

5′-磷酸酯修饰的核苷类似物及其制备的寡核苷酸技术领域

[0001] 本发明涉及可用于5′-磷酸酯修饰的核苷类似物以及由它们制备的寡核苷酸，更具体涉及可用于并入到寡核苷酸末端的修饰核苷及其类似物，此类寡核苷酸也可包含在双链组合物中。

背景技术

[0002] 近些年包含与靶RNA至少部分互补的核苷酸序列的寡核苷酸在体外和体内均可改变所述靶标的功能和活性。已证明，当被递送至含有靶RNA(例如信使RNA(mRNA))的细胞时，这类寡核苷酸作为反义化合物可调节所述靶标的表达，这会导致所述靶RNA的转录或翻译的改变，通常认为这样的技术为反义技术。反义技术背后的原理是反义化合物与靶RNA杂交并调节基因表达活性或功能，诸如转录或翻译。基因表达的调节能可通过例如靶降解或占位型抑制而实现。通过降解调节RNA靶功能的一个实例是与DNA反义化合物杂交后靶RNA的基于RNA酶H的降解。通过靶降解调节基因表达的另一个实例是RNA干扰(RNAi)。RNAi是RNA或RNA样分子(例如化学修饰的RNA分子)得以通过降解使基因表达沉默的一种生物过程。RNAi机制是由Dicer酶介导的来自更长的非编码RNA的产生来启动，将这些RNA分子加载到RNA诱导的沉默复合体(RISC)中，其中将正义链丢弃，并且将反义链或引导链与完全或部分互补的mRNA序列杂交，然后经由Ago2介导的降解或翻译抑制来诱导mRNA的沉默。在RNAi技术和递送方法的进展已经给予基于RNAi的疗法越来越多的积极结果，这类疗法代表一类有前途的疾病的治疗方向，然而这类技术由于天然寡核苷酸易被体内细胞和细胞外核酸酶降解，导致靶向性和体内稳定性等天然RNA的固有代谢问题原因导致无法得到广泛应用。因此，现有技术中对围绕核苷酸修饰，特别是这些修饰以帮助改进核酸酶抗性、结合亲和力、靶向性和体内稳定性。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

[0003] 已经通过开发出各种化学修饰应用于RNAi寡核苷酸，在克服天然RNA的固有代谢问题等方面取得了极大进展，这种RNAi寡核苷酸的化学修饰对于完全利用这类的治疗方案潜力具有至关重要促进作用，其可改善其药代动力学和药效学特性。例如，Choung(庄)等人使用了2'-OMe(2'-O甲基)、2'-F(2'-氟)和硫代磷酸酯修饰的核苷酸以及他们之间不同组合在血清中的获得稳定；此外，已经描述了一类5'-修饰的磷酸酯单体及其在制备用于寡核苷酸合成的中的用途，以位于反义链的5'末端的磷酸酯修饰核苷酸可提高寡核苷酸的5'末端被磷酸化并且维持磷酸化的可能性，这可提高将特定的链载入RISC的可能性，从而让RNAi药剂进入RNAi通路，带来改善和提高的基因敲减和基因沉默活性。例如：在WO2011139702中针对反义链5'端并入乙烯基的磷酸酯呋喃糖单体，或WO2017214112中环烷基的磷酸酯呋喃糖单体，也是近年的研究方向。

细则 91,
06.05.2024

[0004] 尽管已经通过化学修饰发展和改进的递送方法在克服天然寡核苷酸的固有代谢问题方面取得了极大进展，但是在本领域中仍然需要适用于治疗目的施用的具有提高表达抑制持续时间和/或活性的寡核苷酸。

细则 91,
06.05.2024

[0005] 发明内容

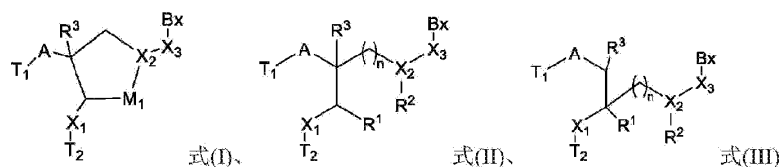
细则 91,
06.05.2024

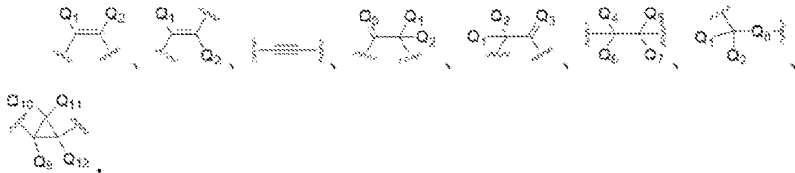
[0006] 本发明提供5'-磷酸酯修饰的核苷类似物以及由它们制备的寡核苷酸，更进一步提供一种5'-磷酸酯修饰的核苷类似物，可用于并入到寡核苷酸的末端，特别是寡核苷酸5'-末端，得到双链寡核苷酸(例如dsRNA)或单链寡核苷酸(例如反义寡核苷酸)中，带来改善和提高基因沉默活性和/或持续时间。包含一个或多个5'-磷酸酯修饰的核苷类似物的RNAi药剂之类的寡核苷酸，也可进一步与连接的N-乙酰基半乳糖胺或肽之类的靶向性配体，也可以进一步与连接的聚乙二醇(PEG)部分或脂质之类的药代动力学调节剂。

细则 91,
06.05.2024

[0007] 根据本发明的一个方面，提供具有式(I)、式(II)和式(III)或它们的立体异构体所示的化合物：

细则 91,
06.05.2024



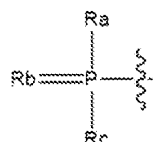
[0008]	其中,	细则 91, 06.05.2024
[0009]	每个T ₁ 独立地为任选保护的磷部分;	细则 91, 06.05.2024
[0010]	每个T ₂ 独立地为活性磷基团;	细则 91, 06.05.2024
[0011]	每个X ₁ 独立地为化学键、O、S、NJ ₁ 或CJJ ₂ , 其中J ₁ 和J ₂ 各自独立地是氢、卤素、磺酰基、亚磺酰基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₃ -C ₆ 环烷基、任选取代的C ₂ -C ₆ 烯基、任选取代的C ₂ -C ₆ 炔基、任选取代的C ₅ -C ₁₂ 芳基、任选取代的5-12元杂芳基、任选取代的5-12元杂环;	细则 91, 06.05.2024
[0012]	每个X ₂ 独立地为CR ¹⁵ 或者N;	细则 91, 06.05.2024
[0013]	每个X ₃ 独立地为化学键、任选取代的C ₁ -C ₃ 亚烷基、SO、SO ₂ 、C(=O)、P(=O)R; R为OH、SH、C ₁ -C ₆ 烷基、NH ₂ 、NHSO ₂ CH ₃ ;	细则 91, 06.05.2024
[0014]	每个B _x 独立地为杂环碱基部分;	细则 91, 06.05.2024
[0015]	每个R ¹ 和R ² 分别独立地为H、卤素、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、任选取代的C ₂ -C ₆ 烯基、任选取代的C ₂ -C ₆ 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基;	细则 91, 06.05.2024
[0016]	每个R ³ 和R ¹⁵ 分别独立地为H、卤素、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、任选取代的C ₂ -C ₆ 烯基、任选取代的C ₂ -C ₆ 炔基;	细则 91, 06.05.2024
[0017]	每个A独立地具有下式之一: 	细则 91, 06.05.2024
[0018]	每个Q ₁ 和Q ₂ 各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、任选取代的C ₂ -C ₆ 烯基、任选取代的C ₂ -C ₆ 炔基或NR ⁴ R ⁵ ;	细则 91, 06.05.2024
[0019]	Q ₃ 为O、S、NR ⁶ 或CR ⁷ R ⁸ ;	细则 91, 06.05.2024

[0020]	Q_4 、 Q_5 、 Q_6 、 Q_7 、 Q_9 、 Q_{10} 、 Q_{11} 和 Q_{12} 各自独立地为H、卤素、任选保护的羟基、乙酰氧基、叠氮基、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的 C_1 - C_6 烷氧基、任选取代的 C_2 - C_6 烯基、任选取代的 C_2 - C_6 炔基、 NR^9R^{10} ;	细则 91, 06.05.2024
[0021]	Q_8 为O、S、SO、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ;	细则 91, 06.05.2024
[0022]	R^{16} 和 R^{17} 独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、 C_1 - C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$;	细则 91, 06.05.2024
[0023]	每个 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为H、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的 C_1 - C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$;	细则 91, 06.05.2024
[0024]	M_1 为 $C(R_d)(R_e)$ 、 $C(R_d)(R_e)C(R_f)(R_g)$, 每个 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团: 氢、卤素、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、CN、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$;	细则 91, 06.05.2024
[0025]	每个 J_3 、 J_4 、 J_5 和 J_6 独立地为H或 C_1 - C_6 烷基;	细则 91, 06.05.2024
[0026]	每个n独立地为0、1或者2。	细则 91, 06.05.2024
[0027]	在某些实施方式中, 所述的化合物, 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团: 卤素、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基、CN。	细则 91, 06.05.2024
[0028]	在某些实施方式中, 每个 T_1 独立地为任选保护的磷部分具有下式:	细则 91, 06.05.2024
[0029]	其中:	细则 91, 06.05.2024
[0030]	R_a 和 R_c 各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的 C_1 - C_6 烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基、天然的或修饰的核苷; 并且 R_b 为O、S或 NR^{12} , R^{12} 为氢、 C_1 - C_6 烷基、氨基保护基;	细则 91, 06.05.2024

[0031] 取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0032] 在某些实施方式中，磺酰基优选为甲磺酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0033] 在某些实施方式中，每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、CN。	细则 91, 06.05.2024
[0034] 常用于保护磷羟基或者磷硫基的保护基团的实例包括但不限于甲基、乙基、苄基(Bn)、苯基、异丙基、叔丁基、乙酰基、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、烯丙基、环己基(cHex)、9-苄基甲氧基、甲磺酸基、甲苯磺酸基、三氟甲磺酸基、苯甲酰基、苯甲酰基甲酸酯、对苯基苯甲酰基、4-甲氧基苄基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、4-氯苄基、4-硝基苄基、2,4-二硝基苄基、4-酰氧基苄基、2-甲基苯基、2,6-二甲基苯基、2-氯苄基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、三苯基甲基、4-甲硫基-1-丁基、2-(S-乙酰硫基)乙基(SATE)、2-氰乙基、2-氰基-1,1-二甲氧基乙基(CDM)、4-氰基-2-丁烯基、2-(三甲基硅基)乙基(TSE)、2-(苯硫基)乙基、2-(三苯基硅基)乙基、2-(苄磺酰基)乙基、2,2,2-三氯乙基、2,2,2-三溴乙基、2,3-二溴丙基、2,2,2-三氟乙基、苯硫基、2-氯-4-三苯甲基苯基、2-溴苯基、2-[N-异丙基-N-(4-甲氧基苯甲酰基)氨基]乙基、4-(N-三氟乙酰基氨基)丁基、4-氧代戊基、4-三苯甲基氨基苯基、4-苄基氨基苯基、四氢吡喃基、吗啉代、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、特戊酸酯甲醚基(POM)和9-苯基黄嘌呤-9-基。	细则 91, 06.05.2024
[0035] 常用于氨基保护基的实例包括但不限于2-三甲基硅基乙氧基羰基(Teoc)、1-甲基-1-(4-联苯基)乙氧基羰基(Bpoc)、叔丁氧基羰基(BOC)、烯丙氧基羰基(Alloc)、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、苄氧基羰基(Cbz)、苄基、甲酰基、乙酰基、特戊酰基、三卤乙酰基、苯甲酰基、硝基苯基、乙酰基、2-硝基苯磺酰基、邻苯	细则 91, 06.05.2024

二甲酰亚胺基(PhI)、对甲苯磺酰基(Tos)、三苯甲基(Trt)、2,4-二氧基苄基(PMB)和二硫代丁二酰基。

[0036] 在某些实施方式中, 每个 T_i 独立地为任选保护的磷部分具有下式:



细则 91,
06.05.2024

[0037] 其中:

细则 91,
06.05.2024

[0038] R_a 和 R_c 各自独立地选自保护的羟基或者保护的巯基; 并且 R_b 为O或S。

细则 91,
06.05.2024

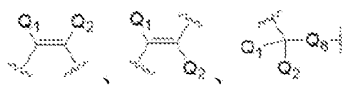
[0039] 在一个实施方式中, 所述羟基保护基各自独立地选自乙酰基、叔丁基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷乙基、对氯苯基、2,4-二硝基苯基、苄基、苯甲酰基、对苯基苯甲酰基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、对硝基苄基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、苯甲酰基甲酸酯、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、9-苄基氧羰基、甲磺酸基、甲苯磺酸基、三氟甲磺酸基、三苯甲基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、特戊酸酯甲醚基(POM)或取代的9-苄基黄嘌呤-9-基。在一个实施方式中, 优选的羟基保护基各自独立地选自乙酰基、苄基、叔丁基二甲基甲硅烷基、特戊酸酯甲醚基(POM)、叔丁基二苯基甲硅烷基以及4,4'-二甲氧基三苯甲基。

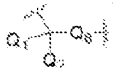
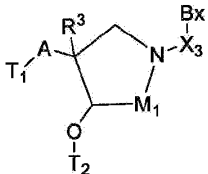
细则 91,
06.05.2024

[0040] 在一个实施方式中, 所述巯基保护基各自独立地选自甲基、乙基、乙酰基、叔丁基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷乙基、对氯苯基、2,4-二硝基苯基、苄基、苯甲酰基、对苯基苯甲酰基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、对硝基苄基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、苯甲酰基甲酸酯、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、9-苄基氧羰基、甲磺酸基、甲苯磺酸基、三氟甲磺酸基、三苯甲基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基或取

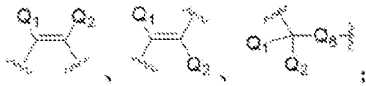
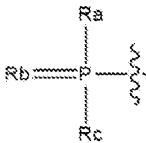
细则 91,
06.05.2024

	代的9-苯基黄嘌呤-9-基。在一个实施方式中，优选的巯基保护基各自独立地选自苄基、4,4'-二甲氧三苯甲基、三苯甲基。	
[0041]	在某些实施方式中，R _b 为O或者S，R _a 和R _c 各自独立地选自受保护的羟基、C ₁ -C ₆ 烷基、C ₁ -C ₆ 烷氧基。	细则 91, 06.05.2024
[0042]	在某些实施方式中，R _b 为O，R _a 和R _c 各自独立地选自OH、SH、OCH ₃ 、OCH ₂ CH ₃ 、OCH(CH ₃) ₂ 、OCH ₂ OC(=O)C(CH ₃) ₃ 、OCH ₂ CH ₂ CN、NH ₂ SO ₂ CH ₃ 。	细则 91, 06.05.2024
[0043]	在某些实施方式中，R _a 和R _c 其中一者为羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基，另一者天然的或修饰的核苷；并且R _b 为O、S或NR ¹² ，R ¹² 为氢、C ₁ -C ₆ 烷基、氨基保护基。更优选地R _a 和R _c 其中一者为羟基或者保护的羟基，另一者天然的核苷，更优选R _b 为O。	细则 91, 06.05.2024
[0044]	在某些实施方式中，每个T ₂ 独立地为活性磷基团，所述的活性磷基团具有如下结构： $\begin{array}{c} \text{M}_4-\text{P}-\text{M}_5 \\ \\ \text{O} \end{array}_r$ ，其中M ₄ 为H、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、OH、OJ ₇ 、SH、SJ ₇ 或NJ ₈ ，M ₅ 为任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、OH、OJ ₇ 、SH、SJ ₇ 或NJ ₈ ，每个J ₇ 或J ₈ 独立地为任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、磺酰基；r为0或者1。	细则 91, 06.05.2024
[0045]	在某些实施方式中，所述的活性磷基团每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C ₁ -C ₆ 烷基、C ₁ -C ₆ 烷氧基、C ₁ -C ₆ 烷巯基、CN。	细则 91, 06.05.2024
[0046]	在某些实施方式中，每个J ₇ 或J ₈ 独立地为取代的C ₁ -C ₆ 烷基中，所述的取代基选自氰基、卤素。	细则 91, 06.05.2024
[0047]	在某些实施方式中，M ₄ 选自甲基、异基、丙基、异丙基。	细则 91, 06.05.2024
[0048]	在某些实施方式中，M ₄ 选自甲磺酰胺基。	细则 91, 06.05.2024
[0049]	在某些实施方式中，M ₄ 为OJ ₇ ，其中J ₇ 为取代的C ₁ -C ₆ 烷基，取代基选自氰基、卤素。	细则 91, 06.05.2024
[0050]	在某些实施方式中，M ₅ 选自N(CH(CH ₃) ₂) ₂ 。	细则 91, 06.05.2024

[0051]	在某些的实施方式中, 其中 M_4 为 $O(CH_2)_2CN$, M_5 为 $N(CH(CH_3)_2)_2$, r 为0。	细则 91, 06.05.2024
[0052]	在某些的实施方式中, 每个 T_2 活性磷基团独立地是亚磷酰胺。	细则 91, 06.05.2024
[0053]	在某些的实施方式中, 每个 T_2 活性磷基团独立地选自二异丙基氰基乙氧基亚磷酰胺、二异丙基乙基亚磷酰胺和H-膦酸酯。	细则 91, 06.05.2024
[0054]	在某些的实施方式中, 每个 X_i 独立地为O。	细则 91, 06.05.2024
[0055]	在某些的实施方式中, 每个 B_x 杂环碱基部分独立地选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。	细则 91, 06.05.2024
[0056]	在某些的实施方式中, 每个 B_x 杂环碱基部分独立地为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。	细则 91, 06.05.2024
[0057]	在某些的实施方案中, 每个 B_x 杂环碱基部分独立地为尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。在某些的实施方案中, 每个 B_x 杂环碱基部分独立地为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)。	细则 91, 06.05.2024
[0058]	在某些的实施方式中, 每个 R^{15} 和 R^{16} 分别独立地为H。	细则 91, 06.05.2024
[0059]	在某些的实施方式中, 每个 R^1 和 R^2 分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0060]	在某些的实施方式中, 每个 X_2 分别独立地为N, 每个 R^1 和 R^2 分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0061]	在某些实施方案中, 式(I)、(II)或式(III)中的A具有下式之一:	细则 91, 06.05.2024
		
[0062]	其中 Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的 C_1-C_6 烷基; Q_8 为O、S、SO、SO ₂ 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ; R^{16} 和 R^{17} 独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$;	细则 91, 06.05.2024

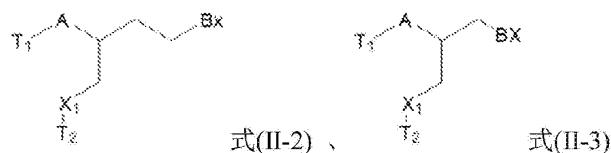
- [0063] R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 分别独立地为H、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$ ； J_3 和 J_4 独立地为H或 C_1-C_6 烷基。细则 91,
06.05.2024
- [0064] 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、CN。细则 91,
06.05.2024
- [0065] 在某些实施方式中，每个 Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、F、-CN、甲基；更优选地为H。细则 91,
06.05.2024
- [0066] 在某些实施方式中， Q_8 为S、SO、 SO_2 。细则 91,
06.05.2024
- [0067] 在某些实施方式中，条件是 M_1 为 $C(R_d)(R_e)$ ， X_2 为C， X_3 为化学键、A为

 时， Q_8 为S、SO、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ， Q_1 、 Q_2 、 R^{11} 、 R^{16} 和 R^{17} 如本文式(I)所定义。细则 91,
06.05.2024
- [0068] 在某些实施方案中， X_2 为N， X_3 为化学键、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、SO、 SO_2 。细则 91,
06.05.2024
- [0069] 在某些实施方案中， X_2 为CH， X_3 为化学键。细则 91,
06.05.2024
- [0070] 在某些实施方案中，本文提供的化合物式(II)或(III)中，n为0或者1。细则 91,
06.05.2024
- [0071] 在某些实施方案中，本文提供的化合物具有式(I-1)所示的化合物或其立体异构体：

 式(I-1)细则 91,
06.05.2024
- [0072] 其中 T_1 、 T_2 、A、 R^3 以及 Bx 各自如上文的式(I)以及实施方式中所定义； X_3 为化学键、 $C(=O)$ 、 $P(=O)R$ 、SO或 SO_2 ； M_1 为 $C(R_d)(R_e)$ 、 $C(R_d)(R_e)C(R_g)(R_f)$ ，每个 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、CN、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$ ， J_5 、 J_6 独立地式(I-1)为H或 C_1-C_6 烷基；R为OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$ 。细则 91,
06.05.2024

[0073] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物式(I-1), 每个R_d、R_e、R_g和R_f分别独立地选自以下的取代基团: 氢、氟、羟基、C₁-C₆烷氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。更优选地为氢。	细则 91, 06.05.2024
[0074] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物式(I-1), R³为氢。	细则 91, 06.05.2024
[0075] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物式(I-1), 其中X₃为SO₂或者化学键。	细则 91, 06.05.2024
[0076] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物式(I-1), A具有下式之一:	细则 91, 06.05.2024
[0077] Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、任选取代的C₁-C₆烷基;	细则 91, 06.05.2024
[0078] Q₈为O、S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹; R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹; R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J₃、C(=O)OJ₃或者C(=O)N(J₃)(J₄); J₃和J₄独立地为H或C₁-C₆烷基。	细则 91, 06.05.2024
[0079] 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团: 卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、CN。	细则 91, 06.05.2024
[0080] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物具有式(I-2)所示的化合物或其立体异构体: 式(I-2)	细则 91, 06.05.2024
[0081] 其中T₁、T₂、A、R³以及B_x各自如上文的式(I)以及实施方式中所定义; M₁为C(R_d)(R_e)、C(R_d)(R_e)C(R_g)(R_g), 每个R_d、R_e、R_g和R_f分别独立地选自以下的取代基团: 氢、卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、O(CH₂)₂-OCH₃、NJ₅、CN、OC(=O)J₅、OC(=O)N(J₅)(J₆)和C(=O)N(J₅)(J₆), J₅、J₆独立地为H或C₁-C₆烷基。	细则 91, 06.05.2024
[0082] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物式(I-2), 每个R_d、R_e、R_g和R_f分别独立地选自以下的取代基团: 氢、氟、羟基、C₁-C₆烷氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。	细则 91, 06.05.2024

[0083]	在某些实施方案中，本文提供的化合物式(I-2)，M ₁ 为CH ₂ 或CH ₂ CH ₂ 。	细则 91, 06.05.2024
[0084]	在某些实施方案中，本文提供的化合物式(I-2)，R ³ 为氢。	细则 91, 06.05.2024
[0085]	在某些实施方案中，本文提供的化合物式(I-2)，A具有下式之一： 	细则 91, 06.05.2024
[0086]	Q ₁ 和Q ₂ 各自独立地为H、卤素、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基；	细则 91, 06.05.2024
[0087]	Q ₈ 为S、SO、SO ₂ 、PR ¹⁶ R ¹⁷ 或NR ¹¹ ；R ¹⁶ 和R ¹⁷ 独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C ₁ -C ₆ 烷基、NR ¹⁸ R ¹⁹ ；R ¹¹ 、R ¹⁸ 和R ¹⁹ 独立地为H、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J ₃ 、C(=O)OJ ₃ 或者C(=O)N(J ₃)(J ₄)；J ₃ 和J ₄ 独立地为H或C ₁ -C ₆ 烷基。	细则 91, 06.05.2024
[0088]	每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C ₁ -C ₆ 烷基、C ₁ -C ₆ 烷氧基、C ₁ -C ₆ 烷硫基、CN。	细则 91, 06.05.2024
[0089]	在某些实施方式中，本文提供的化合物式(I-1)或式(I-2)，其中T ₁ 为任选保护的磷部分具有下式： 	细则 91, 06.05.2024
[0090]	其中：	细则 91, 06.05.2024
[0091]	Ra和Rc各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、胺基或者保护/取代的氨基、天然的和修饰的核苷；并且R _b 为O、S或NR ¹² ，R ¹² 为氢、C ₁ -C ₆ 烷基、氨基保护基。	细则 91, 06.05.2024
[0092]	在某些实施方式中，取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₂ -C ₆ 烯基、任选取代的C ₂ -C ₆ 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0093]	在某些实施方式中，磺酰基优选为甲磺酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0094]	在某些实施方式中，R _b 为O或者S，Ra和Rc各自独立地选自受保护的羟基、C ₁ -C ₆ 烷基、C ₁ -C ₆ 烷氧基。	细则 91, 06.05.2024

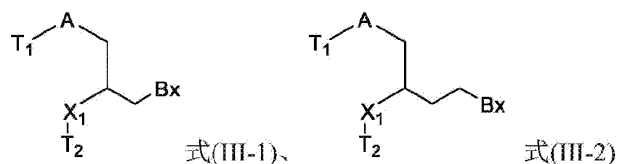
- [0095] 在某些实施方式中, R_b 为 O, R_a 和 R_c 各自独立地选自 OH、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2OC(=O)C(CH_3)_3$ 、 OCH_2CH_2CN 、 $NHSO_2CH_3$ 。
- [0096] 在某些的实施方式中, 本文提供的化合物式(I-1)或式(I-2)中, T_2 为活性磷基团, 所述的活性磷基团是亚磷酰胺。在某些的实施方式中, T_2 活性磷基团选自二异丙基氨基乙氧基亚磷酰胺、二异丙基乙基亚磷酰胺和 H-磷酸酯。
- [0097] 在某些的实施方式中, 本文提供的化合物式(I-1)或式(I-2)中, B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。
- [0098] 在某些的实施方式中, 本文提供的化合物式(I-1)或式(I-2)中, B_x 杂环碱基部分为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。
- [0099] 在某些实施方案中, B_x 杂环碱基部分为尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。在某些的实施方案中, 每个 B_x 杂环碱基部分独立地为 2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)。
- [0100] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物式(I-2)中, 具有 1S,2S,4S 或 1R,2R,4R 立体构型。
- [0101] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物具有式(II-1)所示或其立体异构体:
- 式(II-1)
- [0102] 其中 T_1 、 T_2 、 X_1 、 X_3 、 A 、 R^3 、 B_x 以及 n 各自如上文的式(II)以及实施方式中所定义; R^1 和 R^2 分别独立地为 H、甲磺酰基、乙酰基。
- [0103] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物式(II-1), n 为 0 或者 1。
- [0104] 在某些实施方案中, 本文提供的化合物式(II-1), X_3 为 CH_2 或者 CH_2CH_2 。

[0105] 在某些实施方案中，本文提供的化合物具有式(II-2)或式(II-3)所示或其立体异构体：



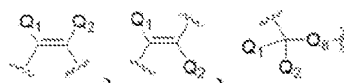
[0106] 其中T₁、T₂、X₁、A以及B_x各自如上文的式(II)以及实施方式中所定义。

[0107] 在某些实施方案中，本文提供的化合物具有式(III-1)或式(III-2)所示或其立体异构体：



[0108] 其中T₁、T₂、X₁、A以及B_x各自如上文的式(III)以及实施方式中所定义。

[0109] 在某些实施方案中，式(II-1)、式(II-2)、式(II-3)、式(III-1)或式(III-2)中的A具有下式之一：



[0110] 其中Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C₁-C₆烷基；Q₈为O、S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J₃、C(=O)OJ₃或者C(=O)N(J₃)(J₄)；J₃和J₄独立地为H或C₁-C₆烷基。

[0111] 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[0112] 在某些的实施方式中，本文提供的化合物具有式(II-1)、式(II-2)、式(II-3)、式(III-1)或式(III-2)，其中每个Q₁和Q₂各自独立地为H、F、-CN、甲基；更优选地为H。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

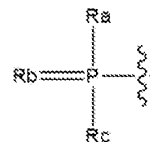
细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

- [0113] 在某些实施方式中, 本文提供的化合物具有式(II-1)、式(II-2)、式(II-3)、式(III-1)或式(III-2), 其中 T_1 为任选保护的磷部分具有下式:



细则 91,
06.05.2024

- [0114] 其中:

细则 91,
06.05.2024

- [0115] R_a 和 R_c 各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、胺基或者保护/取代的氨基、天然或修饰的核苷; 并且 R_b 为O、S或 NR^{12} , R^{12} 为氢、 C_1-C_6 烷基、氨基保护基。

细则 91,
06.05.2024

- [0116] 在某些实施方式中, 取代的氨基中的取代基选自: 任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基。

细则 91,
06.05.2024

- [0117] 在某些实施方式中, 磺酰基优选为甲磺酰基。

细则 91,
06.05.2024

- [0118] 在某些实施方式中, R_b 为O或者S, R_a 和 R_c 各自独立地选自受保护的羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基。

细则 91,
06.05.2024

- [0119] 在某些实施方式中, R_b 为O, R_a 和 R_c 各自独立地选自OH、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2OC(=O)C(CH_3)_3$ 、 OCH_2CH_2CN 、 $NHSO_2CH_3$ 。

细则 91,
06.05.2024

- [0120] 在某些实施方式中, 本文提供的化合物式(II-1)、式(II-2)、式(II-3)、式(III-1)或式(III-2)中, T_2 为活性磷基团, 所述的活性磷基团是亚磷酰胺。在某些实施方式中, T_2 活性磷基团选自二异丙基氰基乙氧基亚磷酰胺、二异丙基乙基亚磷酰胺和H-膦酸酯。

细则 91,
06.05.2024

- [0121] 在某些实施方式中, 本文提供的化合物式(II-1)、式(II-2)、式(II-3)、式(III-1)或式(III-2)中, B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。

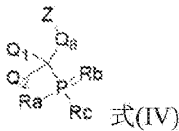
细则 91,
06.05.2024

- [0122] 在某些实施方式中, 本文提供的化合物式(II-1)、式(II-2)、式(II-3)、式(III-1)或式(III-2)中, B_x 杂环碱基部分为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。在某些实施方案中, B_x 杂环碱基部分为尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿

细则 91,
06.05.2024

嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。在某些的实施方案中，每个B_x杂环碱基部分独立地为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)。

[0123] 在另一方面，本文提供的化合物具有式(IV)所示的化合物或其立体异构体：



[0124] 其中：Q₈为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；R_a和R_c各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、保护的或者任选取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R_b为O、S或NR¹²，R¹²为氢、C₁-C₆烷基、氨基保护基；

[0125] 取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；

[0126] Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基或NR⁴R⁵；

[0127] 每个R⁴、R⁵、R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基；

[0128] Z是包含亚磷酰胺、糖或糖替代性部分的核苷。

[0129] 在某些的实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，每个取代的基团包含一个或多个任选独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[0130] 羟基、巯基以及氨基保护基可以任选得来自本文所描述的那些常用的保护基，例如但是非限制性的式(I)所描述的那些。

[0131] 在某些的实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，其中Q₈为SO或SO₂。

[0132] 在某些的实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，其中Q₈为S。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

- [0133] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)， Q_1 和 Q_2 各自独立地为H。
- [0134] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，所述糖或糖替代性部分的核苷中，糖或糖替代性部分包括5元呋喃糖环、非呋喃糖环或5-6元碳环体系或开放体系。
- [0135] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，所述糖或糖替代性部分的核苷中，糖替代性取代部分是吗啉基、环己烯基、环己基、环戊基、吡喃基、环己六醇基。在某些实施方式中，所述糖或糖替代性部分的核苷中，糖部分是呋喃糖。在某些实施方式中，所述糖或糖替代性部分的核苷中，包含非锁核碱基类似物(UNA)，或甘油核酸碱基类似物(GNA)。在某些实施方式中，所述糖或糖替代性部分的核苷中，包括锁核酸(LNA)或桥联核酸(BNA)。
- [0136] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，其中 Q_8 与糖或糖替代性部分的4'-碳或者5'-碳键合。
- [0137] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，其中糖或糖替代性部分的核苷具有以下结构示意：

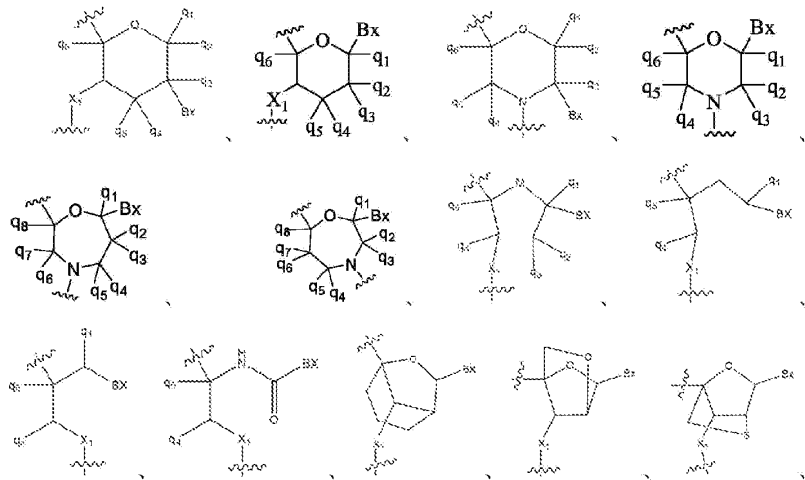
细则 91,
06.05.2024

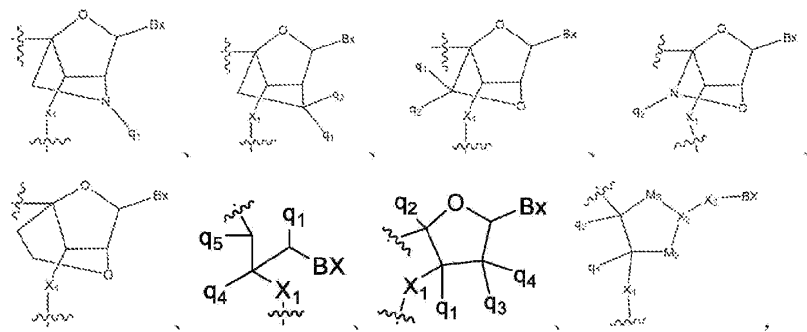
细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

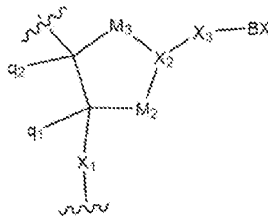
细则 91,
06.05.2024





- [0138] 其中， M_2 分别独立地为 $C(q_3)(q_4)$ 、 $C(q_3)(q_4)C(q_5)(q_6)$ ；细则 91,
06.05.2024
- [0139] M_3 分别独立地为O、S、 NR^{13} 、 $C(q_7)(q_8)$ 、 $C(q_7)(q_8)C(q_9)(q_{10})$ 、 $C(q_7)=C(q_8)$ 、 $OC(q_7)(q_8)$ ；细则 91,
06.05.2024
- [0140] X_1 分别独立地为化学键、O、S、 NJ_1 或 CJ_1J_2 ，其中 J_1 和 J_2 各自独立地是氢、卤素、磺酰基、亚磺酰基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_3-C_6 环烷基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、任选取代的 C_5-C_{12} 芳基、任选取代的5-12元杂芳基、任选取代的5-12元杂环；细则 91,
06.05.2024
- [0141] X_2 分别独立地为 CR^{15} 或者N；细则 91,
06.05.2024
- [0142] X_3 分别独立地为化学键、任选取代的 C_1-C_3 亚烷基、SO、 SO_2 、 $C(=O)$ 、 $P(=O)R$ ；R为OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$ ；细则 91,
06.05.2024
- [0143] Bx分别独立地为杂环碱基部分；细则 91,
06.05.2024
- [0144] R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 、 q_8 、 q_9 和 q_{10} 分别独立地为氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、CN、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$ ， J_5 、 J_6 独立地为H或 C_1-C_6 烷基；细则 91,
06.05.2024
- [0145] R^{13} 分别独立地为氢、 C_1-C_6 烷基。细则 91,
06.05.2024
- [0146] 在其它的实施方式中，每个 R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 、 q_8 、 q_9 和 q_{10} 分别独立地选自以下的基团：氢、氟、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 。细则 91,
06.05.2024
- [0147] 在其它的实施方式中，每个 R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 、 q_8 、 q_9 和 q_{10} 分别独立地选自以下的基团：氢。细则 91,
06.05.2024

[0148] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，其中糖或糖替代性部分的核苷具有以下结构示意图：

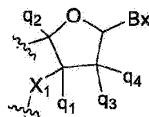


细则 91,
06.05.2024

[0149] 其中，M₂、M₃、X₁、X₂、X₃、q₁、q₂和Bx，各自如上文的式(IV)以及实施方式中所定义。

细则 91,
06.05.2024

[0150] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)，其中糖或糖替代性部分的核苷具有以下呋喃糖结构示意图：

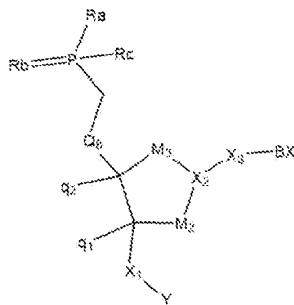


细则 91,
06.05.2024

[0151] 其中，X₁、q₁、q₂、q₃、q₄和Bx，各自如上文的式(IV)以及实施方式中所定义。

细则 91,
06.05.2024

[0152] 在某些实施方式中，本文提供的化合物具有式(IV-1)所示的化合物或其立体异构体：



式(IV-1)

细则 91,
06.05.2024

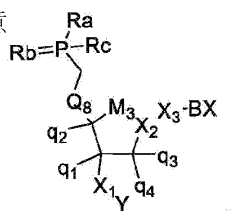
[0153] 其中，Q₈、Ra、Rc、Rb、M₂、M₃、X₁、X₂、X₃、q₁、q₂和Bx，各自如上文的式(IV)以及实施方式中所定义，Y为亚磷酰胺。

细则 91,
06.05.2024

[0154] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV-1)，R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈、q₉和q₁₀各自独立的选自氢、氟、羟基、甲基、甲氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV-1)，R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈、q₉和q₁₀各自独立的选自氢。

细则 91,
06.05.2024

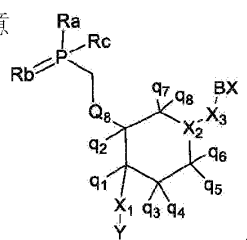
- [0155] 在有些实施方式中, M_3 为 O、S、 $C(q_7)(q_8)$, M_2 为 $C(q_3)(q_4)$, X_2 为 CR^{15} 或者 N, X_3 为化学键、SO、 SO_2 , R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_7 和 q_8 , 如本文所定义, 如下结构示意



在有些优选实施方式中, M_3 为 O、S、 CH_2 , M_2

$_2$ 为 CH_2 , X_2 为 CH, X_3 为化学键。在有些优选实施方式中, M_3 为 CH_2 , M_2 为 CH_2 , X_2 为 N, X_3 为化学键、SO 或 SO_2 。

- [0156] 在有些实施方式中, M_3 为 $C(q_7)(q_8)$, M_2 为 $C(q_3)(q_4)C(q_5)(q_6)$, X_2 为 CR^{15} 或者 N, X_3 为化学键、SO、 SO_2 、 R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 和 q_8 , 如本文所定义, 如下结构示意



在有些优选实施方式中, M_3 为 CH_2 , M_2

为 CH_2CH_2 , X_2 为 CH, X_3 为化学键。在有些优选实施方式中, M_3 为 CH_2 , M_2 为 CH_2CH_2 , X_2 为 N, X_3 为化学键、SO 或 SO_2 。

- [0157] 在有些实施方式中, 本文提供的化合物式(IV-1), 其中 Q_8 为 SO 或 SO_2 。

- [0158] 在有些实施方式中, 本文提供的化合物式(IV-1), 其中 Q_8 为 S。

- [0159] 在有些实施方式中, 本文提供的化合物式(IV-1), R_b 为 O 或者 S, R_a 和 R_c 各自独立地选自受保护的羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基。

- [0160] 在有些实施方式中, 本文提供的化合物式(IV-1), R_a 和 R_c 各自独立地选自羟基、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH(CH_3)_2OCH_3$ 、 OCH_2CH_2CN 、 $NHSO_2CH_3$ 。

- [0161] 在有些实施方式中, 本文提供的化合物式(IV)或(IV-1), 中 B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

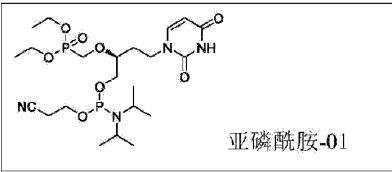
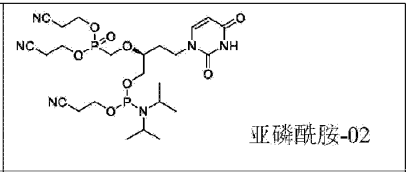
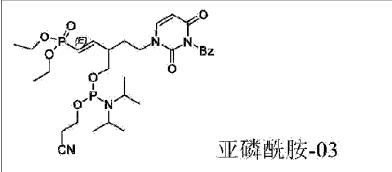
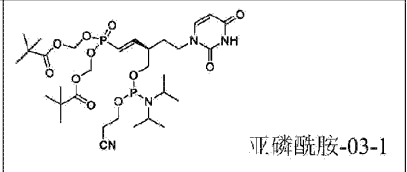
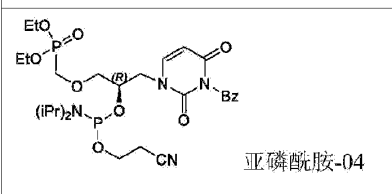
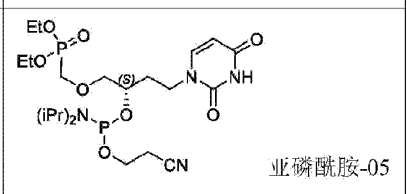
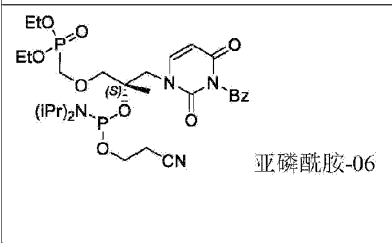
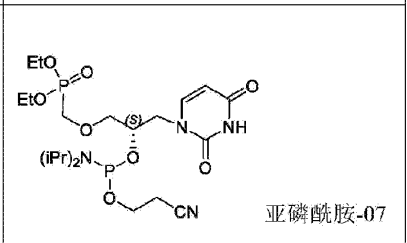
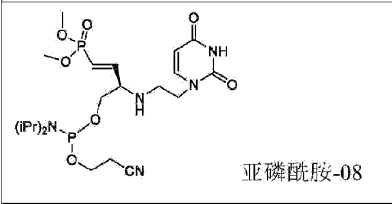
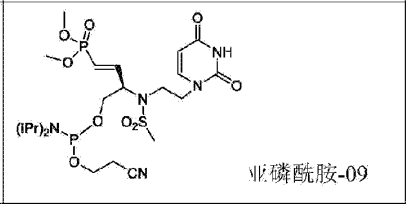
细则 91,
06.05.2024

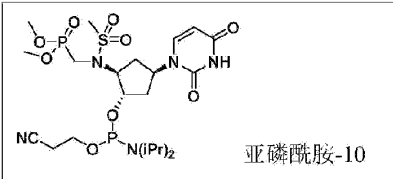
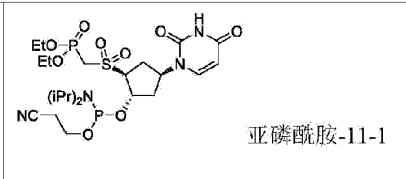
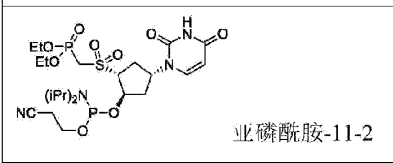
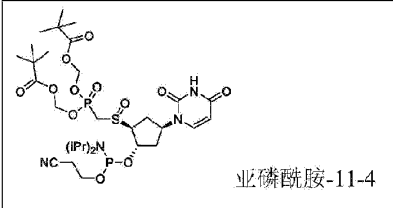
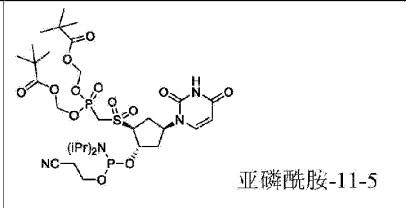
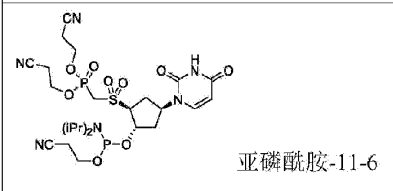
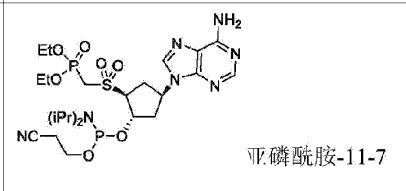
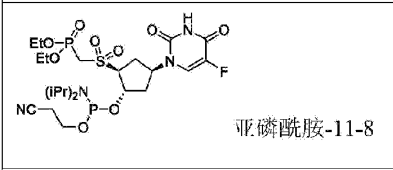
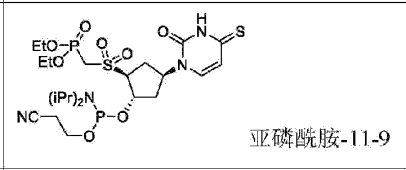
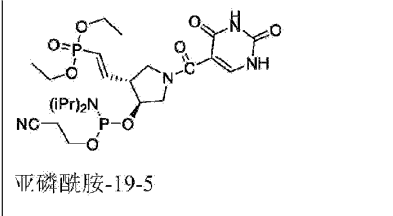
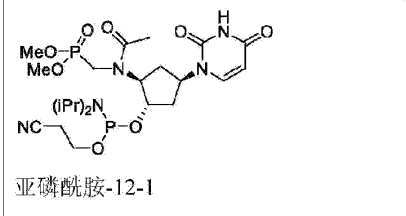
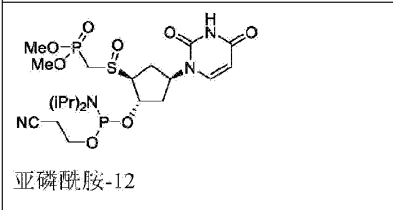
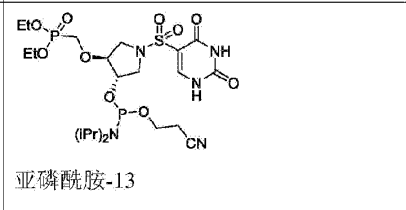
细则 91,
06.05.2024

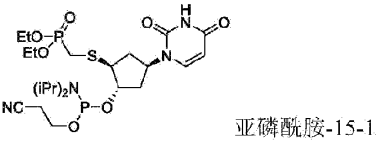
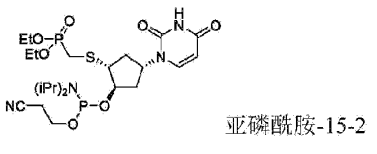
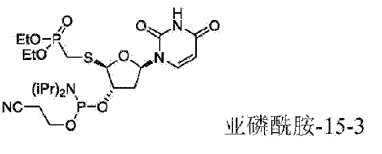
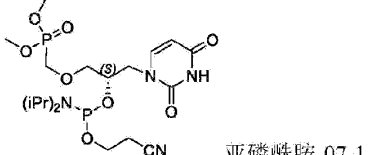
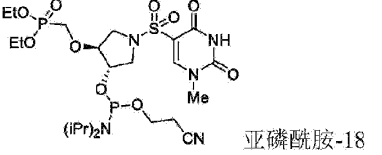
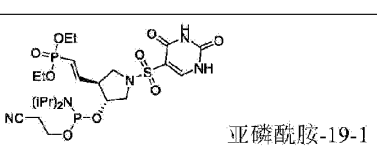
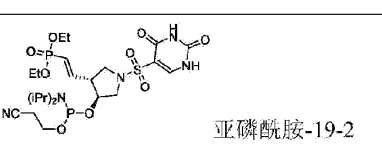
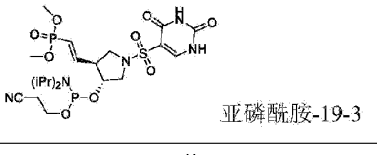
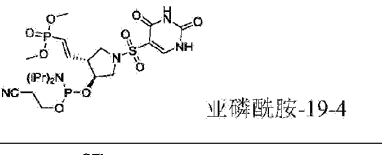
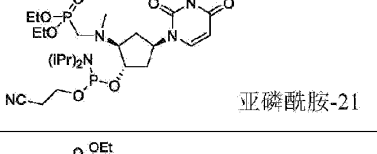
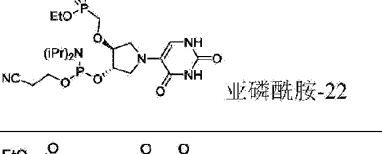
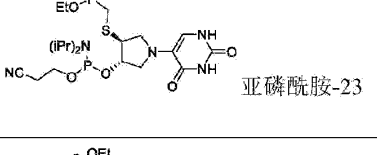
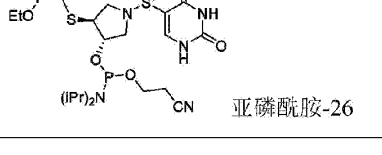
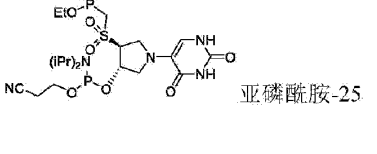
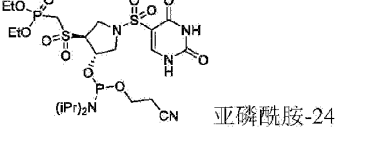
- [0162] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)或(IV-1)，B_x杂环碱基部分分别独立地为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。在某些实施方案中，B_x杂环碱基部分分别独立地为尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。在某些实施方案中，每个B_x杂环碱基部分分别独立地为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)。
- [0163] 在某些实施方式中，本文提供的化合物式(IV)或(IV-1)，所述的亚磷酰胺选自二异丙基氰基乙氧基亚磷酰胺、二异丙基乙基亚磷酰胺和H-磷酸酯。
- [0164] 在某些实施方式中，本文提供的化合物具有如下具体结构以及他们的立体异构体：
- 细则 91,
06.05.2024

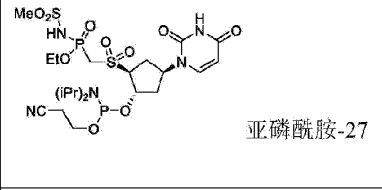
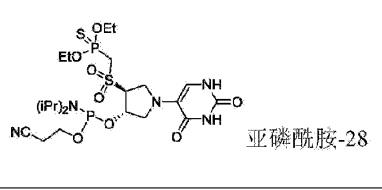
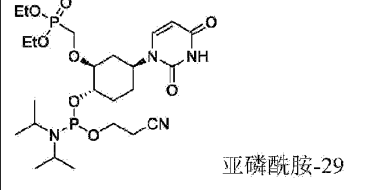
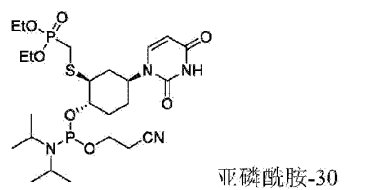
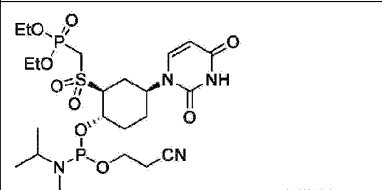
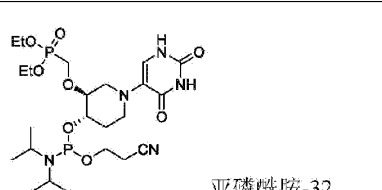
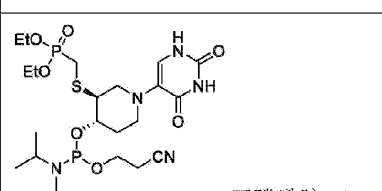
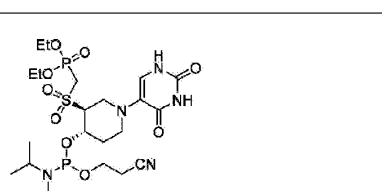
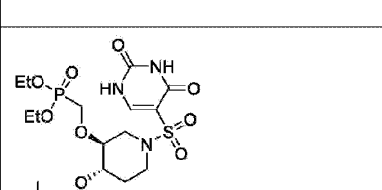
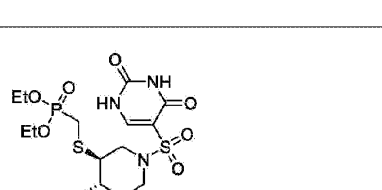
细则 91,
06.05.2024

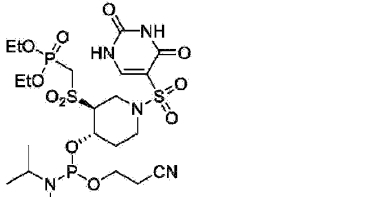
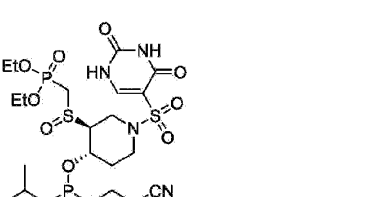
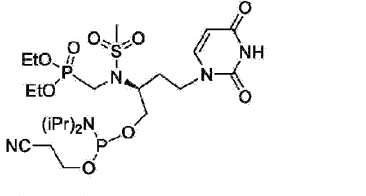
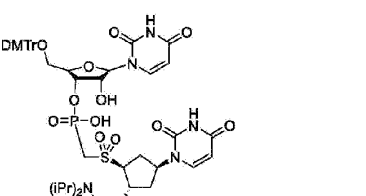
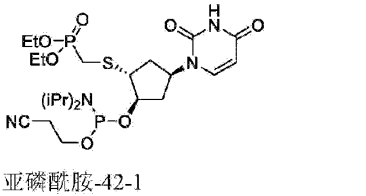
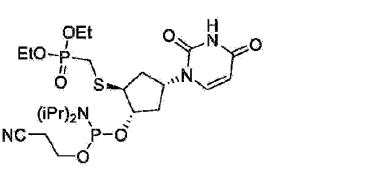
细则 91,
06.05.2024

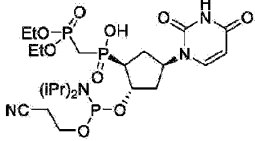
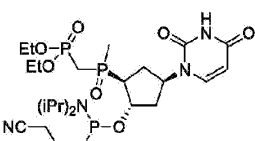
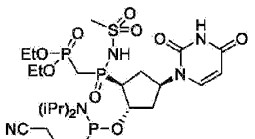
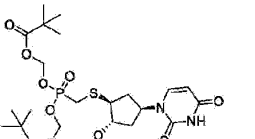
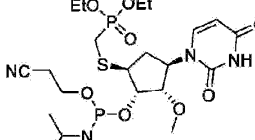
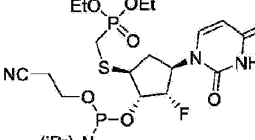
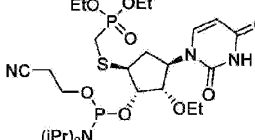
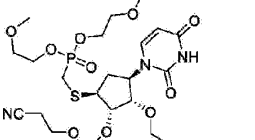
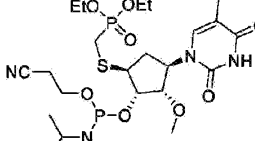
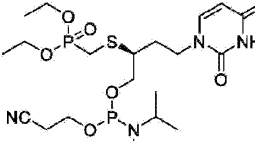
 亚磷酰胺-01	 亚磷酰胺-02
 亚磷酰胺-03	 亚磷酰胺-03-1
 亚磷酰胺-04	 亚磷酰胺-05
 亚磷酰胺-06	 亚磷酰胺-07
 亚磷酰胺-08	 亚磷酰胺-09

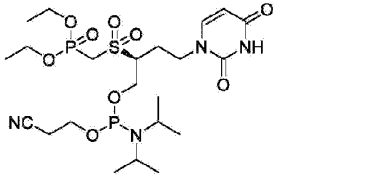
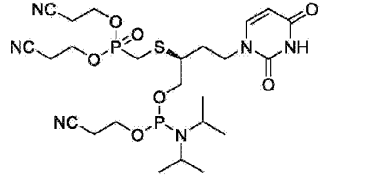
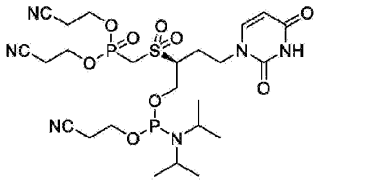
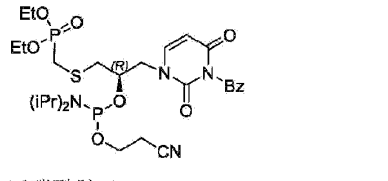
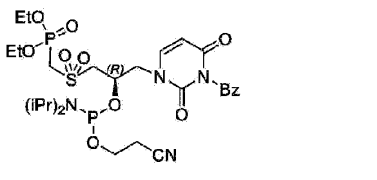
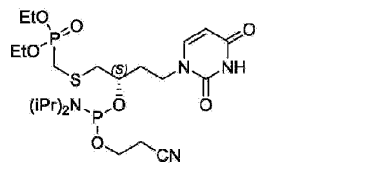
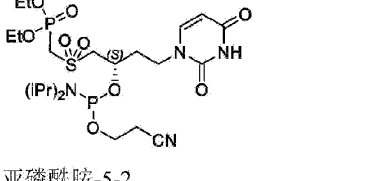
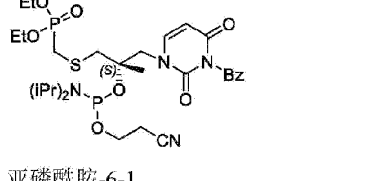
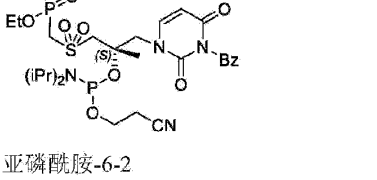
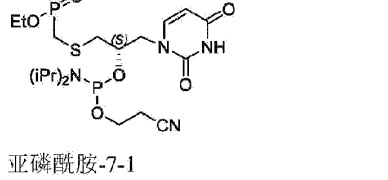
 亚磷酰胺-10	 亚磷酰胺-11-1
 亚磷酰胺-11-2	 亚磷酰胺-11-3
 亚磷酰胺-11-4	 亚磷酰胺-11-5
 亚磷酰胺-11-6	 亚磷酰胺-11-7
 亚磷酰胺-11-8	 亚磷酰胺-11-9
 亚磷酰胺-19-5	 亚磷酰胺-12-1
 亚磷酰胺-12	 亚磷酰胺-13

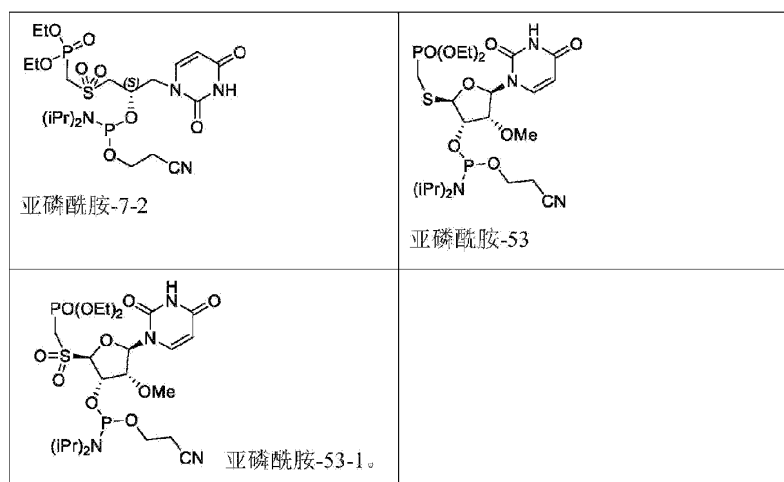
 亚磷酰胺-14	 亚磷酰胺-15-1
 亚磷酰胺-15-2	 亚磷酰胺-15-3
 亚磷酰胺-07-1	 亚磷酰胺-18
 亚磷酰胺-19-1	 亚磷酰胺-19-2
 亚磷酰胺-19-3	 亚磷酰胺-19-4
 亚磷酰胺-21	 亚磷酰胺-22
 亚磷酰胺-23	 亚磷酰胺-26
 亚磷酰胺-25	 亚磷酰胺-24

 亚磷酰胺-27	 亚磷酰胺-28
 亚磷酰胺-29	 亚磷酰胺-30
 亚磷酰胺-31	 亚磷酰胺-32
 亚磷酰胺-33	 亚磷酰胺-34
 亚磷酰胺-35	 亚磷酰胺-36-1

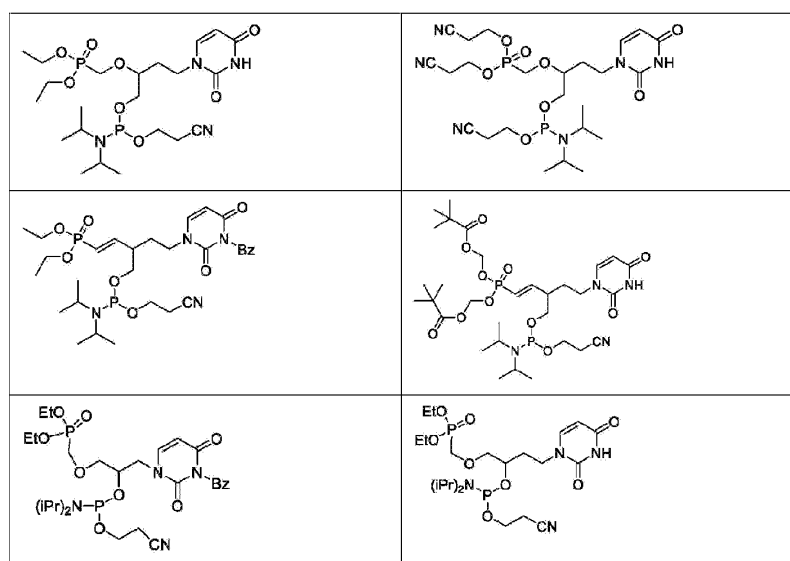
 亚磷酰胺-37	 亚磷酰胺-38
 亚磷酰胺-39	 亚磷酰胺-40
 亚磷酰胺-41	 亚磷酰胺-42-3
 亚磷酰胺-42-1	 亚磷酰胺-42-2

 亚磷酰胺-43-1	 亚磷酰胺-44-1
 亚磷酰胺-45-1	 亚磷酰胺-15-4
 亚磷酰胺-43	 亚磷酰胺-44
 亚磷酰胺-45	 亚磷酰胺-46
 亚磷酰胺-47	 亚磷酰胺-1-1

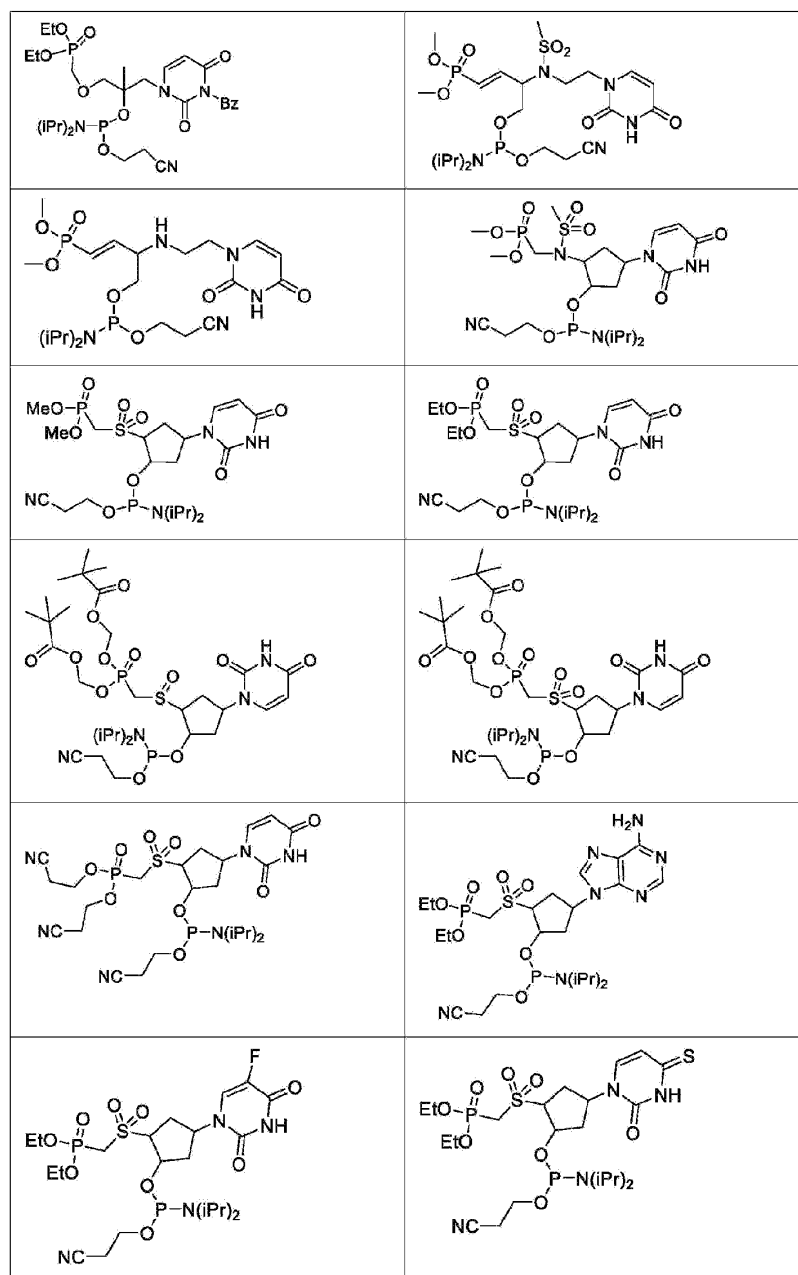
 亚磷酸胺-1-2	 亚磷酸胺-2-1
 亚磷酸胺-2-2	 亚磷酸胺-4-1
 亚磷酸胺-4-2	 亚磷酸胺-5-1
 亚磷酸胺-5-2	 亚磷酸胺-6-1
 亚磷酸胺-6-2	 亚磷酸胺-7-1

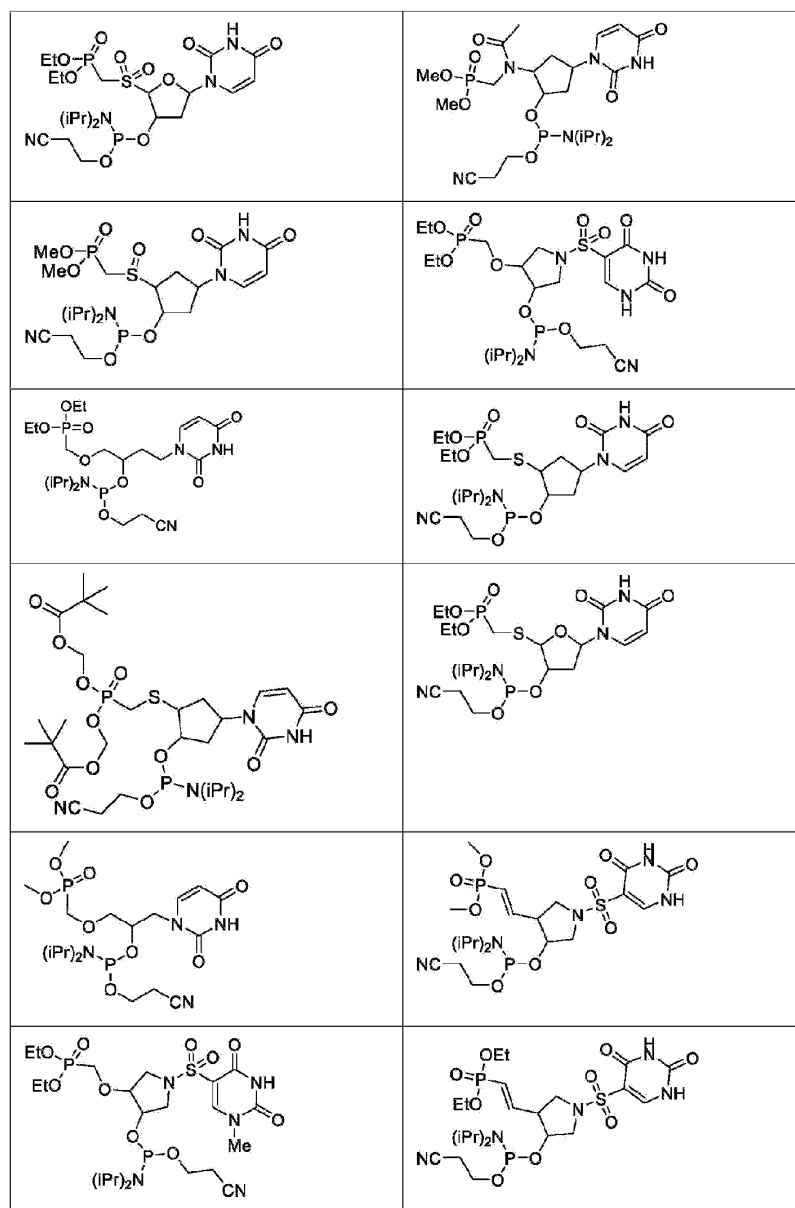


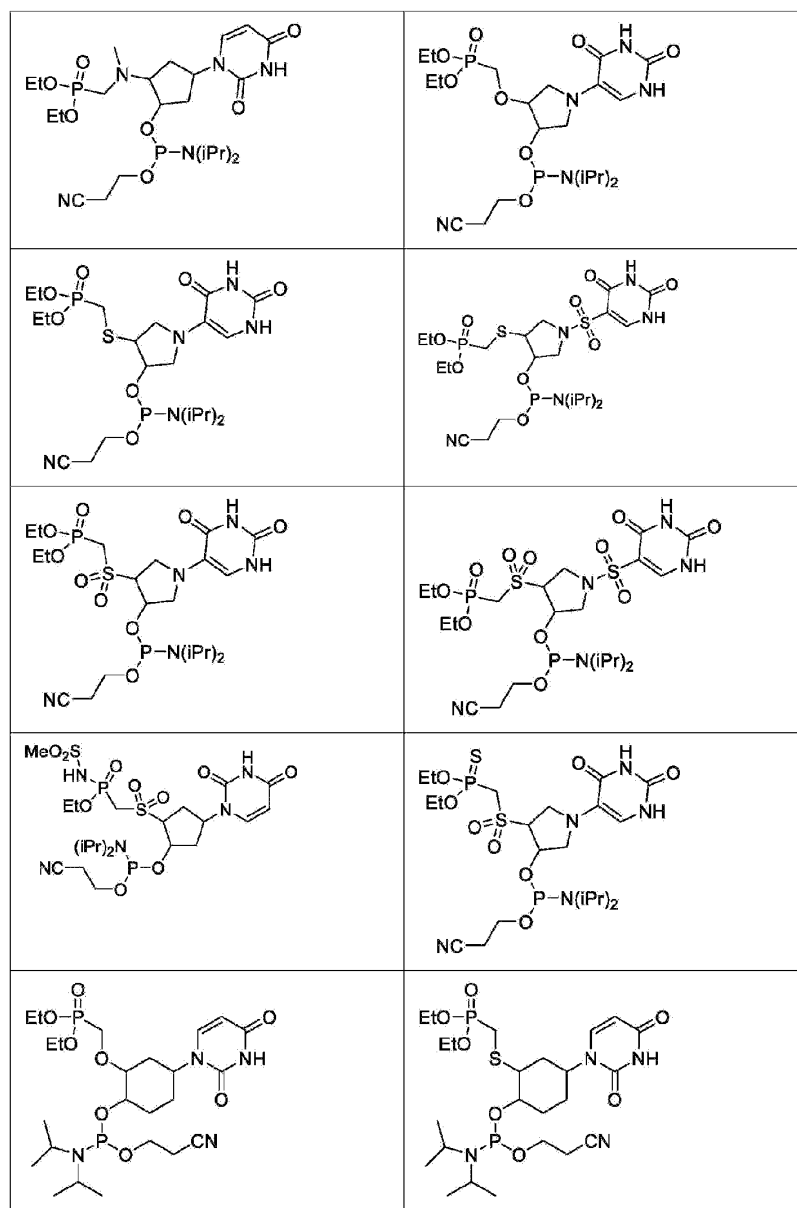
[0165] 在某些实施方式中，本文提供的化合物具有如下具体结构以及他们的立体异构体：

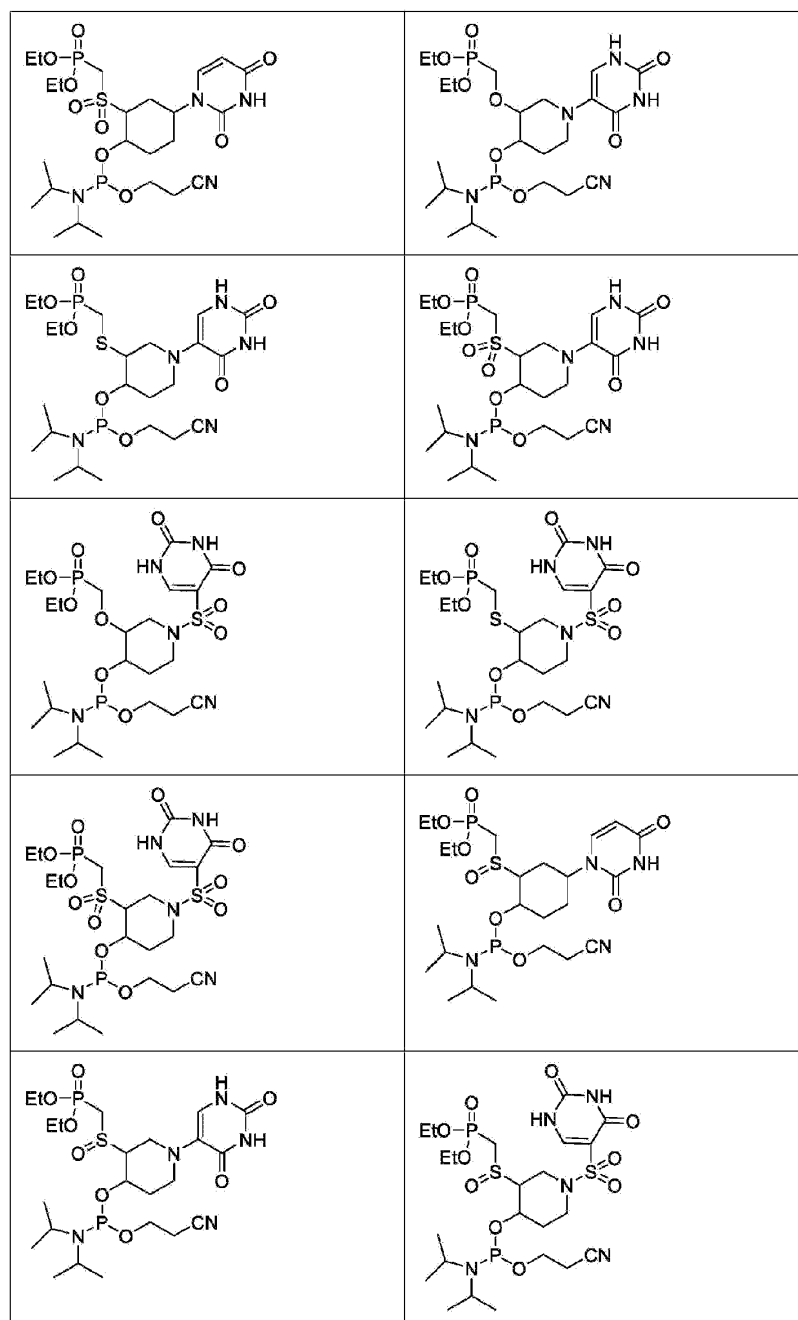


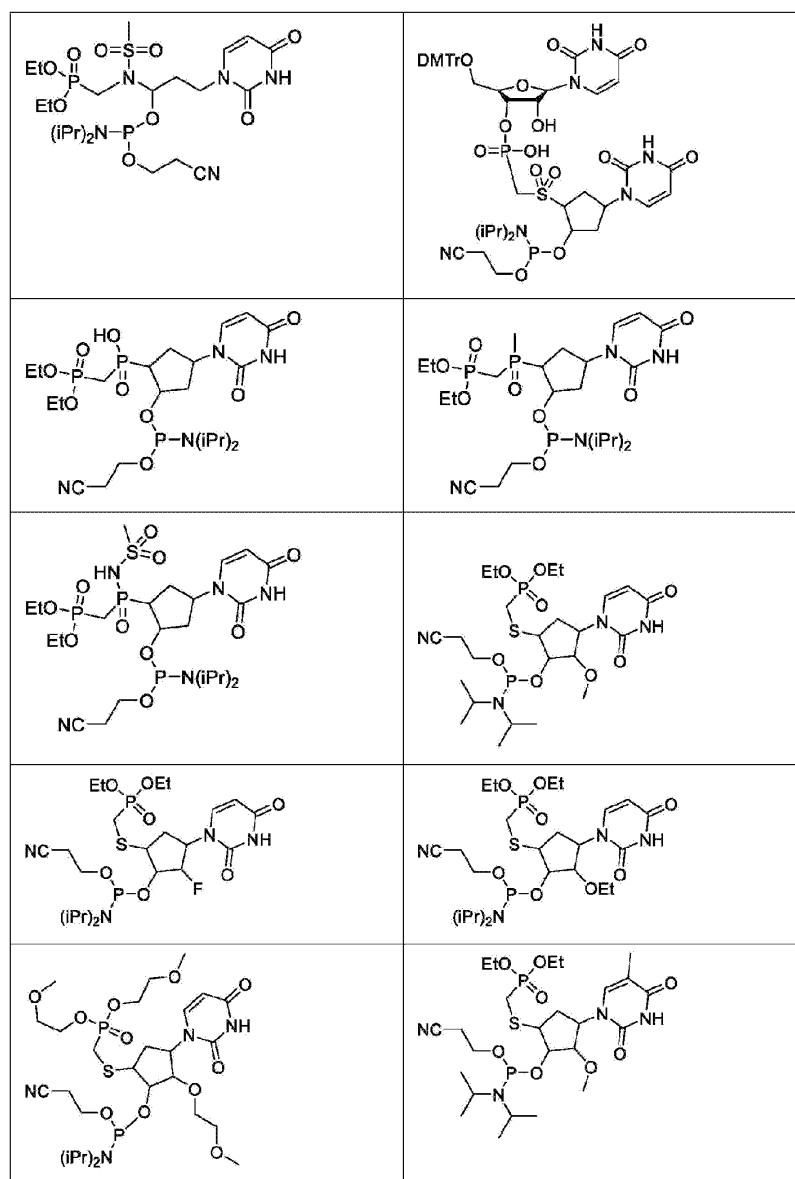
细则 91,
06.05.2024

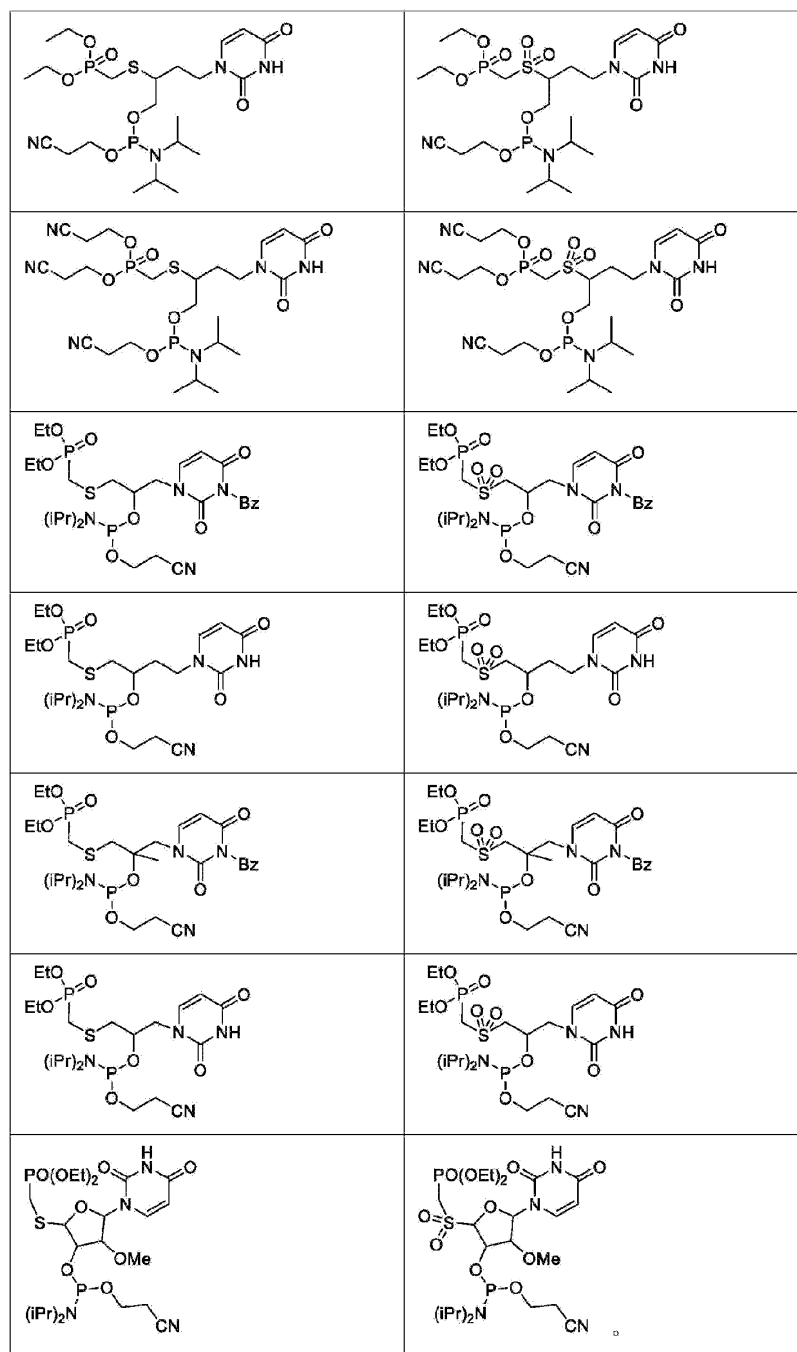










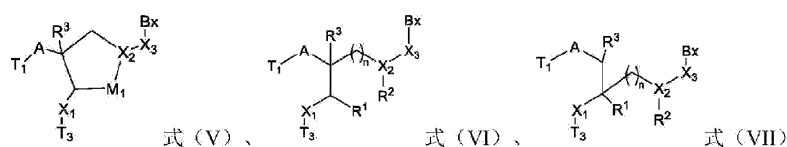


[0166] 本发明更详细的对变量进行单独定义，需要理解的是，本发明所述的化合物包括本文所公开的实施方案和所定义的变量的所有组合，例如式(I)、式(I-1)、式

细则 91,
06.05.2024

(I-2)、式(II)、式(II-1)、(II-2)、(II-3)、式(III)、式(III-1)、式(III-2)、式(IV)、式(IV-1)或它们的立体异构体,更多个此类化合物的技术特征可以任何组合成化合物,并且这类化合物应用于寡核苷酸中,进一步应用于的5'-末端形成寡核苷酸。所述的寡核苷酸包括但是不局限于单链反义寡核苷酸(ASO)、miRNA、双链核糖核苷酸(dsRNA)。在一些实施例中,应用于双链核糖核苷酸(dsRNA)中的反义链的5'-末端。

[0167] 根据本发明的另一个方面,一种寡核苷酸包含由式(V)、式(VI)或式(VII)及它们的立体异构体之一表示的5'-末端核苷酸:



[0168] 其中,每个 T_1 独立地为任选保护的磷部分;

[0169] 每个 T_3 独立地为将使所述5'-末端核苷酸连接到寡核苷酸的核苷间连接基团;

[0170] 每个 X_1 独立地为化学键、O、S、 NJ_1 或 CJ_2 ,其中 J_1 和 J_2 各自独立地是氢、卤素、磺酰基、亚磺酰基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_3-C_6 环烷基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、任选取代的 C_5-C_{12} 芳基、任选取代的5-12元杂芳基、任选取代的5-12元杂环;

[0171] 每个 X_2 独立地为 CR^{15} 或者N;

[0172] 每个 X_3 独立地为化学键、任选取代的 C_1-C_3 亚烷基、 SO 、 SO_2 、 $C(=O)$ 、 $P(=O)R$;R为OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$;

[0173] 每个 Bx 独立地为杂环碱基部分;

[0174] 每个 R^1 和 R^2 分别独立地为H、卤素、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基;

[0175] 每个 R^3 和 R^{15} 分别独立地为H、卤素、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基;

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

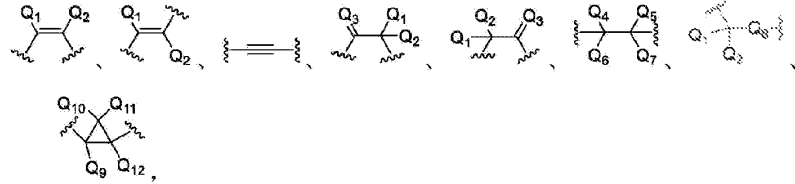
细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

[0176] 每个A独立地为具有下式之一：



细则 91,
06.05.2024

[0177] Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基或 NR^4R^5 ；

细则 91,
06.05.2024

[0178] 每个 Q_3 独立地为O、S、 NR^6 或 CR^7R^8 ；

细则 91,
06.05.2024

[0179] 每个 Q_4 、 Q_5 、 Q_6 、 Q_7 、 Q_9 、 Q_{10} 、 Q_{11} 和 Q_{12} 各自独立地为H、卤素、任选保护的羟基、乙酰氧基、叠氮基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、 NR^9R^{10} ；

细则 91,
06.05.2024

[0180] 每个 Q_8 独立地为O、S、SO、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ；

细则 91,
06.05.2024

[0181] 每个 R^{16} 和 R^{17} 独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$ ；

细则 91,
06.05.2024

[0182] 每个 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为H、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$ ；

细则 91,
06.05.2024

[0183] M_1 为 $C(R_d)(R_e)$ 、 $C(R_d)(R_e)C(R_f)(R_g)$ ，每个 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、CN、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$ ；

细则 91,
06.05.2024

[0184] 每个 J_3 、 J_4 、 J_5 和 J_6 独立地为H或 C_1-C_6 烷基；

细则 91,
06.05.2024

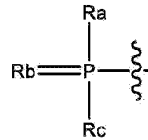
[0185] n 为0、1或者2。

细则 91,
06.05.2024

[0186] 在某些实施方式中，所述的寡核苷酸，每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、CN。

细则 91,
06.05.2024

[0187] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸， T_i 为任选保护的磷部分具有下式：



细则 91,
06.05.2024

[0188] 其中：

细则 91,
06.05.2024

[0189] Ra 和 Rc 各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、任选取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且 Rb 为 O 、 S 或 NR^{12} ， R^{12} 为氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、氨基保护基；

细则 91,
06.05.2024

[0190] 取代的氨基中的取代基选自：任选取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、任选取代的 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基、任选取代的 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；

细则 91,
06.05.2024

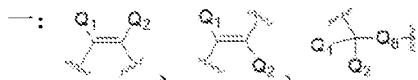
[0191] 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷硫基、 CN 。

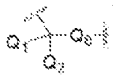
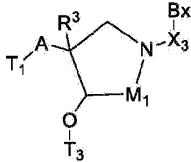
细则 91,
06.05.2024

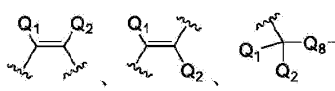
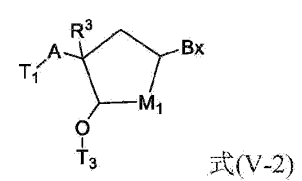
[0192] 常用于保护的磷羟基或者磷巯基的保护基团的实例包括但不限于甲基、乙基、苄基(Bn)、苄基、异丙基、叔丁基、乙酰基、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、烯丙基、环己基(cHex)、9-苄基氧羰基、甲磺酸基、甲苯磺酸基、三氟甲磺酸基、苯甲酰基、苯甲酰基甲酸酯、对苯基苯甲酰基、4-甲氧基苄基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、4-氯苄基、4-硝基苄基、2,4-二硝基苄基、4-酰氧基苄基、2-甲基苯基、2,6-二甲基苯基、2-氯苯基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、三苯基甲基、4-甲硫基-1-丁基、2-(S-乙酰硫基)乙基(SATE)、2-氰乙基、2-氰基-1,1-二甲基乙基(CDM)、4-氰基-2-丁烯基、2-(三甲基硅基)乙基(TSE)、2-(苯硫基)乙基、2-(三苯基硅基)乙基、2-(苄磺酰基)乙基、2,2,2-三氯乙基、2,2,2-三溴乙基、2,3-二溴丙基、2,2,2-三氟乙基、苯硫基、2-氯-4-三苯甲基苯基、2-溴苯基、2-[N-异丙基-N-(4-甲氧基苯甲酰基)氨基]乙基、4-(N-三氟乙酰基氨基)丁基、4-氧代戊基、4-三苯甲基氨基苯基、4-苄基氨基苯基、四氢吡喃基、吗啉代、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二

细则 91,
06.05.2024

苯基甲硅烷基、三苯甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、特戊酸酯甲醚基(POM)和9-苯基黄嘌呤-9-基。	
[0193]	常用于氨基保护基的实例包括但不限于2-三甲基硅基乙氧基羰基(Teoc)、1-甲基-1-(4-联苯基)乙氧基羰基(Bpoc)、叔丁氧基羰基(BOC)、烯丙氧基羰基(Alloc)、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、苄氧基羰基(Cbz)、苄基、甲酰基、乙酰基、特戊酰基、三卤乙酰基、苯甲酰基、硝基苯基、乙酰基、2-硝基苯磺酰基、邻苯二甲酰亚胺基(PhI)、对甲苯磺酰基(Tos)、三苯甲基(Trt)、2,4-二氧基苄基(PMB)和二硫代丁二酰基。
[0194]	在某些实施方式中,提供的寡核苷酸, R_b 为O或者S, R_a 和 R_c 各自独立地选自受保护的羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基。
[0195]	在某些实施方案中,提供的寡核苷酸, R_a 和 R_c 各自为OH、SH、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2OC(=O)C(CH_3)_3$ 、 NH_2 、 OCH_2CH_2CN 、 $NHSO_2CH_3$ 。
[0196]	在某些实施方案中,提供的寡核苷酸, R_a 和 R_c 各自为OH, R_b 为O。
[0197]	在某些实施方式中, R_a 和 R_c 其中一者为OH, 另一者天然的核苷, R_b 为O。
[0198]	在某些实施方式中,提供的寡核苷酸, T_3 为将有式(V)、式(VI)或式(VII)及他们的立体异构体所示的5'-核苷酸连接到寡核苷酸5'-末端的核苷间连接基团, 所述的核苷间连接基团选自含磷的链接基团或者不含磷的链接基团。
[0199]	在某些的实施方式中,提供的寡核苷酸,含磷核苷间连接基团独立地为:磷酸二酯连接基团、磷酸三酯连接基团、硫代磷酸酯连接基团、二硫代磷酸酯键连接基团、烷基磷酸酯连接基团、氨基磷酸酯连接基团、膦酸酯连接基团、次膦酸酯连接基团、硫代氨基磷酸酯连接基团和氨基磷酸酯连接基团。
[0200]	在某些的实施方式中,提供的寡核苷酸,所述的核苷间连接基团独立地为烷基膦酸酯连接基团、磷酸二酯核苷间连接基团或硫代磷酸酯核苷间连接基团。
[0201]	在某些的实施方式中,提供的寡核苷酸, B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。

- [0202] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, B_x 杂环碱基部分为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。 细则 91, 06.05.2024
- [0203] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, B_x 杂环碱基部分为尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。在某些实施方式中, 每个 B_x 杂环碱基部分独立地为 2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)。 细则 91, 06.05.2024
- [0204] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, R^{15} 和 R^3 为 H。 细则 91, 06.05.2024
- [0205] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, X_1 为 O。 细则 91, 06.05.2024
- [0206] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, 每个 R^1 和 R^2 分别独立地为 H、甲磺酰基、乙酰基。 细则 91, 06.05.2024
- [0207] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, 每个 X_2 分别独立地为 N, 每个 R^1 和 R^2 分别独立地为 H、甲磺酰基、乙酰基。 细则 91, 06.05.2024
- [0208] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, 式(V)、(VI)或式(VII)中的 A 具有下式之一:  细则 91, 06.05.2024
- [0209] 其中 Q_1 和 Q_2 各自独立地为 H、卤素、-CN、任选取代的 C_1-C_6 烷基; Q_8 为 O、S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷ 或 NR¹¹; R^{16} 和 R^{17} 独立地为 (=O)、(=S)、OH、SH、 C_1-C_6 烷基、NR¹⁸R¹⁹; R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为 H、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J₃、C(=O)OJ₃ 或者 C(=O)N(J₃)(J₄); J₃ 和 J₄ 独立地为 H 或 C_1-C_6 烷基。 细则 91, 06.05.2024
- [0210] 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团: 卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基硫基、CN。 细则 91, 06.05.2024
- [0211] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, Q_1 和 Q_2 各自独立地为 H、F、-CN、甲基; 更优选地为 H。 细则 91, 06.05.2024
- [0212] 在某些实施方式中, Q_8 为 S、SO、SO₂。 细则 91, 06.05.2024

- [0213] 在某些实施方式中, 条件是当 M_1 为 $C(R_d)(R_e)$, X_2 为C, X_3 为化学键、A为

 时, Q_8 为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹, Q_1 、 Q_2 、R¹¹、R¹⁶和R¹⁷如本文式(V)所定义。
 细则 91,
06.05.2024
- [0214] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, X_2 为N, X_3 为化学键、-CH₂-、-CH₂CH₂-、SO、SO₂。
 细则 91,
06.05.2024
- [0215] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, X_2 为CH, X_3 为化学键。
 细则 91,
06.05.2024
- [0216] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 本文提供的式(VI)或(VII)表示的5'-末端核苷酸中, n为0或者1。
 细则 91,
06.05.2024
- [0217] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸:

 式(V-1)
 细则 91,
06.05.2024
- [0218] 其中T₁、T₃、A、R³以及Bx各自如上文的式(V)以及实施方式中所定义; X_3 为化学键、C(=O)、P(=O)R、SO或SO₂; M_1 为 $C(R_d)(R_e)$ 、 $C(R_d)(R_e)C(R_g)(R_f)$, 每个R_d、R_e、R_g和R_f分别独立地选自以下的取代基团: 氢、卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、O(CH₂)₂-OCH₃、NJ₅、CN、OC(=O)J₅、OC(=O)N(J₅)(J₆)和C(=O)N(J₅)(J₆), J₅、J₆独立地式(I-1)为H或C₁-C₆烷基; R为OH、SH、C₁-C₆烷基、NH₂、NH₂SO₂CH₃。
 细则 91,
06.05.2024
- [0219] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-1)或其立体异构体的5'-末端核苷酸中, X_3 为SO₂或化学键; R³氢。
 细则 91,
06.05.2024
- [0220] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-1)或其立体异构体中的5'-末端核苷酸中, R_d、R_e、R_g和R_f分别独立地选自以下的取代基团: 氢、氟、羟基、C₁-C₆烷氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。更优选地为氢。
 细则 91,
06.05.2024

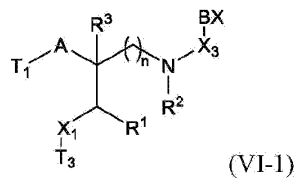
- [0221] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-1)或其立体异构体中的5'-末端核苷酸中, A具有下式之一:
- 
- [0222] Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、卤素、任选取代的 C_1-C_6 烷基;
- [0223] Q_8 为O、S、SO、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ; R^{16} 和 R^{17} 独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$;
- [0224] R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为H、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$; J_3 和 J_4 独立地为H或 C_1-C_6 烷基。
- [0225] 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团: 卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、CN。
- [0226] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸:
- 
- 式(V-2)
- [0227] 其中 T_1 、 T_3 、A、 R^3 以及Bx各自如上文的式(V)以及实施方式中所定义; M_1 为 $C(Rd)(Re)$ 、 $C(Rd)(Re)C(Rg)(Rg)$, 每个Rd、Re、Rg和Rf分别独立地选自以下的取代基团: 氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、CN、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$, J_5 、 J_6 独立地为H或 C_1-C_6 烷基。
- [0228] 在某些实施方案中, 本文提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-2)或其立体异构体的5'-末端核苷酸中, 每个Rd、Re、Rg和Rf分别独立地选自以下的取代基团: 氢、氟、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 。更优选地为氢。
- [0229] 在某些实施方案中, 本文提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-2)或其立体异构体的5'-末端核苷酸中, M_1 为 CH_2 或 CH_2CH_2 。

[0230] 在某些实施方案中, 本文提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-2)或其立体异构体的5'-末端核苷酸中, R^3为氢。	细则 91, 06.05.2024
[0231] 在某些实施方案中, 本文提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-2)或其立体异构体中的A具有下式之一:	细则 91, 06.05.2024
[0232] Q_1和Q_2各自独立地为H、卤素、任选取代的C_1-C_6烷基;	细则 91, 06.05.2024
[0233] Q_3为S、SO、SO_2、$PR^{16}R^{17}$或NR^{11}; R^{16}和R^{17}独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C_1-C_6烷基、$NR^{18}R^{19}$; R^{11}、R^{18}和R^{19}独立地为H、任选取代的C_1-C_6烷基、任选取代的C_1-C_6烷氧基、甲磺基、磺酸基、$C(=O)J_3$、$C(=O)OJ_3$或者$C(=O)N(J_3)(J_4)$; J_3和J_4独立地为H或C_1-C_6烷基。	细则 91, 06.05.2024
[0234] 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团: 卤素、羟基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷硫基、CN。	细则 91, 06.05.2024
[0235] 在某些实施方案中, 本文提供的寡核苷酸, 包含具有式(V-1)、式(V-2)或其立体异构体的5'-末端核苷酸中, 所述的每个Q_1和Q_2各自独立地为H、F、-CN、甲基。更优选地为H。	细则 91, 06.05.2024
[0236] 在某些实施方式中, 提供的寡核苷酸, 包含由式(V-1)或式(V-2)表示的5'-末端核苷酸中, T_1为任选保护的磷部分具有下式:	细则 91, 06.05.2024
[0237] 其中:	细则 91, 06.05.2024
[0238] R_a和R_c各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C_1-C_6烷基、任选取代的C_1-C_6烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基、天然或修饰的核苷; 并且R_b为O、S或NR^{12}, R^{12}为氢、C_1-C_6烷基、氨基保护基。	细则 91, 06.05.2024
[0239] 在某些实施方式中, 取代的氨基中的取代基选自: 任选取代的C_1-C_6烷基、任选取代的C_2-C_6烯基、任选取代的C_2-C_6炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0240] 在某些实施方式中, 磺酰基优选为甲磺酰基。	细则 91, 06.05.2024

[0241]	在某些实施方案中，提供的寡核苷酸， R_b 为O。在某些实施方案中，提供的寡核苷酸， R_b 为S。	细则 91, 06.05.2024
[0242]	在某些实施方案中，提供的寡核苷酸， R_a 和 R_c 各自为OH、SH、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$ 。	细则 91, 06.05.2024
[0243]	在某些实施方案中，提供的寡核苷酸， R_a 和 R_c 各自为OH， R_b 为O。	细则 91, 06.05.2024
[0244]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，包含由式(V-1)或式(V-2)表示的5'-末端核苷酸中， T_3 为核苷酸间链接基团。	细则 91, 06.05.2024
[0245]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，核苷酸间链接基团选自烷基磷酸酯连接基团、磷酸二酯核苷间连接基团或硫代磷酸酯核苷间连接基团。	细则 91, 06.05.2024
[0246]	在一些优选实施方案中，提供的寡核苷酸，包含由式(V-1)或式(V-2)表示的5'-末端核苷酸中， Q_8 为 SO_2 。	细则 91, 06.05.2024
[0247]	在一些优选实施方案中，提供的寡核苷酸，包含由式(V-1)或式(V-2)表示的5'-末端核苷酸中， Q_8 为S。	细则 91, 06.05.2024
[0248]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，包含由式(V-1)或式(V-2)表示的5'-末端核苷酸中，每个 B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。	细则 91, 06.05.2024
[0249]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，包含由式(V-1)或式(V-2)表示的5'-末端核苷酸中，每个 B_x 杂环碱基部分独立地为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。	细则 91, 06.05.2024
[0250]	在某些实施方案中， BX 杂环碱基部分为尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。在某些的实施方案中，每个 B_x 杂环碱基部分独立地为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)。	细则 91, 06.05.2024
[0251]	在某些实施方案中，本文提供式(V-2)中的5'-末端核苷酸，具体1S,2S,4S或1R,2R,4R立体构型。	细则 91, 06.05.2024

[0252] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(VI-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸:

细则 91,
06.05.2024



[0253] 其中 T_1 、 T_3 、 X_1 、 X_3 、 A 、 R^3 、 Bx 以及 n 各自如上文的式(VI)以及实施方式中所定义； R^1 和 R^2 分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。

细则 91,
06.05.2024

[0254] 在某些实施方案中，提供的寡核苷酸，n为0或者1。

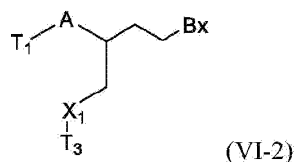
细则 91,
06.05.2024

[0255] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, X_3 为 CH_2 或者 CH_2CH_2 。

细则 91,
06.05.2024

[0256] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(VI-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸:

细则 91,
06.05.2024

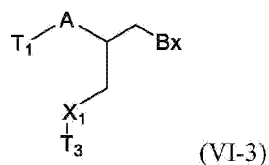


[0257] 其中T₁、T₃、X₁、A、Bx各自如上文的式(VI)以及实施方式中所定义。

细则 91,
06.05.2024

[0258] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(VI-3)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸:

细则 91,
06.05.2024

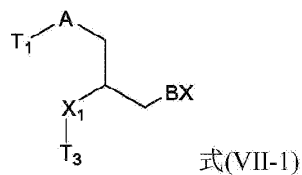


[0259] 其中T₁、T₃、X₁、A、B_x各自如上文的式(VI)以及实施方式中所定义。

细则 91,
06.05.2024

[0260] 在某些实施方案中，提供的寡核苷酸，包含具有式(VII-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：

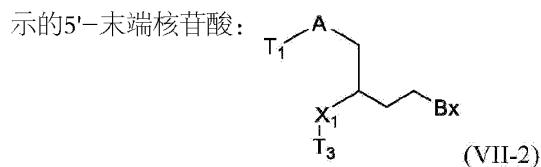
细则 91,
06.05.2024



[0261] 其中 T_1 、 T_3 、 X_1 、A、 B_x 各自如上文的式(VII)以及实施方式中所定义。

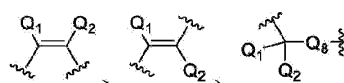
细则 91,
06.05.2024

[0262] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸: 细则 91, 06.05.2024



[0263] 其中 T_1 、 T_3 、 X_1 、 A 、 Bx 各自如上文的式(VII)以及实施方式中所定义。

[0264] 在某些实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中, A 独立地具有下式之一:



[0265] 其中 Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、卤素、 $-CN$ 、任选取代的 C_1-C_6 烷基; Q_8 为O、S、 SO 、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ; R^{16} 和 R^{17} 独立地为 $(=O)$ 、 $(=S)$ 、 OH 、 SH 、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$; R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为H、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$; J_3 和 J_4 独立地为H或 C_1-C_6 烷基。

[0266] 每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团: 卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 CN 。 细则 91, 06.05.2024

[0267] 在一些优选实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中, 每个 Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、F、 $-CN$ 、甲基。更优选地为H。 细则 91, 06.05.2024

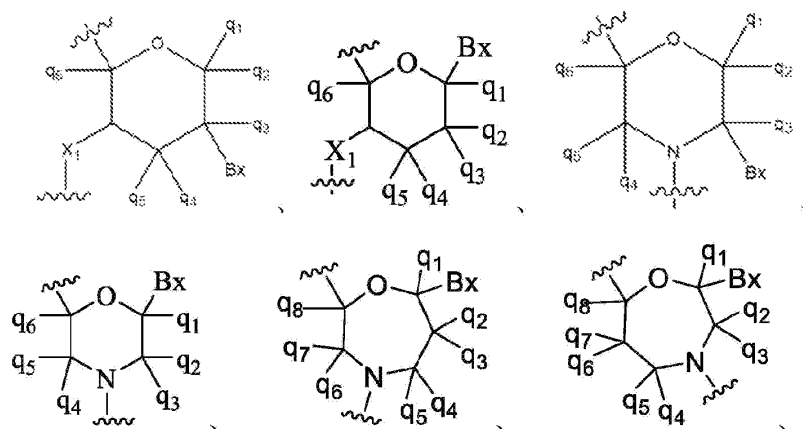
[0268] 在一些优选实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体中的, Q_8 独立地为 NR^{11} , R^{11} 独立地为甲基、甲磺酰基。 细则 91, 06.05.2024

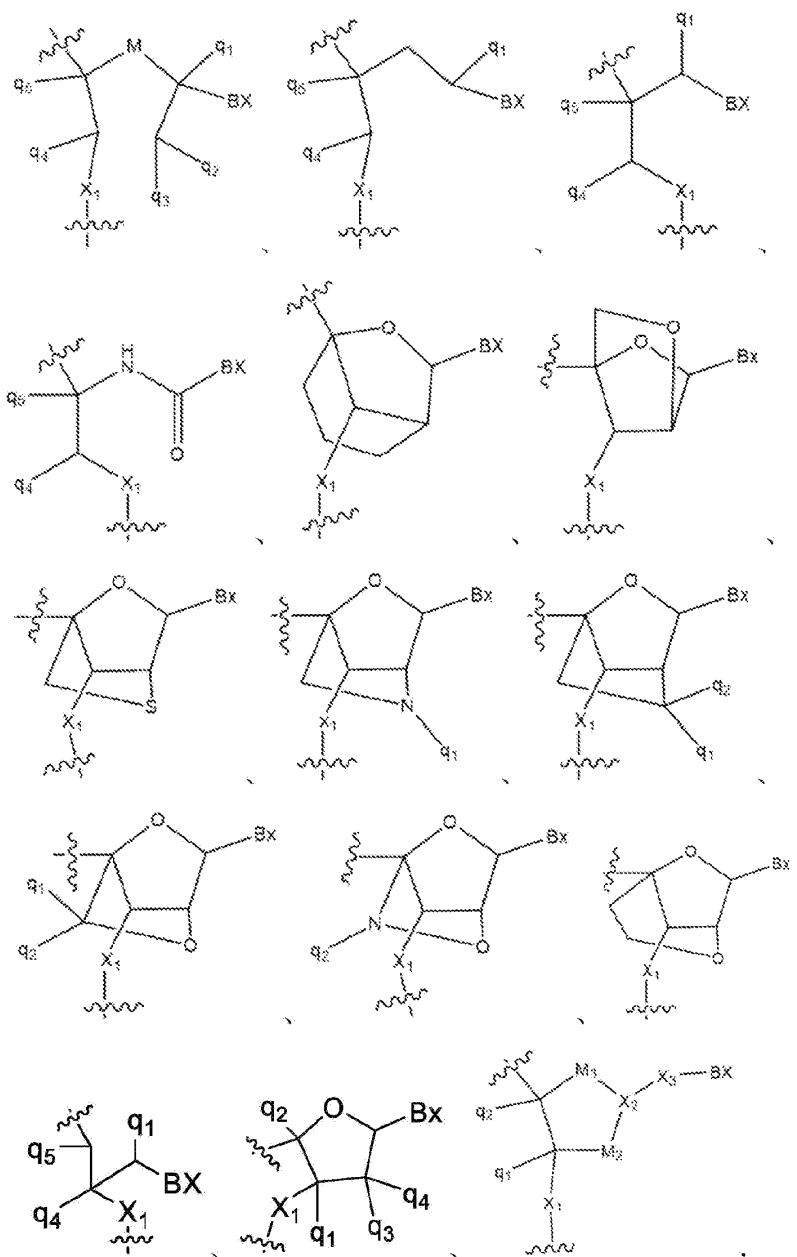
[0269] 在一些优选实施方案中, 提供的寡核苷酸, 包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中, Q_8 为 SO_2 。 细则 91, 06.05.2024

[0270]	在一些优选实施方案中，提供的寡核苷酸，包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中，Q _s 为S。	细则 91, 06.05.2024
[0271]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中，每个B _x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。	细则 91, 06.05.2024
[0272]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中，每个B _x 杂环碱基部分独立地为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。	细则 91, 06.05.2024
[0273]	在某些实施方案中，B _x 杂环碱基部分为尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。在某些的实施方案中，每个B _x 杂环碱基部分独立地为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)。	细则 91, 06.05.2024
[0274]	某些实施方式中，提供的寡核苷酸，包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中，T ₁ 为任选保护的磷部分具有下式： $\begin{array}{c} \text{Ra} \\ \\ \text{Rb}=\text{P}-\text{S} \\ \\ \text{Rc} \end{array}$	细则 91, 06.05.2024
[0275]	其中：	细则 91, 06.05.2024
[0276]	Ra和Rc各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R _b 为O、S或NR ¹² ，R ¹² 为氢、C ₁ -C ₆ 烷基、氨基保护基。	细则 91, 06.05.2024
[0277]	在某些实施方式中，取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₂ -C ₆ 烯基、任选取代的C ₂ -C ₆ 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0278]	在某些实施方式中，磺酰基优选为甲磺酰基。	细则 91, 06.05.2024

[0279]	在某些实施方案中，R _b 为O。在某些实施方案中，R _b 为S。	细则 91, 06.05.2024
[0280]	在某些实施方案中，提供的寡核苷酸，R _a 和R _c 各自为OH、SH、NH ₂ 、NHSO ₂ CH ₃ 。	细则 91, 06.05.2024
[0281]	在某些实施方案中，提供的寡核苷酸，R _a 和R _c 各自为OH，R _b 为O。	细则 91, 06.05.2024
[0282]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中，T ₃ 为核苷酸间链接基团。	细则 91, 06.05.2024
[0283]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中，核苷酸间链接基团选自烷基磷酸酯连接基团、磷酸二酯核苷间连接基团或硫代磷酸酯核苷间连接基团。	细则 91, 06.05.2024
[0284]	在另一方面，提供的寡核苷酸，包含由式(VIII)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸： 式(VIII)	细则 91, 06.05.2024
[0285]	其中：Q ₈ 为S、SO、SO ₂ 、PR ¹⁶ R ¹⁷ 或NR ¹¹ ；R ¹⁶ 和R ¹⁷ 独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C ₁ -C ₆ 烷基、NR ¹⁸ R ¹⁹ ；R _a 和R _c 各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、保护的或者任选取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R _b 为O或S或NR ¹² ，R ¹² 为氢、C ₁ -C ₆ 烷基、氨基保护基；	细则 91, 06.05.2024
[0286]	Q ₁ 和Q ₂ 各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基；	细则 91, 06.05.2024
[0287]	取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₂ -C ₆ 烯基、任选取代的C ₂ -C ₆ 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；	细则 91, 06.05.2024
[0288]	R ¹¹ 、R ¹⁸ 和R ¹⁹ 独立地为H、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、甲磺基、磺酸基；	细则 91, 06.05.2024
[0289]	Z是包含糖或糖替代性部分的核苷；	细则 91, 06.05.2024

[0290]	T ₃ 是为将式(VIII)或其立体异构体的5'-末端核苷酸连接到寡核苷酸的核苷间连接基团；	细则 91, 06.05.2024
[0291]	每个取代的基团包含一个或多个任选独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C ₁ -C ₆ 烷基、C ₁ -C ₆ 烷氧基、C ₁ -C ₆ 烷硫基、CN。	细则 91, 06.05.2024
[0292]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中Q ₈ 为SO、SO ₂ 。	细则 91, 06.05.2024
[0293]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中Q ₈ 为S。	细则 91, 06.05.2024
[0294]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中，Q ₁ 和Q ₂ 各自独立地为H。	细则 91, 06.05.2024
[0295]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中，所述糖或糖替代性部分的核苷中，糖或糖替代性部包括5元呋喃糖环、非呋喃糖环或5-6元碳环体系或开放体系。	细则 91, 06.05.2024
[0296]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中，所述糖或糖替代性部分的核苷中，糖替代性取代部分是吗啉基、环己烯基、环己基、环戊基、吡喃基、环己六醇基。在某些的实施方式中，所述糖或糖替代性部分的核苷中，糖部分是呋喃糖。在某些的实施方式中，所述糖或糖替代性部分的核苷中，包含非锁核碱基类似物(UNA)，或甘油核酸碱基类似物(GNA)。在某些的实施方式中，所述糖或糖替代性部分的核苷中，包括锁核酸(LNA)或桥联核酸(BNA)。	细则 91, 06.05.2024
[0297]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中，其中Q ₈ 与糖或糖替代性部分的4'-碳或者5'-碳键合。	细则 91, 06.05.2024
[0298]	在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中，其中糖或糖替代性部分的核苷具有以下结构示意：	细则 91, 06.05.2024





[0299] 其中, M_2 为 $C(q_3)(q_4)$ 、 $C(q_3)(q_4)C(q_5)(q_6)$;

[0300] M_3 为 O 、 S 、 NR^{13} 、 $C(q_7)(q_8)$ 、 $C(q_7)(q_8)C(q_9)(q_{10})$ 、 $C(q_7)=C(q_8)$ 、 $OC(q_7)(q_8)$;

[0301] 每个 X_i 独立地为化学键、 O 、 S 、 NJ_1 或 CJ_2 , 其中 J_1 和 J_2 各自独立地是氢、卤素、磺酰基、亚磺酰基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_3-C_6 环烷基、任

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、任选取代的C₅-C₁₂芳基、任选取代的5-12元杂芳基、任选取代的5-12元杂环；

[0302] 每个X₂独立地为CR¹⁵或者N；细则 91,
06.05.2024

[0303] 每个X₃独立地为化学键、任选取代的C₁-C₃亚烷基、SO、SO₂、C(=O)、P(=O)R；R为OH、SH、C₁-C₆烷基、NH₂、NHSO₂CH₃；细则 91,
06.05.2024

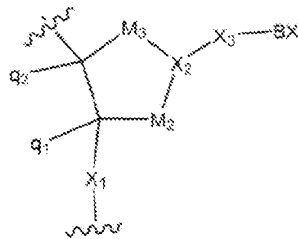
[0304] 每个B_x独立地为杂环碱基部分；细则 91,
06.05.2024

[0305] 每个R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈、q₉和q₁₀分别独立地为氢、卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、O(CH₂)₂-OCH₃、CN、OC(=O)J₅、C(=O)N(J₅)(J₆)和C(=O)N(J₅)(J₆)，J₅、J₆独立地为H或C₁-C₆烷基；细则 91,
06.05.2024

[0306] 每个R¹³独立地为氢、C₁-C₆烷基。细则 91,
06.05.2024

[0307] 在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，每个R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈和q₉分别独立地选自以下的基团：氢、氟、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。更优选的为氢。细则 91,
06.05.2024

[0308] 在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中，其中糖或糖替代性部分的核苷具有以下结构示意：细则 91,
06.05.2024

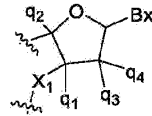


[0309] 其中，M₂、M₃、X₁、X₂、X₃、q₁、q₂和B_x，各自如上文的式(VIII)以及实施方式中所定义。细则 91,
06.05.2024

[0310] 在某些的实施方式中，M₃为O、S、C(q₇)(q₈)、C(q₇)(q₈)C(q₉)(q₁₀)。细则 91,
06.05.2024

[0311] 在某些的实施方式中，q₁、q₂、q₇、q₈、q₉、q₁₀各自独立的选自氢、氟、羟基、甲基、甲氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。细则 91,
06.05.2024

[0312] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII)中，其中糖或糖替代性部分的核苷具有以下呋喃糖结构示意：

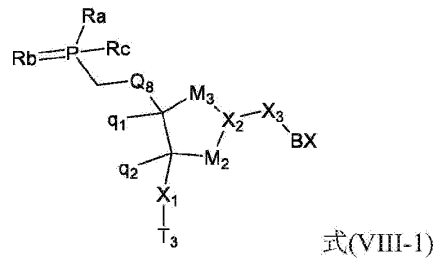


细则 91,
06.05.2024

[0313] 其中，X₁、q₁、q₂、q₃、q₄和Bx，各自如上文的式(VIII)以及实施方式中所定义。

细则 91,
06.05.2024

[0314] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，包含由式(VIII-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



式(VIII-1)

细则 91,
06.05.2024

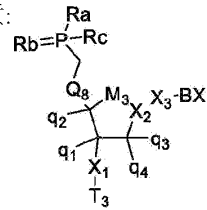
[0315] 其中，Q₈、Ra、Rc、Rb、M₂、M₃、X₁、X₂、X₃、q₁、q₂、T₃和Bx，各自如上文的式(VIII)以及实施方式中所定义。

细则 91,
06.05.2024

[0316] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈、q₉和q₁₀各自独立的选自氢、氟、羟基、甲基、甲氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈、q₉和q₁₀各自独立的选自氢。

细则 91,
06.05.2024

[0317] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，M₃为O、S、C(q₇)(q₈)，M₂为C(q₃)(q₄)，X₂为R¹⁵或者N，X₃为化学键、SO、SO₂、R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₇和q₈，如本文所定义，如下结构示意：

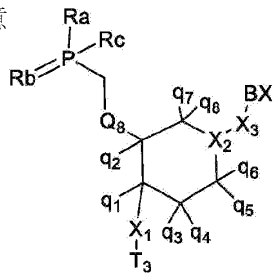


在某些优选实施方式中，M₃为

细则 91,
06.05.2024

O、S、CH₂，M₂为CH₂，X₂为CH，X₃为化学键。在某些的优选实施方式中，M₃为CH₂，M₂为CH₂，X₂为N，X₃为化学键、SO或SO₂。

[0318] 在某些实施方式中， M_3 为 $C(q_7)(q_8)$ ， M_2 为 $C(q_3)(q_4)C(q_5)(q_6)$ ， X_2 为 CR^{15} 或者N， X_3 为化学键、SO、 SO_2 、 R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 和 q_8 ，如本文所定义，如下结构示意 在某些的优选实施方式中， M_3 为 CH_2



， M_2 为 CH_2CH_2 ， X_2 为CH， X_3 为化学键。在某些的优选实施方式中， M_3 为 CH_2 ， M_2 为 CH_2CH_2 ， X_2 为N， X_3 为化学键、SO或 SO_2 。

[0319] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，其中 Q_8 为SO或 SO_2 。

[0320] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，其中 Q_8 为S。

[0321] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，其中 R_b 为氧。

[0322] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，其中 Q_8 为SO或 SO_2 ， R_a 和 R_c 各自独立地选自OH、SH、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$ 。

[0323] 某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，其中 Q_8 为SO或 SO_2 ， R_b 为氧， R_a 和 R_c 各自独立地选自OH。

[0324] 某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，其中 Q_8 为SO或 SO_2 ， X_1 为氧。

[0325] 某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，其中 Q_8 为S， X_1 为氧。

[0326] 某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，式(VIII-1)中，其中 Q_8 为S， R_b 为氧， R_a 和 R_c 各自独立地选自OH。

[0327] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，在式(VIII)或式(VIII-1)中，中 B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。

[0328] 在某些实施方式中，提供的寡核苷酸，在式(VIII)或式(VIII-1)中， B_x 杂环碱基部分为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

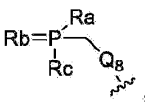
细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

[0329] 在某些实施方案中，B_x杂环碱基部分为尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。在某些的实施方案中，每个B_x杂环碱基部分独立地为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)。	细则 91, 06.05.2024
[0330] 在某些实施方案中，提供的寡核苷酸，在式(VIII)或式(VIII-1)中，提供包含连接的单体亚单位的寡核苷酸，其中每个核苷间连接基团独立地为烷基磷酸酯连接基团、磷酸二酯核苷间连接基团或硫代磷酸酯核苷连接基团。	细则 91, 06.05.2024
[0331] 在某些实施方案中，提供的单独使用寡核苷酸中，其在5'-末端核苷酸具有下式的化合物片段： $\begin{array}{c} \text{Ra} \\ \\ \text{Rb}=\text{P} \\ \\ \text{Rc} \quad \text{Q}_8 \end{array}$	细则 91, 06.05.2024
[0332] 其中：Q₈为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸；	细则 91, 06.05.2024
[0333] R_a和R_c各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、保护的或者任选取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R_b为O或S或NR¹²，R¹²为氢、C₁-C₆烷基、氨基保护基；	细则 91, 06.05.2024
[0334] 取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；	细则 91, 06.05.2024
[0335] R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基；	细则 91, 06.05.2024
[0336] 每个取代的基团包含一个或多个任选独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN；	细则 91, 06.05.2024
[0337] “”表示与5'-末端核苷酸剩余部分的链接处。	细则 91, 06.05.2024
[0338] 在某些实施方案中，可以理解的是，其在5'-末端核苷酸具有下式的化合物片段：	细则 91, 06.05.2024

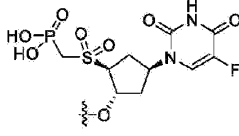
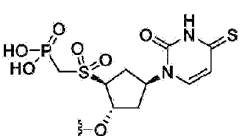
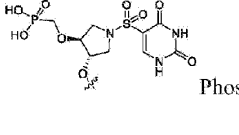
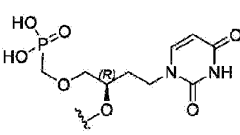
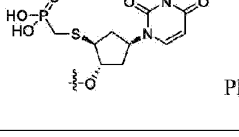
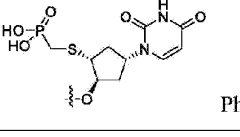
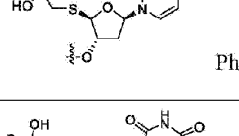
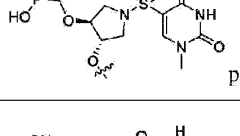
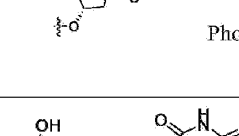
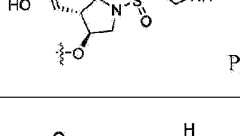
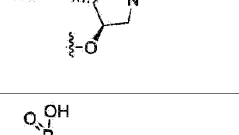
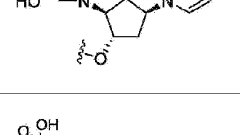
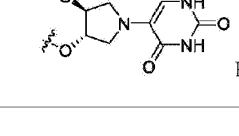
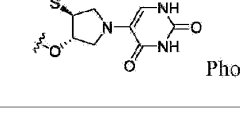
[0339]  其中 Q_s、R_a、R_b和R_c的定义各自如本文所述的寡核苷酸的5'-末端核苷酸式(V)(VI)或式(VII)及其以及实施方式中所定义是一致的。

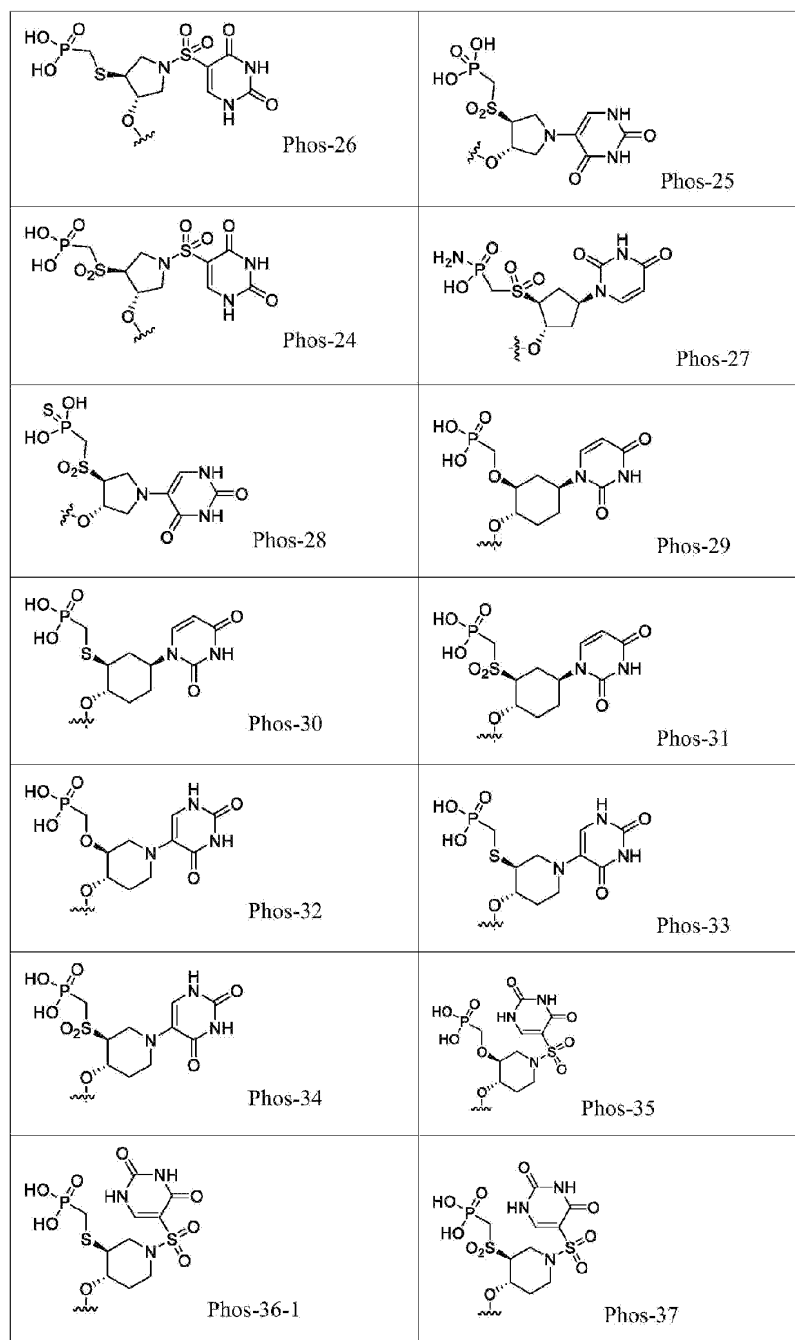
细则 91,
06.05.2024

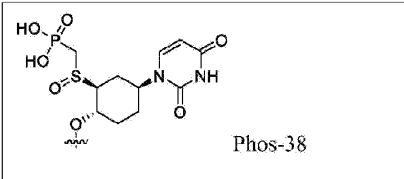
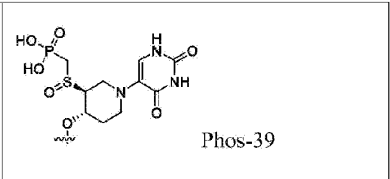
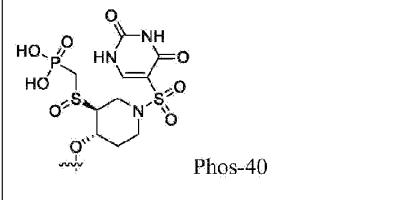
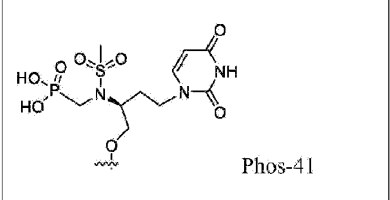
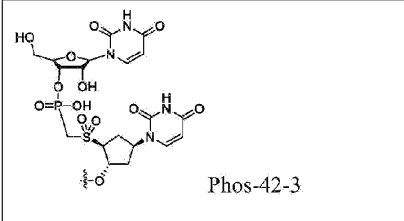
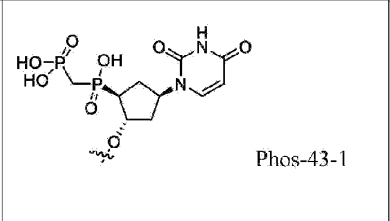
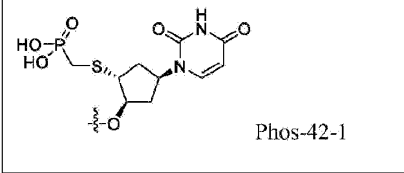
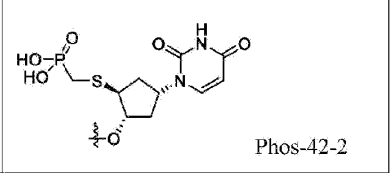
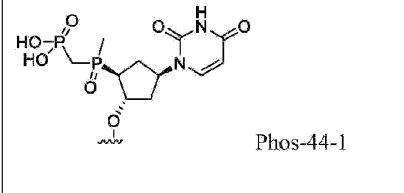
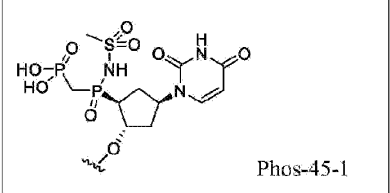
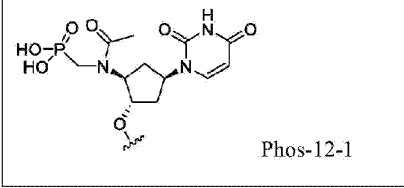
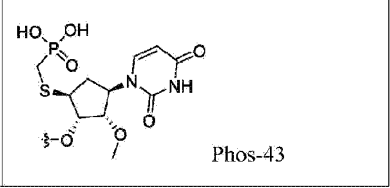
[0340] 在某些实施方案中，提供的寡核苷酸，包含以下之一具体结构或其立体异构体表示的5'-末端核苷：

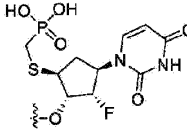
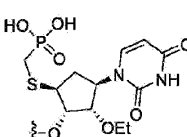
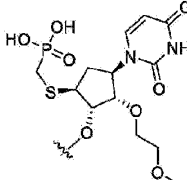
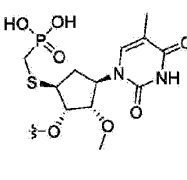
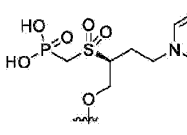
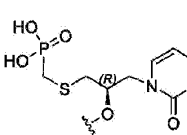
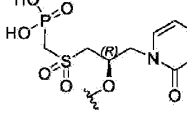
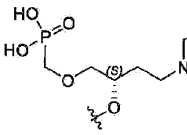
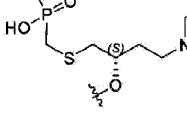
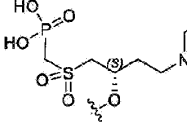
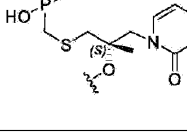
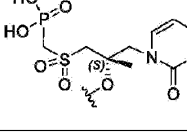
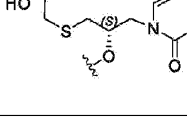
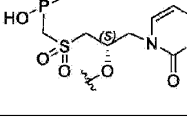
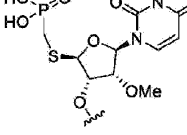
细则 91,
06.05.2024

Phos-01	Phos-02
Phos-03	Phos-04
Phos-05	Phos-06
Phos-07	Phos-08
Phos-09	Phos-10
Phos-11-1	Phos-11-2
Phos-11-4	Phos-11-7

 Phos-11-8	 Phos-11-9
 Phos-13	 Phos-14
 Phos-15-1	 Phos-15-2
 Phos-15-3	 phos-18
 Phos-19-1	 Phos-19-2
 Phos-19-5	 Phos-21
 Phos-22	 Phos-23



 Phos-38	 Phos-39
 Phos-40	 Phos-41
 Phos-42-3	 Phos-43-1
 Phos-42-1	 Phos-42-2
 Phos-44-1	 Phos-45-1
 Phos-12-1	 Phos-43

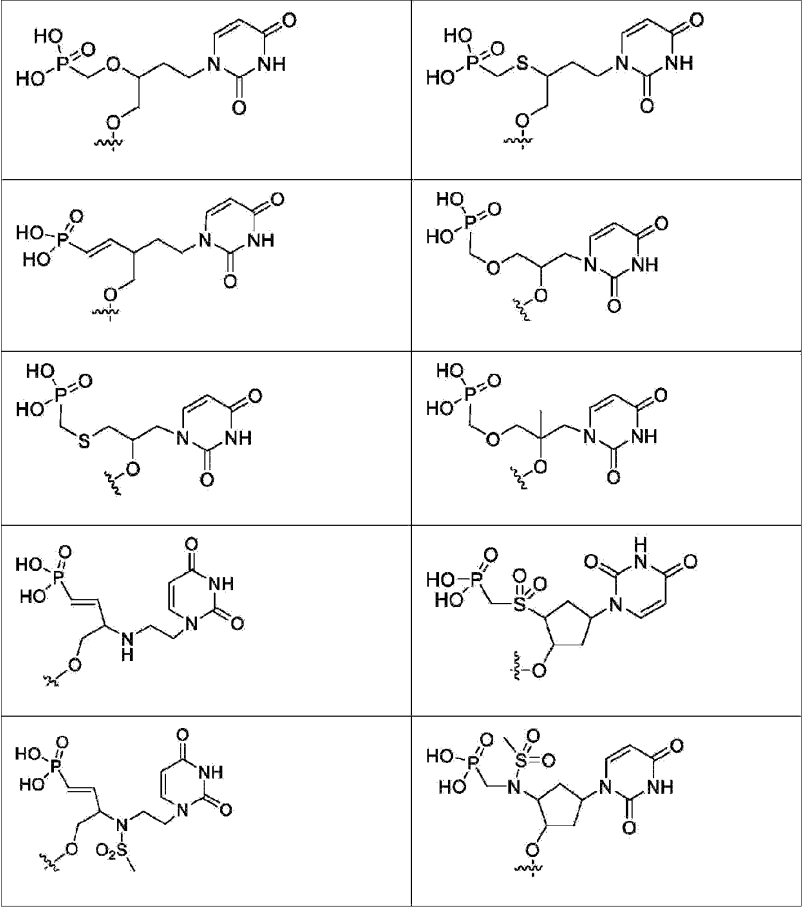
 Phos-44	 Phos-45
 Phos-46	 Phos-47
 Phos-2-2	 Phos-4-1
 Phos-4-2	 Phos-5-1
 Phos-5-2	 Phos-5-3
 Phos-6-1	 Phos-6-2
 Phos-7-1	 Phos-7-2
 Phos-53	

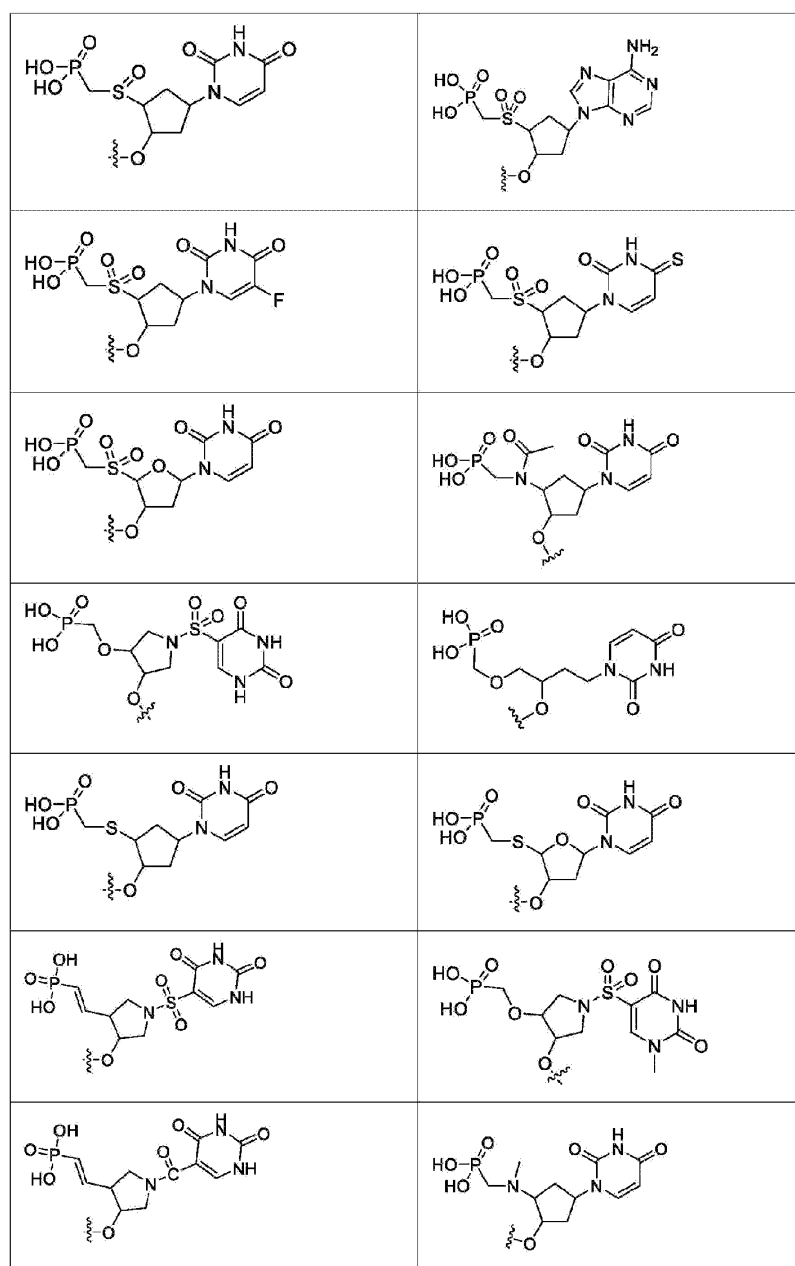
[0341] “”表示与寡核苷酸5' -末端的核苷间连接基团的相链接部分。

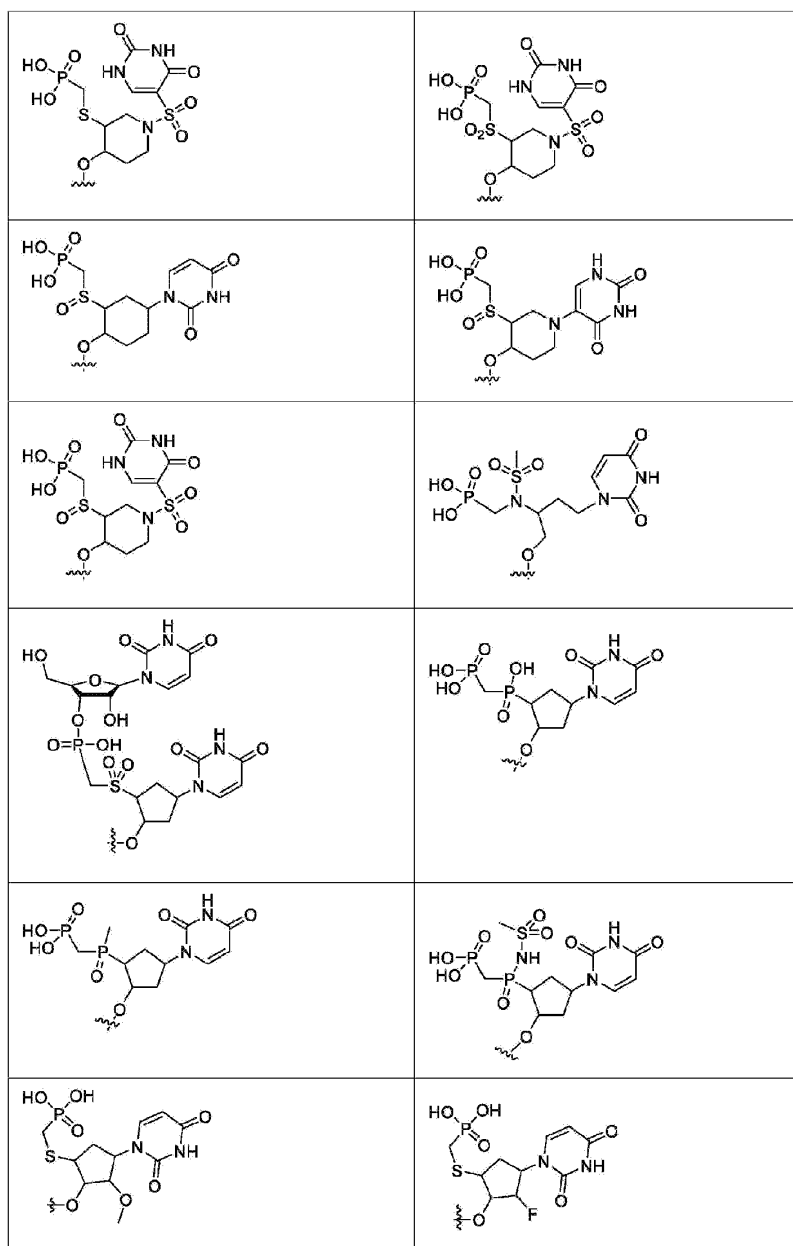
细则 91,
06.05.2024

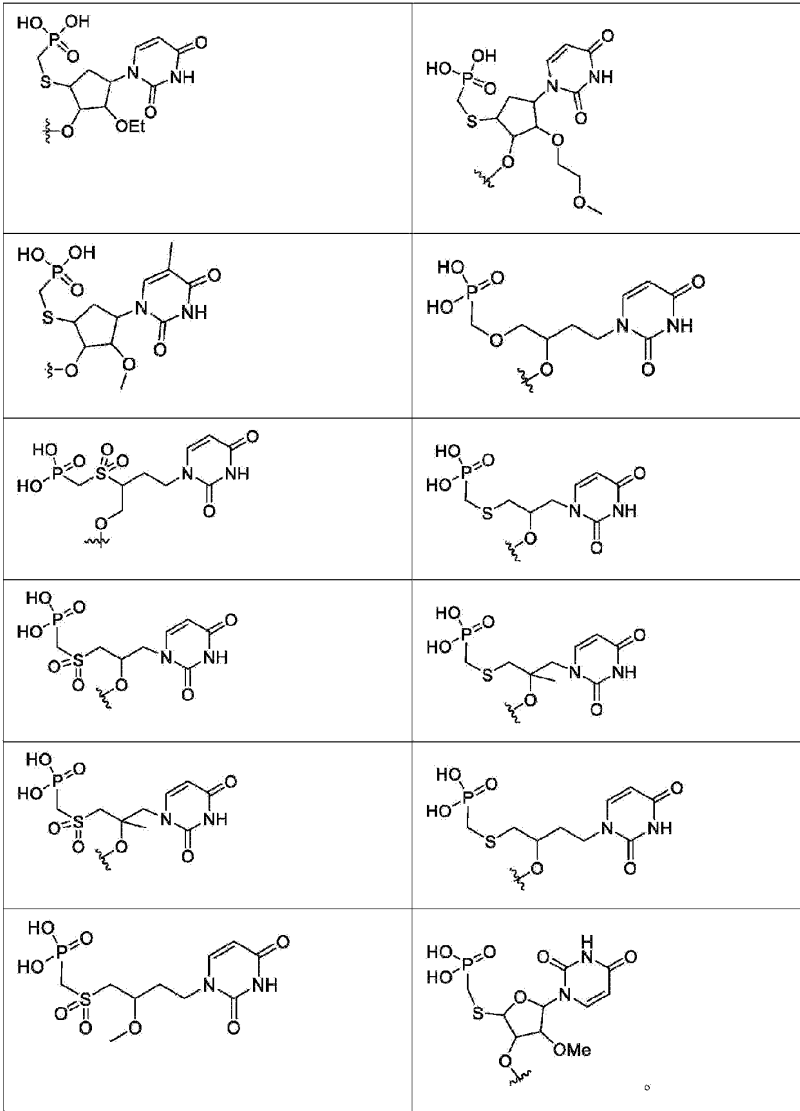
[0342] 在某些实施方案中，提供的寡核苷酸，包含以下之一具体结构或其立体异构体表示的5'-末端核苷：

细则 91,
06.05.2024









[0343]

“”表示与寡核苷酸5′-末端的核苷间连接基团的相链接部分。

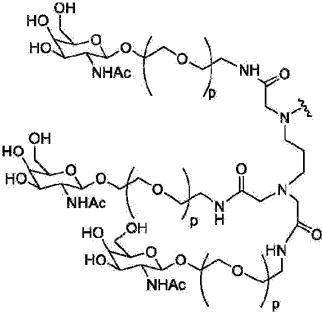
[0344]

本文所述的寡核苷酸包括但是不具限于单链反义寡核苷酸(ASO)、miRNA、双链核糖核苷酸(dsRNA)。在某些实施方案中，提供的寡核苷酸是单链寡核苷酸。在某些实施方案中，所述单链寡核苷酸是常规的反义寡核苷酸(又称ASO)、核糖酶或适体。在某些实施方案中，提供的寡核苷酸是双链核糖核苷酸(dsRNA)试剂，

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

这类化合物本领域所熟知的双链核苷酸，其中一条或两条链为如本文所公开的寡核苷酸。		
0345]	在某些实施方案中，提供的寡核苷酸是双链核糖核酸(dsRNA)试剂，它们均包含：正义链和反义链，其中所述正义链和反义链完全或者部分互补，并且所述反义链与核酸靶基因部分或者完全互补；所述正义链和反义链的至少一者为如前文所提供的寡核苷酸，包含至少一种具有(V)、式(V-1)、式(V-2)、式(VI)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、式(VII)、式(VII-1)、式(VII-2)、式(VIII)、式(VIII-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸；并且其中所述双链核糖核酸(dsRNA)试剂任选地进一步包含独立的靶向基团。	细则 91, 06.05.2024
0346]	在某些实施方案中，提供的寡核苷酸是双链核糖核酸(dsRNA)试剂，其中反义链包含至少一种具有式(V)、式(V-1)、式(V-2)、式(VI)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、式(VII)、式(VII-1)、式(VII-2)、式(VIII)、式(VIII-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸。	细则 91, 06.05.2024
0347]	在某些实施方案中，提供的单独使用寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)中，每一条链均分别包含8-40核苷酸。	细则 91, 06.05.2024
0348]	在某些的实施方式中，提供了双链核糖核酸(dsRNA)试剂，任选地进一步包含独立的靶向基团，在双链核糖核酸(dsRNA)试剂中任意一条链的5' -末端和/或3' -末端核苷酸上还包含一种或更多种靶向基团。所述靶向基团可以是包含siRNA给药领域常规使用的配体。	细则 91, 06.05.2024
0349]	在一些实施方式中，提供的双链核糖核酸(dsRNA)试剂中，所述靶向基团可以选自包含以下靶向分子或其衍生物形成的配体中的一种或多种：聚合物、糖类、肝实质细胞表达的受体配体、抗体、量子点、多肽，或小分子配体。	细则 91, 06.05.2024
0350]	在一些实施方式中，提供的双链核糖核酸(dsRNA)试剂中，至少一个或每个所述靶向基团选自包含能够和哺乳动物肝实质细胞表面受体结合的配体。	细则 91, 06.05.2024
0351]	在一些实施方式中，提供的双链核糖核酸(dsRNA)试剂中，每个所述靶向基团独立地为包含与哺乳动物肝细胞表面的去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)亲和的配体。	细则 91, 06.05.2024

[0352] 在一些实施方式中，提供的双链核糖核酸(dsRNA)试剂中，至少一个或每个所述靶向基团为包含半乳糖或N-乙酰半乳糖胺的配体。	细则 91, 06.05.2024
[0353] 在一些实施方式中，提供的双链核糖核酸(dsRNA)试剂中，至少一个或每个所述靶向基团为具有如下结构片段：	细则 91, 06.05.2024
	
[0354] p为1或者2。	细则 91, 06.05.2024
[0355] 在某些实施方案中，提供的寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)试剂在药物制备中的用途，所述药物用于抑制基因表达。在某些实施方案中，其中所述抑制基因表达包括用所述寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)接触一种或多种细胞、组织或动物。	细则 91, 06.05.2024
[0356] 在某些实施方案中，提供了抑制基因表达的方法，该方法包括：使细胞与包括具有本文所述的寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)试剂接触，其中该寡核苷酸每一条链均分别包含8-40核苷酸，并且该寡核苷酸试剂的反义链与靶RNA互补。	细则 91, 06.05.2024
[0357] 在某些实施方案中，细胞在动物中。在某些实施方案中，细胞在人中。在某些实施方案中，靶RNA选自mRNA、pre-mRNA和micro RNA。在某些实施方案中，靶RNA为mRNA。在某些实施方案中，靶RNA为人mRNA。在某些实施方案中，靶RNA被裂解，从而抑制其功能。在某些实施方案中，该方法进一步包括检测靶RNA的水平。在某些实施方案中，提供了抑制基因表达的方法，该方法包括：使一种或多种细胞或组织与包括具有(V)、式(V-1)、式(V-2)、式(VI)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、式(VII)、式(VII-1)、式(VII-2)、式(VIII)、式(VIII-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸提供的寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)试剂接触。	细则 91, 06.05.2024
[0358] 发明详述	细则 91, 06.05.2024

- [0359] 在某些实施方案中, 提供了5'-磷酸酯修饰的核苷类似物, 并且作为核苷酸单体化合物可用于并入到寡核苷酸的末端, 特别是作为反义链的5'-末端。本文还提供了用于制备这些寡核苷酸的中间体和/或方法。本文提供的修饰的5'-磷酸酯修饰的核苷类似物可用于提高寡核苷酸表达抑制持续时间和/或活性。在某些实施方案中, 本文提供的寡核苷酸和组合物预期与靶RNA的一部分杂交以使该靶RNA丧失正常功能。所述寡核苷酸预期还可在诊断应用中用作为引物和探针。
- [0360] 除非提供明确的定义, 否则结合本文所述的分析化学、有机合成化学和药物化学所用的命名以及其程序和技术均为本领域所熟知和常用的那些。标准技术可用于化学合成和化学分析。它们据此为任何目的以引用方式并入。在允许的情况下, 在整篇公开中所参考的所有专利、专利申请、已公布的专利申请和其它出版物及其它数据均整体以引用方式并入。
- [0361] 如本文所用的术语“未取代的”或“取代的”是指母体化合物中氢原子未被其他取代基取代, 或者一个或者多个氢原子被取代基所代替。如本文所用的术语“取代基”和“取代基团”意在包括通常添加至其他基团或母体化合物来增强期望特性或提供其他期望效应的基团。取代基团可以被保护或者不被保护, 并且可以被加至母体化合物中的一个可用位点或许多可用位点。取代基团也可以进一步被其他取代基团取代, 并且可以与母体化合物直接相连或通过连接基团诸如烷基或烃基基团与母体化合物相连。除有特别说明, 本文的取代基可以是本领域熟知的常规合适的取代基, 本文适合的取代基团包括但不限于: 卤素、羟基、烷基、烯基、炔基、酰基($-C(=O)R_{aa}$)、羧基($-C(=O)O-R_{aa}$)、脂肪族基团、脂环族基团、烷氧基、取代的氧($-O-R_{aa}$)、芳基、芳烷基、杂环基、杂芳基、杂芳基烷基、氨基($-N(R_{bb})(R_{cc})$)、亚氨基($=NR_{bb}$)、酰氨基($-C(=O)N(R_{bb})(R_{cc})$ 或 $-N(R_{bb})C(=O)R_{aa}$)、叠氮基($-N_3$)、硝基($-NO_2$)、氰基($-CN$)、脲基($ureido$)($-N(R_{bb})C(=O)N(R_{bb})(R_{cc})$)、硫脲基($-N(R_{bb})C(S)N(R_{bb})(R_{cc})$)、胍基($-N(R_{bb})C(=NR_{bb})N(R_{bb})(R_{cc})$ 或 $-N(R_{bb})C(=NR_{bb})(R_{aa})$)、硫羟基或巯基($-SR_{bb}$)、亚磺酰基($-S(=O)R_{bb}$)、磺酰基($-S(=O)_2R_{bb}$)以及磺酰氨基($sulfonamidyl$)($-S(=O)_2N(R_{bb})(R_{cc})$ 或 $-N(R_{bb})S(=O)_2R_{bb}$)。其中每个 R_{aa} 、 R

细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024

R_{bb} 和 R_{cc} 独立地是H、任选地连接的化学官能团或另外的取代基团，优选列表包括但不限于H、烷基、烯基、炔基、脂肪族、烷氧基、酰基、芳基、芳烷基、杂芳基、脂环族、杂环和杂芳基烷基。在一些未特别说明的取代基团，优选实施方式中，取代基团选自卤素、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、 CN 、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$ ， J_5 、 J_6 独立地为H或 C_1 - C_6 烷基。如本文所用“取代基”是本发明的预期方面，在药物化学和有机化学领域的普通技术人员将理解此类取代基的通用性，在“取代基”应满足于本发明中其总数将符合与其附着原子或者基团可形成化学键存在的原理。例如， Q_8 为 $PR^{16}R^{17}$ ， R^{16} 和 R^{17} 独立地为 $(=O)$ 、 $(=S)$ 、 OH 、 SH 、 C_1 - C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$ 时，为满足五价磷的化学形式， R^{16} 或 R^{17} 至少一者为 $(=O)$ 或 $(=S)$ ，另外一者为 OH 、 SH 、 C_1 - C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$ 。

[0362] 如本文所用的术语“任选地保护的”、“任选地被取代”、“任选的被取代”意指取代或者保护为任选存在，因此包括未被取代(保护)与被取代(保护)的原子及部分。

细则 91,
06.05.2024

[0363] 如本文所用的术语“烷基”是指具有1个至约24个碳原子的直链或支链饱和的烃基。当它在本文出现时，诸如“ C_1 - C_6 烷基”的数量范围意一般是指烷基中碳原子的数目，可以仅包含1个碳原子、2个碳原子、3个碳原子等，直至并且包括6个碳原子，除另有说明，一般烷基中进一步被其他原子或者基团取代所增加的碳原子的数目不在计数范围内，本文其他计数方式也存在同样的描述。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、丁基、异丙基、正己基、辛基、癸基、十二烷基等。尽管术语“烷基”还包括其中没有指定碳原子的数量范围的情况，举例来说，术语“烷基”可以是指 C_1 - C_{10} 的子范围(例如 C_1 - C_6)。“取代的烷基”是指带有取代基的烷基部分。如本文所用的“低级烷基”是指具有1个至约6个碳原子的烷基部分。如本文所用的术语“亚烷基”是烷基的另一碳原子被取代，本身或作为另一取代基的一部分是指衍生自烷基的二价自由基，例如但不限于 $-CH_2CH_2-$ 。

细则 91,
06.05.2024

- [0364] 如本文所用的术语“烯基”是指至少一个碳-碳双键的直链或支链烃基。烯基的实例包括但不限于乙烯基、丙烯基、丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基、二烯，诸如1,3-丁二烯等。烯基通常包含2至约24个碳原子，更通常包含2至约12个碳原子，其中2至约6个碳原子是更优选的。如本文所用的烯基可任选地包含一个或更多个进一步的取代基团。 细则 91, 06.05.2024
- [0365] 如本文所用的术语“炔基”是指至少一个碳-碳三键的直链或支链烃基。炔基的实例包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、1-丁炔基等。炔基通常包含2至约24个碳原子更通常包含2至约12个碳原子，其中2至约6个碳原子是更优选的。如本文所用的炔基可任选地包含一个或更多个进一步的取代基团。 细则 91, 06.05.2024
- [0366] 如本文所用的术语“酰基”是指通过从有机酸中移除羟基而形成的基团并具有通式-C(=O)-X其中X通常为脂族、脂环族或族的。实例包括脂族羰基、芳族羰基、脂族磺酰基、芳族亚磺酰基、脂族亚磺酰基、芳族磷酸酯、脂族磷酸酯等。如本文所用的酰基可任选地包含进一步的取代基团。 细则 91, 06.05.2024
- [0367] 术语“环烷基”是指其中环为脂族的环体系。该环体系可包含一个或多个环其中至少一个环是脂族的。优选的脂环族化合物包含环中具有约5至约9个碳原子的环。如本文所用环烷基可任选地包含进一步的取代基团。 细则 91, 06.05.2024
- [0368] 如本文所用术语“烷氧基”是指在烷基和氧原子之间形成的基团，其中氧原子用于将烷氧基连接到母体分子。烷氧基的实例包括但不限于：甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基、新戊氧基和正己氧基等。如本文所用的烷氧基可任选地包含进一步的取代基团。 细则 91, 06.05.2024
- [0369] 如本文所用的术语“氨基烷基”是指氨基取代的C₁-C₁₂烷基。该基团的烷基部分与母体分子形成共价键。氨基可位于任何位置并且氨基烷基可在烷基和/或氨基部位被进一步的取代基团取代。 细则 91, 06.05.2024
- [0370] 如本文所用的术语“芳基”和“芳族”是指具有一个或多个芳环的单环或多环的碳环系基团，如本文所用的术语“芳族基团”是指具有含有4n+2 π 电子的离域 π 电子体系的平面环，其中n是整数。芳环可以由5个、6个、7个、8个、9个或多于9个原子形成。术语“芳族”意图包括碳环芳基(例如苯基)和杂环芳基 细则 91, 06.05.2024

(或“杂芳基”或“杂芳族”)基团(例如吡啶)。所述术语包括单环或稠环多环,即共用相邻碳原子对的环。“取代的芳族基”是指进一步带有一个或多个取代基的芳族基团。芳基的实例包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基(idenyl)等。优选的芳基环体系在一个或多个环中具有约5至约20个碳原子。如本文所用的芳基可任选地包含进一步的取代基团。

[0371] 如本文所用的术语“芳烷基”和“芳基烷基”是指共价连接到C₁-C₁₂烷基的芳族基团。所得的芳烷基(或芳基烷基)的烷基部分与母体分子形成共价键。实例包括但不限于苄基、苯乙基等。如本文所用的芳烷基可任选地包含连接到烷基、芳基或形成基团的两者的进一步的取代基团。

细则 91,
06.05.2024

[0372] 如本文所用的术语“杂芳基”和“杂芳族”是指包含单环或多环芳环、环体系或稠合环体系的基团其中这些环的至少一个为芳族的并包含一和或多个杂原子。杂芳基还意在包括稠合环体系包括其中稠环的一个或多个不含杂原子的体系。杂芳基通常包含一个选自硫、氮或氧的环原子。杂芳基的实例包括但不限于:吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、苯硫基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、喹噁啉基等。杂芳基可直接地或通过连接部分诸如脂族基团或杂原子连接到母体分子上。如本文所用的杂芳基可任选地包含进一步的取代基团。

细则 91,
06.05.2024

[0373] 如本文所用的术语“杂芳基烷基”是指进一步包含共价连接的C₁-C₁₂烷基的如之前定义的杂芳基。所得杂芳基烷基的烷基部分能够与母体分子形成共价键。实例包括但不限于吡啶基甲基、吡啶基乙基、萘啶基丙基(naphthyridinylpropyl)等。如本文所用的杂芳基烷基可在杂芳基或烷基部分的一者或两者上任选地包含进一步的取代基团。

细则 91,
06.05.2024

[0374] 如本文所用的术语“卤”或“卤素”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。

细则 91,
06.05.2024

[0375] 如本文所用的术语“杂环基团”是指包含至少一个和杂原子并为不饱和的、部分饱和的或完全饱和的单环或多环环体系因而包括杂芳基基团。杂环还意在包括稠合环体系其中稠合环的一个或多个包含至少一个杂原子并且其它环可包含

细则 91,
06.05.2024

一个或多个杂原子或任选地不含杂原子。杂环基团通常包含至少一个选自硫、氮或氧的原子。杂环基团的实例包括[1,3]二氧戊环基、吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、吡嗪基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基、喹噁啉基、哒嗪基(pyridazinonyl)、四氢呋喃基等。如本文所用“n”元的杂环基团是只环系中含有n个原子的总和，不保护环系意外的原子或者基团。如本文所用的杂环基团可任选地包含进一步的取代基团。

- [0376] 如本文所用的术语“单环或多环结构”包括选自单环体系或其中环为稠合的或相连的多环体系的所有环体系并意在包括单独地选自脂基、脂环基、芳基、杂芳基、芳烷基、芳基烷基、杂环基、杂芳基、杂芳族基和杂芳基烷基的单个和混合环体系。此类单环和多环结构可包含每一个都具有相同饱和度或每一个独立地具有不同饱和度(包括完全饱和、部分饱和或完全不饱和)的环。每个环可包含选自C、N、O和S的环原子以得到杂环以及只含C环原子的环这些环可以混合基序存在诸如例如苯并咪唑其中一个环只具有碳环原子而稠合的环具有两个氮原子。单环或多环结构可进一步被取代基团取代诸如例如邻苯二甲酰亚胺其具有连接到其中一个环上的两个=O基团。单环或多环结构可使用多种策略连接到母体分子上诸如通过环原子直接连接、通过取代基团或通过双官能连接部分连接。
- [0377] 术语“氧代”是指基团(=O)。
- [0378] 本文中使用的术语“磺酰基”(单独或作为另一基团的一部分)是指式 RSO_2 —的基团，其中R是氢、烷基、经取代烷基、芳基、或经取代芳基， CH_3SO_2 —称为甲磺酰基。本文中使用的术语“亚磺酰基”(单独或作为另一基团的一部分)是指式 RSO —的基团，本文中使用的术语“磺酰胺基”(单独或作为另一基团的一部分)是指式 $\text{RSO}_2\text{-NH}$ —的基团，其中R是氢、烷基、经取代烷基、芳基、或经取代芳基。一些非限制性示例性磺酰胺基包 $\text{CH}_3\text{-SO}_2\text{-N(H)}$ —。
- [0379] 术语“脂环族的”或“脂环基”指环状的环系，其中该环为脂肪族环。该环系可包含一个或多个环，其中至少一个环为脂肪族环。优选的脂肪环包括环中具有约5至约9个碳原子的环。此处所用的脂肪环任选地包括其它取代基团。

细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024

此处所用的术语“脂肪族”指最多包含二十四碳原子的直链或支链烃基，其中任意两个碳原子之间的饱和度为单、双或三键。脂肪族基团优选包含1至约24个碳原子，更通常包含1至约12个碳原子，更优选包含1至约6个碳原子脂肪基团的直链或支链可被一个或多个杂原子包括氮、氧、硫和磷等所中断。所述被杂原子中断的脂肪族基团包括但不限于聚烷氧基，例如聚亚烷基二醇、聚胺和聚亚胺。此处所用的脂肪族基团任选地包括其它取代基团。间隔物，将寡核苷酸系连到其上，用于将所述寡核苷酸和合成过程放置得远离所述底物或者载体。这种方式允许更大的灵活性和更多的用于合成的空间，在完成合成时便于切割。

[0380] 本文中使用的术语“羧基”(单独或作为另一基团的一部分)是指式-COOH的基团。

细则 91,
06.05.2024

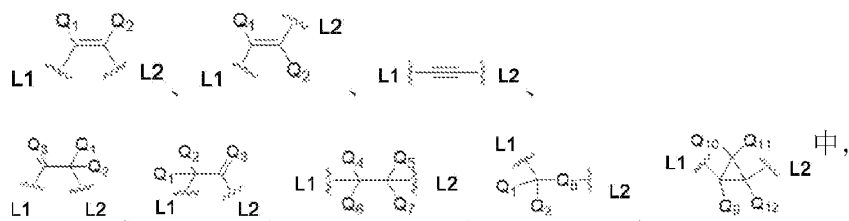
[0381] 连接基团或双官能连接部分诸如本领域已知的那些可用于将化学官能团、共轭基团、报告基团和其它基团连接到母体化合物诸如例如寡核苷酸中的选择性位点上。一般来讲双官能连接部分包括具有两个官能团的烃基部分。选择其中一个官能团以结合到母体分子或所关注的化合物上而选择另一个以结合到基本上任何选定的基团诸如化学官能团或共轭基团上。在一些实施方案中连接基包含链结构或重复单元诸如乙二醇或氨基酸单元的聚合物。通常用于双官能连接部分的官能团的实例包括但不限于用于与亲核基团反应的亲电体以及用于与亲电基团反应的亲核体。在一些实施方案中双官能连接部分包含氨基、羟基、羧酸、硫醇、不饱和度(例如双键或三键)等。双官能连接部分的一些非限制实例包括8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(ADO)、4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺(SMCC)和6-氨基己酸(AHEX或AHA)。其它连接基团包括但不限于取代的C₁-C₁₀烷基、取代的或未取代的C₂-C₁₀烯基或者取代的或未取代的C₂-C₁₀炔基其中优选取代基团的非限制性列表包括羟基、氨基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫代烷氧基、卤素、烷基、芳基、烯基和炔基。

细则 91,
06.05.2024

[0382] 本文中使用的术语“醚”是醇或酚的羟基中的氢被烃基取代的产物，通式为R-O-R'，R和R'可以相同，也可以不同。两者相同的醚称为对称醚，也叫简单醚或单醚；两者不相同的醚称为不对称醚，也叫混合醚或混醚。

细则 91,
06.05.2024

[0383] 本文中使用的术语“”或者“”，是一般是指于相邻基团或者部分的链接处。例如，如本文式A片段任意一结构，



“”, L1处代表与T₁的磷部分的链接处，L2处代表与核苷糖部分或者替代物的链接处。

[0384] 如本文所用的术语“保护基”是指本领域已知的在合成程序中保护反应性基团(包括但不限于羟基、氨基和硫羟基基团)免于不期望的反应的不稳定的化学部分。保护基通常被选择地使用以便在其他反应位点的反应过程中保护位点,然后能够被移除以照原样留下未保护的基团或者可用于进一步反应。

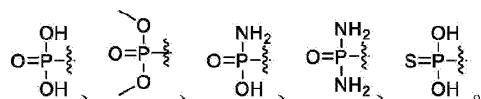
[0385] 常用于羟基或者巯基的保护基团的实例包括但不限于甲基、乙基、苄基(Bn)、苯基、异丙基、叔丁基、乙酰基、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷乙基、烯丙基、环己基(cHex)、9-苄甲氧羰基、甲磺酸基、甲苯磺酸基、三氟甲磺酸基、苯甲酰基、苯甲酰基甲酸酯、对苯基苯甲酰基、4-甲氧基苄基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、4-氯苄基、4-硝基苄基、2,4-二硝基苄基、4-酰氧基苄基、2-甲基苯基、2,6-二甲基苯基、2-氯苯基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、三苯基甲基、4-甲硫基-1-丁基、2-(S-乙酰硫基)乙基(SATE)、2-氰乙基、2-氰基-1,1-二甲基乙基(CDM)、4-氰基-2-丁烯基、2-(三甲基硅基)乙基(TSE)、2-(苯硫基)乙基、2-(三苯基硅基)乙基、2-(苄磺酰基)乙基、2,2,2-三氯乙基、2,2,2-三溴乙基、2,3-二溴丙基、2,2,2-三氟乙基、苯硫基、2-氯-4-三苯甲基苯基、2-溴苯基、2-[N-异丙基-N-(4-甲氧基苯甲酰基)氨基]乙基、4-(N-三氟乙酰基氨基)丁基、4-氧代戊基、4-三苯甲基氨基苯基、4-苄基氨基苯基、四氢吡喃基、吗啉代、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基

细则 91,
06/05/2024

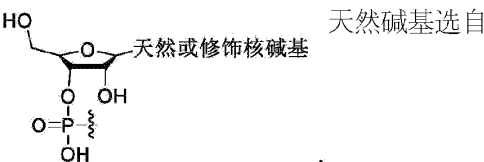
细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

	基、三苯甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、特戊酸酯甲醚基(POM)和9-苯基黄嘌呤-9-基。	
[0386]	常用于氨基保护基实例包括但不限于2-三甲基硅基乙氧基羰基(Teoc)、1-甲基-1-(4-联苯基)乙氧基羰基(Bpoc)、叔丁氧基羰基(BOC)、烯丙氧基羰基(Alloc)、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、苄氧基羰基(Cbz)、苄基、甲酰基、乙酰基、特戊酰基、三卤乙酰基、苯甲酰基、硝基苯基、乙酰基、2-硝基苯磺酰基、邻苯二甲酰亚胺基(PhI)、对甲苯磺酰基(Tos)、三苯甲基(Trt)、2,4-二氧基苄基(PMB)和二硫代丁二酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0387]	如本文所用的术语“磷部分”和“磷酸酯部分”是磷酸酯(-O-P(=O)(OH)OH)分子中包含磷的官能基或部分所述的磷原子与直接碳键合。如本文所用的术语“保护的磷部分”是指包括磷酸酯部分以及修饰磷酸酯部分中的羟基、巯基、氨基等被保护基保护。	细则 91, 06.05.2024
[0388]	在如本文所用的术语“磷部分”是指单价 ^v 磷基基团(五价磷)。在一个实施方式中,磷部分具有下式: $\begin{array}{c} \text{Ra} \\ \\ \text{Rb}=\text{P}-\text{C} \\ \quad \quad \quad \\ \text{Rc} \quad \quad \quad \text{wavy line} \end{array}$	细则 91, 06.05.2024
[0389]	其中:	细则 91, 06.05.2024
[0390]	Ra和Rc各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₁ -C ₆ 烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基、天然的或修饰的核苷;并且R _b 为O、S或NR ¹² , R ¹² 为氢、C ₁ -C ₆ 烷基、氨基保护基;	细则 91, 06.05.2024
[0391]	取代的氨基中的取代基选自:任选取代的C ₁ -C ₆ 烷基、任选取代的C ₂ -C ₆ 烯基、任选取代的C ₂ -C ₆ 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0392]	在某些实施方式中,磺酰基优选为甲磺酰基。	细则 91, 06.05.2024
[0393]	在某些实施方式中,每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团:卤素、羟基、C ₁ -C ₆ 烷基、C ₁ -C ₆ 烷氧基、C ₁ -C ₆ 烷巯基、CN。	细则 91, 06.05.2024
[0394]	如本文所用的术语“磷部分”可位于寡核苷酸任一末端,但优选位于5'-末端核苷。磷部分在某些实施方案中具有下式:	细则 91, 06.05.2024

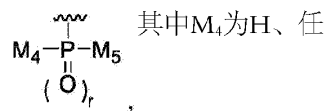


[0395] 在一个实施方式中，磷部分在某些实施方案中，当R_a和R_c其中一者为天然或修饰的核苷时，具有以下示列：



C、U、G、A、T。修饰的核碱基还可以如本或本领域所常规使用那些，如核糖基的2'-羟基被甲氧基或者氟取代而形成的核苷。该磷部分R_a和R_c其中一者为天然或修饰的核苷时，在位于双链寡核苷酸5'端时，如反义链5'端则形成一个人突出端，该碱基或修饰碱基替代基团，不与正义链的形成碱基配对；即使如果正义链包括3'末端突出端，也不与该突出端的形成碱基配对。其合成方法可以参考中国公开专利CN 115819484 A所描述的那样，在此也全部并入本文。

[0396] 如本文所用的术语“活性磷”基团，所述活性磷基团可用于形成包括例如磷酸二酯和硫代磷酸酯核苷间连接在内的核苷间连接。这些活性磷基团是本领域已知的并且包含P^{III}(三价磷)或P^V(五价磷)价态的磷原子，所述活性磷基团包括但不限于亚磷酰胺、H-磷酸酯、磷三酯和含磷手性助剂。在某些实施方案中，包括了在与游离的羟基基团反应时提供5'或3'-亚磷酸酯核苷间连接的反应性磷基团。这些反应性磷基团包括但不限于-(P=R_d)(OR_d)₂，其中每个R_d独立地是保护基、取代或者未取代的C₁-C₆烷基、取代或者未取代的芳基，并且R_e是O或S。在某些的实施方式中活性磷基团，



选取代的C₁-C₆烷基、OH、OJ₇、SH、SJ₇或NJ₇，M₅为任选取代的C₁-C₆烷基、OH、OJ₇、SH、SJ₇或NJ₇，每个J₇或J₈独立地为任选取代的C₁-C₆烷基、磺酰基；r为0或者1。另外的活性磷酸盐和亚磷酸盐公开于Beaucage和Iyer, Tetrahedron, 1992, 48(12), 2223-2311中。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

[0397] 如本文所用的术语“亚磷酰胺”是指含氮的三价磷衍生物，是一种常规的活性磷。合适的亚磷酰胺的实例描述于本文中。

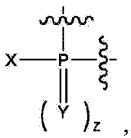
细则 91,
06.05.2024

[0398] 如本文所用的术语“核苷间连接”或“核苷间连接基团”旨在包括本领域已知的各类核苷间连接基团，在此类实施方案中可使用任何核苷间键合将核苷或者类似物连接在一起。两类主要的核苷间连接基团由存在或不存在磷原子而定义，包括但不限于：磷酸二酯连接基团、磷酸三酯连接基团、硫代磷酸酯连接基团、二硫代磷酸酯键连接基团、烷基膦酸酯连接基团、氨基膦酸酯连接基团、膦酸酯连接基团、次膦酸酯连接基团、硫代氨基膦酸酯连接基团和氨基膦酸酯连接基团；以及不含磷核苷间连接基团诸如硫代二酯(-O-C(=O)-S-)、硫羰氨基甲酸酯(-O-C(=O)(NH)-S-)、硅氧烷(-O-Si(H)₂-O-)、N,N'-二甲基胍(-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)-)、甲酰基(formacetyl)和亚甲基亚氨基(-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂-)。核苷间连接还包括中性非离子核苷间连接，如本文所用术语“中性核苷间键合”旨在包括非离子的核苷间键合。中性核苷间键合包括但不限于磷酸三酯、甲基膦酸酯、MMI(3'-CH₂-N(CH₃)-O-5')、酰胺-3(3'-CH₂-C(=O)-N(H)-5')、酰胺-4(3'-CH₂-N(H)-C(=O)-5')、亚甲基缩醛(formacetal)(3'-O-CH₂-O-5')和硫代亚甲基缩醛(thioformacetal)(3'-S-CH₂-O-5')。进一步的中性核苷间键合包括非离子键合包括硅氧烷(二烷基硅氧烷)、羧酸酯、甲酰胺、硫化物、磺酸酯和酰胺(参见例如：“Carbohydrate Modifications in Antisense Research”；Y.S.Sanghvi和P.D.Cook主编ACS Symposium Series 580；第3和4章第40-65页)。进一步的中性核苷间键合包括含有混合N、O、S和CH₂组成部分的非离子键合，其中磷原子并非总是存在。在一些方案中，烷基膦酸酯连接基团选自C₁-C₆烷基膦酸酯连接基团。

细则 91,
06.05.2024

[0399] 在某些的实施方式中，提供的寡核苷酸，所述的含磷核苷间连接基团具有如下所示的结构片段：

细则 91,
06.05.2024



、OH、SH或NR¹³R¹⁴，Y表示O或者S，z可以是0或者1，每个R¹³或R¹⁴独立地为

氢、任选取代的C₁-C₆烷基、磺酰基，“”分别独立地表示与本文5'-末端核苷相连部分，以及与相邻核苷酸相连部分。

[0400] 与天然磷酸二酯键合相比的修饰键合可用于改变(通常增强)寡核苷酸的核酸酶抗性。在某些实施方案中可作为外消旋混合物或单独的对映体制备具有手性原子的核苷间键合。代表性的手性键合包括但不限于磷酸烷基酯和硫代磷酸酯。制备含磷和不含磷的核苷间键合的方法对本领域的技术人员而言是熟知的。

细则 91,
06.05.2024

[0401] 如本文所用“核苷”是指天然的或修饰的核苷包含杂环碱基部分和糖部分的化合物。核苷包括但不限于天然存在的核苷(如存在于DNA和RNA中)、无碱基核苷、修饰的核苷以及具有拟态碱基(mimetic base)和/或糖基的核苷。核苷可由多种取代基的任何一种修饰。

细则 91,
06.05.2024

[0402] 如本文所用“核苷酸”是指进一步包含磷酸酯连接基团的核苷。如本文所用“连接的核苷”可以由或可以不由磷酸酯键合连接并因而包括“连接的核苷酸”。

细则 91,
06.05.2024

[0403] 如本文所用的术语“核苷酸位置”是指从5'末端处的核苷酸开始计数的核苷酸在寡核苷酸或者寡核苷酸中的位置。举例来说，核苷酸位置1是指寡核苷酸的5'-末端核苷酸。

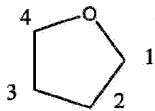
细则 91,
06.05.2024

[0404] 如本文所用“糖部分”是指包括天然的或修饰的糖环或糖替代物。“糖替代性部分”或者“糖替代物”是指能够代替天然存在的核苷的5元呋喃糖环的结构。而这类具有糖替代物基团的核苷通常仍具备杂环碱基部分保持杂交能力。在某些实施方案中糖替代物是非呋喃糖(或4'-取代的呋喃糖)环或环体系或开放体系。非限制性的，此类结构相对于天然呋喃糖环包含简单的变化诸如六元环，例如吗啉基类、四氢吡喃和环己六醇类，六元取代进一步被修饰，如四氢吡喃以代替天然存在核苷的呋喃糖，修饰的四氢吡喃包括但不限于在本领域中称为己糖醇核酸(HNA)、anitol核酸(ANA)、甘露醇核酸(MNA)(参见Leumann,CJ.,Bioorg.&Med.Chem.(2002)10:841-854)、氟代HNA(F-HNA)的那些结构,吗啉基类替代的一些核苷(参见国际申请公开WO200836127, WO2011150408); 碳环核苷是其中糖部分的呋喃糖环的氧原子被碳原子取代的核苷类似物，因此碳环

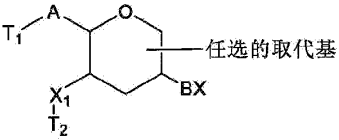
细则 91,
06.05.2024

也是一种常见的糖替代物，参见例如美国专利号6,001,840，其具有代替核苷的四氢呋喃环的环戊烷环，诸如此类还可以是环己烷基类、环戊烷基、环己烯基类(参见PCT申请WO 2010/036696；Robeyns等，J.Am.Chem.Soc.,2008,130(6),1979-1984；Gu等，Nucleosides,Nucleotides&Nucleic Acids,2005,24(5-7),993-998；Nauwelaerts等，Nucleic AcidsResearch,2005,33(8),2452-2463；Gu等，Oligonucleotides,2003,13(6),479-489)；“糖替代性部分”可以是双环或者三环结构(参见例如Leumann,J.c,Bioorganic&Medicinal Chemistry,2002,10,841-854，US7399845，国际专利公开WO2009006478，WO2008150150729,WO2011/139702所述的那些)，例如锁核酸(“LNA”)(参见例如Koshkin等人(1998)，Tetrahedron, 54, 3607-3630)；桥联核酸(“BNA”)(参见例如美国专利号7,427,672和Mitsuka等人(2009)，Nucleic Acids Res., 37(4): 1225-38)；“糖替代性部分”还可以是无环的，例如解锁核酸(“UNA”)(参见例如美国专利第8,314,227号，Meghan A.et al. “Locked vs.unlocked nucleic acids(LNA vs.UNA):contrasting structures work towards common therapeutic goals” .Chem.Soc.Rev.,2011,40,5680 - 5689)，甘油核酸结构(GNA)作为糖替代性取代部分(参见例如WO 2016/028649)，或者可以更为复杂与用于肽核酸的非环体系一样；更多的一些“糖替代性部分”新的核苷可以键国际专利公开WO2011/139702所描述的那样。它们每一个都以引用方式全文并入本文。

[0405] 呋喃糖：如本文所用的术语“呋喃糖”是指具有五元环结构的碳水化合物，其中所述环结构具有4个碳原子和1个氧原子如下结构表示：



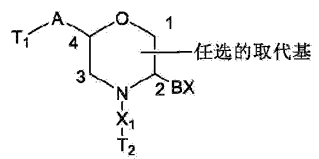
中，数字表示五元环结构中4个碳原子的位置。某些四氢吡喃基替代的糖部分的核苷具有如下结构示意：



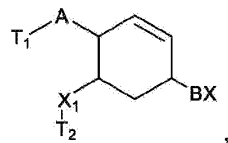
其中各变量可以同本文

式(I)保持一致，其环可以理解的是可以进一步被任何合适的基团取代；某些吗

细则 91,
06.05.2024

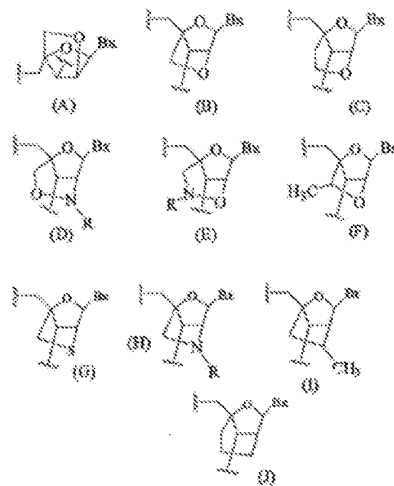
啉基替代的糖部分的核苷具有如下结构示意图：数字

表示五元环结构中4个碳原子的位置，其中各变量可以同本文式(I)保持一致，其环可以理解的是可以进一步被任何合适的基团取代；某些环己烯基替代的糖部分的核苷具有如下结构示意图：



持一致，其环可以理解的是可以进一步被任何合适的基团取代。

[0406] 某些双环替代的糖部分的核苷，包括但不限于成4'与2'糖环原子的桥形成的核苷具有如下结构示意图：



分，而R独立地为H、保护基团或C₁-C₁₂烷基。

[0407] 修饰的糖(在本文也被称为“糖替代性部分”)包括修饰的脱氧核糖或核糖部分，例如其中在糖的2'、3'、4或5'-碳位置处发生修饰。

[0408] 如本文所用“核碱基”或“杂环碱基部分”是指核苷的杂环碱基部分，位于可并入核酸双螺旋内的修饰的核苷酸中的核苷酸糖部分的1'位置(或可并入核酸双螺旋内的核苷酸糖部分取代中的等效位置)的杂环部分。“核碱基”或“杂环碱基部分”可以为天然存在的或可以被修饰以及通用核碱基。在某些实施

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

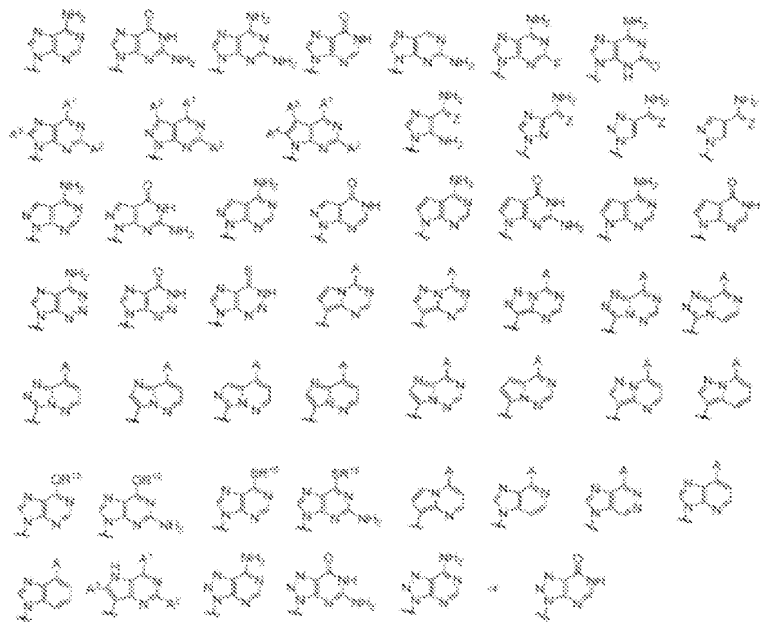
细则 91,
06.05.2024

方案中“核碱基”或“杂环碱基部分”可以包含能够以氢键结合到另一核酸的碱基上的任何原子或一组原子，每一个核苷的杂环碱基部分可由一个或多个取代基团修饰以增强一种或多种性质诸如对于靶链的亲合力或以有利的方式影响一些其它性质。修饰核碱基包括但不限于如本文所定义的通用碱基、疏水碱基、混杂碱基、扩环碱基以及氟化碱基。其中这些核碱基的可用于增强如本文提供的寡聚核苷酸的结合亲和力。最常见的两种类别为嘌呤和嘧啶，例如：合适的天然核碱基包括嘌呤碱基和嘧啶碱基，例如腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)或尿嘧啶(U)。合适的修饰的核碱基包括二氨基嘌呤和它的衍生物、烷基化的嘌呤或嘧啶、酰化的嘌呤或嘧啶、硫醇化的嘌呤或嘧啶等；诸如5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、腺嘌呤和鸟嘌呤的6-甲基和其它烷基衍生物、腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基和其它烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫代胸腺嘧啶和2-巯基胞嘧啶、5-卤尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH₃)尿嘧啶和胞嘧啶以及嘧啶碱基的其它炔基衍生物、6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、N1-甲基-假尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、8-卤，8-氨基，8-硫醇，8-硫代烷基，8-羟基和其它8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤、5-卤尤其是5-溴，5-三氟甲基和其它5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-氨基-腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤、7-去氮鸟嘌呤和7-去氮腺嘌呤、3-去氮鸟嘌呤和3-去氮腺嘌呤。进一步的修饰核碱基包括三环嘧啶诸如吩噻嗪胞嘧啶核苷([5,4-b][1,4]苯并噻嗪-2(3H)-酮)、吩噻嗪胞嘧啶、核苷(1H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噻嗪-2(3H)-酮)、G夹(G-clamp)诸如取代的吩噻嗪胞嘧啶核苷(例如9-(2-氨基乙氧基)-H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噻嗪-2(3H)-酮)、咔唑胞嘧啶核苷(2H-嘧啶并[4,5-b]吡啶-2-酮)、吡啶并吡咯胞嘧啶核苷(H-吡啶[3',2':4,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-酮)。修饰的核碱基还可以包括其中嘌呤或嘧啶碱基被其它杂环替代的那些例如7-去氮腺嘌呤、7-去氮鸟苷、2-氨基吡啶和2-吡啶酮。教导修饰核碱基以及其它修饰核碱基的制备的代表性包括但是不限于国际申请公开的WO2022007986、美国公开专利3,687,808、4,845,205、5,130,302、5,134,066、5,175,273、5,367,066、5,432,272、5,457,187、5,

和6,005,096中公开的那些。如本文所用,“通用碱基”是指位于修饰的核苷酸中核苷酸糖部分的1'位置或核苷酸糖部分取代中的等效位置的具有天然碱基相同性质的杂环部分,即当存在于核酸双螺旋中时,可放置于多于一种类型的碱基的对面而不改变双螺旋结构(例如,磷酸酯主链的结构)。一些通用碱基能够通过所述通用碱基与所有碱基鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)、腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)之间在形成碱基对的条件下形成氢键进行碱基配对。在双螺旋中,通用碱基可与双螺旋的相对链上与其相对的G、C、A、T和U中的每一者形成一个氢键、或形成多于一个氢键。在双螺旋中,通用碱基之间的碱基配对发生但不改变磷酸酯主链的双螺旋结构。通用碱基还可通过堆叠相互作用与相同核酸链上的相邻核苷酸中的碱基相互作用。此类堆叠相互作用稳定所述双螺旋,尤其在所述通用碱基不与所述双螺旋的相对链上与其相对放置的碱基形成任何氢键的情况下。在一些时候,类似2,4-二氟苯基也是一种通常替代的杂环碱基。通用结合核苷酸的限制性实例包括肌苷、1-O-D-呋喃核糖基-5-硝基吡啶、和/或1-β-D-呋喃核糖基-3-硝基吡咯(Quay等人的美国专利申请公开号20070254362; Van Aerschot等人, An acyclic 5-nitroindazole nucleoside analogue as ambiguous nucleoside, NUCLEIC ACIDS RES.1995年11月11日; 23(21):4363-70; Loakes等人, 3-Nitropyrrole and 5-nitroindole as universal bases in primers for DNA sequencing and PCR, NUCLEIC ACIDS RES.1995年7月11日; 23(13):2361-2366)。

[0409] 其中某些与本申请共同拥有并且它们中的每一个都全文以引用方式并入本文, 在一些非限制性结构示列如下:

细则 91,
06.05.2024



- [0410]

如本文所用“修饰核苷”是指与天然存在的RNA或DNA核苷相比包含至少一个修饰的核苷。此类修饰可以位于糖部分和/或位于核碱基上。修饰的核苷酸包括不含核碱基(无碱基)。

细则 91,
06.05.2024
- [0411]

如本文所用“2'-F”是指含糖的核苷，该糖在2'位又包含氟基团。如本文所用，2'-OMe”都是指含糖的核苷在糖环的2'位包含-OCH₃基团。如本文所用，“2'-MOE”或”2'-OCH₂CH₂OCH₃”或“2'-O-甲氧基乙基”都是指含糖的核苷，该糖又在糖环的2'位包含-OCH₂CH₂OCH₃基团。

细则 91,
06.05.2024
- [0412]

如本文所用的术语“5'-末端核苷酸或3'-末端核苷酸”是指位于寡核苷酸或者寡核苷酸的5'-末端或3'-末端的核苷酸或核苷酸衍生物。

细则 91,
06.05.2024
- [0413]

如本文所用“寡核苷酸”是指从2个到2500个核苷酸不等的核苷酸的聚合形式。寡核苷酸可以是单链的或双链的；通常例如其中所述寡核苷酸用于基因疗法中，例如其中所述寡核苷酸是核酸抑制剂分子。某些实施方案中这些多个核苷酸中的一个或多个被修饰。本发明的上下文中的术语“寡核苷酸”指至少具有一个区域能与核酸分子杂交的聚合物。通常，寡核苷酸包含连接的单体亚单位的主链，所述连接单体亚单位、糖部分或替代物和杂环碱基部分的键合可被

细则 91,
06.05.2024

独立地修饰。所述键合的糖单元，其可能包含或不包含杂环碱基，可以用模拟物例如肽核酸单体代替。在寡核苷酸每个单体进行修饰或取代部分或全部单体的能力可产生大量可能的基序。术语“寡核苷酸”包括寡核苷酸类似物和寡核苷以及核苷酸模拟物和/或包含核酸和非核酸成分的混合聚合物。术语“寡核苷酸”还包括包含连接的单体亚单位的聚合物，其中所述单体亚单位包括核苷、修饰的核苷、核苷类似物、核苷模拟物以及非核酸组分如偶联基团。在某些实施方案中，单体亚单位的混合物(例如但不限于所列的那些)提供下述寡核苷酸，所述寡核苷酸对于如治疗和诊断的应用具有增强的性质。		
[0414]	寡核苷酸通常用常规线性制备，也被连接或以其它方式制备成环状，并且还可包含分支。寡核苷酸可形成双链构建体，例如，杂交形成双链组合物的双链。该双链组合物可被连接或分离并可在末端包含突出(overhangs)。	细则 91, 06.05.2024
[0415]	如本文所用“表达”是指基因借以最终产生蛋白质的过程。表达包括但不限于转录、剪接、转录后修饰和翻译。	细则 91, 06.05.2024
[0416]	如本文所用“反义寡核苷酸”是指为寡核苷酸的反义化合物。	细则 91, 06.05.2024
[0417]	如本文所用“靶核酸”是指其表达量或活性能够由反义化合物调节的任何核酸分子。在某些实施方案中靶核酸为DNA或RNA。在某些实施方案中靶RNA为mRNA、pre-mRNA、非编码RNA、pri-microRNA、pre-microRNA、成熟microRNA、启动子调控RNA或天然反义转录物。	细则 91, 06.05.2024
[0418]	如本文所用“靶mRNA”是指预先选择的编码蛋白质的RNA分子。	细则 91, 06.05.2024
[0419]	如本文所用“杂交”是指互补的寡核苷酸(例如，反义化合物及其靶核酸的配对。虽然不限于具体的机制，但最常见的配对机制涉及互补核苷或核苷酸碱基(核碱基)之间成氢键，其可以为Watson-Crick、Hoogsteen或反Hoogsteen氢键。例如天然核碱基腺嘌呤与天然核碱基胸腺嘧啶核苷和尿嘧啶为核碱基互补，它们通过形成氢键而配对。天然碱基鸟嘌呤是与天然碱基胞嘧啶和5-甲基胞嘧啶互补的核碱基。	细则 91, 06.05.2024
[0420]	在某些实施方案中，提供的寡核苷酸是单链寡核苷酸。在某些实施方案中，所述单链寡核苷酸是常规的反义寡核苷酸(又称ASO)、核糖酶或适体。在某些实施	细则 91, 06.05.2024

- 方案中，提供的寡核苷酸是双链核糖核酸(dsRNA)试剂，这类化合物本领域所熟知的双链核苷酸，其中一条或两条链为如本文所公开的寡核苷酸。
- [0421] 如本文所用，“反义化合物”“反义链”是指一种寡核苷酸，其至少一部分与和其杂交的靶核酸至少部分互补。在某些实施方案中，反义化合物调节(增加或减少)靶核酸的表达或量。在某些实施方案中，反义化合物改变靶pre-mRNA的剪接，从而导致不同的剪接变体。在某些实施方案中，反义化合物调节一种或多种不同靶蛋白的表达。本文设想的反义机制包括但不限于RNA酶H机制、RNA机制、前接调节、翻译阻断改变RNA加工、抑制microRNA功能或模拟microRNA功能。
- [0422] 本文中使用的术语“siRNA”是指短干扰RNA或沉默RNA。siRNA是一类双链siRNA RNA分子，其长度可以是20至25(或更短)个碱基对，与在RNA干扰(RNAi)途径中起作用的微RNA(miRNA)类似。siRNA通过在转录之后降解mRNA来干扰具有与siRNA互补的核苷酸序列的特定基因的表达，从而防止翻译。siRNA在细胞中通过诱导RNA诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)切割信使RNA(mRNA)来沉默基因表达。如本文所用，术语“单链寡核苷酸”是指具有与靶mRNA至少部分互补的序列、在哺乳动物生理条件下(或类似的体外条件下)能够通过氢键与靶mRNA杂交的单链低聚化合物。在一些实施方式中，单链寡核苷酸是单链反义寡核苷酸。
- [0423] 如本文所，除非另外指明或修正否则术语“双链”是指彼此杂交的两种单独的寡核苷酸。此类双链化合物可具有一条或两条链的一端或两端处的一个或多个非杂交核苷(悬垂)和/或一个或多个内部非杂交核苷(错配)，前提是存在足够的互补性以维持生理相关条件下的杂交。
- [0424] 如本文所用，术语“沉默”、“减少”、“抑制”、“下调”或“敲减”在指代给定基因的表达时，是指当用本文所述的RNAi药剂之类的低聚化合物处理细胞、细胞团、组织、器官或对象时，与未经如此处理的第二细胞、细胞团、组织、器官或对象相比，基因的表达有所减少，所述基因的表达通过由该基因转录而来的RNA的水平或由发生了该基因的转录的细胞、细胞团、组织、器官或对象内的mRNA翻译而来的多肽、蛋白质或蛋白质亚基的水平来测定。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

[0425]	如本文所用术语“自互补”或“发夹”是指包含通过寡核苷酸自我杂交而形成的双链体区域的单一寡核苷酸。	细则 91, 06.05.2024
[0426]	如本文所用术语“单链的”是指未与其互补序列杂交并且不具有足够的自互补性以在生理相关条件下形成发夹结构的寡核苷酸。单链化合物可以能够结合到其互补序列从而变成双链的或部分双链的化合物。	细则 91, 06.05.2024
[0427]	如本文所用,“靶mRNA”或“靶核酸”是指其表达、量或活性能够由反义化合物调节的任何核酸分子。在某些实施方案中,靶核酸为DNA或RNA。在某些实施方案中,靶RNA为mRNA、pre-mRNA、非编码RNA、pri-microRNA、pre-microRNA、成熟microRNA、启动子调控RNA或天然反义转录物。例如,靶核酸可以是其表达与特定疾病或疾病状态相关的细胞基因(或从基因转录的mRNA)、或为来自感染物的核酸分子。在某些实施方案中,靶核酸为病毒或细菌核酸。	细则 91, 06.05.2024
[0428]	如本文所用“核碱基互补性”、“互补的”或“互补性”在就核碱基而言时是指能够与另一核碱基进行碱基配对的核碱基。例如在DNA中腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)互补。例如在RNA中腺嘌呤(A)与尿嘧啶(U)互补。在某些实施方案中互补的核碱基是指能够与其靶核酸的核碱基进行碱基配对的反义化合物的核碱基。如本文所用“非互补的”在就核碱基而言时是指彼此不形成氢键或换句话说讲不支持杂交的一对核碱基。就连接的核苷寡核苷酸或核酸而言时是指寡核苷酸通过核碱基互补性与另一寡核苷酸或核酸杂交的能力。例如,dsRNA试剂第一核苷酸序列如正义链或靶标靶基因mRNA与第二核苷酸序列(例如,dsRNA试剂反义链或单链反义多核苷酸)的相关性时,是指包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸杂交[在哺乳动物生理条件(或体外类似条件)下形成碱基对间氢键]、并且在某些条件下形成双螺旋或双螺旋结构的能力。其中也可以应用其他条件,例如在生物体内可能遇到的生理相关条件。技术人员将能够根据杂交核苷酸的最终应用确定最适合测试两个序列互补性的条件集。互补序列包括沃森-克里克碱基对或非沃森-克里克碱基对,并且包括天然或修饰的核苷酸或核苷酸模拟物,只要至少达到上述杂交要求的程度即可。序列同一性或互补性与修饰无关。	细则 91, 06.05.2024

[0429] 在某些实施方案中寡核苷酸的核碱基序列的至少一部分与靶核酸的一部分互补或者完全互补。在某些实施方案中与靶核酸100%互补。在某些实施方案中与靶核酸90%互补。在某些实施方案中与靶核酸80%互补。在某些实施方案中与靶核酸90%互补。在某些实施方案中与靶核酸70%互补。在某些实施方案中与靶核酸90%互补。在某些实施方案中与靶核酸60%互补。例如，在如本文所述的靶基因dsRNA内的互补序列包含含有第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸与含有第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸在一个或两个核苷酸序列的全长上的碱基配对。此类序列在本文中可被称为彼此“完全互补”。应当理解，在设计两个寡核苷酸以在杂交时形成一个或多个单链突出端的实施方案中，这种突出端在本文中不被视为基于互补性确定的错配。例如，靶基因dsRNA试剂包含一个长度为19个核苷酸的寡核苷酸和另一个长度为20个核苷酸的寡核苷酸，其中较长的寡核苷酸包含与较短的寡核苷酸完全互补的19个核苷酸的序列，出于本文所述的目的，此种情况可以称为“完全互补”。因此，如本文所用，“完全互补”是指第一多核苷酸的连续序列中的所有(100%)碱基会与第二多核苷酸的连续序列中的相同数目的碱基杂交。连续序列可以包含第一或第二核苷酸序列的全部或部分。如本文所用，术语“基本互补”是指在核碱基序列的杂交对中，第一多核苷酸的连续序列中的碱基的至少约85%(但不是全部)会与第二多核苷酸的连续序列中相同数目的碱基杂交。如果两个序列在杂交时包含一个或多个错配碱基对，例如至少1、2、3、4或5个错配碱基对，则可以使用术语“基本上互补”来指第一序列相对于第二序列形成多达15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个碱基对(bp)的双链体，同时保留在与其最终应用最相关的条件下杂交的能力，例如，通过RISC途径抑制靶基因基因表达。术语“部分互补”在本文中可用于指核碱基序列的杂交对中，第一多核苷酸的连续序列中碱基的至少75%(但不是全部)会与第二多核苷酸的连续序列中相同数目的碱基杂交。在一些实施方案中，“部分互补”是指第一多核苷酸的连续序列中至少76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%

细则 91,
06.05.2024

或99%的碱基会与第二多核苷酸的连续序列中相同数量的碱基杂交。术语“互补”、“完全互补”、“基本互补”和“部分互补”在本文中使用时可用于指dsRNA试剂的正义链与反义链之间的碱基匹配、dsRNA试剂的反义链与靶mRNA的序列之间的碱基匹配，或单链反义寡核苷酸与靶mRNA序列之间的碱基匹配。应当理解，术语“dsRNA试剂的反义链”可以指与“反义多核苷酸试剂”相同的序列。

[0430] 如本文所用“错配”，本领域技术人员已知，对于dsRNA的功效而言，错配是可以容忍的，尤其是错配在dsRNA的末端区域内的情况。某些错配具有更好的耐受性，例如具有摆动碱基对G:U和A:C的错配对功效的耐受性更好(Du et al.,A systematic analysis of the silencing effects of an active siRNA at all single-nucleotide mismatched target sites.Nucleic Acids Res.2005Mar 21; 33(5):1671-7.Doi:10.1093/nar/gki312.Nucleic Acids Res.2005; 33(11):3698)。

细则 91,
06.05.2024

[0431] 如本文所用“基序”“序列”是如本文所用，是指核碱基或核苷酸的顺序或次序，使用标准核苷酸命名法以字母顺序表示。

细则 91,
06.05.2024

[0432] 在某些实施方案中，本发明提供包含任何多种长度范围的寡核苷酸。在某些实施方案中，寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)中，单链、正义链和/或反义链任意一条链均分别包含8-40核苷酸长度。在某些实施方案中，寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)中，单链、正义链和/或反义链任意一条链均分别包含15-30核苷酸长度。例如在某些实施方案中，寡核苷酸核苷酸长度选自8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、和40。例如在某些实施方案中本发明提供寡核苷酸核苷酸长度范围其包含由8至9、8至10、8至11、8至12、8至13、8至14、8至15、8至16、8至17、8至18、8至19、8至20、8至21、8至22、8至23、8至24、8至25、8至26、8至27、8至28、8至29、8至30、9至10、9至11、9至12、9至13、9至14、9至15、9至16、9至17、9至18、9至19、9至20、9至21、9至22、9至23、9至24、9至25、9至26、9至27、9至28、9至29、9至30、10至11、10至12、10至13、10至14、10至15、10至16、10至17、10至18、10至19、10至20、10至21、10至22、10至23、10至24、10至25、10至26、10至27、10至28、10至29、10至30、11至12、11至13、11至14、11至

细则 91,
06.05.2024

15、11至16、11至17、11至18、11至19、11至20、11至21、11至22、11至23、11至24、11至25、11至26、11至27、11至28、11至29、11至30、12至13、12至14、12至15、12至16、12至17、12至18、12至19、12至20、12至21、12至22、12至23、12至24、12至25、12至26、12至27、12至28、12至29、12至30、13至14、13至15、13至16、13至17、13至18、13至19、13至20、13至21、13至22、13至23、13至24、13至25、13至26、13至27、13至28、13至29、13至30、14至15、14至16、14至17、14至18、14至19、14至20、14至21、14至22、14至23、14至24、14至25、14至26、14至27、14至28、14至29、14至30、15至16、15至17、15至18、15至19、15至20、15至21、15至22、15至23、15至24、15至25、15至26、15至27、15至28、15至29、15至30、16至17、16至18、16至19、16至20、16至21、16至22、16至23、16至24、16至25、16至26、16至27、16至28、16至29、16至30、17至18、17至19、17至20、17至21、17至22、17至23、17至24、17至25、17至26、17至27、17至28、17至29、17至30、18至19、18至20、18至21、18至22、18至23、18至24、18至25、18至26、18至27、18至28、18至29、18至30、19至20、19至21、19至22、19至23、19至24、19至25、19至26、19至27、19至28、19至29、19至30、20至21、20至22、20至23、20至24、20至25、20至26、20至27、20至28、20至29、20至30、21至22、21至23、21至24、21至25、21至26、21至27、21至28、21至29、21至30、22至23、22至24、22至25、22至26、22至27、22至28、22至29、22至30、23至24、23至25、23至26、23至27、23至28、23至29、23至30、24至25、24至26、24至27、24至28、24至29、24至30、25至26、25至27、25至28、25至29、25至30、26至27、26至28、26至29、26至30、27至28、27至29、27至30、28至29、28至30或9至30个连接的核苷组成的寡核苷酸。在其中限制寡核苷酸或寡核苷酸的核苷数的实施方案无论是针对某一范围还是针对具体的数值寡核苷酸或寡核苷酸都可进一步包含另外的其它取代基。例如包含8-30个核苷的寡核苷酸不包括具有31个核苷的寡核苷酸，但是除非另外指明否则这种寡核苷酸可进一步包含例如一个或多个共轭物、末端基团或其它取代基，本文中的单体一般认为是寡核苷酸进一步包含的末端基团。在某些实施方案中末端基团包括但不限于末端基团核苷。在此类实

施方案中末端基团与寡核苷酸的末端核苷不同地修饰从而将此类末端基团与寡核苷酸的核苷区别开来。

[0433] 一些实施方式中，至少一个或每个所述靶向基团选自包含能够和哺乳动物肝实质细胞表面受体结合的配体。在一些实施方式中，每个所述靶向基团独立地为包含与哺乳动物肝细胞表面的去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)亲和的配体。在一些实施方式中，每个所述靶向基团独立地为包含去唾液酸糖蛋白或糖的配体。在一些实施方式中，每个所述靶向基团独立地为包含去唾液酸糖蛋白的配体，例如去唾液酸血清类粘蛋白(asialoorosomucoid, ASOR)或去唾液酸始球蛋白(asialofetuin, ASF)。在一些实施方式中，每个所述靶向基团独立地包含选自D-吡喃甘露糖、L-吡喃甘露糖、D-阿拉伯糖、D-呋喃木糖、L-呋喃木糖、D-葡萄糖、L-葡萄糖、D-半乳糖、L-半乳糖、 α -D-呋喃甘露糖、 β -D-呋喃甘露糖、 α -D-吡喃甘露糖、 β -D-吡喃甘露糖、 α -D-吡喃葡萄糖、 β -D-吡喃葡萄糖、 α -D-呋喃葡萄糖、 β -D-呋喃葡萄糖、 α -D-呋喃果糖、 α -D-吡喃果糖、 α -D-吡喃半乳糖、 β -D-吡喃半乳糖、 α -D-呋喃半乳糖、 β -D-呋喃半乳糖、葡萄糖胺、唾液酸、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺、N-三氟乙酰半乳糖胺、N-丙酰半乳糖胺、N-正丁酰半乳糖胺、N-异丁-3-酰半乳糖胺、2-氨基-3-O-[(R)-1-羧乙基]-2-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖、2-脱氧-2-甲基氨基-L-吡喃葡萄糖、4,6-二脱氧-4-甲酰胺基-2,3-二-O-甲基-D-吡喃甘露糖、2-脱氧-2-磺氨基-D-吡喃葡萄糖、N-乙醇酰基- α -神经氨酸、5-硫代- β -D-吡喃葡萄糖、2,3,4-三-O-乙酰基-1-硫代-6-O-三苯甲基- α -D-吡喃葡萄糖苷甲酯、4-硫代- β -D-吡喃半乳糖、3,4,6,7-四-O-乙酰基-2-脱氧-1,5-二硫代- α -D-吡喃葡萄糖苷乙酯、2,5-脱水-D-阿洛糖腈、核糖、D-核糖、D-4-硫代核糖、L-核糖、L-4-硫代核糖中的一种的配体。

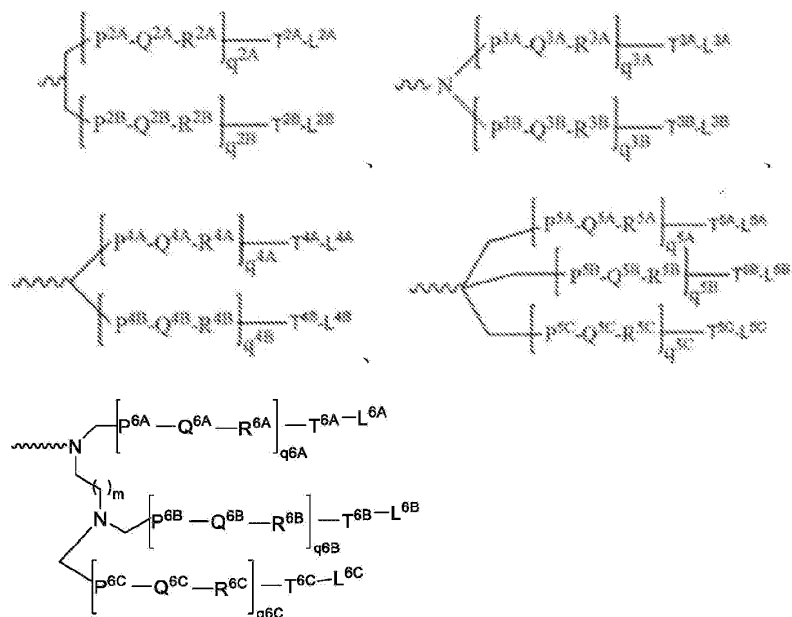
[0434] 在一些实施方式中，至少一个或每个所述靶向基团为包含半乳糖或N-乙酰半乳糖胺的配体。

[0435] 在一些实施方式中，靶向基团包括通过二价或三价分支接头经合适的系链结合的一个或多个“GalNAc”(N-乙酰半乳糖胺)衍生物。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024



[0436] 其中:

[0437] q^{2A} 、 q^{2B} 、 q^{3A} 、 q^{3B} 、 q^{4A} 、 q^{4B} 、 q^{5A} 、 q^{5B} 、 q^{5C} 、 q^{6A} 、 q^{6B} 和 q^{6C} 每次出现独立地表示0-20, 并且其中的重复单元可以相同或不同;

[0438] P^{2A} 、 P^{2B} 、 P^{3A} 、 P^{3B} 、 P^{4A} 、 P^{4B} 、 P^{5A} 、 P^{5B} 、 P^{5C} 、 P^{6A} 、 P^{6B} 、 P^{6C} 、 T^{2A} 、 T^{2B} 、 T^{3A} 、 T^{3B} 、 T^{4A} 、 T^{4B} 、 T^{4C} 、 T^{5A} 、 T^{5B} 、 T^{5C} 、 T^{6A} 、 T^{6B} 、 T^{6C} 每次出现各自独立地表示: 不存在、CO、NH、O、S、OC(=O)、NHC(=O)、CH₂、CH₂NH或CH₂O;

[0439] Q^{2A} 、 Q^{2B} 、 Q^{3A} 、 Q^{3B} 、 Q^{4A} 、 Q^{4B} 、 Q^{5A} 、 Q^{5B} 、 Q^{5C} 、 Q^{6A} 、 Q^{6B} 、 Q^{6C} 每次出现独立地表示: 不存在、亚烷基、取代的亚烷基, 其中一个或多个亚甲基可以被如下一个或多个基团所中断或终止, O、S、S(=O)、SO₂、NH、C(R')=C(R'')、C≡C or C(=O);

[0440] R^{2A} 、 R^{2B} 、 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 、 R^{4B} 、 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} 、 R^{6A} 、 R^{6B} 、 R^{6C} 每次出现各自独立地表示: 不存在、NH、O、S、CH₂、C(O)O、C(O)NH、NHCH(R⁴)C(O)、-C(O)-CH(R³)-NH-、CO、CH=N-O或杂环基;

[0441] L^{2A} 、 L^{2B} 、 L^{3A} 、 L^{3B} 、 L^{4A} 、 L^{4B} 、 L^{5A} 、 L^{5B} 、 L^{5C} 、 L^{6A} 、 L^{6B} 和 L^{6C} 每次出现各自独立地表示: 单糖(诸如GalNAc)、二糖、三糖、四糖、寡糖、或多糖。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

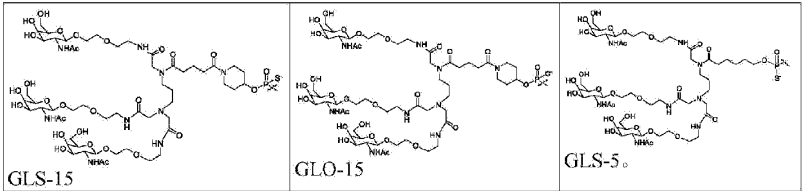
细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

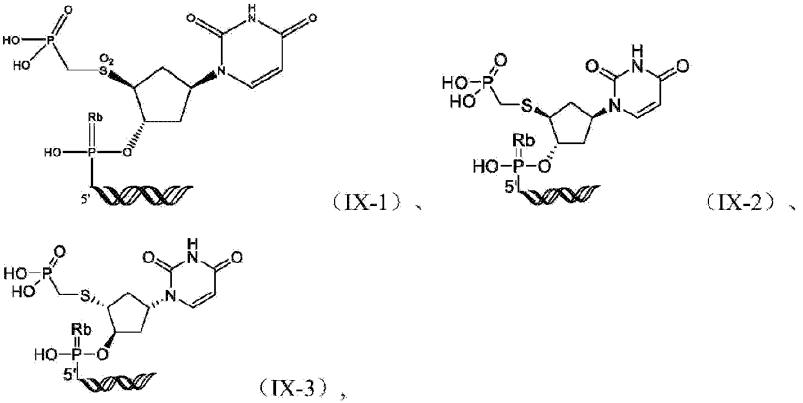
细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

[0442] 在一些非限制性实施例中，本文所述的寡核苷酸，靶向基团选自以下化合物片段之一：



[0443] 在一些非限制性实施例中，本文所述的寡核苷酸，双链RNA(dsRNA)中反义链包含5'-末端化合物(或末端核苷酸)具有式(IX-1)或(IX-2)所表示：



[0444]  表示双链RNA(dsRNA)其余部分，Rb如前文所述。

[0445] 当5'-磷酸酯修饰的核苷类似物是本文所述的亚磷酰胺化合物的形式时，可以采用本领域公知的核苷酸的亚磷酰胺合成方法将其用于连接5'-磷酸酯修饰的核苷类似物。5'-磷酸酯修饰的核苷类似物可以通过如下方式制备成亚磷酰胺化合物：将亚磷酰胺形成剂的磷原子通过偶联(例如磷酸化)反应进行连接，从而形成亚磷酰胺化合物。在一些实施方式中，5'-磷酸酯修饰的核苷类似物—亚磷酰胺化合物用于将5'-磷酸酯修饰的核苷类似物与双链RNA的反义链的5'末端连接。

[0446] 本文所述的寡核苷酸包含一个或多个不对称中心并且因而产生对映体、非对映体和其它立体异构构型就绝对立体化学而言这些构型可被定义为(R)或(S)、 α 或

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

β 诸如针对糖异头物或定义为(D)或(L)诸如针对氨基酸等。在本文提供的寡核苷酸中包括所有此类可能的同分异构体以及它们的外消旋形式和任选纯的形式。

[0447] 在某些实施方案中，提供了抑制基因表达的方法，该方法包括：使细胞与包括具有上文所提供的寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)试剂接触，其中该寡核苷酸以及该双链核糖核酸(dsRNA)试剂中的正义链和反义链均包含8-40核苷酸长度，并且该寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)试剂中的反义链与靶RNA互补。在某些实施方案中，细胞在动物中。在某些实施方案中，细胞在人中。在某些实施方案中，靶RNA选自mRNA、pre-mRNA和micro RNA。在某些实施方案中，靶RNA为mRNA。在某些实施方案中，靶RNA为人mRNA。在某些实施方案中，靶RNA被裂解，从而抑制其功能。在某些实施方案中，该方法进一步包括检测靶RNA的水平。在某些实施方案中，提供了抑制基因表达的方法，该方法包括：使一种或多种细胞或组织与包括具有(V)、式(V-1)、式(V-2)、式(VI)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、式(VII)、式(VII-1)、式(VII-2)、式(VIII)、式(VIII-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸的寡核苷酸或者双链核糖核酸(dsRNA)接触。

细则 91,
06.05.2024

[0448] dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂的治疗制剂可以通过将具有所需纯度的分子或化合物与任选的药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂[Remington's Pharmaceutical Sciences 21st edition,(2006)]以冻干制剂或水溶液的形式混合来制备用于储存。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度下对接受者是无毒的，并且包括缓冲剂，例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸和蛋氨酸；防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵；六甲铵氯化物；苯扎氯铵、苄索氯铵；苯酚、丁醇或苯甲醇；对羟基苯甲酸酯类，例如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯；邻苯二酚；间苯二酚；环己醇；3-戊醇；和间甲酚)；低分子量(少于约10个残基)多肽；蛋白质，例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂如EDTA；蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇等

细则 91,
06.05.2024

	糖类；形成盐的反离子，如钠；金属配合物(例如，锌-蛋白质配合物)；和/或非离子表面活性剂，例如TWEEN®、PLURONICS®或聚乙二醇(PEG)。	
[0449]	给药方式	细则 91, 06.05.2024
[0450]	在一些实施方案中，施用化合物的组织是其中存在或可能出现靶基因相关疾病或病症的组织，其非限制性实例是肝脏或肾脏。直接组织给药可以通过直接注射或其他方式实现。许多口服递送的化合物自然进入并通过肝脏和肾脏，本发明的治疗方法的一些实施方案包括向对象口服施用一种或更多种靶基因dsRNA试剂。dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸剂，单独或与其他治疗剂联合，可以施用一次，或者它们可以多次施用。如果多次给药，靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸剂可以通过不同途径给药。例如，虽然不打算限制，第一次(或前几次)给药可以通过皮下方式进行，并且一次或更多次额外给药可以是口服和/或全身给药。	细则 91, 06.05.2024
[0451]	对于其中希望全身性施用靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸剂的本发明实施方案，可以配制靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸剂用于通过注射例如通过推注或连续输注肠胃外施用。注射制剂可以以单位剂型存在，例如安瓿或多剂量容器，其添加或不添加防腐剂。靶基因dsRNA试剂制剂(也称为药物组合物)可采用油性或水性载体中的混悬液、溶液或乳液等形式，并且可含有配制剂，例如混悬剂、稳定剂和/或分散剂。	细则 91, 06.05.2024
[0452]	肠胃外给药的制剂包括无菌水溶液或非水溶液、混悬液和乳液。非水溶剂的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油和可注射的有机酯如油酸乙酯。水性载体包括水、酒精/水溶液、乳液或混悬液，包括盐水和缓冲介质。肠胃外载体包括氯化钠溶液、林格氏葡萄糖溶液、葡萄糖和氯化钠溶液、乳酸林格氏液或固定油。静脉内赋形剂包括流体和营养补充剂、电解质补充剂(例如基于林格氏葡萄糖溶液的那些)等。也可以存在防腐剂和其他添加剂，例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体等。其他形式的给药，例如静脉给药，将导致较低的剂量。如果对象在初始剂量下的反应不足，则可以在患者耐受性允许的范围	细则 91, 06.05.2024
	内采用更高的剂量(或通过不同的、更局部的递送途径有效地提高剂量)。可以根	

- 据需要每天使用多次剂量以实现一种或更多种靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂的适当全身或局部水平，并实现靶基因活性的适当降低。
- [0453] 在其他实施方案中，本发明的方法包括使用递送载体，例如生物相容性微粒、纳米颗粒或适合植入受体例如对象的植入物。PCT公开WO 95/24929(通过引用并入本文)中描述了可根据该方法使用的示例性可生物降解植入物，其描述了用于包含生物大分子的生物相容的、可生物降解的聚合物基质。
- [0454] 不可生物降解的和可生物降解的聚合物基质都可用于本发明的方法中，以将一种或更多种靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂递送给对象。在一些实施方案中，基质可以是可生物降解的。基质聚合物可以是天然或合成聚合物。可以基于期望释放的时间段来选择聚合物，通常在几小时到一年或更长时间的数量级。通常，可以使用在几小时到三到十二个月之间的一段时间内的释放。聚合物任选地呈水凝胶形式，其可以吸收高达其重量约90%的水，并且还任选地与多价离子或其他聚合物交联。
- [0455] 通常，靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂在本发明的一些实施方案中可以使用可生物降解的植入物通过扩散或通过聚合物基质的降解来递送。用于这种用途的示例性合成聚合物是本领域公知的。使用本领域已知的方法，可生物降解的聚合物和不可生物降解的聚合物可用于递送靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂。生物黏附聚合物如可生物侵蚀的水凝胶(H.S.Sawhney, C.P.Pathak and J.A.Hubell in *Macromolecules*, 1993, 26, 581–587)也可用于递送靶基因sRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂，以治疗靶基因相关疾病或病症。其他合适的递送系统可以包括定时释放、延迟释放或持续释放递送系统。此类系统可避免重复施用靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸剂，从而提高对象和医疗保健专业人员的便利性。许多类型的释放递送系统是可行的并且是本领域普通技术人员已知的。见例如美国专利No.5,075,109、4,452,775、4,675,189、5,736,152、3,854,480、5,133,974和5,407,686。此外，可以使用基于泵的硬件输送系统，其中一些也适用于植入。
- [0456] 长期持续释放植入物的使用可以适用于对象的预防性治疗和具有发生复发性靶基因)相关疾病或病症的风险的对象。如本文所用，长期释放是指将植入物构建
- 细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

- 和布置成以至少长达10天、20天、30天、60天、90天、六个月、一年或更长时间递送治疗水平的靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂。长期持续释放植入物是本领域普通技术人员众所公知的并且包括上述的一些释放系统。
- [0457] 有效量
- [0458] 在一些方面，本发明的方法包括将细胞与有效量的dsRNA试剂或反义多核苷酸试剂接触以减少所接触细胞中的基因表达。本发明方法的某些实施方案包括以有效降低基因表达和治疗对象的相关疾病或病症的量向对象施用dsRNA试剂或反义多核苷酸剂。就减少的表达和/或用于治疗相关疾病或病症而言，所使用的“有效量”是实现所需生物学效果所必需或足够的量。例如，治疗相关疾病或病症的dsRNA试剂或反义多核苷酸试剂的有效量可以是：(i)减缓或停止疾病或病症的进展所需的量；(ii)逆转、减少或消除疾病或病症的一种或更多种症状。在本发明的一些方面，有效量是当施用于需要治疗相关疾病或病症的对象时，导致疾病或病症的预防和/或治疗的治疗响应的dsRNA试剂或反义多核苷酸剂的量。根据本发明的一些方面，有效量是本发明的dsRNA试剂或反义多核苷酸试剂当与针对相关疾病或病症的另一种治疗性治疗组合或共同施用时，导致预防和/或治疗该疾病或病症的治疗响应的量。在本发明的一些实施方案中，用本发明的dsRNA试剂或反义多核苷酸试剂治疗对象的生物学效应可以由相关疾病或病症引起的症状的改善和/或完全消除。在本发明的一些实施方案中，生物学效应是相关疾病或病症的完全消除，例如通过指示对象没有相关疾病或病症的诊断测试来证明。在一些实施方案中，有效量是导致所需响应的量，例如减少细胞、组织和/或患有疾病或病症的对象中的相关疾病或病症的量。本发明的一些实施方案包括确定向对象施用的本发明的靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂来治疗靶基因相关疾病或病症之功效的方法，其通过评估和/或监测对象中靶基因相关疾病或病症的一种或更多种“生理特征”来进行。靶基因相关疾病或病症的生理特征的非限制性实例是许多患者
- [0459] 应当认识到，基因沉默可以在表达的任何细胞中通过组成型或通过基因组工程进行，并通过任何合适的测定来确定。在本发明的一些实施方案中，通过施用本发明的dsRNA试剂，靶基因表达降低至少5%、6%、7%、8%、9

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。在本发明的一些实施方案中，通过施用本发明的dsRNA试剂，靶基因表达减少5%至10%、5%至25%、10%至50%、10%至75%、25%至75%、25%至100%或50%至100%。		
0460]	本发明中dsRNA试剂和反义多核苷酸试剂以足以靶基因表达的剂量在药物组合物中递送。在本发明的某些实施方案中，dsRNA试剂或反义多核苷酸剂的剂量为每千克接受者体重每天0.01至200.0毫克，一般为每天1至50mg/kg体重、5至40mg/kg体重、10至30mg/kg体重、1至20mg/kg体重、1至10mg/kg体重、4至15mg/kg体重，包括端值。	细则 91, 06.05.2024
0461]	在确定本发明的dsRNA试剂的递送剂量和时间时可以考虑多种因素。递送的dsRNA试剂或反义多核苷酸剂的绝对量将取决于多种因素，包括共同治疗、剂量数和个体对象参数，包括年龄、身体状况、体格大小和体重。这些是本领域普通技术人员众所公知的因素，并且可以通过常规实验解决。在一些实施方案中，可以使用最大剂量，即根据合理的医学判断的最高安全剂量。	细则 91, 06.05.2024
0462]	在一些实施方案中，本发明的方法可包括向对象施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个剂量的试剂或反义多核苷酸试剂。在一些情况下，可以至少每天、每隔一天、每周、每隔一周、每月等向对象施用药物化合物的剂量，可以每天给药一次或每天给药多于一次，例如在一个24小时周期内给药2、3、4、5或更多次。本发明的药物组合物可以每天给药一次；或者dsRNA试剂或反义多核苷酸试剂可以在一天中以适当的间隔以两个、三个或更多个亚剂量给药，或者甚至使用连续输注或通过控释制剂递送。在本发明方法的一些实施方案中，将本发明的药物组合物每天一次或更多次、每周一次或更多次、每月一次或更多次或每年一次或更多次施用给对象。	细则 91, 06.05.2024
0463]	本发明的某些实施方案包括含有dsRNA试剂或反义多核苷酸试剂和药学上可接受的载体的药物组合物的用途。包含dsRNA试剂或反义多核苷酸剂的药物组合物可用于本发明的方法中以降低细胞中的基因表达和活性，并可用于治疗相关疾病或病症。此类药物组合物可以基于递送方式来配制。用于递送方式的制剂	细则 91, 06.05.2024

的非限制性实例是：配制用于皮下递送的组合物、配制用于通过肠胃外递送全身给药的组合物、配制用于静脉内(IV)递送的组合物、配制用于鞘内递送的组合物、配制用于直接递送至脑中的组合物等。可以使用一种或更多种方式施用本发明的药物组合物以将dsRNA试剂或反义多核苷酸试剂递送到细胞中，例如：表面(例如，通过透皮贴剂)；肺部，例如通过吸入或吹入粉末或气雾剂，包括通过雾化器；气道内、鼻内、表皮和透皮、口服或肠胃外。肠胃外给药包括静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌肉内注射或输注；表皮下，例如通过植入装置；或颅内，例如通过实质内；鞘内或心室内施用。dsRNA试剂或反义多核苷酸剂也可以直接递送至靶组织，例如直接递送至肝脏、直接递送至肾脏等。可以理解的是，“递送dsRNA试剂”或“反义多核苷酸试剂”到细胞中分别包括递送dsRNA试剂或反义多核苷酸剂、直接在细胞中表达dsRNA试剂以及从递送到细胞中的编码载体表达dsRNA试剂，或使得dsRNA或反义多核苷酸试剂出现在细胞中的任何合适的方式。制剂的制备和使用以及用于递送抑制性RNA的手段是本领域公知的和常规使用的。

[0464] 在一些实施方案中，组合物还包含一种或更多种另外的治疗剂。本发明的组合物可包含一种或更多种dsRNA试剂和任选的一种或更多种药学上可接受的载体、递送剂、靶向剂、可检测标签等，根据本发明方法的一些实施方案可用的靶向剂的非限制性实例是将本发明的dsRNA试剂引导至和/或进入待治疗细胞的试剂。靶向剂的选择将取决于以下要素：相关疾病或病症的性质，以及靶细胞类型。在一个非限制性实例中，在本发明的一些实施方案中，可能需要将dsRNA试剂靶向至和/或进入肝细胞。应当理解，在本发明方法的一些实施方案中，治疗剂包含仅具有递送剂的dsRNA试剂，例如包含N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)的递送剂，而没有任何附加的连接元件。例如，在本发明的一些方面，dsRNA试剂可以连接到包含GalNAc的递送化合物上，并且包含在含有药学上可接受载体的组合物中，并且在没有任何连接至dsRNA试剂的可检测标记或靶向剂等的情况下施用至细胞或对象。

[0465] 在本发明的dsRNA试剂与一种或更多种递送剂、靶向剂、标记剂等一起施用和/或连接到其上的情况下，本领域技术人员能够了解并能够选择和使用适合

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

- 的试剂用于本发明的方法中。在本发明的某些方法中可以使用标记试剂来确定 dsRNA 试剂在细胞和组织中的位置，并且可用于确定已在本发明的方法中施用的包含 dsRNA 试剂的治疗组合物的细胞、组织或器官位置。接附和使用标记试剂如酶标记、染料、放射性标记等的手段是本领域公知的。应当理解，在本发明的组合物和方法的一些实施方案中，标记试剂连接至 dsRNA 试剂中所包含的正义多核苷酸和反义多核苷酸之一或两者。
- [0466] 在一些实施方案中，组合物被包装在药盒、容器、包装物、分配器、预填充注射器或小瓶中。药盒包含一种或更多种靶基因 dsRNA 试剂和/或靶基因反义多核苷酸试剂及其在本发明方法中的使用说明书的药盒也在本发明的范围内。本发明的药盒可包含可用于治疗靶基因相关疾病或病症的靶基因 dsRNA 试剂、靶基因正义多核苷酸和靶基因反义多核苷酸试剂中的一种或更多种。可以制备包含一种或更多种靶基因 dsRNA 试剂、靶基因正义多核苷酸和靶基因反义多核苷酸试剂的药盒以用于本发明的治疗方法。本发明药盒的组分可以以水性介质或冻干形式包装。本发明的药盒可以包含被分隔开以在其中封闭地收纳一个或更多个容器装置或一系列容器装置(例如试管、小瓶、烧瓶、瓶子、注射器等)的载体。第一容器装置或一系列容器装置可包含一种或更多种化合物，例如靶基因 dsRNA 试剂和/或靶基因正义或反义多核苷酸试剂。第二容器装置或一系列容器装置可包含靶向剂、标记剂、递送剂等，其可作为在本发明的治疗方法的实施方案中施用的靶基因 dsRNA 试剂和/或靶基因反义多核苷酸的一部分包括在内。
- [0467] 本发明的药盒还可包含说明书。说明书通常采用书面形式，并且将为执行由药盒体现的治疗和基于该治疗做出决定提供指导。
- [0468] 细胞、对象和对照
- [0469] 本发明的方法可以与细胞、组织、器官和/或对象结合使用。在本发明的一些方面，对象是人或脊椎动物哺乳动物，包括但不限于狗、猫、马、牛、山羊、小鼠、大鼠和灵长类动物，例如猴。因此，本发明可用于治疗人和非人对象的靶基因相关疾病或病症。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

[0470] 在本发明的一些方面，对象可以是农场动物、动物园动物、驯养动物或非驯养动物，并且本发明的方法可用于兽医预防和治疗方案。在本发明的一些实施方案中，对象是人并且本发明的方法可用于人预防和治疗方案。	细则 91, 06.05.2024
[0471] 可应用本发明的对象的非限制性实例是被诊断患有、怀疑患有或有风险患有与以下疾病或病症相关的疾病或病症的对象：高于期望的靶基因表达和/或活性，也称为“升高的靶基因表达水平”。与高于期望水平的靶基因表达和/或活性相关的疾病和病症的非限制性实例在本文别处描述。本发明的方法可应用于在治疗时已被诊断为患有该疾病或病症的对象、与高于期望的靶基因表达和/或活性相关的对象，或被认为处于患有或发展与高于期望的靶基因表达和/或活性相关的疾病或病症的风险中的对象。在本发明的一些方面，与高于期望的靶基因表达和/或活性水平相关的疾病或病症是急性疾病或病症；在本发明的某些方面，与高于期望的靶基因表达和/或活性水平相关的疾病或病症是慢性疾病或病症。	细则 91, 06.05.2024
[0472] 在另一个非限制性实例中，将本发明的靶基因dsRNA试剂施用以治疗指因靶基因被激活导致或与其相关的疾病或障碍，或其症状或进展响应于靶基因失活的疾病或障碍。术语“靶基因相关疾病”包括因靶基因表达降低而受益的疾病、障碍或病症。	细则 91, 06.05.2024
[0473] 可应用本发明方法的细胞包括体外、体内、离体细胞。细胞可以在对象中、在培养物中和/或混悬液中，或处于任何其他合适的状态或条件中。可以应用本发明的方法的细胞可以是：肝脏细胞(liver cell)、肝细胞(hepatocyte)、心脏细胞、胰腺细胞、心血管细胞、肾细胞或其他类型的脊椎动物细胞，包括人和非人哺乳动物细胞。在本发明的某些方面，可应用本发明方法的细胞是健康的正常细胞，其未知为疾病细胞。在本发明的某些实施方案中，将本发明的方法和组合物应用于肝脏细胞、肝细胞、心脏细胞、胰腺细胞、心血管细胞和/或肾细胞的细胞。在本发明的某些方面，对照细胞是正常细胞，但应当理解，具有疾病或病症的细胞也可以在特定情况下用作对照细胞，例如在比较具有疾病或病症的经处理细胞与具有疾病或病症的未处理细胞的结果等的情况下。	细则 91, 06.05.2024

[0474] 根据本发明的方法，可以确定靶基因多肽活性的水平并将其与靶基因多肽活性的对照水平进行比较。对照可以是预定值，其可以采取多种形式。它可以是单个截止值，例如中位数或平均值。它可以基于比较组来建立，例如在具有正常水平的靶基因多肽和/或靶基因多肽活性的组和具有增加的靶基因多肽和/或靶基因多肽活性水平的组中。比较组的另一个非限制性实例可以是具有靶基因相关疾病或病症的一种或更多种症状或诊断的群体与没有疾病或病症的一种或更多种症状或诊断的群体；已对其施用本发明的siRNA治疗的对象组与未对其施用本发明的siRNA治疗的对象组。通常，对照可以基于适当年龄组中的明显健康的正常个体或明显健康的细胞。应当理解，除了预定值之外，根据本发明的对照可以是与实验材料平行测试的材料样品。示例包括来自对照群体的样品或通过制造产生的对照样品，以用于与实验样品进行平行测试。在本发明的一些实施方案中，对照可包括未用本发明的靶基因dsRNA试剂接触或处理的细胞或对象，在这种情况下，可以比较靶基因多肽和/或靶基因多肽活性的对照水平以及与本发明的靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂接触的细胞或对象中靶基因多肽和/或靶基因多肽活性的水平。

细则 91,
06.05.2024

[0475] 在本发明的一些实施方案中，对照水平可以是对象确定的靶基因多肽水平，其中将在不同时间为同一对象确定的靶基因多肽水平与该对照水平进行比较。在一个非限制性实例中，在从未接受过本发明的靶基因治疗的对象获得的生物样品中确定靶基因的水平。在一些实施方案中，生物样品是血清样品。从对象获得的样品中测定的靶基因多肽水平可作为对象的基线或对照值。在本发明的治疗方法中向对象施用一次或更多次靶基因dsRNA试剂之后，可以从对象获得一个或更多个另外的血清样品，并且可以将随后的一个或更多个样品中的靶基因多肽水平与对象的对照/基线水平进行比较。此类比较可用于评估对象中靶基因相关疾病或病症的发作、进展或消退。例如，从对象获得的基线样品中靶基因多肽的水平高于在给予对象本发明的靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂后从同一对象获得的水平，则表示靶基因相关疾病或病症的消退并且表示施用的本发明的靶基因dsRNA试剂治疗靶基因相关疾病或病症产生的功效。

细则 91,
06.05.2024

[0476] 在本发明的某些方面，为对象确定的靶基因多肽和/或靶基因多肽活性水平中的一个或更多个值可以作为对照值，并用于稍后在同一对象中比较靶基因多肽和/或靶基因活性水平，从而允许评估对象中“基线”靶基因多肽活性的变化。因此，将初始水平用作该对象的对照水平的情况下，初始靶基因多肽水平和/或初始靶基因多肽活性水平可以用于显示和/或确定本发明的方法和化合物在对象中所能降低对象中靶基因多肽和/或靶基因多肽活性的水平。

细则 91,
06.05.2024

[0477] 使用本发明的方法，可以将本发明的靶基因dsRNA试剂和/或靶基因反义多核苷酸试剂施用于对象。这样的dsRNAi试剂包括可以如下评估本发明的施用和治疗的功效：与先前时间点从对象获得的血清样品中靶基因多肽的给药前水平相比，或与非接触对照水平(例如对照血清样品中的靶基因多肽水平相比，当施用和治疗后，从对象获得的血清样品中靶基因多肽的水平降低至少0.5%、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多。应当理解，靶基因多肽的水平和靶基因多肽活性的水平都与靶基因表达的水平相关。本发明方法的某些实施方案包括以有效抑制靶基因表达的量向对象施用本发明的靶基因dsRNA和/或靶基因反义试剂，从而降低对象中靶基因多肽的水平并降低靶基因多肽活性的水平。在本发明的方法的一些实施方案中，细胞与本发明的siRNA试剂的接触(在本文中也称为处理)导致细胞中靶基因表达抑制至少约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%，例如，至低于化验检测水平。

细则 91,
06.05.2024

[0478]	本发明的一些实施方案包括从一个或多个对象获得的一个或多个生物样品中确定靶基因多肽的存在、不存在和/或量(本文也称为水平)。该测定可用于评估本发明的治疗方法的功效。例如,本发明的方法和组合物可用于确定生物样品中靶基因多肽的水平,该生物样品获自先前用施用本发明的靶基因dsNA试剂和/或靶基因反义剂治疗的对象。与先前时间点从对象获得的血清样品中靶基因多肽的给药前水平相比,或与非接触对照水平(例如对照血清样品中的靶基因多肽水平)相比,当施用和治疗后,从对象获得的血清样品中靶基因多肽的水平降低至少0.5%、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,则表明给予对象的治疗的功效水平。	细则 91, 06.05.2024
[0479]	在本发明的一些实施方案中,针对对象确定的靶基因相关疾病或病症的生理特征可以作为对照结果,并将同一对象在不同时间的生理特征的确定结果与对照结果进行比较。在一个非限制性实例中,病理特征溶血测量自从未给予本发明的靶基因治疗的对象,其可用作对象的基线或对照值。在本发明的治疗方法中向对象施用一次或更多次靶基因dsRNA试剂之后,血细胞分别与对象的对照/基线水平进行比较。此类比较可用于评估对象中靶基因相关疾病或病症的发作、进展或消退。例如,从对象获得的基线血细胞高于在对对象施用本发明的靶基因dsRNA试剂或靶基因反义多核苷酸试剂后从同一对象测定的血栓,则表示靶基相关疾病或病症的消退并且表示施用的本发明的靶基因dsRNA试剂治疗靶基因相关疾病或病症的功效。	细则 91, 06.05.2024
[0480]	本发明的一些实施方案包括使用例如但不限于以下方法确定靶基因关疾病或病症的生理特征的存在、不存在和/或变化:(1)测量对象的血细胞;(2)评估从一名或更多名对象获得的一份或更多份生物样品的生理特征;(3)或对对象进行身体检查。该测定可用于评估本发明的治疗方法的功效。	细则 91, 06.05.2024
[0481]	关于修饰	细则 91, 06.05.2024
[0482]	在本发明的一些实施方案中,基因RNAi剂的RNA被化学修饰以获得增强的稳定性和/或一种或更多种其他有益特性。本发明的某些实施方案中的核酸可以通过本领域公知的方法合成和/或修饰,例如,见“Current protocols	细则 91, 06.05.2024

in Nucleic Acid Chemistry,"Beaucage,S.L.et al.(Eds.),John Wiley&Sons,Inc.,New York,N.Y.,USA，其作为参考在此并入本文。可以存在于本发明的dsRNA试剂的某些实施方案中的修饰包括例如：(a)末端修饰，例如5'端修饰(磷酸化、缀合、反向连接等)、3'端修饰(缀合、DNA核苷酸、反向连接等)；(b)碱基修饰，例如用稳定碱基、去稳定碱基或与扩展的配偶体库进行碱基配对的碱基替换、缺失碱基(无碱基核苷酸)或缀合碱基；(c)糖修饰(例如，在2'位置或4'位置)或糖的替换；以及(d)骨架修饰，包括磷酸二酯键的修饰或替换。在本发明的dsRNA试剂、反义多核苷酸和正义多核苷酸的某些实施方案中可用的RNA化合物的具体实例包括但不限于包含修饰骨架或没有天然核苷间键联的RNA。作为非限制性实例，具有骨架修饰的RNA在骨架中可以不具有磷原子。在其核苷间骨架中没有磷原子的RNA可称为寡核苷。在本发明的某些实施方案中，修饰的RNA在其核苷间骨架中具有磷原子。

- [0483]

应当理解，术语“RNA分子”或“RNA”或“核糖核酸分子”不仅包括在自然界中表达或发现的RNA分子，还包括RNA的类似物和衍生物，其包含一种或更多种如本文所述或本领域已知的核糖核苷酸/核糖核苷类似物或衍生物。术语“核糖核苷”和“核糖核苷酸”在本文中可互换使用。RNA分子可以在核碱基结构或核糖-磷酸骨架结构中进行修饰(例如，如下文所述)，并且包含核糖核苷类似物或衍生物的分子必须保留形成双链体的能力。
- [0484]

提供以下实施例以说明本发明实践的具体实例，其并不旨在限制本发明的范围。对本领域普通技术人员来说明显的是，本发明可应用于多种组合物和方法。
- [0485]

约：如本文所用，如应用于所关注的一个或多个值的术语“约”或“大约”是指与所述的参考值类似的值。在某些实施方案中，除非另有说明或另外从上下文中明显看出，否则术语“约”或“大约”是指落入所述参考值在任一方向(大于或小于)上的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更少内的值的范围(除非这样的数值将超过可能值的100%)。

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

[0486]

本文中一些所用缩写“Ac”指乙酰基；缩写“Bn”指苄基；缩写“Bz”指苯甲酰基；缩写“DMTrCl”指4,4-二甲氧基三苯甲基氯；缩写“DMTr”指4,4-二甲氧基三苯甲基；缩写“TIIP”指四氢吡喃基；缩写“TBDMS”指叔丁基二甲基硅烷基；缩写：“TIPDS”指四异丙基二甲硅烷基；及缩写“DTBS”指二(叔丁基)甲硅烷基。

细则 91,
06.05.2024

附图说明

细则 91,
06.05.2024

[0487]

图1为Phos-15-1E-2((((1R,2R,4R)-4-(2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-2-羟基环戊基)硫代)甲基)膦酸二乙酯)的单晶X射线衍射图。

细则 91,
06.05.2024

具体实施例

细则 91,
06.05.2024

[0488]

提供以下实施例以说明实施本发明的具体实例，并不旨在限制本发明的范围。如对本领域普通技术人员显而易见的，本发明将在多种组合物和方法中得到应用。

细则 91,
06.05.2024

[0489]

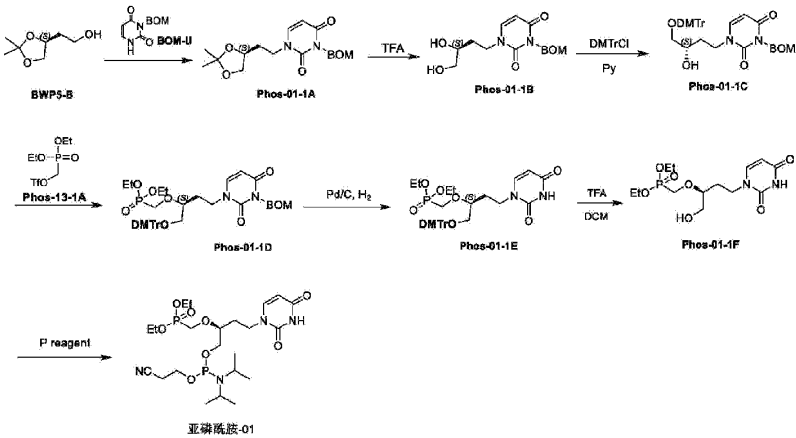
实施例1

细则 91,
06.05.2024

[0490]

亚磷酸胺-01的制备

细则 91,
06.05.2024



[0491]

Phos-01-1A的合成

细则 91,
06.05.2024

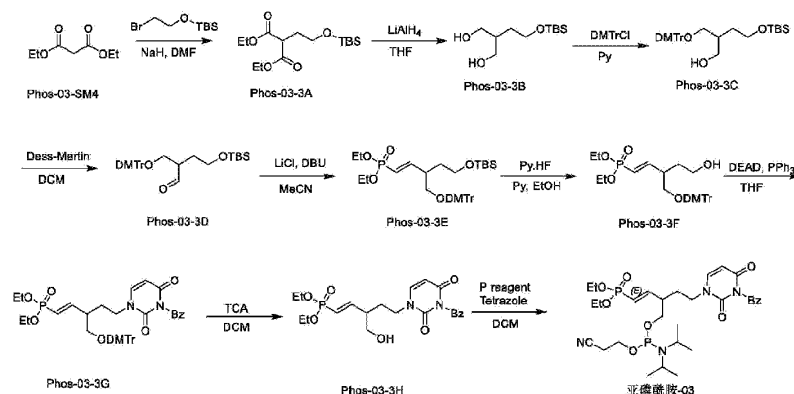
[0492]

向BWP5-B(3.71g, 1.5eq)的无水四氢呋喃溶液中加入PPh₃(8.87g, 2.0eq)，然后向上述混合物中加入DEAD(6.19g, 2.1eq)。在0℃下在氮气保护下搅拌30分钟后，向混合物中加入BOM-U(10.0g, 1.0eq)，搅拌反应16小时。TLC(Me

细则 91,
06.05.2024

OH:DCM=1:20, Rf=0.6)显示BOM-U被完全消耗。将CaBr ₂ (13.6g, 4.0eq.)加入上述混合物中, 室温搅拌16小时后, 过滤, 滤液减压浓缩, 其粗产物通过硅胶柱纯化(乙酸乙酯: 石油醚=0: 100至50:50)洗脱, 得到呈灰白色固体的Phos-01-1A(2.3g, 38%产率)。		
[0493]	MS(M+H)=361。	细则 91, 06.05.2024
[0494]	Phos-01-1B的合成	细则 91, 06.05.2024
[0495]	向Phos-01-1A(1.9g, 1.0eq)的水溶液(10mL)中加入三氟乙酸(10mL)。反应在室温下搅拌3h, TLC(MeOH:DCM=1: 20, Rf=0.3)检测显示Phos-01-1A被完全消耗。混合物在减压下浓缩, 粗产物通过硅胶柱纯化, 并用(MeOH:DCM=0: 100至1: 10)洗脱, 得到无色油状的Phos-01-1B(0.97g, 57%产率)。	细则 91, 06.05.2024
[0496]	MS(M+H)=321。	细则 91, 06.05.2024
[0497]	Phos-01-1C的合成	细则 91, 06.05.2024
[0498]	在0℃氮气环境下, 向Phos-01-1B(0.97g, 1.0eq.)的吡啶溶液中加入DMTr-Cl(1.13g, 1.1eq.), 将混合物在室温下搅拌16小时。TLC(MeOH:DCM=1: 20, Rf=0.9)显示Phos-01-1B被完全消耗, 混合物在减压下浓缩至干, 粗产物通过硅胶柱纯化, 并用(MeOH:DCM=0: 100至1: 20)洗脱, 得到棕色固体Phos-01-1C(0.75g, 40%产率)。	细则 91, 06.05.2024
[0499]	MS(M+H)=623。	细则 91, 06.05.2024
[0500]	Phos-01-1D的合成	细则 91, 06.05.2024
[0501]	在0℃在氮气环境下, 向Phos-01-1C(0.75g, 1.0eq)的干燥四氢呋喃溶液中加入NaH(139mg, 1.1eq), 并在0℃下搅拌30分钟。在0℃下向上述混合物中加入Phos-13-1A(1.3g, 3.0eq.), 并在室温下搅拌5小时。TLC(MeOH:DCM=1:20, Rf=0.7)显示Phos-01-1C被完全消耗。将反应液倒入饱和碳酸氢钠水溶液中, 并用乙酸乙酯萃取, 乙酸乙酯相用盐水洗涤并用无水硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂后, 滤液经减压浓缩至干。粗产物通过硅胶柱纯化, 并用(MeOH:DCM=0:100至1:25)洗脱, 得到黄色油状的Phos-01-1D(0.75g, 81%产率)。	细则 91, 06.05.2024

[0502]	MS(M+H)=773。	细则 91, 06.05.2024
[0503]	Phos-01-1F的合成	细则 91, 06.05.2024
[0504]	在氮气下, 向Phos-01-1D(0.75g, 1.0eq.)的异丙醇-水(10 : 1, 0.5 % 甲酸)溶液中加入Pd/C(300mg), 将该混合物在常压氢气下搅拌过夜。TLC(MeOH:DCM=1:20, Rf=0.3)显示Phos-01-1D被完全消耗。混合物经砂芯漏斗过滤, 滤液在减压下浓缩至干。粗产物通过硅胶柱纯化, 并用(MeOH:DCM=0:100至1:20)洗脱, 得到棕色固体Phos-01-1F(200mg, 59%产率)。	细则 91, 06.05.2024
[0505]	MS(M+H)=351。	细则 91, 06.05.2024
[0506]	亚磷酰胺-01	细则 91, 06.05.2024
[0507]	在室温下, 在氮气下向100mL烧瓶中加入20mL二氯甲烷和Phos-01-1F(400mg, 1.0eq.)。在室温下逐滴加入四氮唑(132mg, 1.65eq., 0.45M MeCN溶液), 然后将双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(775mg, 2.25eq.)的二氯甲烷(5mL)溶液逐滴加入上述反应混合物中, 并在室温下继续搅拌3小时。TLC(MeOH:DCM=1: 20, Rf=0.8)显示Phos-01-1D被完全消耗。将反应液冷却至0°C, 倒入饱和碳酸氢钠水溶液(100mL)中, 并用二氯甲烷(100mL*3)萃取, 用饱和食盐水(100mL)洗涤合并的有机层, 用无水硫酸钠干燥并减压浓缩。粗品通过硅胶柱纯化, 并用MeOH:DCM=0: 100至1: 100洗脱; 1% Et ₃ N)以得到无色油状的亚磷酰胺-01(190mg, 30%产率)。	细则 91, 06.05.2024
[0508]	¹ H NMR(400MHz, CD ₃ CN) δ 7.48(dJ=8.0Hz, 1H), 5.54(dJ=8.0Hz, 1H), 4.14-4.08(m, 4H), 3.89-3.67(m, 7H), 3.66-3.53(m, 4H), 2.66-2.63(m, 2H), 1.90-1.73(m, 2H), 1.20-1.38(m, 6H), 1.23-1.15(m, 12H).	细则 91, 06.05.2024
[0509]	MS(M+H)=551。	细则 91, 06.05.2024
[0510]	亚磷酰胺-03的制备	细则 91, 06.05.2024



[0511] 氮气保护下向500mL烧瓶中加入丙二酸二乙酯(32g, 0.2mol, 1.0eq.)和DMF(200mL), 溶液在搅拌冷却至0-5℃。然后分批加入钠氢(60%, 8.4g, 0.21mol, 1.05eq.), 加入钠氢过程中, 反应液温度从5℃逐渐升至15℃。将反应液降温至5℃继续搅拌20分钟, 然后将碘化钾(1.66g, 0.01mol, 0.05eq.)加入到混合物中, 并加入(2-溴乙氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(57.41g, 0.24mol, 1.2eq.)。将反应液加热至50℃并在氮气保护下搅拌过夜。TLC显示原料转化为新的主要产物。将反应混合物用饱和氯化铵溶液(250mL)淬灭并在0-25℃搅拌0.5小时。有机物用乙酸乙酯:石油醚(50:50, 500mL*2)萃取, 真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯化, 洗脱剂为(乙酸乙酯:石油醚=0%-20%)洗出产物。真空浓缩得到50.84g无色油状物phos-03-3A, 收率为79.8%。

细则 91,
06.05.2024

[0512] ¹H NMR:(400MHz,DMSO-d₆), δ ppm 4.13-4.07(q, 4H), 3.60(t, 2H), 3.50(t, 1H), 1.96-1.94(m, 2H), 1.20(t, 6H), 0.85(s, 9H), 0.00(s, 6H)。

细则 91,
06.05.2024

[0513] 向500mL烧瓶中加入四氢呋喃(100mL), 并在氮气保护下冷却至0℃, 然后加入四氢铝锂(0.077mol, 1.5eq.)。在0-5℃下将Phos-03-3A(16.4g, 0.0515mol, 1.0eq.)的四氢呋喃溶液(30mL)加入到反应液中, 将反应液于5℃搅拌1小时。TLC显示原料转化为新的主要产物。用100mL乙酸乙酯将反应混合物缓慢淬灭并在5-25℃下搅拌0.5小时。将混合物过滤通过用硅藻土薄层硅胶层。滤液经浓缩得粗品, 进一步硅胶柱纯化, 洗脱剂(0%-10% MeOH in DCM)洗出产物。真空浓缩得到4.8g黄色油状物Phos-03-3A, 收率39.8%。

细则 91,
06.05.2024

- [0514] ^1H NMR:(400MHz,DMSO- d_6), δ ppm 4.27(s,2H),3.62(t,2H),3.35-3.32(m,4H),1.56-1.53(m,1H),1.43-1.38(m,2H),0.84(s,9H),0.00(s,6H). 细则 91, 06.05.2024
- [0515] 向250mL烧瓶中加入吡啶(50mL)和Phos-03-3B(4.5g,0.019mol,1.0eq.), 在氮气保护下搅拌并冷却至0℃。然后加入DMTrCl(7.2g,0.021mol,1.15eq.), 室温下搅拌过夜。TLC显示原料转化为新的主要产物。减压蒸馏除去挥发物, 并通过硅胶柱纯化残余物, 洗脱剂(EA:PE:Py=1:8:0.2%)以洗出产物。产真空浓缩得到4.6g黄色油状物Phos-03-3C, 收率44.6%。 细则 91, 06.05.2024
- [0516] ^1H NMR:(400MHz,DMSO- d_6), δ ppm 7.45-7.39(m,5H),7.359-7.24(m,8H),4.48(s,1H),3.78(s,6H),3.57-3.40(m,4H),3.04(d,2H),1.89-1.83(m,1H),1.56-1.52(m,2H),0.86(s,9H),0.00(s,6H). 细则 91, 06.05.2024
- [0517] 向250mL烧瓶中加入二氯甲烷(40mL)和Phos-03-3C(4.6g,8.6mmol,1.0eq.),然后加入戴斯-马丁试剂(18.3g, 0.043mol, 5.0eq.)。在室温下将反应在氮气保护下搅拌2小时。TLC显示原料转化为新的主要产物。过滤溶剂并通过硅胶柱纯化滤液, 洗脱液(EA:PE:Py=3:100:0.2%)以洗出产物。真空浓缩得到4.0g黄色油状物Phos-03-3D, 收率87.0%。 细则 91, 06.05.2024
- [0518] 室温下向250mL烧瓶中加入乙腈(60mL)和氯化锂(523mg,1.2mmol,1.2eq.),氮气保护下加入四乙基亚甲基二磷酸酯(3.56g,1.2mmol,1.2eq.)和DBU(1.56g, 1.0mmol, 1.0eq.)和Phos-03-3D(5.5g, 1.0mmol, 1.0eq.), 室温下继续搅拌2小时。TLC显示原料转化为新的主要产物。旋蒸除去挥发物, 并通过硅胶柱纯化残余物, 洗脱剂(EA:PE:Py=1:4:0.2%)以洗出产物。真空浓缩产物得到4.0g淡黄色油状物Phos-03-3E, 收率59.8%。 细则 91, 06.05.2024
- [0519] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 7.42(dd,2H),7.33(t,2H),7.29-7.24(m,5H),6.91(d,4H),6.65(ddd,1H),5.87(s,1H),5.82(d,1H),5.78(s,1H),4.07(q,4H),3.77(s,6H),3.51(dd,2H),3.12(dd,1H),3.05-2.98(m,1H),2.67(d,1H),1.71-1.53(m,2H),1.27-1.23(m,6H),0.86(s,9H),0.00(d,6H). 细则 91, 06.05.2024
- [0520] 向250mL烧瓶中加入乙醇(15mL)、吡啶(4.0g, 51mmol, 8.43eq.)和Phos-03-3E(4.0g, 6mmol, 1.0eq.), 氮气保护下搅拌反应液并冷却至0℃, 将吡啶氢氟 细则 91, 06.05.2024

酸盐(3.0g,0.03mol,5.0eq.)加入烧瓶中。室温下将反应搅拌2小时。TLC显示原料消耗完全。旋蒸除去挥发物,并通过硅胶柱纯化残余物,洗脱剂(EA:PE=0%-80%,+0.2%吡啶)以洗出副产物,接着用5%-10%MeOH的DCM溶液洗出产物。真空浓缩得到2.44g无色油状物Phos-03-3F,收率71.6%。

[0521] ^1H NMR:(400MHz,DMSO- d_6), δ ppm 7.37-7.35(m,2H),7.32-7.

28(m,2H),7.24-7.20(m,5H),6.89-6.87(m,4H),6.64-6.52(m,1H),5.85-5.75(m,1H),4.42(s,1H),3.96-3.92(m,4H),3.74(s,6H),3.33-3.29(m,2H),3.06-2.93(m,2H),2.64(s,1H),1.58-1.48(m,2H),1.23-1.18(m,6H).

细则 91,
06.05.2024

[0522] 氮气保护下向100mL烧瓶中依次加入四氢呋喃(15mL)、三苯基磷(1.36g, 5.2mmol, 1.2eq.)、3-苯甲酰基尿嘧啶(1.12g, 5.2mmol, 1.2eq.)、偶氮二甲酸二乙酯(0.91g, 5.2mmol, 1.2eq.)和Phos-03-3F(2.4g, 4.3mmol, 1.0eq.), 反应在室温下搅拌过夜。LC-MS显示主要产物是所需产物。旋蒸除去挥发物,并通过硅胶柱纯化残余物,洗脱剂(EA:PE=0-80%,+0.2%Py)以洗出副产物。用含5%-10%MeOH的二氯甲烷溶液洗出产物。真空浓缩得到3.08g黄色固体Phos-03-3G,产率为95.1%。

细则 91,
06.05.2024

[0523] ^1H NMR:(400MHz,DMSO- d_6), δ ppm 8.59-8.57(m,1H),7.96(dd,2H),7.86(d,1H),7.79-7.75(m,1H),7.60(t,2H),7.35(d,2H),7.31(t,2H),7.24(d,4H),6.89(d,4H),6.64-6.52(m,1H),5.94-5.82(m,2H),3.96-3.88(m,4H),3.74(s,6H),3.68-3.63(m,2H),3.07-2.97(m,2H),2.56-2.53(m,1H),1.81-1.77(m,2H),1.19(t,6H).

细则 91,
06.05.2024

[0524] 向250mL烧瓶中加入二氯甲烷(50mL)和Phos-03-3G(3.0g, 4mmol, 1.0eq.)。在氮气保护下搅拌反应。然后加入三氯乙酸(1.5g, 13.2mmol, 3.3eq.), 将反应在室温下搅拌2小时。TLC发现没有原料残留。然后蒸馏反应混合物并通过硅胶柱纯化残余物,洗脱液(0%-7%MeOH in DCM)以洗出产物。真空浓缩得到1.3g无色油状物Phos-03-3H,收率72.2%。HNMR显示有三乙胺残留,通过反向快速柱纯化除去(C18, 40g, 40-63 μ m, 洗脱液, $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$, 0-30%洗出产物)。

细则 91,
06.05.2024

[0525] ^1H NMR:(400MHz,DMSO- d_6), δ ppm 7.96-7.94(m,2H),7.91(d,1H),7.81-7.76(m,1H),7.62-7.58(m,2H),6.60-6.48(m,1H),5.89-5.75(m,2H),

细则 91,
06.05.2024

	淀物，通过硅藻土过滤除去沉淀物，滤液用1.0M HCl和盐水洗涤，然后真空浓缩得到棕色油状物Phos-13-1A(61g, 203mmol, 68.3%收率)。	
[0530]	¹ H NMR:EC10615-62-P1N(400MHz,DMSO-d ₆) δ ppm 4.78(dJ=7.63Hz,2H),4.07-4.17(m,4H),1.25-1.30(m,6H).	细则 91, 06.05.2024
[0531]	在氮气环境下，在0℃下，向搅拌的四氢呋喃(50mL)中分批加入钠氢(60%纯度，787mg, 19.7mmol)，将化合物Phos-13-SM2(5.0g,24.6mmol)添加到溶液中并在0℃下搅拌45分钟。然后在0℃将Phos-13-1A(3.54g, 11.8mmol)加入到上述溶液中，保持此温度继续搅拌2.0小时，LC-MS显示反应完成。将反应混合物冷却至0-5℃并小心滴加至搅拌的饱和氯化铵溶液(80mL)中(保持温度低于0-5℃)，然后用乙酸乙酯(80mL*2)萃取，合并有机相，用盐水(80mL)洗涤，经无水硫酸氢钠干燥，并在减压下浓缩以获得残余物。残余物通过硅胶柱层析(100-200目硅胶)纯化，用甲醇：二氯甲烷(1：100:1：30)洗脱，得到棕色油状物Phos-13-1B(6.0g, 76.7%收率)。	细则 91, 06.05.2024
[0532]	在0-5℃下将HCl/二氧六环(4M, 30.0mL)加入到化合物Phos-13-1B(6.0g, 17.0mmol)的二氧六环(30mL)溶液中，然后将混合物在0-5℃下搅拌1.0小时，LC-MS显示反应完成。混合物用异丙醚(300mL*2)研磨并过滤得到固体，固体进一步经制备HPLC得到棕色油状的化合物Phos-13-1C(1.0g, 23.2%产率)。	细则 91, 06.05.2024
[0533]	¹ H NMR:EC10615-84-all3(400MHz,CHLOROFORM-d) δ ppm4.45(dJ=3.25Hz,1H),4.11-4.24(m,5H),3.98(dJ=9.13Hz,2H),3.48-3.56(m,1H),3.37-3.43(m,2H),3.23-3.28(m,1H),1.30-1.40(m,6H).	细则 91, 06.05.2024
[0534]	在25℃下将尿嘧啶(3.0g, 26.8mmol)和SOCl ₂ (5.0mL, 44.6mmol)添加到100mL反应瓶中，向其中加入ClSO ₃ H(8.0g,69.0mmol)并在室温搅拌1.5小时，升温至60℃并继续反应4.0小时，然后在75℃下搅拌7.0小时。TLC表明化合物尿嘧啶已完全消耗，并形成了一个新斑点。将反应混合物加入到冰和乙酸(1:1)的混合物中。过滤得到沉淀物，所得滤饼用纯化水反复洗涤并真空干燥得到白色粉末Phos-13-1D(1.0g, 4.75mmol, 17.7%收率)。	细则 91, 06.05.2024

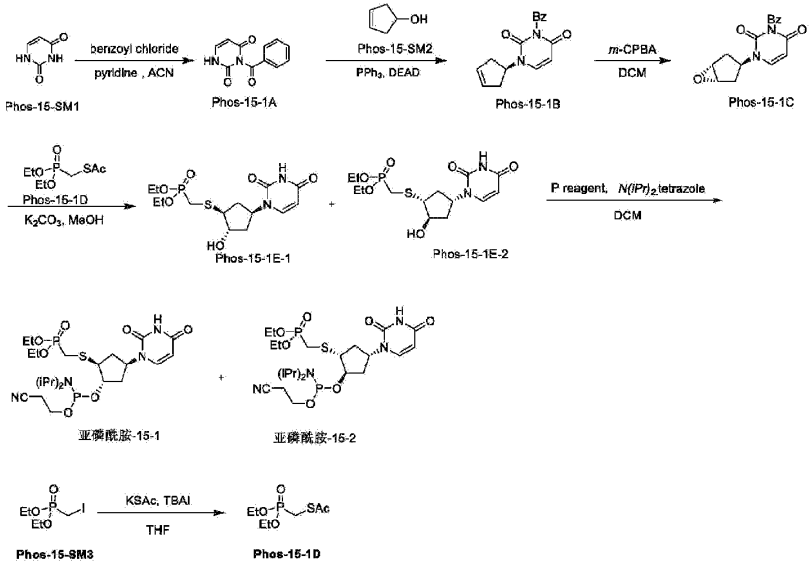
- [0535] ^1H NMR:EC4783-422-P1B1(400MHz,DMSO- d_6) δ ppm 11.02(br s,1H)10.88(br dJ=5.75Hz,1H)7.64(dJ=6.00Hz,1H).
- [0536] 在0-5℃下,向化合物Phos-13-1C(1.0g,3.95mmol)和三乙胺(1.20g,11.9mmol,1.65mL)的二氯甲烷(10mL)溶液中加入化合物Phos-13-1D(1.25g,5.92mmol)的二氯甲烷(5.0mL)溶液,随后将混合物在25℃搅拌1.0小时。LC-MS显示化合物Phos-13-1C已完全消耗,产生约50.9%的所需产物。所得反应混合物用水(20mL)稀释,用30% $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}/\text{DCM}$ (30mL*5)萃取,合并的有机层经无水硫酸钠干燥并真空浓缩得到残余物。残余物通过硅胶柱层析(100-200目硅胶)纯化,用甲醇:二氯甲烷(1:30~1:8)洗脱,得到白色固体Phos-13-1E(570mg,33.77%收率)。
- [0537] ^1H NMR:EC12346-4-P1B1-C(400MHz,CHLOROFORM- d) δ ppm 8.09(s,1H),4.21-4.25(m,1H),4.10-4.19(m,4H),3.82-3.98(m,3H),3.66-3.70(m,2H),3.58(ddJ=10.88,4.25Hz,1H),3.36(dJ=11.01Hz,1H),1.33-1.35(m,6H).
- [0538] 在氮气气氛下,向化合物Phos-13-1E(380mg,0.89mmol)和二异丙胺-四氮唑盐(167mg,0.98mmol)的二氯甲烷(1.0mL)溶液中加入双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(P试剂,804mg,2.67mmol,0.85mL)的二氯甲烷(0.5mL)溶液,将混合物在40℃下搅拌1.0小时。LC-MS显示化合物Phos-13-1E被完全消耗并且检测到所需产物。将所得反应混合物冷却至-20℃并倒入冷的(0-5℃)饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)中,用二氯甲烷(10mL*2)萃取,合并的有机层用冷(0-5℃)饱和碳酸氢钠水溶液/盐水(5mL/5mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥并真空浓缩得到残留物(~2.0mL)。残余物用异丙醚(20mL*2)研磨得到粗品,然后通过柱层析(碱性 Al_2O_3 ,甲醇:二氯甲烷=0/50至1/50,0.1%TEA)纯化得到白色固体亚磷酰胺-13(95mg,17.0%收率)。
- [0539] ^1H NMR:EC12346-6-P1Nre(400MHz,DMSO- d_6) δ ppm 9.75(br dJ=8.13Hz,1H),7.97(dJ=4.88Hz,1H),4.16-4.25(m,1H),4.01(quin,J=7.29Hz,5H),3.82(br ddJ=7.25,2.00Hz,2H),3.63-3.75(m,2H),3.44-3.58(m,4H),3.42(br s,1H),3.39(br

细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024

d,J=2.00Hz,1H),3.24(d,J=11.38Hz,1H),2.76(q,J=5.46Hz,2H),1.21(t,J=7.07Hz,6H),1.07–1.16(m,12H).

[0540] 对映体亚磷酰胺-15-1和对映体亚磷酰胺-15-2的制备

细则 91,
06.05.2024



[0541] 在0℃下，将苯甲酰氯(126g，893mmol，104mL)加入到含尿嘧啶(50.0g，446mmol)的吡啶(735g，9.29mol，750mL)和乙腈(1.50L)溶液中，反应液在20–25℃下搅拌12.0小时，TLC显示化合物尿嘧啶已完全消耗。将反应混合物真空浓缩得到残余物，残余物用冷水(1.0L)稀释，用乙酸乙酯(1.0L*3)萃取，合并的有机层用盐水(500mL)洗涤，经无水硫酸钠干燥得到残留物，通过柱色谱法(SiO₂，乙酸乙酯/石油醚=1/10至1/1)纯化残余物，得到白色固体Phos-15-1A(63g，65.3%收率)。

细则 91,
06.05.2024

[0542] ¹H NMR:EC4783–420–P1N(400MHz,DMSO–d₆) δ ppm 7.96(dd,J=8.4,1.2Hz,2H),7.76–7.81(m,1H),7.67(dd,J=7.6,5.6Hz,1H),7.58–7.64(m,2H),5.75(dd,J=7.6,1.2Hz,1H).

细则 91,
06.05.2024

[0543] 向Phos-15-SM2(4.0g,47.6mmol)和化合物Phos-15-1A(7.91g,36.6mmol)的四氢呋喃(80mL)溶液中加入三苯基磷(11.5g,43.9mmol)和偶氮二甲酸二乙酯(7.64g,43.9mmol,7.98mL)，混合物在20–25℃下搅拌16小时。LC–MS显示化合物Phos-15-1A被完全消耗。减压浓缩反应混合物以除去四氢呋喃。残余物用水

细则 91,
06.05.2024

(80mL)稀释,然后用乙酸乙酯(80mL*3)萃取,合并的有机相用盐水(80mL)洗涤,用无水硫酸钠干燥,减压浓缩。通过柱层析法(SiO_2 , $\text{MeOH}/\text{DCM}=0/10$ 至 $1/10$)纯化残余物以得到呈白色固体的化合物Phos-15-1B(14g, 粗产物)。

- [0544] 氮气保护下,化合物Phos-15-1B(7.0g, 9.30mmol)、间氯过氧苯甲酸(2.27g, 11.1mmol, 85%纯度)的二氯甲烷(70mL)混合物在 $0-5^\circ\text{C}$ 反应16小时, TLC显示化合物Phos-15-1B已完全消耗,并且检测到一个具有较低极性的主要新点。用饱和 NaHSO_3 和 NaHCO_3 溶液(1:1)缓慢调节反应混合物的pH至7~8,然后用乙酸乙酯(70mL*3)萃取,合并的有机相用盐水(700mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。残余物经硅胶柱层析(100~200目硅胶)纯化,乙酸乙酯:石油醚(1:30~1:1)洗脱,得到白色固体化合物Phos-15-1C(1.2g, 粗品)。

细则 91,
06.05.2024

- [0545] 向化合物Phos-15-SM3(4.0g, 14.4mmol)的四氢呋喃(24.0mL)溶液中加入KSAc(1.81g, 15.8mmol)和四丁基碘化铵(TBAI, 531.4mg, 1.44mmol),将混合物在 70°C 下搅拌4.0小时。LC-MS显示原料Phos-15-SM3被完全消耗,并且检测到具有所需目标分子分子量的一个主峰。将反应混合物冷却并减压浓缩,用短硅胶垫过滤除掉固体残余物,并用乙酸乙酯淋洗,滤液真空浓缩滤液,得到棕色油状物化合物Phos-15-1D(3.50g, 98.5%产率),化合物Phos-15-1D无需进一步纯化即可用于下一步。

细则 91,
06.05.2024

- [0546] ^1H NMR: EC11950-13-P1B(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3.96-4.07(m, 4H) 3.27(d, J=14.0Hz, 2H) 2.40(s, 3H) 1.22(t, J=7.2Hz, 6H).

细则 91,
06.05.2024

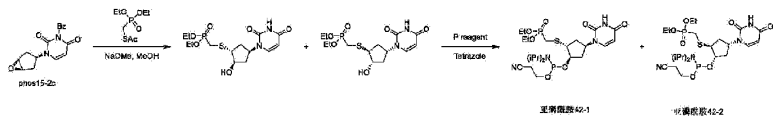
- [0547] 向化合物Phos-15-1C(1.20g, 4.02mmol)的乙醇(15.0mL)溶液中加入碳酸钾(1.11g, 8.05mmol)和化合物Phos-15-1D(1.91g, 8.45mmol),将混合物在 $20-25^\circ\text{C}$ 下搅拌3.0小时。TLC显示化合物Phos-15-1C已完全消耗,并检测到一个具有较大极性的主要新点。过滤所得反应混合物,用水(20mL)稀释,用二氯甲烷(20mL*3)萃取,合并的有机层经盐水洗涤,无水硫酸钠干燥并真空浓缩得到残余物。通过柱色谱法(SiO_2 , $\text{MeOH}/\text{DCM}=1/100$ 至 $10/100$)纯化残余物以得到呈棕色油状的化合物Phos-15-1E(1.00g, 65.7%收率, 对映体化合物-1E-1和化合物-1E-2的1:1混合物)。

细则 91,
06.05.2024

- [0548] ^1H NMR: EC10615-82-P1N1 (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.23(br s, 1H), 7.69(d, J = 8.0Hz, 1H), 5.58(dd, J = 8.0, 1.6Hz, 1H), 4.93(q, J = 8.8Hz, 1H), 3.96-4.17(m, 5H), 3.08-3.17(m, 1H), 3.03(dd, J = 14.0, 2.0Hz, 2H), 2.38-2.47(m, 1H), 2.04-2.07(m, 1H), 1.82-1.90(m, 1H), 1.56-1.59(m, 1H), 1.25(t, J = 6.8Hz, 6H). 细则 91,
06.05.2024
- [0549] 化合物Phos-15-1E可通过手性拆分获得对映体Phos-15-1E-1和Phos-15-1E-2, 拆分条件: DAICELCHIRALPAK AD 40mm柱, 140mL/min, 乙醇: 二氧化碳=35:75。可以理解的是, 当需要获得对映体亚磷酰胺-15-1或对映体亚磷酰胺-15-2时, 只要采用对应的对映体Phos-15-1E-1或Phos-15-1E-2为起始原料与磷试剂反应就可以获得。 细则 91,
06.05.2024
- [0550] 室温氮气气氛下, 向化合物Phos-15-1E(400mg, 1.06mmol)和二-异丙胺-四氮唑盐(199mg, 1.16mmol)的二氯甲烷(4.0mL)溶液中加入双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(P试剂, 956mg, 3.17mmol, 1.01mL)的二氯甲烷(0.5mL)溶液, 然后将混合物在40°C下搅拌1.0小时。LC-MS显示化合物Phos-15-1E已完全消耗, LC-MS上显示了几个新峰, 并检测到约80%的所需化合物。将所得反应混合物冷却至-20°C并倒入冷的(0-5°C)饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)中, 用二氯甲烷(10mL*2)萃取, 合并的有机层用冷(0-5°C)饱和碳酸氢钠水溶液/盐水(5mL/5mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 并真空浓缩得到残留物(~2.0mL)。残余物通过柱层析(碱性Al₂O₃, MeOH/DCM=1/80至1/40, 0.1%Et₃N)纯化以得到呈无色油状物的亚磷酰胺-15(350mg, 0.6mmol, 57.2%收率, 对映体亚磷酰胺-15-1和对映体亚磷酰胺-15-2的1:1混合物)。 细则 91,
06.05.2024
- [0551] 对映体亚磷酰胺-15-1或对映体亚磷酰胺-15-2, 可以由SFC分离纯化得到的对应的Phos-15-1E-1或Phos-15-1E-2为起始原料, 按照以上相同的过程获得。 细则 91,
06.05.2024
- [0552] δ ppm 11.23(br s, 1H), 7.70(d, J = 8.0Hz, 1H), 5.55-5.60(m, 1H), 4.89(q, J = 8.4Hz, 1H), 4.29-4.42(m, 1H), 3.99-4.09(m, 4H), 3.65-3.84(m, 2H), 3.53-3.62(m, 2H), 3.35-3.41(m, 1H), 3.02(dd, J = 14.0, 8.0Hz, 2H), 2.76-2.79(m, 2H), 2.40-2.49(m, 1H), 2.15-2.25(m, 1H), 1.95-2.07(m, 1H), 1.65-1.75(m, 1H), 1.23-1.26(m, 6H), 1.12-1.21(m, 12H). 细则 91,
06.05.2024

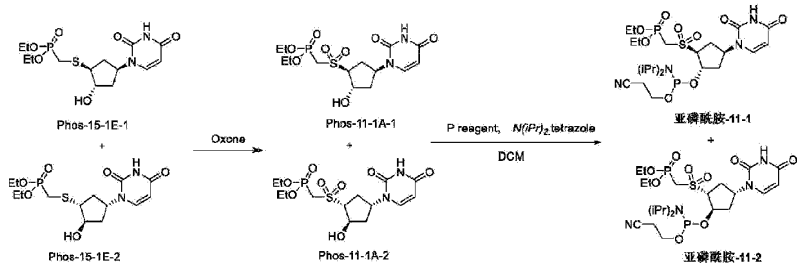
- [0553] Phos-15-1E-1或Phos-15-1E-2手性具体制备方法如下： 细则 91, 06.05.2024
- [0554] 系统：Waters SFC 150 细则 91, 06.05.2024
- [0555] 柱名称:DAICELCHIRALCEL®AD 细则 91, 06.05.2024
- [0556] 柱型号：250*50mm 10 μm 细则 91, 06.05.2024
- [0557] 流动相A：Supercritical CO₂ 细则 91, 06.05.2024
- [0558] 流动相B：EtOH 细则 91, 06.05.2024
- [0559] 波长：214nm 细则 91, 06.05.2024
- [0560] 流速:140mL/min 细则 91, 06.05.2024
- [0561] 柱温:RT 细则 91, 06.05.2024
- [0562] 进样量:7.0mL循环时间:10.0min 细则 91, 06.05.2024
- [0563] 溶剂:超临界CO₂:food grade EtOH:redistilled grade； 细则 91, 06.05.2024
- [0564] Phos-15-1E-2((((1R,2R,4R)-4-(2,4-二氧化-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-2-羟基环戊基)硫代)甲基)膦酸二乙酯)的单晶X射线衍射如图1所示。 细则 91, 06.05.2024

- [0565] 对映体亚磷酰胺-42-1和对映体亚磷酰胺-42-2的制备 细则 91, 06.05.2024



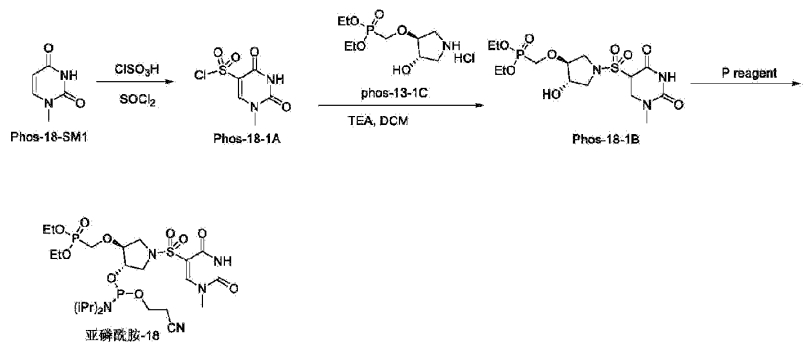
- [0566] 对映体亚磷酰胺-42-1和对映体亚磷酰胺-42-2的制备方法与对映体亚磷酰胺-15-1和对映体亚磷酰胺-15-2的制备方法相同，不同在于使用不同的立体异构中间体phos12-2C。 细则 91, 06.05.2024

- [0567] 对映体亚磷酰胺-11-1和对映体亚磷酰胺-11-2的制备 细则 91, 06.05.2024



- [0568] 在室温下向100mL烧瓶中加入15mL乙醇和上述的化合物Phos-15-1E(0.53g, 1.0eq, 对映体Phos-15-1E-1和Phos-15-1E-2的1:1混合物), 分批加入过氧硫酸氢钾复合盐(1.72g, 2.0eq.)的水溶液(10mL), 然后将混合物在室温下搅拌过夜。TLC检测(MeOH:DCM=1:10, R_f=0.4)显示有新斑点形成, 化合物Phos-15-1E消耗完全。将混合物倒入饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)中并用DCM:CF₃CH₂OH(30mL*5)萃取, 将合并的有机层用饱和盐水(50mL*2)洗涤, 经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩以得到呈黄色油状的Phos-11-1A(0.5g, 87%收率, 对映体Phos-11-1A-1和Phos-11-1A-22的1:1混合物)。
- [0569] 在室温和氮气下, 向100mL烧瓶中加入5mL二氯甲烷、化合物Phos-11-1A(0.3g, 1.0eq.)和四氮唑(56mg, 1.1eq.), 然后滴加双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(0.33g, 1.5eq.)的二氯甲烷(1mL)溶液, 反应液在室温下搅拌1小时。TLC检测(MeOH:DCM:=1:10, R_f=0.6)表明有新斑点产生, 化合物Phos-11-1A消耗完全。将混合物倒入饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)中并用二氯甲烷(30mL*3)萃取。合并的有机层用饱和食盐水(50mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥并减压浓缩。亚磷酰胺-11的粗产物通过硅胶柱纯化, 用MeOH:DCM(=0:100至2:100; 1% Et₃N)洗脱, 得到呈黄色油状的亚磷酰胺-11(0.2g, 45%收率, 对映体亚磷酰胺-11-1和亚磷酰胺-11-2的1:1混合物)。
- [0570] ¹H NMR(400MHz, CD₃CN) δ 7.40(d, J=8.0, 1H), 5.58(d, J=8.0, 1H), 5.01-5.04(m, 1H), 4.84-4.87(m, 1H), 4.14-4.18(m, 4H), 3.76-3.86(m, 4H), 3.59-3.65(m, 2H), 2.73-2.77(m, 2H), 2.66-2.69(m, 2H), 2.18-2.26(m, 3H), 1.28-1.32(m, 6H), 1.17-1.21(m, 12H). ³¹P NMR(400MHz, CD₃CN) δ 148.45, 149.21.
- [0571] 对映体亚磷酰胺-11-1或对映体亚磷酰胺-11-2可以由SFC分离纯化得到的对映的Phos-15-1E-1或Phos-15-1E-2为起始原料按照以上2个步骤获得。
- [0572] 亚磷酰胺-18的制备

细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024细则 91,
06.05.2024



[0573] 将1-甲基尿嘧啶(1.0g,7.9mmol)和 SOCl_2 (2.36g,19.8mmol)添加到100mL反应烧瓶中,并在25℃下搅拌1.5小时。加入 ClSO_3H (3.67g, 31.7mmol)后,在75℃下将反应液搅拌16小时。TLC表明1-甲基尿嘧啶已完全消耗,并形成了一个新斑点。将反应混合物加入到冰和冰醋酸(1:1)的混合物中,过滤并将滤饼并反复用去离子水洗涤,真空干燥得到灰色粉末中间体Phos-18-1A 1.0g, 90%收率)。

细则 91,
06.05.2024

[0574] ^1H NMR(400MHz,DMSO): δ 14.25(s,1H),11.26(s,1H),7.99(s,1H),3.27(s,3H).

细则 91,
06.05.2024

[0575] 向Phos-13-1C,384mg,1.52mmol)和三乙胺(460mg,4.56mmol)的二氯甲烷(30mL)溶液中,在0-5℃下加入Phos-18-1A(340mg, 1.52mmol)的四氢呋喃(10mL)溶液,混合物在25℃反应1.0小时。LC-MS显示Phos-13-1C完全消耗,将所得反应混合物用水(20mL)稀释,用30% $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}/\text{DCM}$ 萃取(30mL*5),合并的有机层经无水硫酸钠干燥并真空浓缩得到残余物,残余物通过硅胶柱纯化,用含0%至5%的 MeOH/DCM 洗脱,得到无色糊状Phos-18-1B(400mg, 产率60%)。

细则 91,
06.05.2024

[0576] LC-MS:[$\text{M}+\text{H}^+$]=442

细则 91,
06.05.2024

[0577] 氮气保护下,向Phos-18-1B(400mg, 0.907mmol)的干燥二氯甲烷(10mL)溶液中加入加入四氮唑(51mg, 0.726mmol)和双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(P试剂, 327.8mg, 1.09mmol),反应在25℃下搅拌1.0小时。LC-MS显示起始物料完全耗尽。将所得反应混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL*2)和盐水(5mL)洗涤。干燥有机相,浓缩得到粗品,通过快速硅胶柱层析纯化,用0%至5%的 MeOH/DCM (其中含有1% TEA)洗脱,得到白色固体亚磷酸酰胺-18(400mg, 收率68.8%)。

细则 91,
06.05.2024

[0578] ^1H NMR(400MHz, CH_3CN) δ 9.29(s,1H),8.15(dJ=3.6Hz,1H),4.44 - 4.31(m,1H),4.09(dd,J=15.0,7.4Hz,4H),3.90 - 3.73(m,4H),3.72 - 3.56(m,5H),3.49(dd,J=31.5,11.2Hz,1H),3.36(dJ=2.3Hz,3H),2.75 - 2.62(m,2H),1.36 - 1.25(m,6H),1.19(dd,J=9.1,5.3Hz,12H).

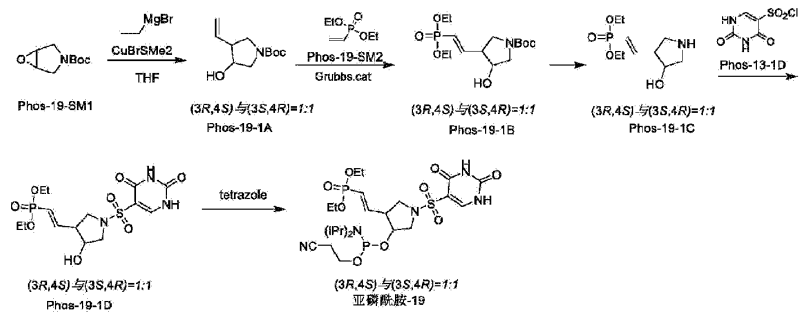
细则 91,
06.05.2024

[0579] ^{31}P -NMR(162MHz,DMSO- d_6) δ ppm 146.99-147.13(d,1P),20.58-20.76(s,1P)。

细则 91,
06.05.2024

[0580] 亚磷酰胺-19的制备

细则 91,
06.05.2024

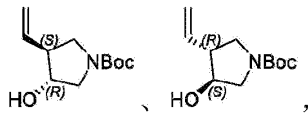


[0581] 在室温下向250mL烧瓶中加入60mL四氢呋喃、Phos-19-SM1(10g, 1.0eq.)和 CuBrSM_2 , 在将混合物冷却至 -70°C 后, 滴加乙烯基溴化镁(216mL,4.0eq.), 然后让混合物在2小时内缓慢升温至 -10°C 。TLC检测(石油醚: 乙酸乙酯=2:1, $R_f=0.4$)显示有新斑点形成, Phos-19-SM1消耗完全。在 -10°C 下将柠檬酸(150mL, 10%水溶液)滴加到反应混合物中, 用乙酸乙酯(100mL*3)萃取。将合并的有机层用饱和食盐水(100mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩以得到呈棕色油状的Phos-19-1A(11g, 95%收率)。

细则 91,
06.05.2024

[0582] Phos-19-1A包含一对对映体(3R,4S): (3S,4R)=1:1, 包括

细则 91,
06.05.2024



可以理解的是, 以下中间体以及亚磷酰胺-19可以根

据需要,以Phos-19-1A消旋体或对应的手性纯对映体为起始原料而获得对应手性纯化合物。

[0583] 在室温和氮气下, 向100mL烧瓶中加入50mL二氯甲烷、Phos-19-1A(5g, 1.0eq.)和Phos-19-SM2(10.8g, 3.0eq.), 然后在 N_2 下加入Grubbs催化

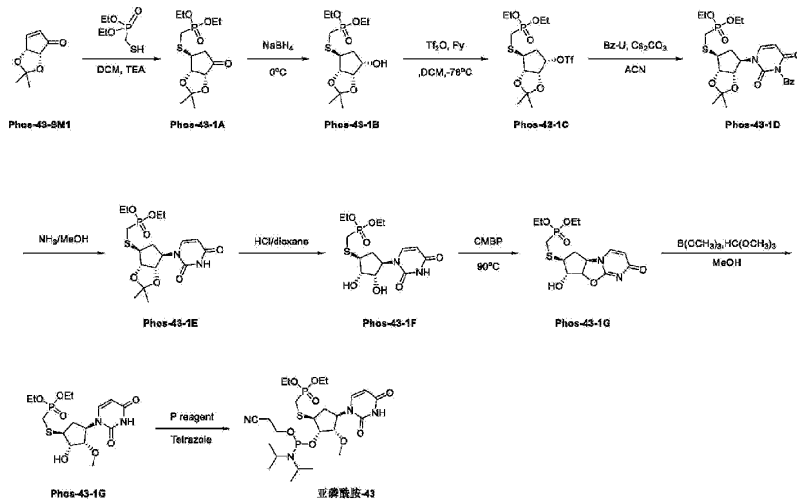
细则 91,
06.05.2024

	剂(1g,0.05eq.)并加热回流过夜。TLC检测混合物(乙酸乙酯:石油醚=1:1, Rf=0.25), 表明有新斑点产生, Phos-19-2消耗完全。除去溶剂并将残余物通过硅胶柱纯化, 用MeOH:DCM(=0: 100至5: 95)洗脱, 得到呈棕色油状的Phos-19-1B(4.5g, 55%收率)。	
[0584]	在室温和氮气下, 向100mL烧瓶中加入15mL乙酸乙酯和Phos-19-1B(1.5g,1.0eq.), 然后滴加HCl/EtOAc(15mL,4M)并在室温下搅拌过夜。LC-MS检测显示Phos-19-1B被消耗完。除去溶剂得到棕色固体Phos-19-1C(1.5g, 粗品)。	细则 91, 06.05.2024
[0585]	MS(M+H)=250.1	细则 91, 06.05.2024
[0586]	在室温和氮气下, 向100mL烧瓶中加入15mL四氢呋喃和Phos-19-1C(1.5g, 1.0eq.), 然后加入三乙胺(1.52g, 3.5eq.)和化合物Phos-13-1D(0.72g, 0.8eq.)并在室温下搅拌过夜。LC-MS显示Phos-19-1C被消耗完。将反应液倒入柠檬酸(15mL, 10%水溶液)中并用二氯甲烷(30mL*5)萃取, 经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。残余物通过硅胶柱纯化, 用MeOH: DCM(=0: 100至10: 90)洗脱, 得到呈棕色油状的Phos-19-1D(1g, 39%产率)。	细则 91, 06.05.2024
[0587]	MS(M+H)=424.1	细则 91, 06.05.2024
[0588]	在室温和氮气下, 向100mL烧瓶中加入5mL二氯甲烷,Phos-19-1D(0.5g,1.0eq.)和四氮唑(83mg, 1.1eq.), 然后滴加双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(0.46g, 1.5eq.)的二氯甲烷(1mL)溶液, 反应混合物在室温下搅拌1小时。TLC (MeOH:DCM=1:10, Rf=0.65)表明有新斑点产生, Phos-19-1D消耗完全。将混合物倒入饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)中并用二氯甲烷(20mL*3)萃取。合并的有机层用饱和食盐水(50mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥并减压浓缩。粗品通过硅胶柱纯化, 用MeOH:DCM(=0:100至5:95; 1% Et ₃ N)洗脱, 得到棕色油状的亚磷酰胺-19(0.27g, 36%收率)。	细则 91, 06.05.2024
[0589]	¹ H NMR(400MHz,DMSO) δ 11.21(s,1H),7.97(s,1H),6.45-6.57(m,1H),5.88-5.98(m,1H),4.18-4.23(m,1H),3.91-3.96(m,4H),3.71-3.74(m,3H),3.57-3.62(m,1H	细则 91, 06.05.2024

),3.49–3.53(m,2H),3.15–3.24(m,1H),2.91–3.01(m,1H),2.83–2.85(m,2H),2.74–2.78(m,2H),1.18–1.23(m,6H),1.06–1.12(m,12H).

[0590] ^{31}P NMR(400MHz,DMSO) δ 147.51,17.01,16.88.

[0591] 亚磷酸胺-43的制备



[0592] 向500mL烧瓶中加入(3aR,6aR)-2,2-二甲基四氢-3aH-环戊二烯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-4(6aH)-酮(16.2g, 105mmol, 1.0eq)、(硫甲基)膦酸二乙酯(19.3g, 105mmol, 1.0eq)和二氯甲烷(200mL)。将烧瓶在氮气保护下搅拌并冷却至0–5℃, 然后滴加入三乙胺(1.06g,10.5mmol,0.1eq), 滴加完毕后回温至25℃并在氮气保护下搅拌过夜。LCMS检测反应完全, 将反应液真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯化, 洗脱剂为(EA:DCM=0%–15%)洗出产物, 真空浓缩产物, 得到Phos-43-1A为淡黄色油状物25g, 收率为70.3%。

[0593] LCMS: M+H=339.5

[0594] 向500mL烧瓶中加入Phos-43-1A(25g, 73.9mmol, 1.0eq)和乙醇(250mL)。将烧瓶在氮气保护下搅拌并冷却至0–5℃, 然后分批加入硼氢化钠(3.1g,81.3mmol,1.1eq), 加入完毕后保持0–5℃搅拌0.5h。LCMS检测反应完全, 往反应液里滴加入冰水(200mL)并搅拌10min, 然后用二氯甲烷(500mL)萃取两次, 合并的有机相用无水硫酸钠干燥并真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

化, 洗脱剂为(MeOH:DCM=0%-5%)洗出产物, 真空浓缩产物, 得到Phos-43-1B为淡黄色油状物24.5g, 收率为97.4%。		
[0595]	LCMS: M+H=341.5。	细则 91, 06.05.2024
[0596]	¹ H NMR:(400MHz,CD3CN), δ ppm 4.67-4.65(d,J=8.0,1H),4.47-4.42(m,2H),4.08-4.01(m,5H),3.27-3.25(m,1H),2.97-2.93(d,J=16.0,2H),2.03-1.99(m,1H),1.73-1.71(m,1H),1.38(s,3H),1.26-1.22(m,9H)。	细则 91, 06.05.2024
[0597]	向250mL烧瓶中加入Phos-43-1B(10g, 29.4mmol, 1.0eq)、吡啶(7g, 88.1mmol, 3.0eq)和二氯甲烷(100mL)。将烧瓶在氮气保护下搅拌并冷却至-78℃, 然后滴加入三氟甲磺酸酐(12.4g,44.1mmol,1.5eq), 滴加完毕后保持-78℃并在氮气保护下搅拌3h。LCMS检测反应完全, 将反应液倒入50mL冰水中,然后用二氯甲烷(100mL)萃取两次, 合并的有机相用无水硫酸钠干燥并真空浓缩得到粗产物Phos-43-1C直接用于下一步。	细则 91, 06.05.2024
[0598]	LCMS: M+H=473.4	细则 91, 06.05.2024
[0599]	向500mL烧瓶中加入Phos-43-1C(16g, 33.8mmol, 1.0eq)、3-苯甲酰基尿嘧啶(8.8g, 40.6mmol, 1.2eq)、碳酸铯(22g, 67.7mmol)和乙腈(200mL)。将烧瓶在氮气保护下25℃搅拌过夜。LCMS检测反应完全, 将反应液过滤, 滤液真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯化, 洗脱剂为(MeOH:DCM=0%-5%)洗出产物, 真空浓缩产物, 得到Phos-43-1D为棕色油状物18g, 收率为98.7%。	细则 91, 06.05.2024
[0600]	LCMS: M+H=539.4	细则 91, 06.05.2024
[0601]	向500mL烧瓶中加入Phos-43-1D(18g, 33.4mmol, 1.0eq)和甲醇(180mL)。将烧瓶在氮气保护下滴加氨甲醇(180mL), 滴加完毕后在25℃并在氮气保护下搅拌5h。LCMS检测反应完全, 将反应液真空浓缩得到粗产物Phos-43-1E直接用于下一步。	细则 91, 06.05.2024
[0602]	LCMS: M+H=435.4	细则 91, 06.05.2024
[0603]	向500mL烧瓶中加入Phos-43-1E(14.5g, 33.4mmol, 1.0eq)和二氧六环(180mL)。滴加入盐酸二氧六环(4M 180mL)将烧瓶在氮气保护下25℃搅拌过夜。LCMS检测反应完全, 将反应液真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯	细则 91, 06.05.2024

	化,洗脱剂为(MeOH:DCM=0%-10%)洗出产物,真空浓缩产物,得到Phos-43-1F为白色固体5.2g,收率为39.5%。	
[0604]	LCMS: M+H=395.4	细则 91, 06.05.2024
[0605]	向250mL烧瓶中加入Phos-43-1F(5.2g, 13.2mmol, 1.0eq)、甲苯(100mL)和乙腈(20mL),然后加入氰基亚甲基三正丁基膦(6.4g, 26.5mmol, 2.0eq)并将烧瓶在氮气保护下90℃搅拌48h。LCMS检测反应完全,将反应液真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯化,洗脱剂为(MeOH:DCM=0%-10%)洗出产物。真空浓缩产物,得到Phos-43-1G为白色固体3.5g,收率为70.5%。	细则 91, 06.05.2024
[0606]	LCMS: M+H=377.3	细则 91, 06.05.2024
[0607]	向250mL闷罐中加入Phos-43-1G(2.0g, 5.3mmol,1.0eq)、无水甲醇(20mL)、硼酸三甲酯(1.1g,10.6mmol,2.0eq)、原甲酸甲酯(0.56g,5.3mmol,1.0eq)和碳酸氢钠(44.5mg,0.52mmol,0.2eq)。上述混合物加热至120℃搅拌48h。将闷罐冷却至室温,LCMS检测反应完全,将反应液真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯化,洗脱剂为(MeOH:DCM=0%-10%)洗出产物。真空浓缩产物,得到Phos-43-1H为白色固体1.3g,收率为60%。	细则 91, 06.05.2024
[0608]	LCMS: M+H=409.4	细则 91, 06.05.2024
[0609]	向50mL烧瓶中加入Phos-43-1G(0.6g, 1.47mmol,1.0eq)、无水二氯甲烷(10mL),依次加入四氮唑(0.13g,1.76mmol,1.2eq)双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(0.66g,2.2mmol,1.5eq)。上述混合物在氮气保护下25℃搅拌1h。LCMS检测反应完全,将反应液倒入碳酸氢钠水溶液中,二氯甲烷(20mL)萃取两次,合并有机相用无水硫酸钠干燥后真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速硅胶柱纯化,洗脱剂(DCM:MeOH:TEA=0%-5%+0.2%TEA)洗出产物。35℃真空浓缩得亚磷酰胺无色油状物亚磷酰胺-43(0.89g,收率100%)。	细则 91, 06.05.2024
[0610]	LCMS: M+H=609.6	细则 91, 06.05.2024
[0611]	¹ H NMR:(400MHz,CD ₃ CN), δ ppm 8.97(s,1H),7.43-7.41(d,J=8.0,1H),5.61-5.59(d,J=8.0,1H),4.76-4.69(m,1H),4.44-4.34(m,1H),4.14-4.04(m,5H),3.90-3.81(m,2H),3.69-3.62(m,2H),3.46-3.44(m,1H),3.36-3.33(d,J=12.0,3H),2.97	细则 91, 06.05.2024

-2.87(m,2H),2.77-2.65(m,3H),1.67-1.56(m,1H),1.32-1.27(m,6H),1.24-1.18(m,12H).

[0612] ^{31}P NMR:(400MHz,CD₃CN), δ ppm 150.03,148.62; 23.44,23.24.

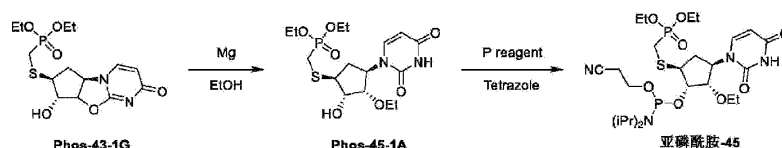
细则 91,
06.05.2024

[0613] 亚磷酰胺-47的制备方法与亚磷酰胺-43一样,区别在于起始物料5-甲基尿嘧啶作为核碱基。

细则 91,
06.05.2024

[0614] 亚磷酰胺-45的制备

细则 91,
06.05.2024



[0615] 向100mL闷罐中加入镁屑(0.26g, 10.6mmol,10.0eq)、无水乙醇(40mL)、上述混合物加热至90℃搅拌18h。将闷罐冷却至室温,加入Phos-43-1G(0.4g, 1.06mmol,1.0eq),加热至90℃搅拌18h。将闷罐冷却至室温,LCMS检测反应未完全,约50%转化为Phos-45-1A。反应液真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯化,洗脱剂为(MeOH:DCM=0%-8%)洗出产物。真空浓缩产物,得到Phos-45-1A为淡黄色油状物0.13g,收率为29%。

细则 91,
06.05.2024

[0616] LCMS: M+H=423.4

细则 91,
06.05.2024

[0617] 向50mL烧瓶中加入Phos-45-1A(0.11g, 0.26mmol,1.0eq)、无水二氯甲烷(3mL),依次加入四氮唑(22mg,0.31mmol,1.2eq)、双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(0.12g,0.4mmol,1.5eq)。上述混合物在氮气保护下25℃搅拌1h。LCMS检测反应完全,将反应液倒入碳酸氢钠水溶液中,二氯甲烷(10mL)萃取两次,合并有机相用无水硫酸钠干燥后真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速硅胶柱纯化,洗脱剂(DCM:MeOH:TEA=0%-3%+0.2%TEA)洗出产物。35℃真空浓缩得亚磷酰胺黄色油状物Phos-45(0.1g,收率61.7%)。

细则 91,
06.05.2024

[0618] LCMS: M+H=623.5,

细则 91,
06.05.2024

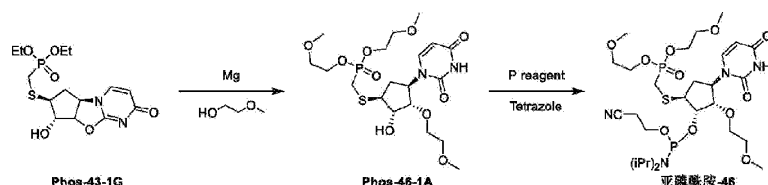
[0619] ^1H NMR:(400MHz,CD₃CN), δ ppm 7.42-7.40(dJ=8.0,1H),5.61-5.59(dJ=8.0,1H),4.73-4.68(m,1H),4.34-4.30(m,1H),4.12-4.06(m,5H),3.88-3.83(m,2H),3.

细则 91,
06.05.2024

68-3.65(m,2H),3.58-3.42(m,2H),2.97-2.86(m,3H),2.72-2.62(m,3H),1.65-1.53(m,1H),1.32-1.17(m,18H),1.13-1.10($t_J=6.8,3H$).

[0620] ^{31}P NMR:(400MHz,CD₃CN), δ ppm 149.85,148.50; 23.46,23.25。

[0621] 亚磷酰胺-46的制备



[0622] 向100mL闷罐中加入镁屑(0.48g, 20.0mmol,15.0eq)、无水乙二醇单甲醚(50mL)、上述混合物加热至90℃搅拌1h。将闷罐冷却至室温,加入Phos-43-1G(0.5g, 1.33mmol,1.0eq),加热至90℃搅拌18h。将闷罐冷却至室温,LCMS检测反应原料完全消失。反应液转入烧瓶中,0℃下滴加入0.5N稀盐酸调节pH=6,二氯甲烷(50mL)萃取5次,合并有机相用无水硫酸钠干燥后真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速柱纯化,洗脱剂为(MeOH:DCM=0%-10%)洗出产物。真空浓缩产物,得到Phos-46-1A为淡黄色油状物0.13g,收率为20%。

[0623] LCMS: M+H=513.4。

[0624] 向50mL烧瓶中加入Phos-46-1A(0.1g, 0.19mmol,1.0eq)、无水二氯甲烷(3mL),依次加入四氮唑(16mg,0.23mmol,1.2eq)双(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(0.09g,0.3mmol,1.5eq)。上述混合物在氮气保护下25℃搅拌1h。LCMS检测反应完全,将反应液倒入碳酸氢钠水溶液中,二氯甲烷(10mL)萃取两次,合并有机相用无水硫酸钠干燥后真空浓缩得到粗产物。粗产物通过快速硅胶柱纯化,洗脱剂(DCM:MeOH:TEA=0%-5%+0.2%TEA)洗出产物。35℃真空浓缩得亚磷酰胺黄色油状物Phos-46(93mg,收率66.9%)。

[0625] LCMS: M+H=713.6。

[0626] ^1H NMR:(400MHz,CD₃CN), δ ppm 8.92(s,1H),7.47-7.44(dd $J=8.0J=2.8,1H$),5.64-5.62(d $J=8.0,1H$),4.78-4.68(m,1H),4.42-4.22(m,2H),4.18-4.15(m,4H),3.92-3.85(m,2H),3.78-3.66(m,3H),3.60-3.52(m,5H),3.48-3.45(m,3H),3.36

	-3.35(dd,J=2.4J=0.8,6H),3.28-3.27(d,J=5.6,3H),3.03-2.94(m,2H),2.75-2.63(m,3H),1.65-1.53(m,1H),1.22-1.17(m,12H).	
[0627]	³¹ P NMR:(400MHz,CD ₃ CN), δ ppm 149.85,148.42; 24.43,24.22。	细则 91, 06.05.2024
[0628]	本文中其他的5'-磷酸酯修饰的核苷类似物可以用相似的方法或者本领域熟知的合成路线进行制备获得。	细则 91, 06.05.2024
[0629]	实施例2.寡核苷酸的合成	细则 91, 06.05.2024
[0630]	根据本发明使用的寡核苷酸可通过熟知的固相合成技术便利且常规地制得。用于此合成的设备由多家供应商销售包括例如Mermade 12(LGC)。此外或作为另外一种选择可采用本领域已知的用于这种合成的任何其它装置。熟知的是使用类似的技术制备寡核苷酸诸如烷基化衍生物以及具有硫代磷酸酯键合的那些。	细则 91, 06.05.2024
[0631]	寡核苷酸:未取代的和取代的磷酸二酯(O)寡核苷酸(包括但不限于寡核苷酸)可使用标准亚磷酰胺化学通过碘氧化而在自动化DNA合成仪Mermade 12(LGC)上合成。	细则 91, 06.05.2024
[0632]	在某些实施方案中硫代磷酸酯核苷间键合(S)以类似于磷酸二酯核苷间键合的方式合成,不同的是:通过使用10%w/v的3,H-1,2-苯并二硫醇-3-酮-1,1-二氧化物的乙腈溶液氧化亚磷酸酯键合而实现硫杂化。将硫杂化反应步骤的时间增至180秒并通过正常加帽步骤继续。在55℃下的浓氨水中处理(12-16h)从CPG柱裂解并解封后通过用超过3倍体积的乙醇从1M的NH ₄ OAc溶液中进行沉淀来回收寡核苷酸。	细则 91, 06.05.2024
[0633]	次磷酸酯(phosphinate)核苷间键合可如US5,508,270中所述而制备。烷基磷酸酯核苷间键合可如US4,469,863中所述而制备,也可以通过本文所述的亚磷酰胺法。3'-脱氧-3'-亚甲基磷酸酯核苷间键合可如US5,610,289或5,625,050中所述而制备。亚磷酰胺核苷间键合可如US5,256,775或美5,366,878中所述而制备。烷基硫代磷酸酯核苷间键合可如已公布的WO 94/17093和WO94/02499公布中所述而制备。3'-脱氧-3'-氨基磷酰胺酯核苷间键合可如US5,476,925中所述而制备。磷酸三酯核苷间键合如US5,023,243中所述而制备,一些磷酸核苷间键的制备方法可见Beilstein J Org Chem.2017; 13:1368 - 1387。	细则 91, 06.05.2024

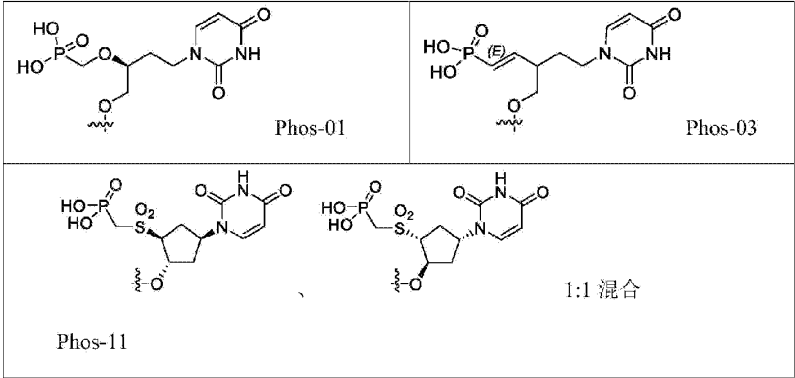
[0634] 具有一个或多个不含磷的核苷间键合包括但不限于亚甲基甲基亚氨基连接的寡核苷、亚甲基二甲基肼连接的寡核苷、亚甲基羰基氨基连接的寡核苷以及亚甲基氨基羰基连接的寡核苷的寡核苷酸以及具有例如交替O或S键合的混合主链寡核苷酸可如US5,378,825、US5,386,023、US5,489,677、US5,602,240和US5,610,289中所述而制备。	细则 91, 06.05.2024
[0635] 双链核糖核酸(dsRNA)试剂通过以1:1摩尔比混合两条互补链(正义链和反义链)中的每一条来形成双链体以获得。	细则 91, 06.05.2024
[0636] 表2中的双链体通常使用基于亚磷酰胺化学的成熟固相合成方法，在寡核苷酸合成仪上合成dsRNA的正义和反义链序列。寡核苷酸链的增长是通过4步循环实现的：去保护、缩合、加帽和用于添加每个核苷酸的氧化或硫化步骤。合成是在由可控多孔玻璃(CPG,1000 Å)制成的固体支持物上进行的。一般的单体亚磷酰胺购自商业来源，而本文中5'-磷酸酯修饰的核苷类似物化合物可以替代的作为一种单体亚磷酰胺，而引入寡核苷酸链中。在本文中5'-磷酸酯修饰的核苷类似物化合物可以替代的作为单体亚磷酰胺连接在的5'-末端的情况下，将用于最后的偶联反应。将3%二氯甲烷中的三氯乙酸(TCA)用于4,4'-二甲氧基三苯甲基保护基(DMT)的脱保护。5-乙硫基-1H-四唑用作活化剂。THF/Py/H₂O中的I₂和吡啶/MeCN中的苯乙酰二硫化物(PADS)分别用于氧化和硫化反应。在最后的固相合成步骤之后，通过用1:1体积的20wt%甲胺水溶液和28%氢氧化铵溶液处理来切割固体载体结合的低聚物并去除保护基团。为了合成用于体外筛选的寡核苷酸，将粗混合物浓缩。将剩余的固体溶解在1.0M NaOAc中，加入冰冷的EtOH以沉淀出作为钠盐的单链产物，其无需进一步纯化即可用于退火。为了合成用于体内测试的寡核苷酸，粗单链产物通过离子对反相HPLC(IP-RP-HPLC)进一步纯化。通过将来自IP-RP-HPLC的纯化单链寡核苷酸产物溶解在1.0M NaOAc中并通过添加冰冷的EtOH进行沉淀，将其转化为钠盐。在水中通过等摩尔互补进行正义链和反义链寡核苷酸的退火，以形成双链寡核苷酸产物。	细则 91, 06.05.2024
[0637] 将实施例1中所述的亚磷酰胺化合物偶联到寡核苷酸的5'末端中，从而产生5'-末端核苷酸，方法如CN110072530A和CN103154014A描述，磷酸酯基各自	细则 91, 06.05.2024

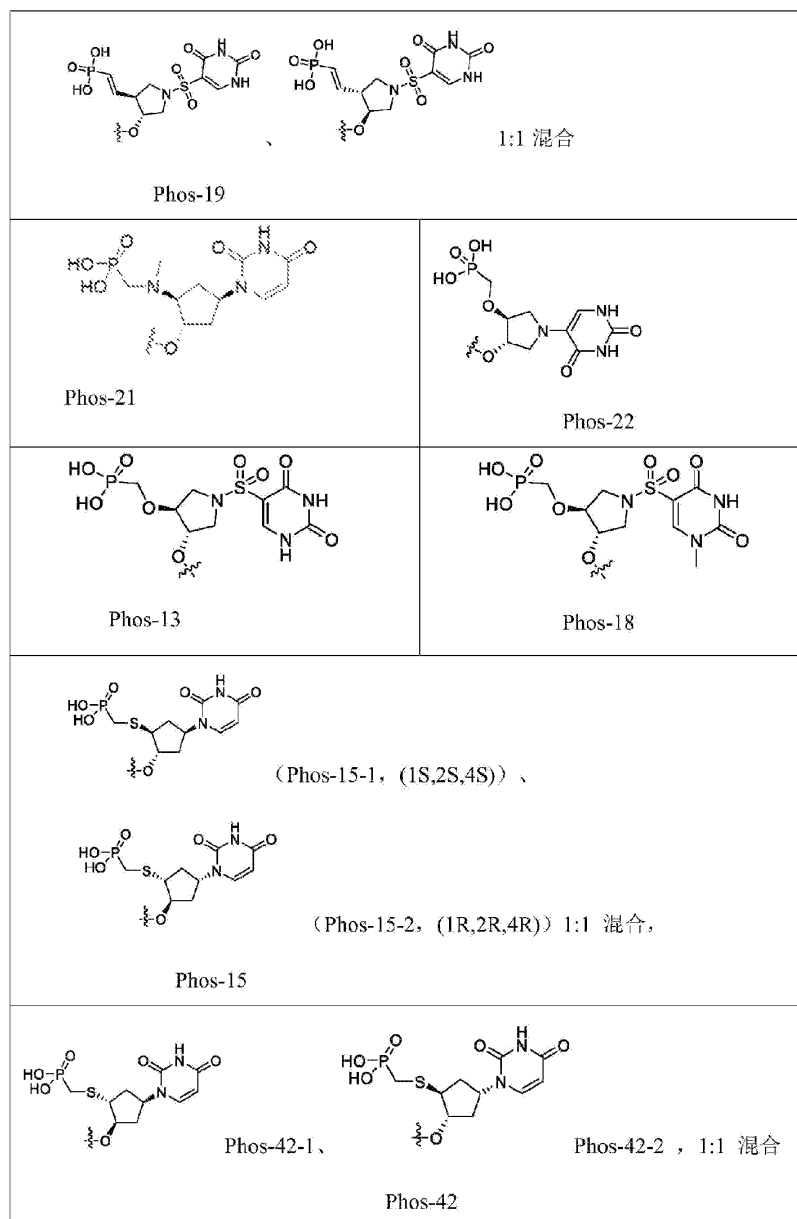
羟基保护基的原子，如含有两个甲基或者乙基保护的氧原子，根据所使用的脱保护步骤，去除所述甲基或者乙基中的一个或两个，在一些实施例中，采用甲醇:三甲基碘硅烷:吡啶v=50:2:2(v/v/v)脱乙基液脱除乙基保护。

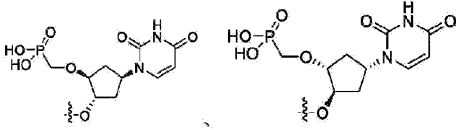
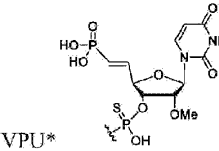
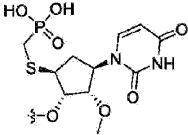
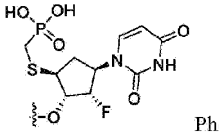
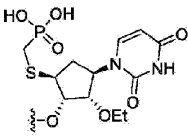
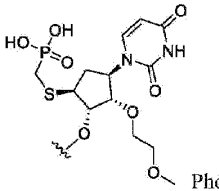
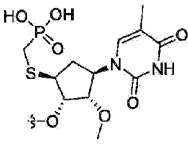
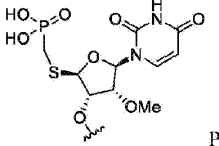
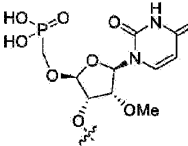
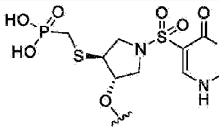
- [0638]包含本发明5′-末端核苷酸的寡核苷酸用本文所述或者本领域技术人员所熟知的方法获得，寡核苷酸序列结构以FXII为靶的dsRNA双链体如表2所示。
- [0639]在表2中双链体的5′-末端核苷结构如下所示：

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024





 1:1 混合， Phos-16	
 VPIJ*	 Phos-43
 Phos-44	 Phos-45
 Phos-46	 Phos-47
 Phos-53	 Phos-54
 Phos-26	

[0640] 如表2-3表示了双链体包含正义链和反义链；化学修饰表示为，大写：2'-氟修饰核苷酸；小写：2'-甲氧基修饰核苷酸；两个核苷之间的上标“*”表示硫代磷酸酯核间键合，两个核苷之间的不存在上标表示磷酸二酯核间键合；Invab：反向无碱基，GLS-15是本文所述的靶向基团。

[0641] 表2靶向FXII双链体

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

双链体#	反义链序列 5' ->3'	序列号	正义链序列 5' ->3' '	序列号
AD00699	u*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	1	GLS-15*(Invab)*aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	2
AD00909	(Phos-13)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	3	GLS-15*(Invab)*aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	4
AD00910	(Phos-11)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	5	GLS-15*(Invab)*aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	6
AD01176	(Phos-01)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	7	GLS-15*(Invab)*aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	8
AD01177	(Phos-15)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	9	GLS-15*(Invab)*aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	10
AD01204	(Phos-19)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	11	GLS-15*(Invab)*aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	12
AD01205	(Phos-03)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	13	GLS-15*(Invab)*aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	14
AD01210	(Phos-18)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	15	GLS-15*(Invab)*aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	16

[0642] 表3靶向FXII双链体

细则 91,
06.05.2024

双链体#	反义链序列 5' ->3'	序列号	正义链序列 5' ->3''	序号
AD01558	(Phos-16)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	17	GLS-15*(Invab)* aacucaanAaAgUgcuuuga*a*(Invab)	32
AD00911	(VPu)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	18		
AD01534	(Phos-15-1)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	19		
AD01535	(Phos-15-2)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	20		
AD01531	(Phos-26)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	21		
AD01475	(Phos-21)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	22		
AD01476	(Phos-22)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	23		
AD02405	(Phos-43)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	24		
AD02430	(Phos-45)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	25		
AD02431	(Phos-46)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	26		
AD02429	(Phos-44)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	27		
AD02569	(Phos-47)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	28		
AD02570	(Phos-53)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	29		
AD02571	(Phos-54)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	30		
AD02123	(Phos-42)*U*caaaGcacuUuAuUgag*u*u	31		

[0643] 如上表2-3所示，双链体由相同的正义链构成，双链体之间的不同之处仅在于反义链的5' -末端包含不同的尿嘧啶核苷衍生物。

细则 91,
06.05.2024

[0644] 实施例3.包含本发明5' -末端核苷酸的寡核苷酸体内评价

细则 91,
06.05.2024

[0645] 为了评估FXII双链核苷酸(又称dsRNA)的体内活性，使用了雌性C57BL/6小鼠，6周龄，无特定病原体，购于上海斯莱克实验动物有限责任公司。

细则 91,
06.05.2024

[0646] a)实验方案

细则 91,
06.05.2024

[0647] 动物实验每组4只C57BL/6,雌性小鼠，给药剂量1或者2(mg/kg)，给药频率SC，第1天给药1次，第8、22和29天进行采血，检测血浆：FXII蛋白水平。

细则 91,
06.05.2024

[0648] b)实验天数定义：以小鼠首次给药当天定义为实验第1天，往前一天为第-1天，往后一天为第2天，以此类推。

细则 91,
06.05.2024

[0649] c)所有待测化合物在给药前用PBS配制成5mg/mL储液。取少量5mg/mL储液稀释20倍，使用Nanodrop上机检测OD值。根据OD值换算得到储液实际浓度后，取适量稀释至工作液浓度(0.2mg/mL)进行给药。

细则 91,
06.05.2024

- [0650]d)所有小鼠(C57BL/6,雌性, 6周)经过6天适应期后, 在第1天按上述进行皮下注射给药。
- [0651]e)第8、22和29天, 所有小鼠经颌下静脉采血收集血浆, 用于FXII蛋白水平检测。
- [0652]f)样品检测分析
- [0653]应用ELISA试剂盒检测小鼠血浆中FXII蛋白水平。
- [0654]使用ELISA试剂盒(Molecular Innovations, IMSFXIIKIT)检测小鼠血浆中FXII蛋白水平。简言之, 将EDTA-K2收集的血浆样本稀释30,000倍后加入到捕获抗体包被的检测板中孵育, 然后依次加入检测抗体和HRP偶联的二抗, 最后用TMB显色, 读取450nm处吸光值。使用四参数法拟合标准曲线, 并将检测样本OD值代入计算出每个样品的FXII蛋白含量, 乘以稀释倍数即为原始血浆中FXII蛋白浓度。数据结果如表4所示。
- [0655]表4.使用对应于表2中所示的序列、化学修饰和递-送的寡合化合物, FXII蛋白的相对表达水平。
- [0656]表4小鼠血浆中FXII蛋白表达的剩余百分比

化合物ID	剂量(mg/kg)	第 8 天	第 22 天	第 29 天
		剩余百分比±SD	剩余百分比±SD	剩余百分比±SD
AD00699	1	0.20±0.03	0.14±0.01	0.16±0.03
AD00909	1	0.22±0.01	0.18±0.03	0.19±0.06
AD00910	1	0.21±0.04	0.13±0.04	0.12±0.05
AD00910	2	0.08±0.02	0.05±0.00	0.05±0.00
AD01176	1	0.32±0.06	0.23±0.03	0.25±0.05
AD01177	1	0.15±0.01	0.13±0.01	0.13±0.03
AD01177	2	0.09±0.03	0.05±0.03	0.10±0.04
AD01204	1	0.32±0.04	0.21±0.04	0.25±0.08
AD01205	1	0.29±0.02	0.20±0.03	0.20±0.03
AD01205	2	0.16±0.02	0.09±0.01	0.09±0.01
AD01210	1	0.30±0.02	0.19±0.02	0.19±0.02

- [0657]实施例4.包含本发明5′-末端核苷酸的寡核苷酸体内评价

[0658]	为了评估FXII双链核苷酸(又称dsRNA)的体内活性,使用了雌性C57BL/6小鼠,6周龄,无特定病原体,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司。	细则 91, 06.05.2024
[0659]	a)实验方案	细则 91, 06.05.2024
[0660]	动物实验每组4只C57BL/6,雌性小鼠,给药剂量0.5或者1(mg/kg),给药频率SC,第1天给药1次,第8、22和29天进行采血,检测血浆:FXII蛋白水平。	细则 91, 06.05.2024
[0661]	b)实验天数定义:以小鼠首次给药当天定义为实验第1天,往前一天为第-1天,往后一天为第2天,以此类推。	细则 91, 06.05.2024
[0662]	c)所有待测化合物在给药前用PBS配制成5mg/mL储液。取少量5mg/mL储液稀释20倍,使用Nanodrop上机检测OD值。根据OD值换算得到储液实际浓度后,取适量稀释至工作液浓度(0.2mg/mL)进行给药。	细则 91, 06.05.2024
[0663]	d)所有小鼠(C57BL/6,雌性,6周)经过6天适应期后,在第1天按上述进行皮下注射给药。	细则 91, 06.05.2024
[0664]	e)第8、22、29天,所有小鼠经颌下静脉采血收集血浆,用于FXII蛋白水平检测。	细则 91, 06.05.2024
[0665]	f)样品检测分析	细则 91, 06.05.2024
[0666]	应用ELISA试剂盒检测小鼠血浆中FXII蛋白水平。	细则 91, 06.05.2024
[0667]	使用ELISA试剂盒(Molecular Innovations, IMSFXIIKTT)检测小鼠血浆中FXII蛋白水平。简言之,将EDTA-K2收集的血浆样本稀释30,000倍后加入到捕获抗体包被的检测板中孵育,然后依次加入检测抗体和HRP偶联的二抗,最后用TMB显色,读取450nm处吸光值。使用四参数法拟合标准曲线,并将检测样本OD值代入计算出每个样品的FXII蛋白含量,乘以稀释倍数即为原始血浆中FXII蛋白浓度。数据结果如表5所示。	细则 91, 06.05.2024
[0668]	表5.使用对应于表2和表3中所示的序列、化学修饰和递-送的寡合化合物,FXII蛋白的相对表达水平。	细则 91, 06.05.2024

化合物 ID	剂量 (mg/kg)	第 8 天	第 15 天	第 29 天
		剩余百分比±SD	剩余百分比±SD	剩余百分比±SD
AD00699	0.5	0.34±0.03	0.39±0.02	0.37±0.02
AD00911	0.5	0.22±0.05	0.25±0.04	0.21±0.05
AD01475	1.0	0.28±0.05	0.28±0.04	0.40±0.05
AD01476	0.5	0.50±0.03	0.46±0.04	0.74±0.06
AD01531	1.0	0.18±0.03	0.19±0.04	0.26±0.06
AD01534	0.5	0.23±0.03	0.21±0.01	0.27±0.01

AD01535	0.5	0.25±0.01	0.31±0.04	0.32±0.05
---------	-----	-----------	-----------	-----------

- [0669] 实施例5.包含本发明5′-末端核苷酸的寡核苷酸体内评价
- [0670] 实验方法同实施例4，使用对应于表2和表3中所示的序列、化学修饰和递送的寡核苷酸，FXII蛋白的相对表达水平。
- [0671] 表6小鼠血浆中FXII蛋白表达的剩余百分比

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

化合物 ID	剂量 (mg/kg)	第 8 天	第 15 天	第 29 天	第 43 天
		剩余百分比±SD	剩余百分比±SD	剩余百分比±SD	剩余百分比±SD
AD01177	0.5	0.30±0.14	0.13±0.02	0.15±0.04	0.23±0.05
AD00910	0.5	0.13±0.02	0.24±0.04	0.13±0.03	0.15±0.03
AD01558	0.5	0.68±0.11	0.87±0.01	0.48±0.06	0.40±0.07

- [0672] 从表6可以看出，使用含5′-S磷酸酯修饰核苷类似物的dsRNA(例如AD01177)基因沉默效果优于使用含5′-O磷酸酯修饰核苷类似物的dsRNA(AD01558)。
- [0673] 表7小鼠血浆中FXII蛋白表达的剩余百分比

细则 91,
06.05.2024

细则 91,
06.05.2024

化合物 ID	剂量 (mg/kg)	第 8 天	第 15 天	第 29 天	第 43 天
		剩余百分比±SD	剩余百分比±SD	剩余百分比±SD	剩余百分比±SD
AD00911	0.5	0.19±0.01	0.09±0.04	0.10±0.03	0.31±0.02
AD01177	0.5	0.18±0.01	0.14±0.02	0.12±0.01	0.39±0.02
AD02405	0.5	0.18±0.02	0.12±0.03	0.15±0.02	0.31±0.03

- [0674] 表8小鼠血浆中FXII蛋白表达的剩余百分比

细则 91,
06.05.2024

化合物 ID	剂量 (mg/kg)	第 15 天	第 29 天
		剩余百分比±SD	剩余百分比±SD
AD02405	0.5	0.17±0.02	0.21±0.02
AD02430	0.5	0.31±0.03	0.26±0.04
AD02431	0.5	0.19±0.04	0.22±0.05

- [0675] 实施例6.包含本发明5′-末端核苷酸的寡核苷酸体内评价

细则 91,
06.05.2024

[0676]	实验方法同实施例4，使用对应于表2和表3中所示的序列、化学修饰和递送的寡合化合物，FXII蛋白的相对表达水平。	细则 91, 06.05.2024																		
[0677]	表9小鼠血浆中FXII蛋白表达的剩余百分比	细则 91, 06.05.2024																		
<table><tr><th>化合物 ID</th><th>剂量 (mg/kg)</th><th>第 8 天 剩余百分比±SD</th><th>第 15 天 剩余百分比±SD</th><th>第 29 天 剩余百分比±SD</th><th>第 43 天 剩余百分比±SD</th></tr><tr><td>AD02123</td><td>0.5</td><td>0.36±0.05</td><td>0.24±0.01</td><td>0.55±0.07</td><td>0.63±0.05</td></tr><tr><td>AD01177</td><td>0.5</td><td>0.09±0.00</td><td>0.06±0.01</td><td>0.14±0.02</td><td>0.15±0.06</td></tr></table>			化合物 ID	剂量 (mg/kg)	第 8 天 剩余百分比±SD	第 15 天 剩余百分比±SD	第 29 天 剩余百分比±SD	第 43 天 剩余百分比±SD	AD02123	0.5	0.36±0.05	0.24±0.01	0.55±0.07	0.63±0.05	AD01177	0.5	0.09±0.00	0.06±0.01	0.14±0.02	0.15±0.06
化合物 ID	剂量 (mg/kg)	第 8 天 剩余百分比±SD	第 15 天 剩余百分比±SD	第 29 天 剩余百分比±SD	第 43 天 剩余百分比±SD															
AD02123	0.5	0.36±0.05	0.24±0.01	0.55±0.07	0.63±0.05															
AD01177	0.5	0.09±0.00	0.06±0.01	0.14±0.02	0.15±0.06															
[0678]	等同物	细则 91, 06.05.2024																		
[0679]	尽管本文已经描述和说明了本发明的几个实施例，但本领域普通技术人员很容易理解，用于执行此处描述的功能和/或获得结果和/或一个或多个优点的多种其他手段和/或结构，以及这些变化和/或修改中的每一个都被认为在本发明的范围内。更一般地，本领域技术人员将容易理解，此处描述的所有参数、尺寸、材料和配置都是示例性的，并且实际参数、尺寸、材料和/或配置将取决于使用本发明教导的具体应用。本领域技术人员将认识到或能够仅使用常规实验来确定本文描述的本发明的特定实施例的许多等价物。因此，应当理解，前述实施例仅通过示例的方式呈现并且属于所附权利要求及其等效物的范围内，本发明可以以不同于具体描述和要求保护的方式实施。本发明针对在此描述的每个单独的特征、系统、物品、材料和/或方法。此外，两个或多个此类特征、系统、物品、材料和/或方法的任何组合，如果此类特征、系统、物品、材料和/或方法相互不矛盾，则也包括在本发明的范围内。	细则 91, 06.05.2024																		
[0680]	如本文所定义和使用的所有定义应理解为对照字典定义、通过引用并入的文件中的定义和/或所定义术语的普通含义。	细则 91, 06.05.2024																		
[0681]	在说明书和权利要求中并未使用数量限定的情况，除非明确指出相反，否则应理解为“至少一个”。	细则 91, 06.05.2024																		
[0682]	说明书和权利要求书中使用的短语“和/或”应理解为表示如此结合的要素中的“一个或两个”，即这样的要素在某些情况下组合出现而在其他情况下分离出现。除了由“和/或”具体标识的要素之外，除非明确指出相反，否则可以可选地存在其他要素，无论与那些具体标识的要素相关或不相关。	细则 91, 06.05.2024																		

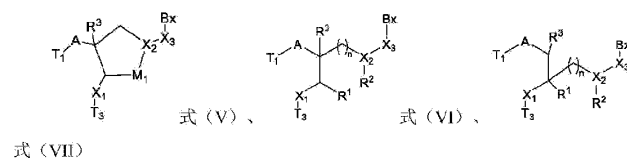
[0683] 本申请中引用或参考的所有参考文献、专利和专利申请和出版物均通过引用整体并入本文。

细则 91,
06.05.2024

权利要求书

[权利要求 1]

一种寡核苷酸，其包含由式(V)、式(VI)或式(VII)及它们的立体异构体之一表示的5'-末端核苷酸：



其中，每个 T_1 独立地为任选保护的磷部分；

每个 T_3 独立地为将使所述5'-末端核苷酸连接到寡核苷酸的核苷间连接基团；

每个 X_1 独立地为化学键、O、S、 NJ_1 或 CJ_1J_2 ，其中 J_1 和 J_2 各自独立地是氢、卤素、磺酰基、亚磺酰基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_3-C_6 环烷基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、任选取代的 C_5-C_{12} 芳基、任选取代的5-12元杂芳基、任选取代的5-12元杂环；

每个 X_2 独立地为 CR^{15} 或者N；

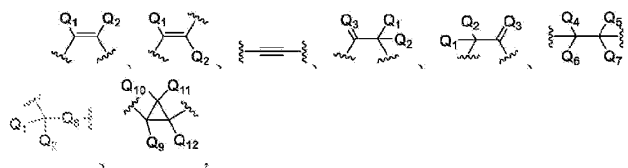
每个 X_3 独立地为化学键、任选取代的 C_1-C_3 亚烷基、SO、 SO_2 、 $C(=O)$ 、 $P(=O)R$ ；R为OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 NH_2 、 $NHSO_2$ 、 CH_3 ；

每个 Bx 独立地为杂环碱基部分；

每个 R^1 和 R^2 分别独立地为H、卤素、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；

每个 R^3 和 R^{15} 分别独立地为H、卤素、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基；

每个A独立地为具有下式之一：



Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的 C_1 - C_6 烷氧基、任选取代的 C_2 - C_6 烯基、任选取代的 C_2 - C_6 炔基或 NR^4R^5 ;

每个 Q_3 独立地为O、S、 NR^6 或 CR^7R^8 ;

每个 Q_4 、 Q_5 、 Q_6 、 Q_7 、 Q_9 、 Q_{10} 、 Q_{11} 和 Q_{12} 各自独立地为H、卤素、任选保护的羟基、乙酰氧基、叠氮基、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的 C_1 - C_6 烷氧基、任选取代的 C_2 - C_6 烯基、任选取代的 C_2 - C_6 炔基、 NR^9R^{10} ;

每个 Q_8 独立地为O、S、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ;

每个 R^{16} 和 R^{17} 独立地为($=O$)、($=S$)、OH、SH、 C_1 - C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$;

每个 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为H、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的 C_1 - C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$;

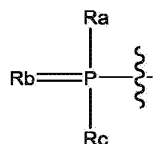
M_1 为 $C(Rd)(Re)$ 、 $C(Rd)(Re)C(Rf)(Rg)$ ，每个Rd、Re、Rg和Rf分别独立地选自以下的取代基团：氢、卤素、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、CN、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$;

每个 J_3 、 J_4 、 J_5 和 J_6 独立地为H或 C_1 - C_6 烷基;

n为0、1或者2;

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基、CN。

[权利要求 2]

如权利要求1所述的寡核苷酸，T₁为任选保护的磷部分具有下式：

其中：

Ra和Rc各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R_b为O、S或NR¹²，R¹²为氢、C₁-C₆烷基、氨基保护基；

取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[权利要求 3]

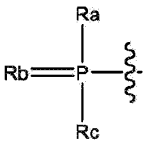
如权利要求2所述的寡核苷酸，所述的羟基或巯基的保护基独立地选自：甲基、乙基、苄基(Bn)、苯基、异丙基、叔丁基、乙酰基、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷乙基、烯丙基、环己基(cHex)、9-苄基氧羰基、甲磺酸基、甲苯磺酸基、三氟甲磺酸基、苯甲酰基、苯甲酰基甲酸酯、对苯基苯甲酰基、4-甲氧基苄基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、4-氯苄基、4-硝基苄基、2,4-二硝基苯基、4-酰氧基苄基、2-甲基苯基、2,6-二甲基苯基、2-氯苯基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、三苯基甲基、4-甲硫基-1-丁基、2-(S-乙酰巯基)乙基(SATE)、2-氰乙基、2-氰基-1,1-二甲基乙基(CDM)、4-氰基-2-丁烯基、2-(三甲基硅基)乙基(TSE)、2-(苯硫基)乙基、2-(三苯基硅基)乙基、2-(苄磺酰基)乙基、2,2,2-三氯乙基、2,2,2-三溴乙基、2,3-二溴丙基、2,2,2-三氟乙基、苯硫

基、2-氯-4-三苯甲基苯基、2-溴苯基、2-[N-异丙基-N-(4-甲氧基苯甲酰基)氨基]乙基、4-(N-三氟乙酰基氨基)丁基、4-氧代戊基、4-三苯甲基氨基苯基、4-苄基氨基苯基、四氢吡喃基、吗啉代、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、特戊酸酯甲醚基(POM)和9-苯基黄嘌呤-9-基；

所述的氨基保护基独立地选自：2-三甲基硅基乙氧基羰基(Teoc)、1-甲基-1-(4-联苯基)乙氧基羰基(Bpoc)、叔丁氧基羰基(BOC)、烯丙氧基羰基(Alloc)、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、苄氧基羰基(Cbz)、苄基、甲酰基、乙酰基、特戊酰基、三卤乙酰基、苯甲酰基、硝基苯基、乙酰基、2-硝基苯磺酰基、邻苯二甲酰亚胺基(PhI)、对甲苯磺酰基(Tos)、三苯甲基(Trt)、2,4-二氧基苄基(PMB)和二硫代丁二酰基。

[权利要求 4]

如权利要求2-3所述的寡核苷酸，T₁为任选保护的磷部分具有下式：



其中，R_b为O或者S，Ra和Rc各自独立地选自受保护的羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基。

[权利要求 5]

如权利要求2-3所述的寡核苷酸，其中，Ra和Rc各自为OH、SH、OCH₃、OCH₂CH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂OC(=O)C(CH₃)₃、NH₂、OCH₂CH₂CN、NHSO₂CH₃。

[权利要求 6]

如权利要求2-3所述的寡核苷酸，其中，Ra和Rc各自为OH，R_b为O。

[权利要求 7]

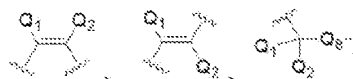
如权利要求1-6所述的寡核苷酸，其中，所述的T₃为核苷间连接基团选自含磷的链接基团或者不含磷的链接基团。

[权利要求 8]

如权利要求7所述的寡核苷酸，其中，所述的含磷核苷间连接基团独立地为：磷酸二酯连接基团、磷酸三酯连接基团、硫代磷酸酯连

接基团、二硫代磷酸酯键连接基团、烷基磷酸酯连接基团、氨基磷酸酯连接基团、磷酸酯连接基团、次磷酸酯连接基团、硫代氨基磷酸酯连接基团和氨基磷酸酯连接基团。

- [权利要求 9] 如权利要求7所述的寡核苷酸，其中，所述的核苷间连接基团独立地为烷基磷酸酯连接基团、磷酸二酯核苷间连接基团或硫代磷酸酯核苷间连接基团。
- [权利要求 10] 如权利要求1-9所述的寡核苷酸，其中，所述的B_x杂环碱基部分选自：天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。
- [权利要求 11] 如权利要求10所述的寡核苷酸，其中，所述的B_x杂环碱基部分选自：嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。
- [权利要求 12] 如权利要求10所述的寡核苷酸，其中，所述的B_x杂环碱基部分选自：2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)、尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。
- [权利要求 13] 如权利要求1-12所述的寡核苷酸，其中，所述的R¹⁵和R³均为H。
- [权利要求 14] 如权利要求1-13所述的寡核苷酸，其中，所述的X_i为O。
- [权利要求 15] 如权利要求1-14所述的寡核苷酸，其中，所述的每个R¹和R²分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。
- [权利要求 16] 如权利要求1-14所述的寡核苷酸，其中，所述的每个X₂分别独立地为N，每个R¹和R²分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。
- [权利要求 17] 如权利要求1-16所述的寡核苷酸，其中，所述的式(V)、(VI)或式(VII)中的A具有下式之一：



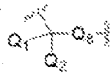
其中Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C₁-C₆烷基；

Q_8 为O、S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；
R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J₃、C(=O)OJ₃或者C(=O)N(J₃)(J₄)；
J₃和J₄独立地为H或C₁-C₆烷基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：
卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[权利要求 18] 如权利要求1-17所述的寡核苷酸，其中，所述的Q₁和Q₂各自独立地为H、F、-CN、甲基。

[权利要求 19] 如权利要求18所述的寡核苷酸，其中，所述的Q₁和Q₂各自独立地为H。

[权利要求 20] 如权利要求1-19所述的寡核苷酸，条件是当M₁为C(Rd)(Re)，X₂为C，X₃为化学键、A为时，Q₈为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹。

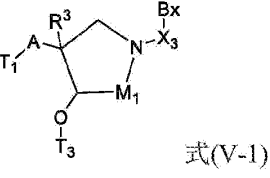
[权利要求 21] 如权利要求1-20所述的寡核苷酸，Q₈为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹。

[权利要求 22] 如权利要求1-21所述的寡核苷酸，其中，所述的X₂为N，X₃为化学键、-CH₂-、-CH₂CH₂-、SO、SO₂。

[权利要求 23] 如权利要求1-21所述的寡核苷酸，其中，所述的X₂为C，X₃为化学键。

[权利要求 24] 如权利要求1-23所述的寡核苷酸，其中，所述的n为0或者1。

[权利要求 25] 如权利要求1所述的寡核苷酸，其包含由式(V-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



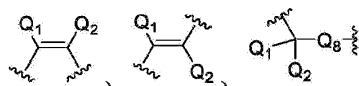
其中 T_1 、 T_3 、 A 、 R^3 以及 B_x 各如权利要求1所定义； X_3 为化学键、 $C(=O)$ 、 $P(=O)R$ 、 SO 或 SO_2 ； M_1 为 $C(R_d)(R_e)$ 、 $C(R_d)(R_e)C(R_g)(R_f)$ ，每个 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、 CN 、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$ ， J_5 、 J_6 独立地式(I-1)为H或 C_1-C_6 烷基； R 为 R 为OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$ 。

[权利要求 26] 如权利要求25所述的寡核苷酸，其中，所述的 X_3 为 SO_2 或化学键； R^3 氢。

[权利要求 27] 如权利要求25-26所述的寡核苷酸，其中，所述的 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢、氟、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 。

[权利要求 28] 如权利要求27所述的寡核苷酸，其中，所述的 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢。

[权利要求 29] 如权利要求25-28所述的寡核苷酸， A 具有下式之一：



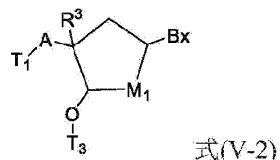
Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、卤素、任选取代的 C_1-C_6 烷基；

Q_8 为O、S、 SO 、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ； R^{16} 和 R^{17} 独立地为 $(=O)$ 、 $(=S)$ 、OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$ ；

R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为H、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$ ； J_3 和 J_4 独立地为H或 C_1-C_6 烷基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基硫基、 CN 。

[权利要求 30] 如权利要求1所述的寡核苷酸，其包含具有式(V-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



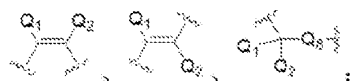
其中 T_1 、 T_3 、 A 、 R^3 以及 Bx 各自如权利要求1所定义； M_1 为 $C(R_d)$ (Re)、 $C(R_d)(Re)C(R_g)(R_f)$ ，每个 R_d 、 Re 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、 CN 、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$ ， J_5 、 J_6 独立地为 H 或 C_1-C_6 烷基。

[权利要求 31] 如权利要求30所述的寡核苷酸，其中，所述的每个 R_d 、 Re 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢、氟、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 。

[权利要求 32] 如权利要求30所述的寡核苷酸，其中，所述的 M_1 为 CH_2 或 CH_2CH_2 。

[权利要求 33] 如权利要求30-32所述的寡核苷酸，其中，所述的 R^3 为氢。

[权利要求 34] 如权利要求30-33所述的寡核苷酸，其中，所述的包含具有式(V-2)或其立体异构体中的 A 具有下式之一：



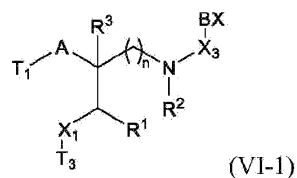
Q_1 和 Q_2 各自独立地为 H 、卤素、任选取代的 C_1-C_6 烷基； Q_8 为 S 、 SO 、 SO_2 或 NR^{11} 、 $PR^{16}R^{17}$ ； R^{16} 和 R^{17} 独立地为 $(=O)$ 、 $(=S)$ 、 OH 、 SH 、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$ ；

R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为 H 、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$ ； J_3 和 J_4 独立地为 H 或 C_1-C_6 烷基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：
卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、CN。

[权利要求 35]

如权利要求1所述的寡核苷酸，其包含具有式(VI-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



其中T₁、T₃、X₁、X₃、A、R³、Bx以及n各自如权利要求1所定义；
R¹和R²分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。

[权利要求 36]

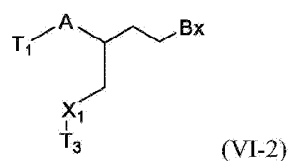
如权利要求35所述的寡核苷酸，其中，所述的n为0或者1。

[权利要求 37]

如权利要求35-36所述的寡核苷酸，其中，所述的X₃为CH₂或者CH₂CH₂；R³为H。

[权利要求 38]

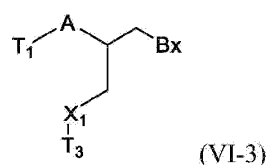
如权利要求1所述的寡核苷酸，其包含具有式(VI-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



其中T₁、T₃、X₁、A、Bx各自如权利要求1所定义。

[权利要求 39]

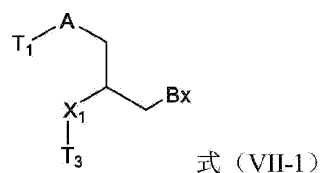
如权利要求1所述的寡核苷酸，其包含具有式(VI-3)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



其中T₁、T₃、X₁、A、Bx各自如权利要求1所定义。

[权利要求 40]

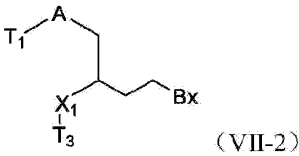
如权利要求1所述的寡核苷酸，其包含具有式(VII-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



其中T₁、T₃、X₁、A、Bx各自如权利要求1所定义。

[权利要求 41]

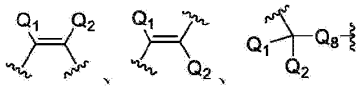
如权利要求1所述的寡核苷酸，其包含具有式(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



其中T₁、T₃、X₁、A、Bx各自如权利要求1所定义。

[权利要求 42]

如权利要求38-41所述的寡核苷酸，其中，所述的包含具有式(VI-1)、式(VI-2)、式(VI-3)、(VII-1)、(VII-2)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸中，A独立地具有下式之一：



其中Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C₁-C₆烷基；Q₈为O、S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J₃、C(=O)OJ₃或者C(=O)N(J₃)(J₄)；J₃和J₄独立地为H或C₁-C₆烷基。

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[权利要求 43]

如权利要求25-42所述的寡核苷酸，其中，所述的每个Q₁和Q₂各自独立地为H、F、-CN、甲基。

[权利要求 44]

如权利要求43所述的寡核苷酸，其中，所述的每个Q₁和Q₂各自独立地为H。

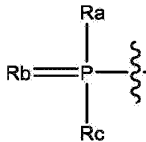
[权利要求 45]

如权利要求25-42所述的寡核苷酸，其中，所述的Q₈独立地为NR¹¹，R¹¹独立地为甲基、甲磺酰基。

[权利要求 46]

如权利要求25-42所述的寡核苷酸，其中，所述的Q₈为S或SO₂。

[权利要求 47] 如权利要求25-46所述的寡核苷酸，其中，所述的T₁为任选保护的磷部分具有下式：



其中：

Ra和Rc各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R_b为O、S或NR¹²，R¹²为氢、C₁-C₆烷基、氨基保护基。

[权利要求 48] 如权利要求47所述的寡核苷酸，其中，所述取代的氨基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基。

[权利要求 49] 如权利要求47所述的寡核苷酸，其中，所述的R_b为O或者S。

[权利要求 50] 如权利要求47所述的寡核苷酸，其中，所述的Ra和Rc各自为OH、SH、NH₂、OCH₂CH₂CN、NHSO₂CH₃。

[权利要求 51] 如权利要求47所述的寡核苷酸，其中，所述的Ra和Rc各自为OH，R_b为O。

[权利要求 52] 如权利要求25-51所述的寡核苷酸，其中，所述的T₃为核苷酸间链接基团选自：烷基磷酸酯连接基团、磷酸二酯核苷间连接基团或硫代磷酸酯核苷间连接基团。

[权利要求 53] 如权利要求25-52所述的寡核苷酸，其中，所述的每个B_x杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。

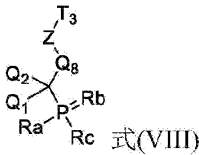
[权利要求 54] 如权利要求53所述的寡核苷酸，其中，所述的每个B_x杂环碱基部分独立地为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。

[权利要求 55] 如权利要求53所述的寡核苷酸，其中，所述的每个BX杂环碱基部分为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)、尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧

啉、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。

[权利要求 56]

一种寡核苷酸，其包含由式(VIII)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



其中：Q₈为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；

R_a和R_c各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、保护的或者任选取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R_b为O或S或NR¹²，R¹²为氢、C₁-C₆烷基、氨基保护基；

Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C₁-C₆烷基；取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；

R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基；

Z是含糖或糖替代性部分的核苷；

T₃是将式(VIII)或其立体异构体的5'-末端核苷酸连接到寡核苷酸的核苷间连接基团；

每个取代的基团包含一个或多个任选独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

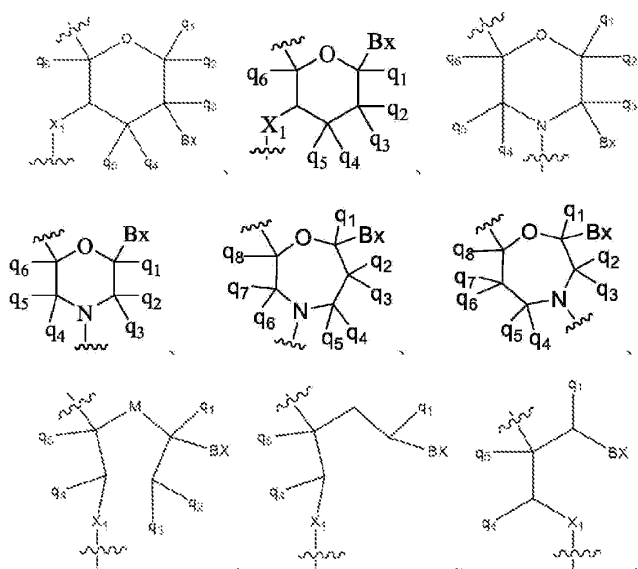
[权利要求 57]

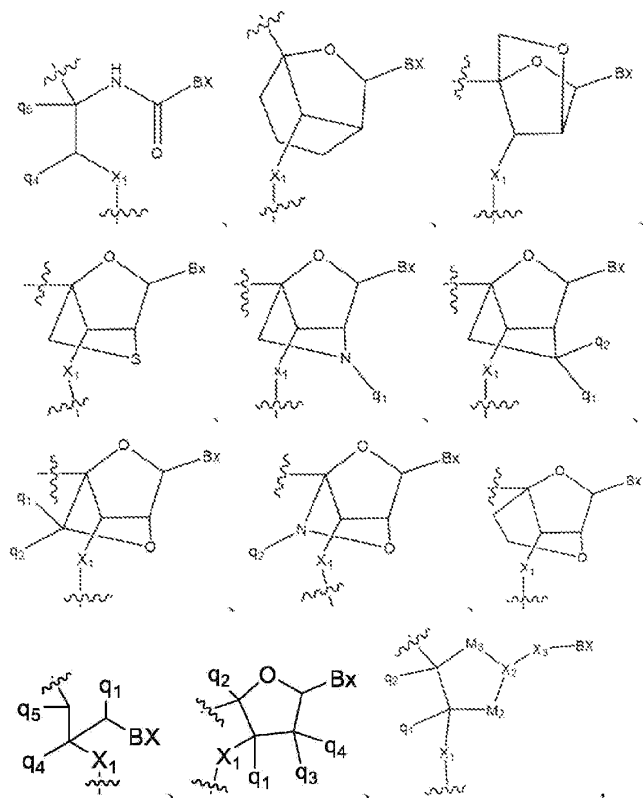
如权利要求56所述的寡核苷酸，其中，所述的Q₈为S、SO或SO₂。

[权利要求 58]

如权利要求57所述的寡核苷酸，其中，所述的Q₁和Q₂各自独立地为H。

- [权利要求 59] 如权利要求56-58所述的寡核苷酸，其中，所述的糖或糖替代性部分的核苷中，糖或糖替代性部包括5元呋喃糖环、非呋喃糖环或5-6元碳环体系或开放体系。
- [权利要求 60] 如权利要求59所述的寡核苷酸，其中，所述的糖或糖替代性部分选自：吗啉基、环己烯基、环己基、环戊基、吡喃基、环己六醇基、呋喃糖、非锁核碱基类似物(UNA)、甘油核酸碱基类似物(GNA)、锁核酸(LNA)或桥联核酸(BNA)。
- [权利要求 61] 如权利要求59-60所述的寡核苷酸，其中，所述的Q₈与糖或糖替代性部分的4'-碳或者5'-碳键合。
- [权利要求 62] 如权利要求59-60所述的寡核苷酸，其中，所述的糖或糖替代性部分的核苷具有以下结构示意：





其中, M_2 为 $C(q_3)(q_4)$ 、 $C(q_3)(q_4)C(q_5)(q_6)$;

M_3 为 O 、 S 、 NR^{13} 、 $C(q_7)(q_8)$ 、 $C(q_7)(q_8)C(q_9)(q_{10})$ 、 $C(q_7)=C(q_8)$ 、 $OC(q_7)(q_8)$;

每个 X_1 独立地为化学键、 O 、 S 、 NJ_1 或 CJJ_2 , 其中 J_1 和 J_2 各自独立地是氢、卤素、磺酰基、亚磺酰基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_3-C_6 环烷基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、任选取代的 C_5-C_{12} 芳基、任选取代的 5-12 元杂芳基、任选取代的 5-12 元杂环;

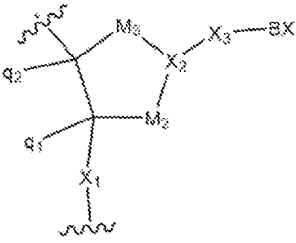
X_2 为 CR^{15} 或者 N ;

X_3 为化学键、任选取代的 C_1-C_3 亚烷基、 SO 、 SO_2 、 $C(=O)$ 、 $P(=O)R$;

R 为 OH 、 SH 、 C_1-C_6 烷基、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$;

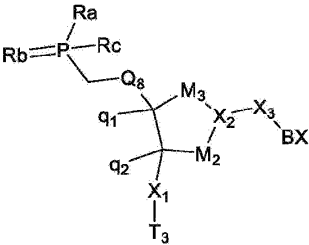
Bx为杂环碱基部分；
R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈、q₉和q₁₀分别独立地为氢、卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、O(CH₂)₂-OCH₃、CN、OC(=O)J₅、OC(=O)N(J₅)J₆和C(=O)N(J₅)J₆，J₅、J₆独立地为H或C₁-C₆烷基；
R¹³为氢、C₁-C₆烷基。

[权利要求 63] 如权利要求62所述的寡核苷酸，其中，所述的糖或糖替代性部分的核苷具有以下结构示意：



[权利要求 64] 如权利要求63所述的寡核苷酸，其中，所述的M₃为O、S、C(q₇)(q₈)、C(q₇)(q₈)C(q₉)(q₁₀)。

[权利要求 65] 如权利要求56所述的寡核苷酸，包含由式(VIII-1)或其立体异构体所表示的5'-末端核苷酸：



式(VIII-1)

其中，Q₈、Ra、Rc、R_b、M₂、M₃、X₁、X₂、X₃、q₁、q₂和Bx，各自如权利要求56中所定义。

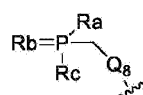
[权利要求 66] 如权利要求62-65所述的寡核苷酸，其中，所述的R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈、q₉和q₁₀各自独立的选自氢、氟、羟基、甲基、甲氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。

[权利要求 67] 如权利要求66所述的寡核苷酸，其中，所述的R¹⁵、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈、q₉和q₁₀各自独立的选自氢。

- [权利要求 68] 如权利要求65-67所述的寡核苷酸，其中，所述的 M_3 为O、S、C(q_7)(q_8)， M_2 为C(q_3)(q_4)， X_2 为CR¹⁵或者N， X_3 为化学键、SO、SO₂。
- [权利要求 69] 如权利要求68所述的寡核苷酸，其中，所述的 M_3 为 M_3 为O、S、CH₂， M_2 为CH₂， X_2 为CH， X_3 为化学键。
- [权利要求 70] 如权利要求68所述的寡核苷酸，其中，所述的 M_3 为CH₂， M_2 为CH₂， X_2 为N， X_3 为化学键、SO或SO₂。
- [权利要求 71] 如权利要求65-67所述的寡核苷酸，其中，所述的 M_3 为C(q_7)(q_8)， M_2 为C(q_3)(q_4)C(q_5)(q_6)， X_2 为CR¹⁵或者N， X_3 为化学键、SO、SO₂。
- [权利要求 72] 如权利要求71所述的寡核苷酸，其中，所述的 M_3 为CH₂， M_2 为CH₂CH₂， X_2 为CH， X_3 为化学键。
- [权利要求 73] 如权利要求71所述的寡核苷酸，其中，所述的 M_3 为CH₂， M_2 为CH₂CH₂， X_2 为N， X_3 为化学键、SO或SO₂。
- [权利要求 74] 如权利要求56-73所述的寡核苷酸，其中，所述的 Q_8 为S、SO或SO₂。
- [权利要求 75] 如权利要求56-73所述的寡核苷酸，其中，所述的 R_b 为氧。
- [权利要求 76] 如权利要求56-73所述的寡核苷酸，其中，所述的 Q_8 为SO或SO₂， R_a 和 R_c 各自独立地选自OH、SH、NH₂、NHSO₂CH₃。
- [权利要求 77] 如权利要求56-73所述的寡核苷酸，其中，所述的 Q_8 为S、SO或SO₂， R_b 为氧， R_a 和 R_c 各自独立地选自OH。
- [权利要求 78] 如权利要求56-77所述的寡核苷酸，其中，所述的 X_1 为氧。
- [权利要求 79] 如权利要求56-78所述的寡核苷酸，其中，所述的 B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。
- [权利要求 80] 如权利要求79所述的寡核苷酸，其中，所述的 B_x 杂环碱基部分为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。

[权利要求 81] 如权利要求79所述的寡核苷酸，其中，所述的B_x杂环碱基部分为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)、尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。

[权利要求 82] 一种寡核苷酸，其在5'-末端核苷酸具有下式的化合物片段：



其中：Q₈为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR₁₁；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；Ra和Rc各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、保护的或者任选取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R₈为O或S或NR¹²，R¹²为氢、C₁-C₆烷基、氨基保护基；

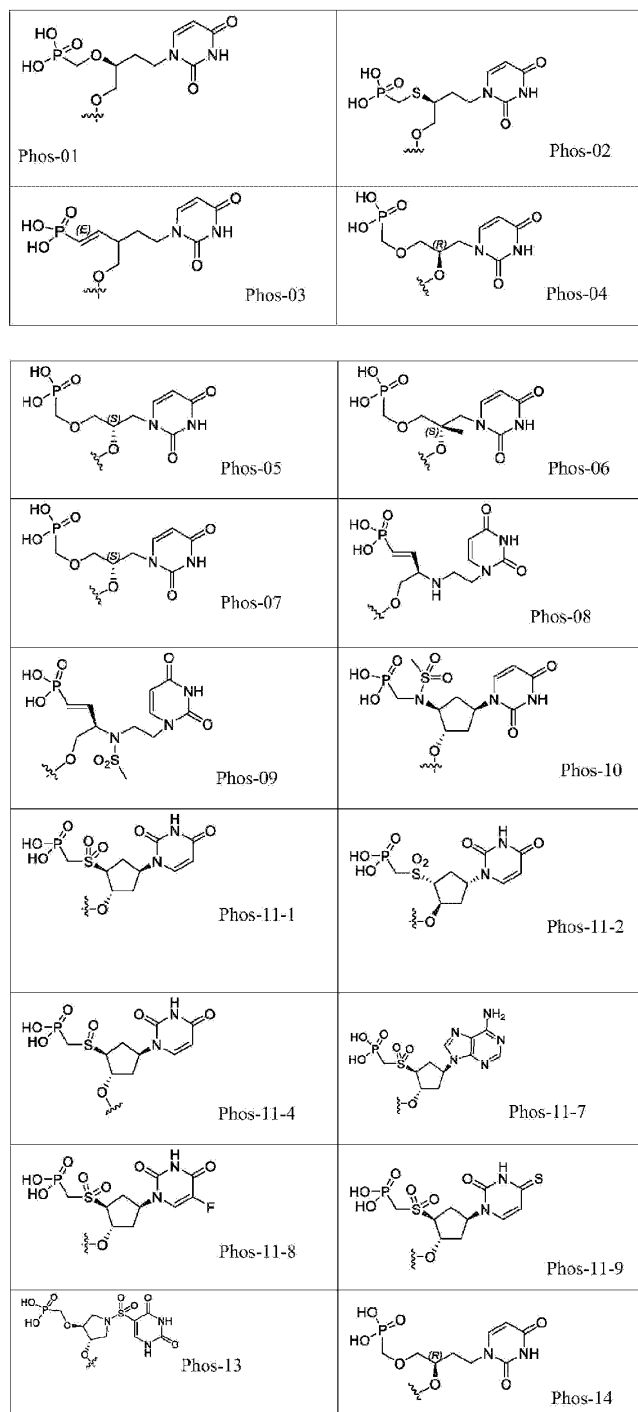
取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；

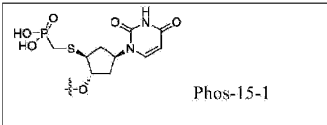
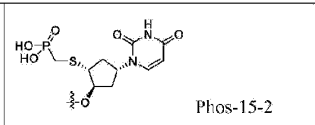
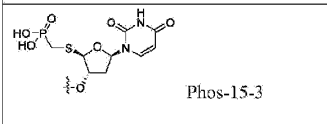
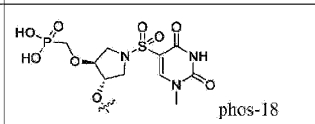
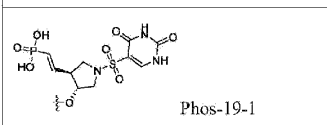
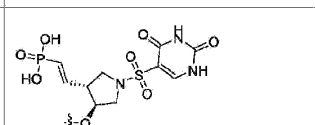
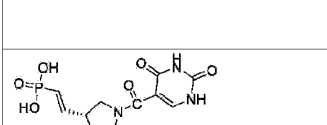
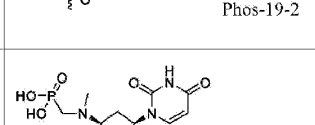
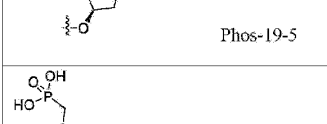
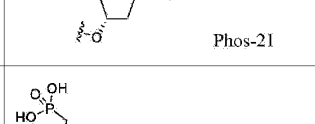
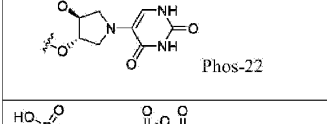
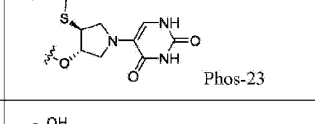
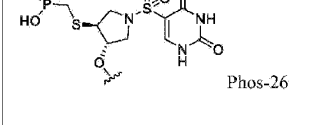
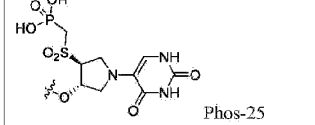
R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基；

每个取代的基团包含一个或多个任选独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN；

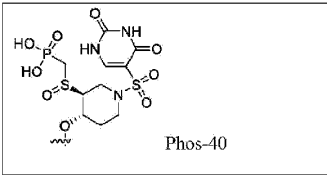
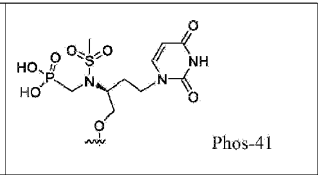
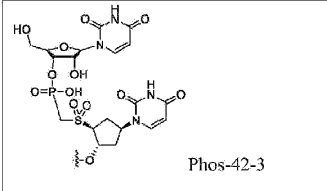
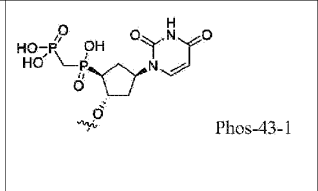
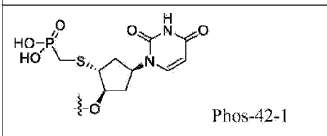
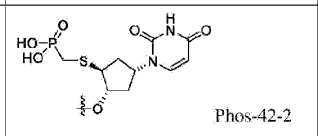
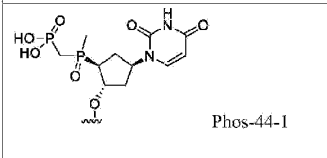
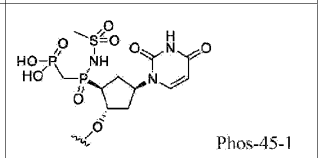
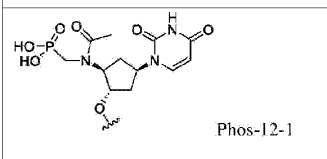
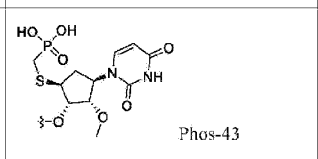
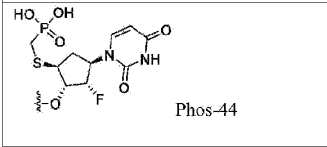
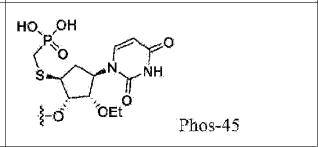
“~”表示与5'-末端核苷酸剩余部分的链接处。

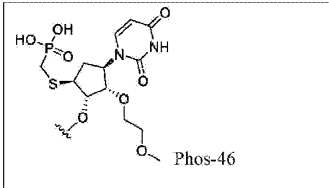
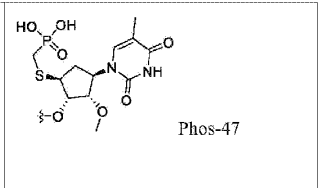
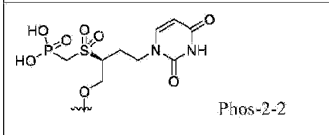
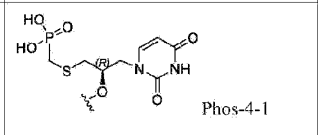
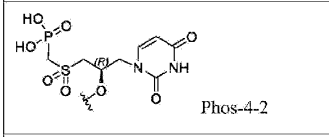
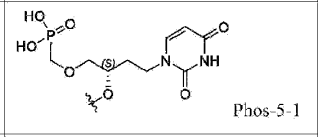
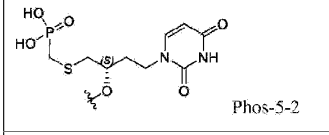
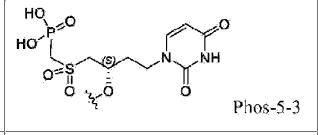
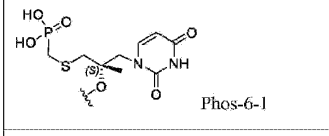
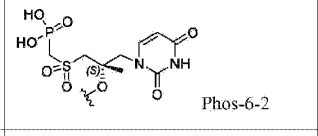
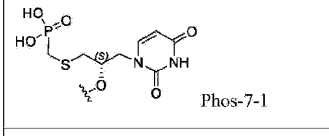
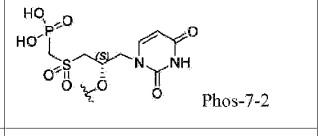
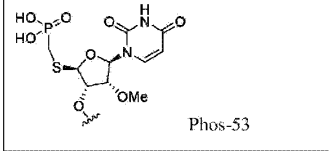
[权利要求 83] 如权利要求1-82所述的寡核苷酸，包含以下之一具体结构或其立体异构体表示的5'-末端核苷：



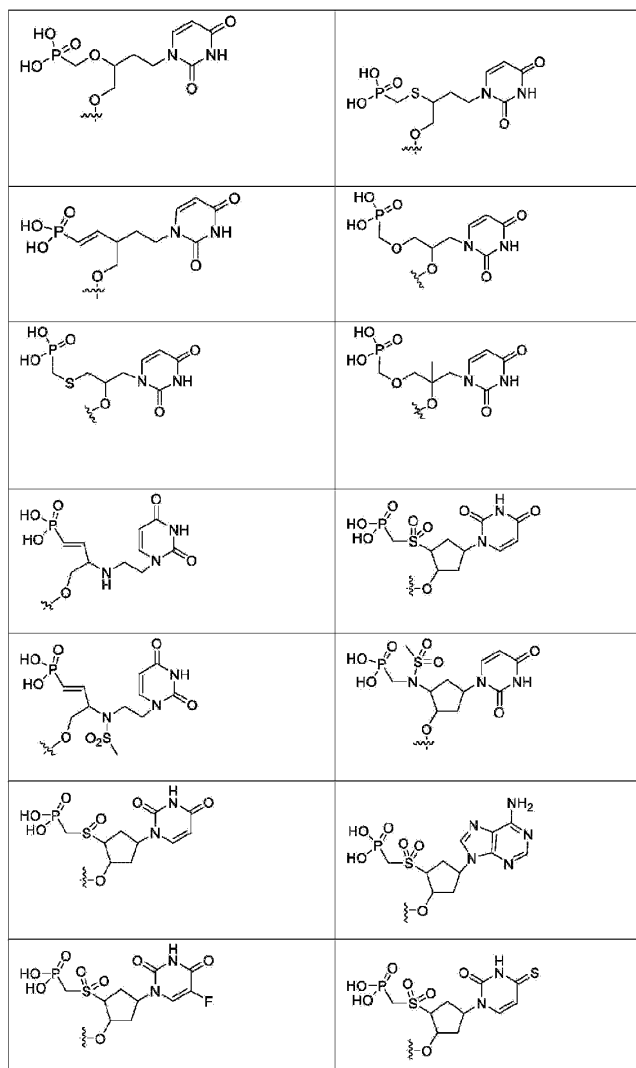
 Phos-15-1	 Phos-15-2
 Phos-15-3	 phos-18
 Phos-19-1	 Phos-19-2
 Phos-19-5	 Phos-21
 Phos-22	 Phos-23
 Phos-26	 Phos-25
 Phos-24	 Phos-27

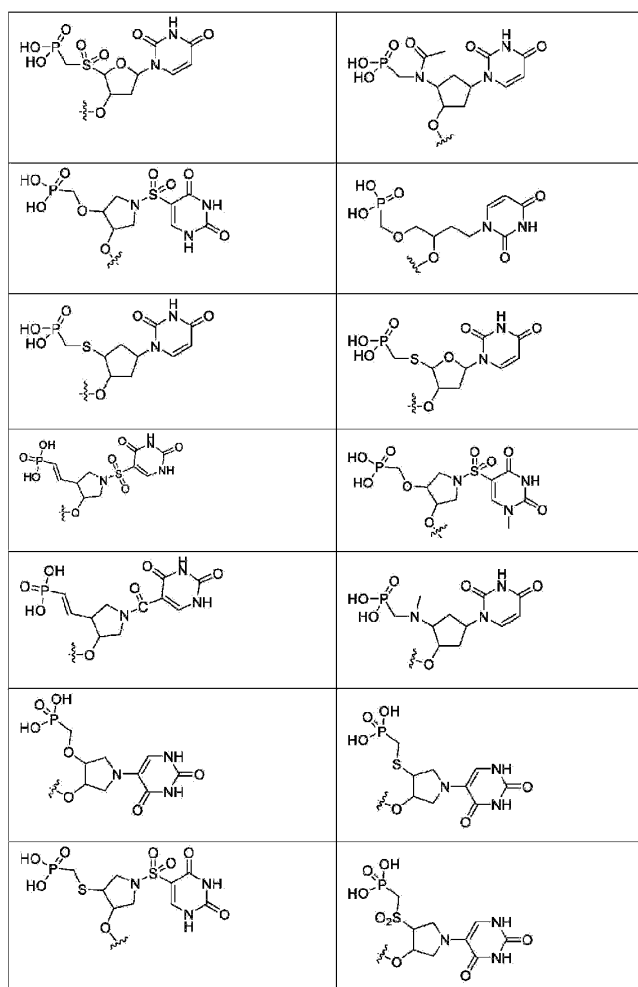
 Phos-28	 Phos-29
 Phos-30	 Phos-31
 Phos-32	 Phos-33
 Phos-34	 Phos-35
 Phos-36-1	 Phos-37
 Phos-38	 Phos-39

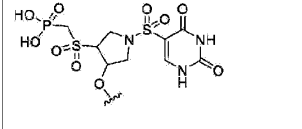
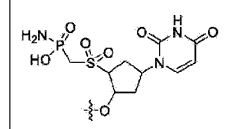
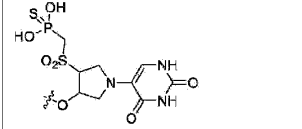
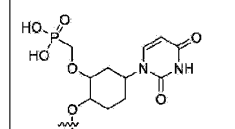
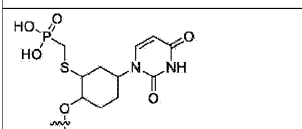
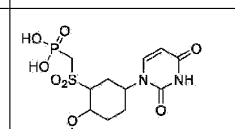
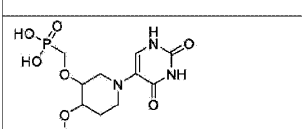
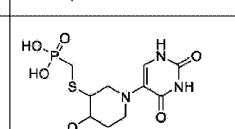
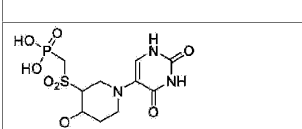
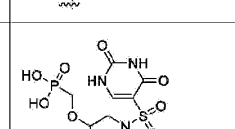
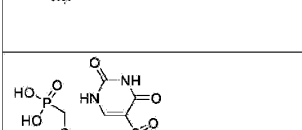
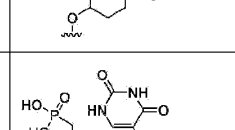
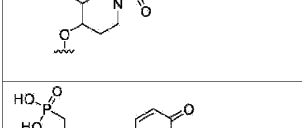
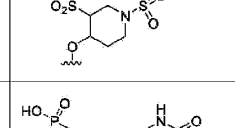
 Phos-40	 Phos-41
 Phos-42-3	 Phos-43-1
 Phos-42-1	 Phos-42-2
 Phos-44-1	 Phos-45-1
 Phos-12-1	 Phos-43
 Phos-44	 Phos-45

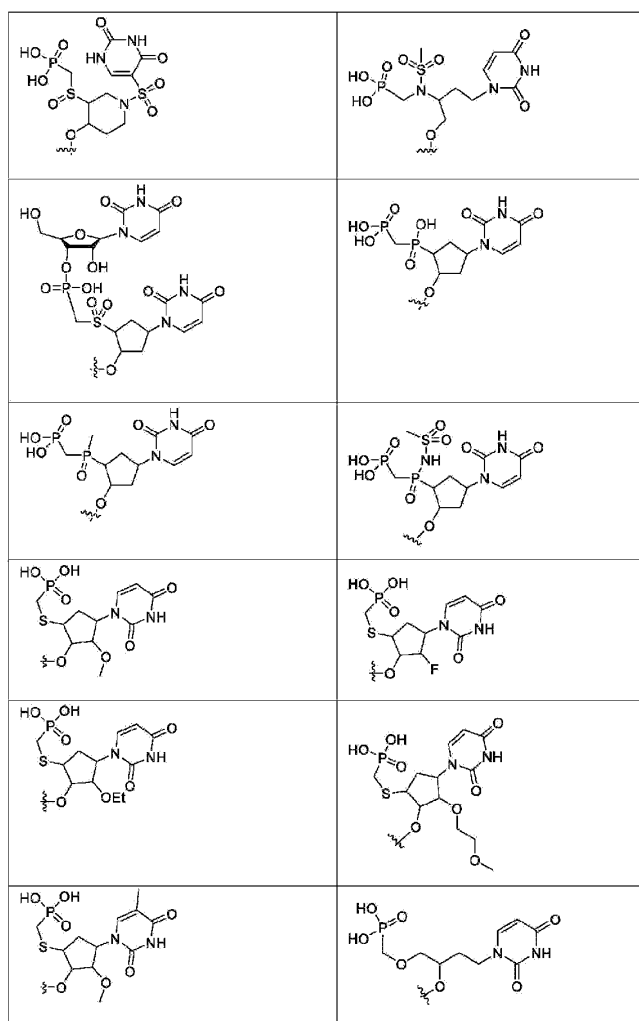
 Phos-46	 Phos-47
 Phos-2-2	 Phos-4-1
 Phos-4-2	 Phos-5-1
 Phos-5-2	 Phos-5-3
 Phos-6-1	 Phos-6-2
 Phos-7-1	 Phos-7-2
 Phos-53	

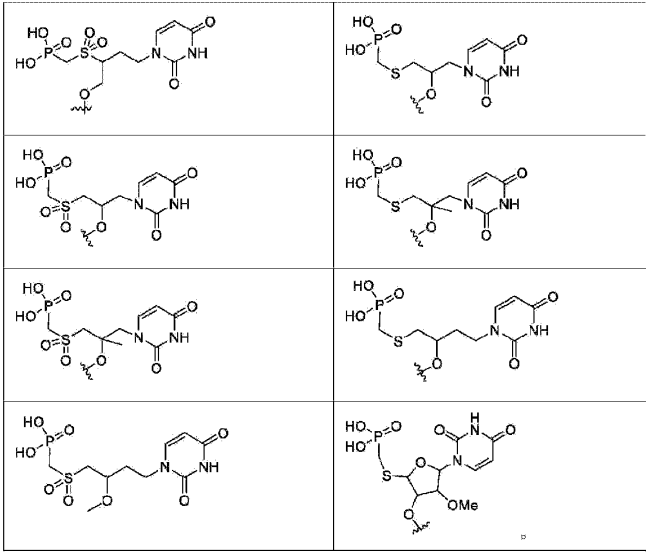
或





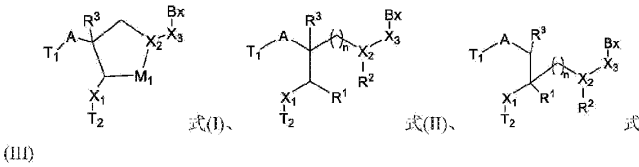




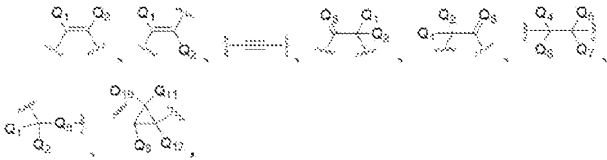
- [权利要求 84] 如权利要求56-83所述的寡核苷酸，其中，所述的核苷间连接基团独立地为烷基磷酸酯连接基团、磷酸二酯核苷间连接基团或硫代磷酸酯核苷连接基团。
- [权利要求 85] 如权利要求1-84所述的寡核苷酸，其中，所述的寡核苷酸为双链核糖核酸(dsRNA)试剂，包含：正义链和反义链，其中所述正义链和反义链完全或者部分互补，并且所述反义链与核酸靶基因部分或者完全互补；所述正义链和反义链的至少一者为由如权利要求1-84所述的所表示的5'-末端核苷酸的寡核苷酸；并且其中所述双链核糖核酸(dsRNA)试剂任选地进一步包含独立的靶向基团。
- [权利要求 86] 如权利要求85所述的寡核苷酸，其中，所述的双链核糖核酸(dsRNA)试剂，其中反义链包含由如权利要求1-84所述的所表示的5'-末端核苷酸的寡核苷酸。
- [权利要求 87] 如权利要求1-86所述的寡核苷酸，其中，寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)中，每一条链均分别包含8-40核苷酸。
- [权利要求 88] 如权利要求1-87所述的寡核苷酸，其中，所述的寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)试剂在药物制备中的用途，所述药物用于抑制基因表达。

[权利要求 89]

一种具有式(I)、式(II)和式(III)或它们的立体异构体所示的化合物：



其中，每个T₁独立地为任选保护的磷部分；
每个T₂独立地为活性磷基团；
每个X₁独立地为化学键、O、S、N_J或C_JJ₂，其中J₁和J₂各自独立地是氢、卤素、磺酰基、亚磺酰基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₃-C₆环烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、任选取代的C₅-C₁₂芳基、任选取代的5-12元杂芳基、任选取代的5-12元杂环；
每个X₂独立地为CR¹⁵或者N；
每个X₃独立地为化学键、任选取代的C₁-C₃亚烷基、SO、SO₂、C(=O)、P(=O)R；R为OH、SH、C₁-C₆烷基、NH₂、NH₂SO₂CH₃；
每个B_x独立地为杂环碱基部分；
每个R¹和R²分别独立地为H、卤素、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；
每个R³和R¹⁵分别独立地为H、卤素、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基；
每个A独立地具有下式之一：



每个 Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基或 NR^4R^5 ;

每个 Q_3 独立地为O、S、 NR^6 或 CR^7R^8 ;

Q_4 、 Q_5 、 Q_6 、 Q_7 、 Q_9 、 Q_{10} 、 Q_{11} 和 Q_{12} 各自独立地为H、卤素、任选保护的羟基、乙酰氧基、叠氮基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、 NR^9R^{10} ;

Q_8 为O、S、SO、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ;

R^{16} 和 R^{17} 独立地为($=O$)、($=S$)、OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$;

每个 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为H、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$;

M_1 为 $C(Rd)(Re)$ 、 $C(Rd)(Re)C(Rf)(Rg)$ ，每个Rd、Re、Rg和Rf分别独立地选自以下的取代基团：氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、CN、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$;

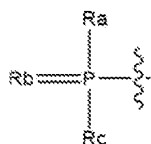
每个 J_3 、 J_4 、 J_5 和 J_6 独立地为H或 C_1-C_6 烷基;

每个n独立地为0、1或者2;

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、CN。

[权利要求 90]

如权利要求89所述的化合物，每个 T_1 独立地为任选保护的磷部分具有下式：



其中：

R_a和R_c各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、氨基或者保护/被取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R_b为O、S或NR¹²，R¹²为氢、C₁-C₆烷基、氨基保护基；

取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[权利要求 91]

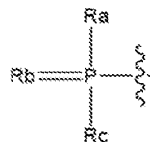
如权利要求90所述的化合物，所述的羟基或巯基的保护基独立地选自：甲基、乙基、苄基(Bn)、苯基、异丙基、叔丁基、乙酰基、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、烯丙基、环己基(cHex)、9-芴甲氧羰基、甲磺酸基、甲苯磺酸基、三氟甲磺酸基、苯甲酰基、苯甲酰基甲酸酯、对苯基苯甲酰基、4-甲氧基苄基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、4-氯苄基、4-硝基苄基、2,4-二硝基苄基、4-酰氧基苄基、2-甲基苯基、2,6-二甲基苯基、2-氯苯基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、三苯基甲基、4-甲硫基-1-丁基、2-(S-乙酰巯基)乙基(SATE)、2-氰乙基、2-氰基-1,1-二甲基乙基(CDM)、4-氰基-2-丁烯基、2-(三甲基硅基)乙基(TSE)、2-(苯硫基)乙基、2-(三苯基硅基)乙基、2-(苄磺酰基)乙基、2,2,2-三氯乙基、2,2,2-三溴乙基、2,3-二溴丙基、2,2,2-三氟乙基、苯硫基、2-氯-4-三苯甲基苯基、2-溴苯基、2-[N-异丙基-N-(4-甲氧基苯甲酰基)氨基]乙基、4-(N-三氟乙酰基氨基)丁基、4-氧代戊基、4-三苯甲基氨基苯基、4-苄基氨基苯基、四氢吡喃基、吗啉代、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、

叔丁基二苯基甲硅烷基、三苯甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、特戊酸酯甲醚基(POM)和9-苯基黄嘌呤-9-基。

所述的氨基保护基独立地选自：2-三甲基硅基乙氧基羰基(Teoc)、1-甲基-1-(4-联苯基)乙氧基羰基(Bpoc)、叔丁氧基羰基(BOC)、烯丙氧基羰基(Alloc)、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、苄氧基羰基(Cbz)、苄基、甲酰基、乙酰基、特戊酰基、三卤乙酰基、苯甲酰基、硝基苯基、乙酰基、2-硝基苯磺酰基、邻苯二甲酰亚胺基(PhI)、对甲苯磺酰基(Tos)、三苯甲基(Trt)、2,4-二氧基苄基(PMB)和二硫代丁二酰基。

[权利要求 92]

如权利要求90-91所述的化合物，每个 T_i 独立地为任选保护的膦部分具有下式：



其中：

R_a 和 R_c 各自独立地选自保护的羟基或者保护的巯基；并且 R_b 为O或S。

所述羟基保护基各自独立地选自乙酰基、叔丁基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、对氯苯基、2,4-二硝基苯基、苄基、苯甲酰基、对苯基苯甲酰基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、对硝基苄基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、三苯甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、苯甲酰基甲酸酯、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、9-苄基甲氧基羰基、甲磺酸基、甲磺酸基、三氟甲磺酸基、三苯甲基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、特戊酸酯甲醚基(POM)或取代的9-苯基黄嘌呤-9-基；

所述巯基保护基各自独立地选自甲基、乙基、乙酰基、叔丁基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-

氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、对氯苄基、2,4-二硝基苄基、苄基、苯甲酰基、对苯基苯甲酰基、2,6-二氯苄基、二苯基甲基、对硝基苄基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、苯甲酰基甲酸酯、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、9-苄基氧羰基、甲磺酰基、甲苯磺酰基、三氟甲磺酰基、三苯甲基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基或取代的9-苄基黄嘌呤-9-基。

[权利要求 93] 如权利要求92所述的化合物，羟基保护基各自独立地选自乙酰基、苄基、叔丁基二甲基甲硅烷基、特戊酸酯甲醚基(POM)、叔丁基二苯基甲硅烷基以及4,4'-二甲氧基三苯甲基；巯基保护基各自独立地选自苄基、4,4'-二甲氧基三苯甲基、三苯甲基。

[权利要求 94] 如权利要求90-93所述的化合物，R_b为O或者S，R_a和R_c各自独立地选自受保护的羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基。

[权利要求 95] 如权利要求90-94所述的化合物，R_b为O，R_a和R_c各自独立地选自OH、SH、OCH₃、OCH₂CH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂OC(=O)C(CH₃)₃、OCH₂CH₂CN、NHCO₂CH₃。

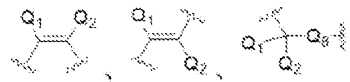
[权利要求 96] 如权利要求89-95所述的化合物，每个T₂独立地为活性磷基团，所述的活性磷基团具有如下结构：
$$\begin{array}{c} \text{M}_4 - \text{P} - \text{M}_5 \\ | \\ \text{O} \\ \text{(O)}_r \end{array}$$
 其中M₄为H、任选取代的C₁-C₆烷基、OH、OJ₇、SH、SJ₇或NJ₇J₈，M₅为任选取代的C₁-C₆烷基、OH、OJ₇、SH、SJ₇或NJ₇J₈，每个J₇或J₈独立地为任选取代的C₁-C₆烷基、磺酰基；r为0或者1。

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[权利要求 97] 如权利要求96所述的化合物，每个J₇或J₈独立地为取代的C₁-C₆烷基中，所述的取代基选自氰基、卤素。

- [权利要求 98] 如权利要求96所述的化合物， M_4 选自甲基、异基、丙基、异丙基。
- [权利要求 99] 如权利要求96所述的化合物， M_4 选自甲磺酰胺基。
- [权利要求 100] 如权利要求96所述的化合物， M_4 为 OJ_r ，其中 J_r 为取代的 C_1-C_6 烷基，取代基选自氰基、卤素。
- [权利要求 101] 如权利要求96所述的化合物，其中 M_4 为 $O(CH_2)_2CN$ ， M_5 为 $N(CH(CH_3)_2)_2$ ， r 为0。
- [权利要求 102] 如权利要求96所述的化合物，每个 T_2 活性磷基团独立地是亚磷酰胺。
- [权利要求 103] 如权利要求96所述的化合物，每个 T_2 活性磷基团独立地选自二异丙基氰基乙氧基亚磷酰胺、二异丙基乙基亚磷酰胺和H-膦酸酯。
- [权利要求 104] 如权利要求89-103所述的化合物，每个 X_1 独立地为O。
- [权利要求 105] 如权利要求89-104所述的化合物，每个 B_x 杂环碱基部分独立地选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。
- [权利要求 106] 如权利要求105所述的化合物，每个 B_x 杂环碱基部分独立地为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。
- [权利要求 107] 如权利要求105所述的化合物，每个 B_x 杂环碱基部分独立地为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)、尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。
- [权利要求 108] 如权利要求89-106所述的化合物，每个 R^{15} 和 R^3 分别独立地为H。
- [权利要求 109] 如权利要求89-108所述的化合物，每个 R^1 和 R^2 分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。
- [权利要求 110] 如权利要求89-109所述的化合物，每个 X_2 分别独立地为N，每个 R^1 和 R^2 分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。

[权利要求 111] 如权利要求89-110所述的化合物，A具有下式之一：

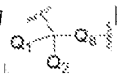


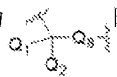
其中Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C₁-C₆烷基；Q₈为O、S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J₃、C(=O)OJ₃或者C(=O)N(J₃)(J₄)；J₃和J₄独立地为H或C₁-C₆烷基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、CN。

[权利要求 112] 如权利要求89-111所述的化合物，每个Q₁和Q₂各自独立地为H、F、-CN、甲基。

[权利要求 113] 如权利要求112所述的化合物，每个Q₁和Q₂各自独立地为H。

[权利要求 114] 如权利要求89-113所述的化合物，条件是M₁为C(R_d)(R_e)，X₂为C，X₃为化学键、A为  时，Q₈为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹。

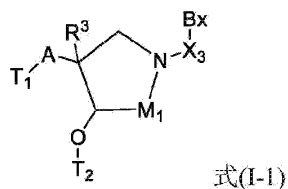
[权利要求 115] 如权利要求89-114所述的化合物，条件是M₁为C(R_d)(R_e)，X₂为C，X₃为化学键、A为  时，Q₈为S、SO、SO₂或NR¹¹。

[权利要求 116] 如权利要求89-115所述的化合物，X₂为N，X₃为化学键、-CH₂-、-CH₂CH₂-、SO、SO₂。

[权利要求 117] 如权利要求89-116所述的化合物，X₂为CH，X₃为化学键。

[权利要求 118] 如权利要求89-117所述的化合物，n为0或者1。

[权利要求 119] 如权利要求89所述的化合物，具有式(I-1)所示的化合物或其立体异构体：



其中 T_1 、 T_2 、 A 、 R^3 以及 Bx 各自如权利要求89所定义； X_3 为化学键、 $C(=O)$ 、 $P(=O)R$ 、 SO 或 SO_2 ； M_1 为 $C(R_d)(R_e)$ 、 $C(R_d)(R_e)C(R_g)(R_f)$ ，每个 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 NJ_5 、 CN 、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$ ， J_5 、 J_6 独立地式(I-1)为H或 C_1-C_6 烷基； R 为OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$ 。

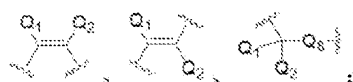
[权利要求 120] 如权利要求119所述的化合物，每个 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地选自以下的取代基团：氢、氟、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 。

[权利要求 121] 如权利要求120所述的化合物，每个 R_d 、 R_e 、 R_g 和 R_f 分别独立地为氢。

[权利要求 122] 如权利要求89-121所述的化合物， R^3 为氢。

[权利要求 123] 如权利要求89-122所述的化合物，其中 X_3 为 SO_2 或者化学键。

[权利要求 124] 如权利要求89-123所述的化合物， A 具有下式之一：

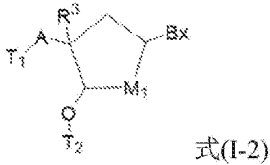


Q_1 和 Q_2 各自独立地为H、卤素、任选取代的 C_1-C_6 烷基；

Q_3 为O、S、 SO 、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ； R^{16} 和 R^{17} 独立地为 $(=O)$ 、 $(=S)$ 、OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$ ； R^{11} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地为H、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、甲磺基、磺酸基、 $C(=O)J_3$ 、 $C(=O)OJ_3$ 或者 $C(=O)N(J_3)(J_4)$ ； J_3 和 J_4 独立地为H或 C_1-C_6 烷基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：
卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[权利要求 125] 如权利要求89所述的化合物，具有式(I-2)所示的化合物或其立体异构体：



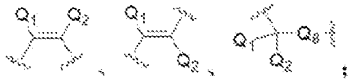
其中T₁、T₂、A、R³以及Bx各自如权利要求89所定义；M₁为C(Rd)(Re)、C(Rd)(Re)C(Rg)(Rg)，每个Rd、Re、Rg和R_f分别独立地选自以下的取代基团：氢、卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、O(CH₂)₂-OCH₃、NJ₅、CN、OC(=O)J₅、OC(=O)N(J₅)(J₆)和C(=O)N(J₅)(J₆)，J₅、J₆独立地为H或C₁-C₆烷基。

[权利要求 126] 如权利要求125所述的化合物，每个Rd、Re、Rg和R_f分别独立地选自以下的取代基团：氢、氟、羟基、C₁-C₆烷氧基、O(CH₂)₂-OCH₃。

[权利要求 127] 如权利要求125所述的化合物，M₁为CH₂或CH₂CH₂。

[权利要求 128] 如权利要求125-127所述的化合物，R³为氢。

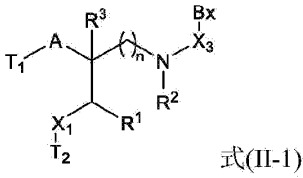
[权利要求 129] 如权利要求125-128所述的化合物，A具有下式之一：



Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、任选取代的C₁-C₆烷基；
Q₃为S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；
R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J₃、C(=O)OJ₃或者C(=O)N(J₃)(J₄)；J₃和J₄独立地为H或C₁-C₆烷基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：
卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、CN。

[权利要求 130] 如权利要求89所述的化合物，具有式(II-1)所示或其立体异构体：

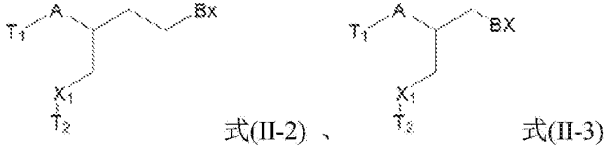


其中T₁、T₂、X₁、X₃、A、R³、Bx以及n各自如权利要求89所定义；R¹和R²分别独立地为H、甲磺酰基、乙酰基。

[权利要求 131] 如权利要求130所述的化合物，n为0或者1。

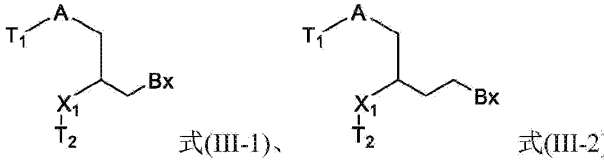
[权利要求 132] 如权利要求130-131所述的化合物，X₃为CH₂或者CH₂CH₂。

[权利要求 133] 如权利要求89所述的化合物，具有式(II-2)或式(II-3)所示或其立体异构体：



其中T₁、T₂、X₁、A以及Bx各自如权利要求89所定义。

[权利要求 134] 如权利要求89所述的化合物，具有式(III-1)或式(III-2)所示或其立体异构体：



其中T₁、T₂、X₁、A以及Bx各自如各自如权利要求89所定义。

[权利要求 135] 如权利要求130-134所述的化合物，中的A具有下式之一：



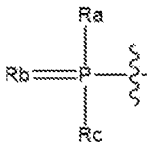
其中Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C₁-C₆烷基；Q₈为O、S、SO、SO₂、PR¹⁶R¹⁷或NR¹¹；R¹⁶和R¹⁷独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、C₁-C₆烷基、NR¹⁸R¹⁹；R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基、C(=O)J₃、C(=O)OJ₃或者C(=O)N(J₃)(J₄)；J₃和J₄独立地为H或C₁-C₆烷基；

每个任选取代的基团包含一个或多个独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷巯基、CN。

[权利要求 136] 如权利要求118-135所述的化合物，其中每个Q₁和Q₂各自独立地为H、F、-CN、甲基。

[权利要求 137] 如权利要求136所述的化合物，其中每个Q₁和Q₂各自独立地为H。

[权利要求 138] 如权利要求118-137所述的化合物，其中T₁为任选保护的磷部分具有下式：



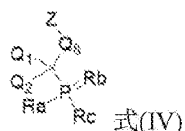
其中：

Ra和Rc各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、胺基或者保护/取代的氨基、天然的或修饰的核苷；并且R_b为O、S或NR¹²，R¹²为氢、C₁-C₆烷基、氨基保护基。

[权利要求 139] 如权利要求138所述的化合物，取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基。

[权利要求 140] 如权利要求138所述的化合物，R_b为O或者S，Ra和Rc各自独立地选自受保护的羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基。

- [权利要求 141] 如权利要求138所述的化合物, R_b 为O, R_a 和 R_c 各自独立地选自OH、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2OC(=O)C(CH_3)_3$ 、 OCH_2CH_2CN 、 $NHSO_2CH_3$ 。
- [权利要求 142] 如权利要求118-141所述的化合物, T_2 为活性磷基团, 所述的活性磷基团是亚磷酰胺。
- [权利要求 143] 如权利要求142所述的化合物, T_2 活性磷基团选自二异丙基氨基乙氧基亚磷酰胺、二异丙基乙基亚磷酰胺和H-膦酸酯。
- [权利要求 144] 如权利要求118-142所述的化合物, B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。
- [权利要求 145] 如权利要求144所述的化合物, B_x 杂环碱基部分为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。
- [权利要求 146] 如权利要求144所述的化合物, B_x 杂环碱基部分为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)、尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。
- [权利要求 147] 一种具有式(IV)或它们的立体异构体所示的化合物:



其中: Q_8 为S、SO、 SO_2 、 $PR^{16}R^{17}$ 或 NR^{11} ; R^{16} 和 R^{17} 独立地为(=O)、(=S)、OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 $NR^{18}R^{19}$; R_a 和 R_c 各自独立地选自羟基或者保护的羟基、巯基或者保护的巯基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、保护的或者任选取代的氨基、天然的或修饰的核苷; 并且 R_b 为O、S或 NR^{12} , R^{12} 为氢、 C_1-C_6 烷基、氨基保护基;

取代的氨基中的取代基选自：任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基、亚磺酰基、磺酰基、乙酰基；

Q₁和Q₂各自独立地为H、卤素、-CN、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、任选取代的C₂-C₆烯基、任选取代的C₂-C₆炔基或NR⁴R⁵；

每个R⁴、R⁵、R¹¹、R¹⁸和R¹⁹独立地为H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、甲磺基、磺酸基；

Z是包含亚磷酰胺、糖或糖替代性部分的核苷；

每个取代的基团包含一个或多个任选独立地选自以下的取代基团：卤素、羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、CN。

[权利要求 148] 如权利要求147所述的化合物，其中Q₈为S、SO或SO₂。

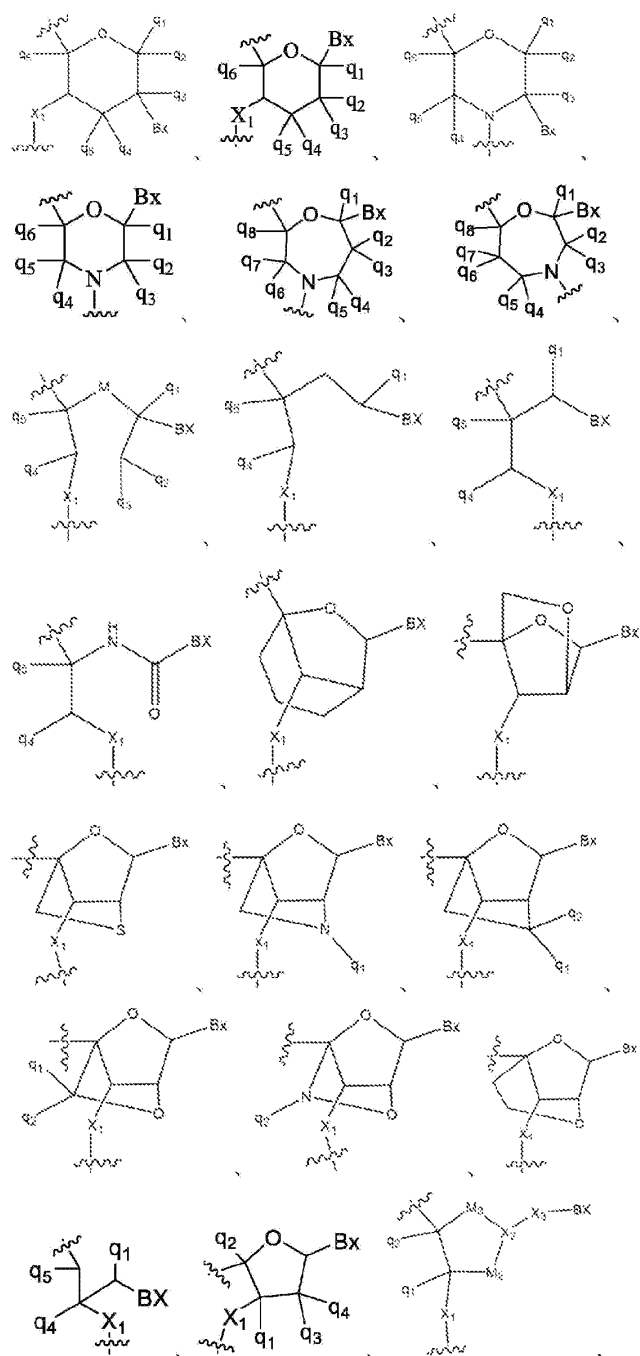
[权利要求 149] 如权利要求147-148所述的化合物，Q₁和Q₂各自独立地为H。

[权利要求 150] 如权利要求147-149所述的化合物，所述糖或糖替代性部分的核苷中，糖或糖替代性部分包括5元呋喃糖环、非呋喃糖环或5-6元碳环体系或开放体系。

[权利要求 151] 如权利要求150所述的化合物，糖或糖替代性部分选自：吗啉基、环己烯基、环己基、环戊基、吡喃基、环己六醇基、呋喃糖、非锁核碱基类似物(UNA)、甘油核酸碱基类似物(GNA)、锁核酸(LNA)或桥联核酸(BNA)。

[权利要求 152] 如权利要求151所述的化合物，其中Q₈与糖或糖替代性部分的4'-碳或者5'-碳键合。

[权利要求 153] 如权利要求150-151所述的化合物，其中糖或糖替代性部分的核苷具有以下结构示意：



其中， M_2 为 $C(q_3)(q_4)$ 、 $C(q_3)(q_4)C(q_5)(q_6)$ ；

M_3 为O、S、 NR^{13} 、 $C(q_7)(q_8)$ 、 $C(q_7)(q_8)C(q_9)(q_{10})$ 、 $C(q_7)=C(q_8)$ 、 $OC(q_7)(q_8)$;

X_1 为化学键或选自O、S、 NJ_1 或 CJ_1J_2 ，其中 J_1 和 J_2 各自独立地是氢、卤素、磺酰基、亚磺酰基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_3-C_6 环烷基、任选取代的 C_2-C_6 烯基、任选取代的 C_2-C_6 炔基、任选取代的 C_5-C_{12} 芳基、任选取代的5-12元杂芳基、任选取代的5-12元杂环;

X_2 为 CR^{15} 或者N;

X_3 为化学键、任选取代的 C_1-C_3 亚烷基、SO、 SO_2 、 $C(=O)$ 、 $P(=O)R$;

R为OH、SH、 C_1-C_6 烷基、 NH_2 、 $NHSO_2CH_3$;

B_x 为杂环碱基部分;

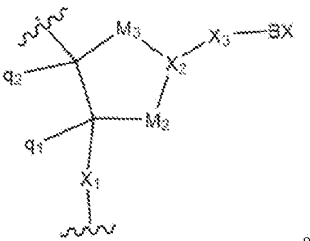
R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 、 q_8 、 q_9 和 q_{10} 分别独立地为氢、卤素、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、CN、 $OC(=O)J_5$ 、 $OC(=O)N(J_5)(J_6)$ 和 $C(=O)N(J_5)(J_6)$ ， J_5 、 J_6 独立地为H或 C_1-C_6 烷基;

R^{13} 为氢、 C_1-C_6 烷基。

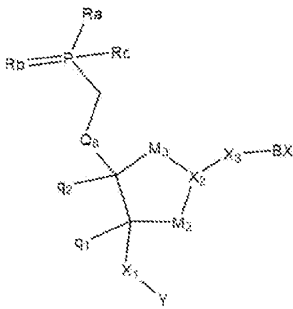
[权利要求 154] 如权利要求153所述的化合物，每个 R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 、 q_8 、 q_9 和 q_{10} 分别独立地选自以下的基团：氢、氟、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 。

[权利要求 155] 如权利要求154所述的化合物，每个 R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 、 q_8 、 q_9 和 q_{10} 分别独立地选自以下的基团：氢。

[权利要求 156] 如权利要求153-155所述的化合物，其中糖或糖替代性部分的核苷具有以下结构示意：



[权利要求 157] 如权利要求147-156所述的化合物，



式(IV-1)

其中， Q_8 、 R_a 、 R_c 、 R_b 、 M_2 、 M_3 、 X_1 、 X_2 、 X_3 、 q_1 、 q_2 和 Bx ，各自如权利要求147所示。

[权利要求 158] 如权利要求157所述的化合物， R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 、 q_8 、 q_9 和 q_{10} 各自独立的选自氢、氟、羟基、甲基、甲氧基、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 。

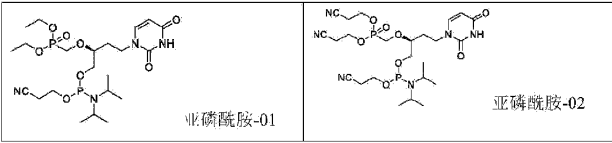
[权利要求 159] 如权利要求158所述的化合物， R^{15} 、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、 q_7 、 q_8 、 q_9 和 q_{10} 各自独立的选自氢。

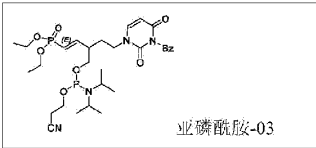
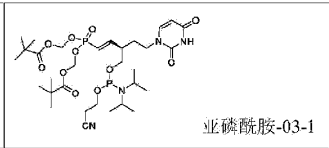
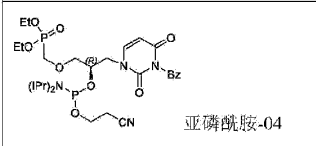
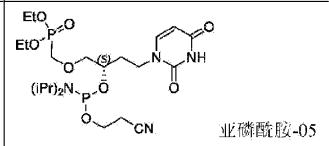
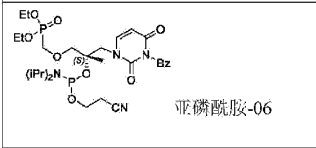
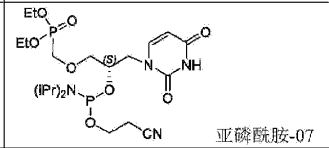
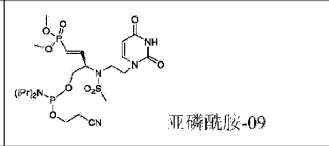
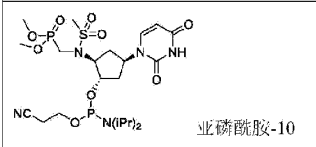
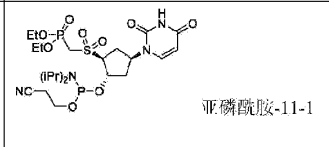
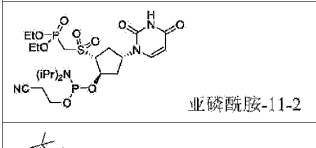
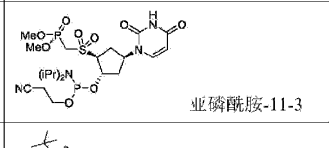
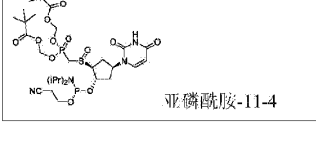
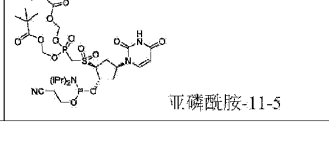
[权利要求 160] 如权利要求157-159所述的化合物， M_3 为O、S、 $C(q_7)(q_8)$ ， M_2 为 $C(q_3)(q_4)$ ， X_2 为 CR^{15} 或者N， X_3 为化学键、SO、 SO_2 。

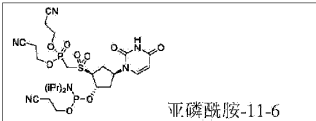
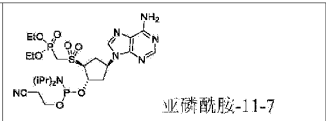
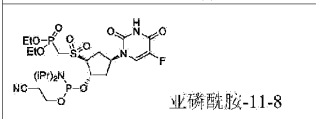
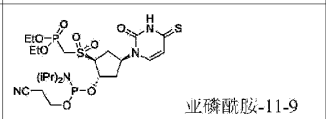
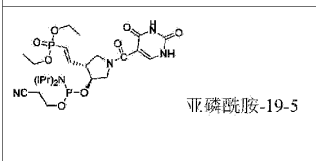
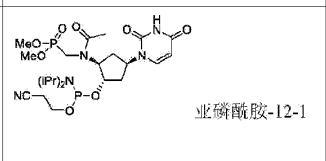
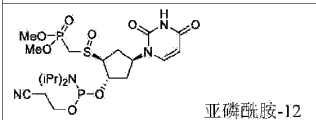
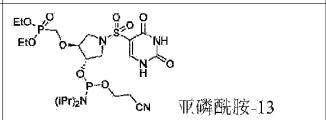
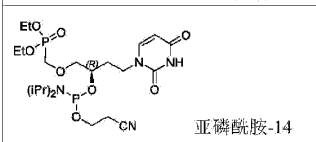
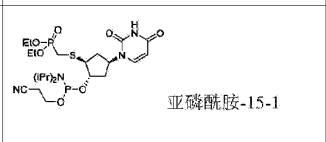
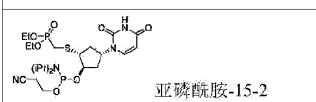
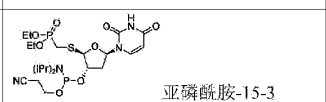
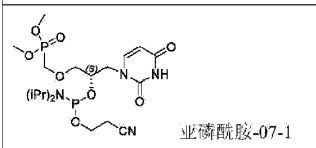
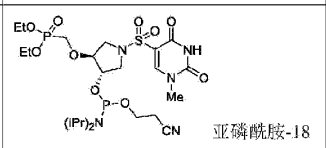
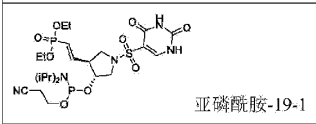
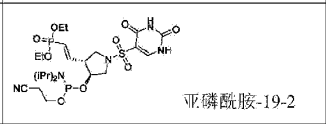
[权利要求 161] 如权利要求160所述的化合物， M_3 为O、S、 CH_2 ， M_2 为 CH_2 ， X_2 为CH， X_3 为化学键。

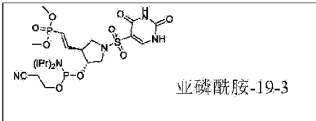
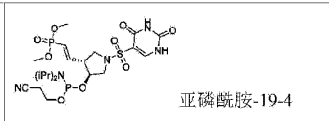
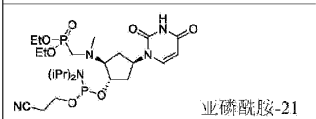
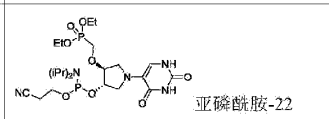
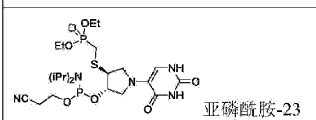
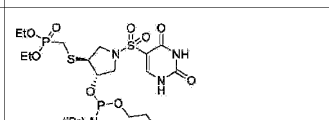
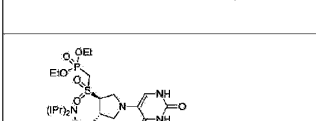
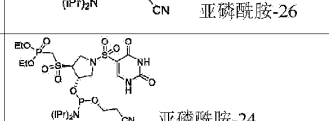
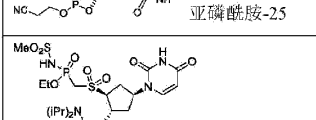
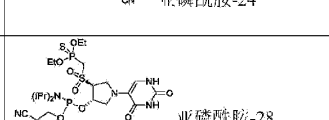
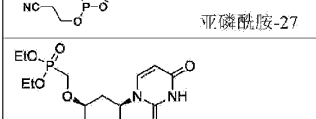
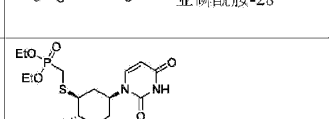
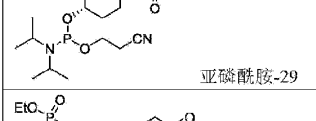
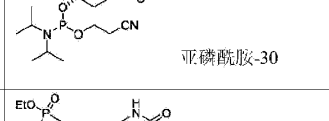
[权利要求 162] 如权利要求160所述的化合物， M_3 为 CH_2 ， M_2 为 CH_2 ， X_2 为N， X_3 为化学键、SO或 SO_2 。

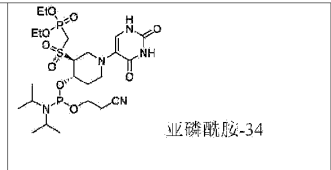
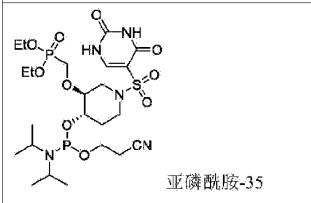
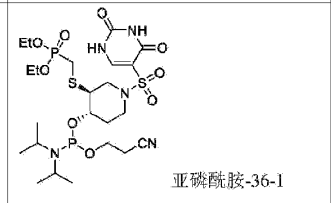
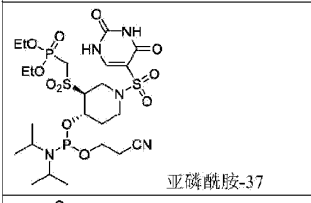
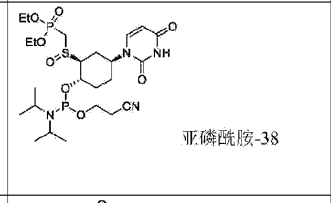
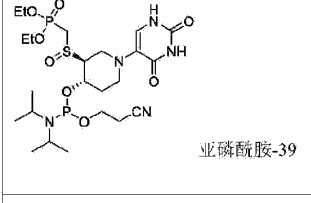
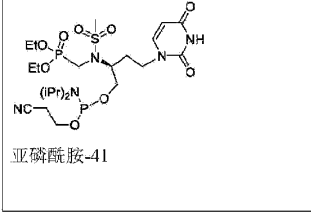
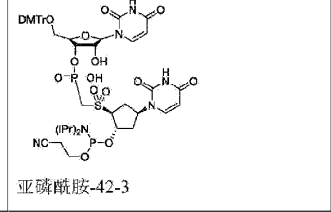
- [权利要求 163] 如权利要求157-159所述的化合物， M_3 为 $C(q_7)(q_8)$ ， M_2 为 $C(q_3)(q_4)C(q_5)(q_6)$ ， X_2 为 CR^{15} 或者N， X_3 为化学键、SO、 SO_2 。
- [权利要求 164] 如权利要求163所述的化合物， M_3 为 CH_2 ， M_2 为 CH_2CH_2 ， X_2 为CH， X_3 为化学键。165.如权利要求163所述的化合物， M_3 为 CH_2 ， M_2 为 CH_2CH_2 ， X_2 为N， X_3 为化学键、SO或 SO_2 。
- [权利要求 165] 如权利要求147-164所述的化合物， Q_8 为S、SO或 SO_2 。
- [权利要求 166] 如权利要求147-165所述的化合物， R_b 为O或者S， R_a 和 R_c 各自独立地选自受保护的羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基。
- [权利要求 167] 如权利要求147-165所述的化合物， R_a 和 R_c 各自独立地选自羟基、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH(CH_3)_2OCH_3$ 、 OCH_2CH_2CN 、 $NHSO_2CH_3$ 。
- [权利要求 168] 如权利要求147-167所述的化合物， B_x 杂环碱基部分选自天然核碱基、修饰的核碱基、通用碱基。
- [权利要求 169] 如权利要求168所述的化合物， B_x 杂环碱基部分为嘧啶、取代的嘧啶、假尿嘧啶、取代的假尿嘧啶、嘌呤、次黄嘌呤或取代的嘌呤。
- [权利要求 170] 如权利要求168所述的化合物， B_x 杂环碱基部分为2-硫尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、二氢尿苷(D)、7-甲基鸟苷(m7G)、尿嘧啶、5-噻唑并尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、假尿嘧啶、N1-甲基-假尿嘧啶、次黄嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、3-苯甲酰基尿嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、腺嘌呤或鸟嘌呤。
- [权利要求 171] 如权利要求147-170所述的化合物，所述的亚磷酰胺选自二异丙基氰基乙氧基亚磷酰胺、二异丙基乙基亚磷酰胺和H-磷酸酯。
- [权利要求 172] 如权利要求147-171所述的化合物，具有如下具体结构：

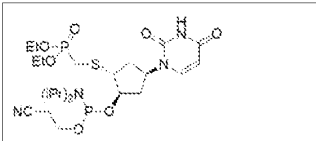
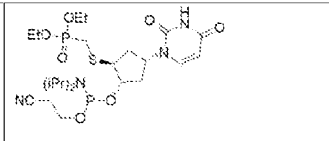
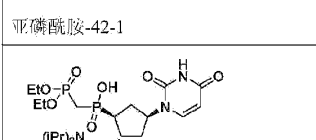
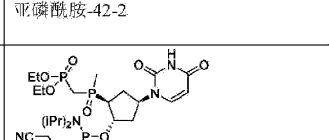
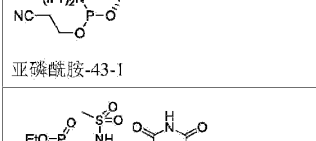
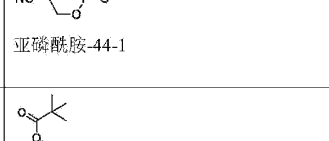
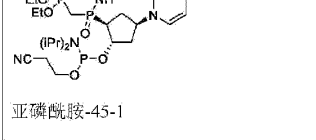
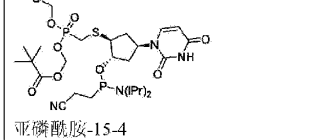
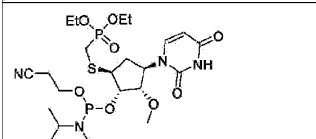
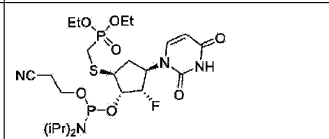


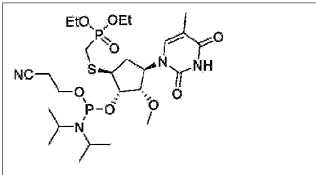
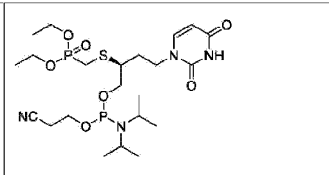
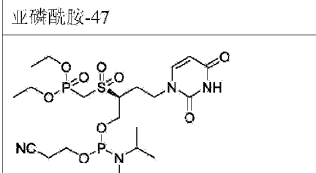
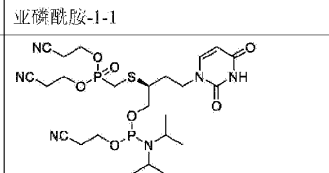
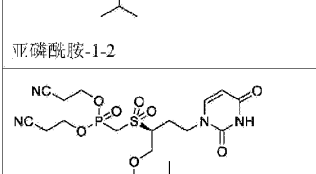
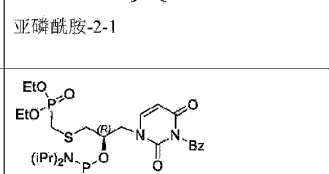
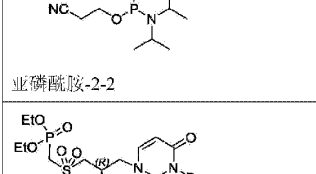
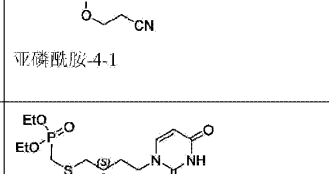
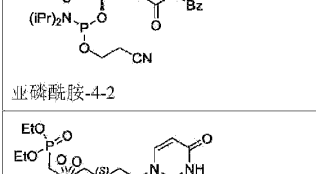
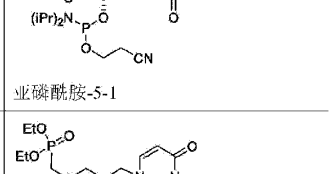
 亚磷酸胺-03	 亚磷酸胺-03-1
 亚磷酸胺-04	 亚磷酸胺-05
 亚磷酸胺-06	 亚磷酸胺-07
 亚磷酸胺-08	 亚磷酸胺-09
 亚磷酸胺-10	 亚磷酸胺-11-1
 亚磷酸胺-11-2	 亚磷酸胺-11-3
 亚磷酸胺-11-4	 亚磷酸胺-11-5

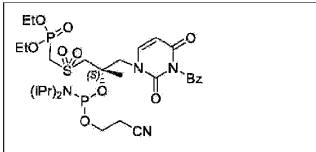
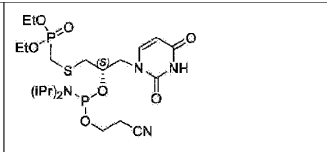
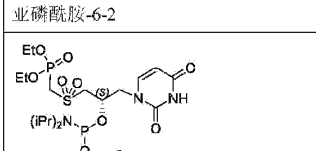
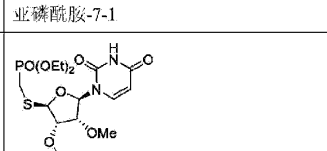
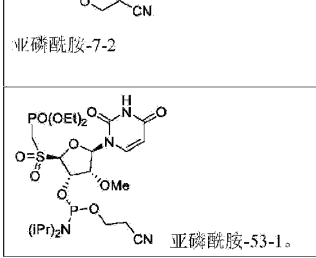
 亚磷酸胺-11-6	 亚磷酸胺-11-7
 亚磷酸胺-11-8	 亚磷酸胺-11-9
 亚磷酸胺-19-5	 亚磷酸胺-12-1
 亚磷酸胺-12	 亚磷酸胺-13
 亚磷酸胺-14	 亚磷酸胺-15-1
 亚磷酸胺-15-2	 亚磷酸胺-15-3
 亚磷酸胺-07-1	 亚磷酸胺-18
 亚磷酸胺-19-1	 亚磷酸胺-19-2

 亚磷酸酯-19-3	 亚磷酸酯-19-4
 亚磷酸酯-21	 亚磷酸酯-22
 亚磷酸酯-23	 亚磷酸酯-26
 亚磷酸酯-25	 亚磷酸酯-24
 亚磷酸酯-27	 亚磷酸酯-28
 亚磷酸酯-29	 亚磷酸酯-30
 亚磷酸酯-31	 亚磷酸酯-32

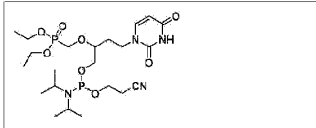
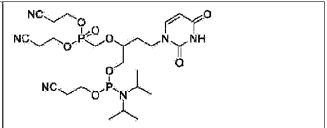
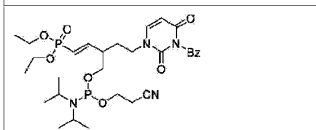
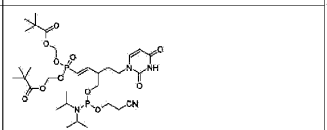
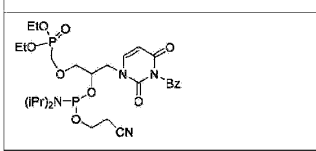
 亚磷酰胺-33	 亚磷酰胺-34
 亚磷酰胺-35	 亚磷酰胺-36-1
 亚磷酰胺-37	 亚磷酰胺-38
 亚磷酰胺-39	 亚磷酰胺-40
 亚磷酰胺-41	 亚磷酰胺-42-3

 亚磷酸酯-42-1	 亚磷酸酯-42-2
 亚磷酸酯-43-1	 亚磷酸酯-44-1
 亚磷酸酯-45-1	 亚磷酸酯-15-4
 亚磷酸酯-43	 亚磷酸酯-44
 亚磷酸酯-45	 亚磷酸酯-46

 亚磷酸酯-47	 亚磷酸酯-1-1
 亚磷酸酯-1-2	 亚磷酸酯-2-1
 亚磷酸酯-2-2	 亚磷酸酯-4-1
 亚磷酸酯-4-2	 亚磷酸酯-5-1
 亚磷酸酯-5-2	 亚磷酸酯-6-1

 亚磷酸酯-6-2	 亚磷酸酯-7-1
 亚磷酸酯-7-2	 亚磷酸酯-53
 亚磷酸酯-53-1。	

或

 亚磷酸酯-6-2	 亚磷酸酯-7-1
 亚磷酸酯-7-2	 亚磷酸酯-53
 亚磷酸酯-53-1。	

