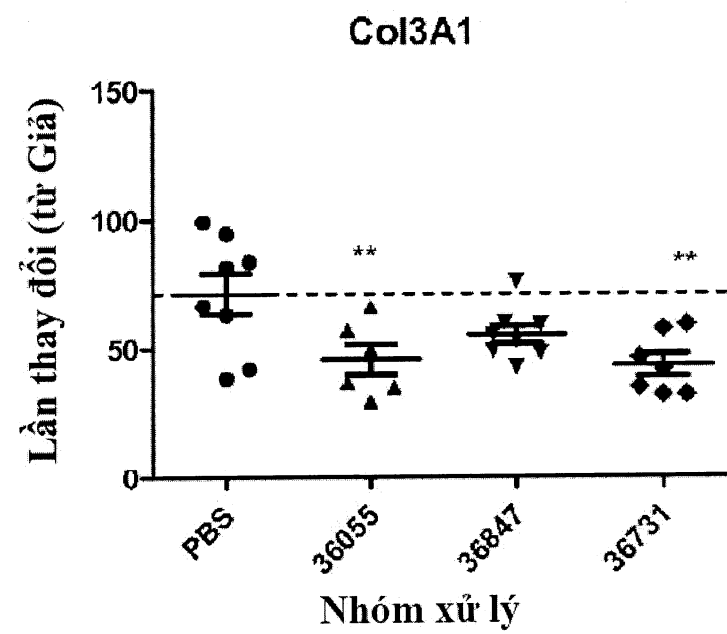


FIG. 7

A



B



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Regulus Therapeutics Inc.

<120> HỢP CHẤT CHỨA OLIGONUCLEOTIT CẢI BIẾN ĐỂ ĐIỀU BIẾN HOẠT TÍNH CỦA MIR-21
VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

<130> REGUL-32818/WO-1/ORD

<150> US 61/741,783

<151> 2012-04-25

<150> US 61/717,927

<151> 2012-10-24

<150> US 61/779,913

<151> 2012-03-13

<160> 55

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> ARN

<213> Người

<400> 1

uagcuuauca gacugauguu ga

22

<210> 2

<211> 72

<212> RNA

<213> Người

<400> 2

ugucggguag cuuaucaagac ugauguugac uguugaaucu cauggcaaca ccagucgaug 60

ggcugucuga ca 72

<210> 3

<211> 19

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 3

acatcagtct gataagcta 19

<210> 4

<211> 22

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 4

tcaacatcag tctgataagc ta 22

<210> 5

<211> 15

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 5

cagtctgata agcta 15

<210> 6

<211> 16

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 6

tcagtctgat aagcta

16

<210> 7

<211> 15

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 7

caatctaata agcta

15

<210> 8

<211> 19

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 8

acatcagtct gataagctt

19

<210> 9

<211> 18

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 9

catcagtctg ataagcta

18

<210> 10

<211> 18

<212> ADN

<213> Tổng hợp	
<400> 10	
acatcagtct gataagct	18
<210> 11	
<211> 15	
<212> ADN	
<213> Tổng hợp	
<400> 11	
cagtatgata agcta	15
<210> 12	
<211> 15	
<212> ADN	
<213> Tổng hợp	
<400> 12	
cagtataata agcta	15
<210> 13	
<211> 15	
<212> ADN	
<213> Tổng hợp	
<400> 13	
caatcaaata agcta	15
<210> 14	
<211> 19	
<212> ADN	
<213> Tổng hợp	
<400> 14	

aaatctgtct cataataaa

19

<210> 15

<211> 19

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 15

ggaatcttaa ctagactac

19

<210> 16

<211> 19

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 16

gaataatata acccctggt

19

<210> 17

<211> 17

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 17

atcagtctga taagcta

17

<210> 18

<211> 16

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 18

tcagtctgat aagcta

16

<210> 19

<211> 15

<212> ADN

<213> Synthetic

<400> 19

cagtctgata agcta

15

<210> 20

<211> 14

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 20

agtctgataa gcta

14

<210> 21

<211> 13

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 21

gtctgataag cta

13

<210> 22

<211> 12

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 22

tctgataagc ta

12

<210> 23

<211> 11

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 23

ctgataagct a

11

<210> 24

<211> 10

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 24

tgataagcta

10

<210> 25

<211> 18

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 25

acatcagtct gataagct

18

<210> 26

<211> 17

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 26

acatcagtct gataagc

17

<210> 27

<211> 17

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 27

catcagtctg ataagct

17

<210> 28

<211> 16

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 28

catcagtctg ataagc

16

<210> 29

<211> 16

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 29

atcagtctga taagct

16

<210> 30

<211> 15

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 30

atcagtctga taagc

15

<210> 31

<211> 15

<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	31	
tcagtctgat	aagct	15
<210>	32	
<211>	14	
<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	32	
tcagtctgat	aagc	14
<210>	33	
<211>	14	
<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	33	
cagtctgata	agct	14
<210>	34	
<211>	13	
<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	34	
cagtctgata	agc	13
<210>	35	
<211>	13	
<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	35	

agtctgataa gct	13
<210> 36	
<211> 12	
<212> ADN	
<213> Tổng hợp	
<400> 36	
agtctgataa gc	12
<210> 37	
<211> 12	
<212> ADN	
<213> Tổng hợp	
<400> 37	
gtctgataag ct	12
<210> 38	
<211> 11	
<212> ADN	
<213> Tổng hợp	
<400> 38	
gtctgataag c	11
<210> 39	
<211> 11	
<212> ADN	
<213> Tổng hợp	
<400> 39	
tctgataagc t	11
<210> 40	

<211>	10	
<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	40	
tctgataagc		10
<210>	41	
<211>	10	
<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	41	
ctgataagct		10
<210>	42	
<211>	14	
<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	42	
aatctaataa gcta		14
<210>	43	
<211>	13	
<212>	ADN	
<213>	Tổng hợp	
<400>	43	
atctaataag cta		13
<210>	44	

<211> 12

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 44

tctaataagc ta

12

<210> 45

<211> 11

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 45

ctaataagct a

11

<210> 46

<211> 10

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 46

taataagcta

10

<210> 47

<211> 14

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 47

caatctaata agct

14

<210> 48

<211> 13

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 48

caatctaata agc

13

<210> 49

<211> 13

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 49

aatctaataa gct

13

<210> 50

<211> 12

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 50

aatctaataa gc

12

<210> 51

<211> 12

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 51

atctaataag ct

12

<210> 52

<211> 11

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 52

atctaataag c

11

<210> 53

<211> 11

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 53

tctaataagc t

11

<210> 54

<211> 10

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 54

tctaataagc

10

<210> 55

<211> 10

<212> ADN

<213> Tổng hợp

<400> 55

ctaataagct

10